



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

LARISSA BETTIN PIRES

**“ANÁLISES CITOGENÉTICAS EM PEIXES DA FAMÍLIA  
CICHLIDAE (PERCIFORMES) DE DIFERENTES BACIAS  
HIDROGRÁFICAS”**

---

Londrina  
2008

**LARISSA BETTIN PIRES**

**“ANÁLISES CITOGENÉTICAS EM PEIXES DA FAMÍLIA  
CICHLIDAE (PERCIFORMES) DE DIFERENTES BACIAS  
HIDROGRÁFICAS”**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação, em Genética e Biologia Molecular da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Genética e Biologia Molecular.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Lúcia Dias

Londrina  
2008

**Catálogo na publicação elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da Universidade Estadual de Londrina.**

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)**

P667a Pires, Larissa Bettin.

Análises citogenéticas em peixes da família Cichlidae (Perciformes) de diferentes bacias hidrográficas / Larissa Bettin Pires. – Londrina, 2008. 99f. : il.

Orientador: Ana Lúcia Dias.

Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, 2008.

Inclui bibliografia.

1. Biologia molecular – Teses. 2. Peixe – Citogenética – Teses. I. Dias, Ana Lúcia. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular. III. Instituto Agrônomo do Paraná. IV. EMBRAPA. V. Título.

CDU 576.312.32:597

**LARISSA BETTIN PIRES**

**“ANÁLISES CITOGENÉTICAS EM PEIXES DA FAMÍLIA  
CICHLIDAE (PERCIFORMES) DE DIFERENTES BACIAS  
HIDROGRÁFICAS”**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação, em Genética e Biologia Molecular da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Genética e Biologia Molecular.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. **Ana Lúcia Dias** Universidade Estadual  
de Londrina Paraná

---

Prof. Dr. **André Luís Laforga Vanzela**  
Universidade Estadual de Londrina Paraná

---

Prof. Dr. **Edson Luís Maistro** Universidade  
Estadual Paulista São Paulo

Londrina, 22 de fevereiro de 2008.

Dedico esse trabalho as  
pessoas mais importantes da  
minha vida, meus pais, minha  
irmã e aos meus amigos....

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Londrina, em especial ao programa de Pós-graduação, pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ana Lúcia Dias pela orientação. Digo pela orientação que se iniciou com a admiração quando ainda estava na graduação e que me fez pedir orientação, pela confiança quando aceitou me orientar, por ter me recebido em seu laboratório, pelas vezes que discutiu meu projeto comigo, por ter esclarecido várias dúvidas, por ter me apoiado do primeiro ao último dia do mestrado, pela compreensão e pela enorme paciência, e pela amizade que construímos durante esse tempo de orientação. Aninha, obrigado por tudo !!!

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lucia Giuliano-Caetano, pelas sugestões e conselhos tão importantes para a conclusão desta dissertação, tornando-se amiga e “co-orientadora”. Sem contar com a ajuda imprescindível nas coletas, principalmente nas do Rio Grande do Sul.

Ao Prof. Dr. Luiz Roberto Malabarba pelo auxílio na identificação das espécies.

Ao Prof. Dr. André L. Laforga Vanzela pelo empréstimo de materiais indispensáveis à realização da pesquisa, e por ter me recebido sempre em seu laboratório quando precisei.

Aos técnicos de laboratório, Dário e Melissa, pela ajuda fornecida nas horas necessárias e de sufoco.

À Sueli, secretária do curso de pós-graduação em Genética e Biologia Molecular, pela amizade, ajuda e competência.

Aos meus pais, Rubens e Maysa, que em todos os momentos estiveram presentes, me incentivando, auxiliando e acreditando. Que fizeram do meu sonho os seus, e sacrificaram de alguma maneira seus desejos para minha realização.

À minha irmã Carla, que teve de me suportar nos dias mais difíceis, mas que tantas vezes me ajudou, sendo muitas vezes minha fonte de energia e ânimo para continuar. Você é tudo para mim !!!

À minha avó Vitória, *in memoriam*, que apesar de não entender nada que eu faço, sempre me perguntava como andava os estudos em Londrina.

Aos colegas do Laboratório de Citogenética de Peixes: Vivian, Fernando (Trecó), Vitor, Michelli, Gabriel, Larissa Lacerda, Juliana, Tamara, Tatiane, Angélica e Glenda, pela amizade e convivência prazerosa que conseguiu amenizar até as horas menos favoráveis.

Às amigas Marceléia e Renata, pela amizade, incentivo, companherismo e conselhos nestes anos de convivência de laboratório. E ao Rafael, que foi sempre amigo, paciente e compreensivo, além de ser bem humorado.

À Letícia pela amizade e atenção, além da enorme paciência que teve comigo quando ficávamos a tarde inteira no fotomicroscópio.

Ao meu grande amigo Yuldi, que se tornou um irmão com a intensa convivência durante o mestrado.

Aos meus outros amigos de Londrina que também me ajudaram sem saber, Marcela, Lígia, Alexandre, Daniel, Márcio, Marisa, Flávio, Érica, Paulo, Ivana e Carlos, pelos momentos agradáveis que passamos juntos em Londrina.

À todos os demais amigos e colegas, que muitas vezes não estavam presentes, mas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

À Deus pela vida, saúde e disposição.

Esta foi mais uma conquista, que não haveria conseguido sem vocês!!!!

**MUITO OBRIGADO!!!!**

“Depois de algum tempo você aprende que  
não se deve se comparar com os outros,  
mas com o melhor que pode ser.”

*(William Shakespeare)*

PIRES, Larissa Bettin. **Análises citogenéticas em peixes da família Cichlidae (Perciformes) de diferentes bacias hidrográficas.** 2008. 101p. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2008.

## RESUMO

No presente trabalho foram analisadas nove espécies de peixes, de quatro gêneros, pertencentes à família Cichlidae, coletadas em bacias hidrográficas distintas. *Crenicichla britskii* e *Crenicichla haroldoi* coletados na bacia do rio Paranapanema, *Gymnogeophagus gymnogenys*, *Gymnogeophagus labiatus*, *Geophagus brasiliensis*, *Crenicichla punctata*, *Crenicichla lepidota* e *Australoheros* sp. coletadas na bacia do lago Guaíba/RS, sendo que a última espécie e *Crenicichla maculata* também foram coletadas na bacia do Tramandaí/RS. Os dados citogenéticos revelaram que todos os indivíduos apresentaram  $2n = 48$  cromossomos, mas com diferenças nas fórmulas cariotípicas. As espécies do gênero *Crenicichla* apresentaram fórmula cariotípica de:  $6m + 42st-a$  e  $NF = 54$  para *C. lepidota* e *C. maculata*;  $2m + 6sm + 40st-a$  e  $NF = 56$  para *C. britskii* (população do ribeirão Taquari/PR);  $4m + 6sm + 38st-a$  e  $NF = 58$  para *C. britskii* (população do rio Paranapanema/SP) e *C. punctata*; e  $6m + 4sm + 38st-a$  e  $NF = 58$  para *C. haroldoi*. A fórmula cariotípica de *Geophagus brasiliensis* foi de  $4sm + 44st-a$  e  $NF = 52$ . Para as duas espécies de *Gymnogeophagus* as constituições cromossômicas foram:  $4m + 44st-a$  e  $NF = 52$  para *G. gymnogenys* do Saco da Alemoa/Barra do Ribeiro;  $6m + 42st-a$  e  $NF = 54$  para *G. gymnogenys* do Gasômetro e  $4m + 4sm + 40st-a$  e  $NF = 56$  para *G. labiatus*. *Australoheros* sp. apresentou  $2m + 8sm + 38st-a$  e  $NF = 58$ . Em *Crenicichla lepidota* foi observada a presença de 1 a 3 cromossomos B de tamanho pequeno, com variação tanto inter quanto intraindividual, sendo totalmente heterocromático. Em todas as espécies foram detectadas NORs simples, exceto *C. britskii* do rio Paranapanema e *G. gymnogenys* do Saco da Alemoa/Barra do Ribeiro que apresentaram uma variação de 2 a 4 cromossomos marcados pela prata. As NORs foram coincidentes com as constrições secundárias, exceto em *C. britskii* do rio Paranapanema que apresentou apenas um dos pares (par 5) correspondente com a constrição secundária. *C. britskii* do rio Paranapanema, *C. maculata*, *G. gymnogenys* e *G. brasiliensis* apresentaram heteromorfismo de tamanho da NOR, também visualizado com a coloração de Giemsa. A heterocromatina mostrou-se distribuída nas regiões pericentroméricas da maioria dos cromossomos do complemento, em todos os exemplares analisados, sendo que as constrições secundárias revelaram-se heterocromáticas. A banda C revelou NORs heterocromáticas para todas espécies, com exceção de *C. britskii* do rio Paranapanema e *G. labiatus*. Em *Australoheros* sp., foi visualizada uma banda heterocromática intersticial no braço longo de um par st-a; que se mostrou positiva para o fluorocromo CMA3. A coloração com fluorocromo CMA3 foi correspondente aos cromossomos AgNORs, revelando que a NOR é rica em pares GC, entretanto, em *C. britskii* do rio Paranapanema foi observado que um dos pares da NOR (par 6) não se mostrou CMA3 positivo. Através da coloração com DAPI não foi observada nenhuma marcação, revelando algumas regiões DAPI negativas, coincidente com as regiões GC ricas, indicando que nestas espécies não há regiões ricas em AT. Os dados apresentados confirmam uma evolução conservativa, principalmente com relação ao número diplóide de cromossomos na família Cichlidae, entretanto, mostram também uma diversidade cariotípica entre algumas espécies, revelando que rearranjos cromossômicos estruturais fazem parte do processo evolutivo deste grupo de peixes.

**Palavras-chave:** *Australoheros*. *Crenicichla*. *Geophagus brasiliensis*. *Gymnogeophagus*. Cromossomos B. NOR. BC. Fluorocromos.

PIRES, Larissa Bettin. **Análises citogenéticas em peixes da família Cichlidae (Perciformes) de diferentes bacias hidrográficas.** 2008. 101p. Dissertation (Masters degree in Genetics and Molecular Biology) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2008.

### ABSTRACT

In the present study were analyzed nine species of fish, of four genera, belonging to the family Cichlidae, collected in different basins. *Crenicichla britskii* and *Crenicichla haroldoi* collected in the basin of the Paranapanema river, *Gymnogeophagus gymnogenys*, *Gymnogeophagus labiatus*, *Geophagus brasiliensis*, *Crenicichla punctata*, *Crenicichla lepidota* and *Australoheros* sp. collected in the basin of Guaíba Lake/RS, and the latter species and *Crenicichla maculata* also were collected in the basin of Tramandaí/RS. The cytogenetic data revealed that all individuals had  $2n = 48$  chromosomes, but with differences in karyotypic formula. The species of the genus *Crenicichla* had karyotypic formula:  $6m + 42st-a$  and  $NF = 54$  for *C. lepidota* and *C. maculata*;  $2m + 6sm + 40st-a$  and  $NF = 56$  for *C. britskii* (population of Taquari stream/PR);  $4m + 6sm + 38st-a$  and  $NF = 58$  for *C. britskii* (population of the Paranapanema river/SP) and *C. punctata*, and  $6m + 4sm + 38st-a$  and  $NF = 58$  for *C. haroldoi*. The karyotypic formula of *Geophagus brasiliensis* was  $4sm + 44st-a$  and  $NF = 52$ . For two species of *Gymnogeophagus* the chromosome constitutions were:  $4m + 44st-a$  and  $NF = 52$  for *G. gymnogenys* of the Saco da Alemoa/Barra do Ribeiro;  $6m + 42st-a$  and  $NF = 54$  to *G. gymnogenys* of the Gasômetro and  $4m + 4sm + 40st-a$  and  $NF = 56$  for *G. labiatus*. *Australoheros* sp. presented  $2m + 8sm + 38st-a$  and  $NF = 58$ . In *Crenicichla lepidota* was observed the presence of 1 to 3 B chromosomes of small size, with inter as intraindividual variation, being totally heterochromatic. In all species were detected simple NORs, except *C. britskii* of the Paranapanema River and *G. gymnogenys* of the Saco da Alemoa/Barra do Ribeiro who presented a variation of 2 and 4 chromosomes staining by the silver. The NORs were coincident with the secondary constrictions, except in *C. britskii* of the Paranapanema River that showed only one of the pairs (pair 5) corresponding to the secondary constriction. *C. britskii* of the Paranapanema River, *C. maculata*, *G. gymnogenys* and *G. brasiliensis* had size heteromorfism of NOR, also displayed with the Giemsa. Heterochromatin was distributed in the pericentromeric regions of most of chromosome, in all specimens analyzed, and the secondary constrictions were heterochromatics. The C banding revealed heterochromatics NORs for all species, except for *C. britskii* of the Paranapanema River and *G. labiatus*. In *Australoheros* sp. was viewed a heterochromatic interstitial band on the long arm of a pair st-a; positive for the fluorochrome CMA3. The staining with fluorochrome CMA3 was coincident to chromosomes AgNORs, revealing that NOR is rich in pairs GC, however, in *C. britskii* of the Paranapanema river was observed that one of the pairs of NOR (pair 6) did not show up CMA3 positive. By staining with DAPI were not observed any marking, revealing some regions DAPI negative, coinciding with the GC rich regions, indicating that these species are not AT-rich regions. The results confirm a trend conservative especially with respect to the diploid number of chromosomes in the family Cichlidae, however, also show a diversity karyotype among some species, revealing that structural chromosomal rearrangements are part of the evolutionary process of this group of fish.

**Keywords:** *Australoheros*. *Crenicichla*. *Geophagus*. *Gymnogeophagus*. B chromosome. NOR. C Banding. Fluorochromes.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Fotos das espécies coletadas: *Australoheros* sp. (A), *Crenicichla britskii* (B), *Crenicichla haroldoi* (C), *Crenicichla lepidota* (D), *Crenicichla maculata* (E), *Crenicichla punctata* (F), *Geophagus brasiliensis* (G), *Gymnogeophagus gymnogenys* (H) e *Gymngeophagus labiatus* (I) ..... 33
- Figura 2** – Imagens de satélite da bacia da Lagoa dos Patos/RS e do Tramandaí/RS. Os pontos amarelos indicam os locais de coletas ..... 34
- Figura 3** – Imagens de satélite dos locais de coleta da bacia do rio Paranapanema. Os pontos amarelos indicam os locais de coletas ..... 35

### CAPÍTULO 1

- Figura 1** – Cariótipos e pares AgNORs/CMA3 de: *Crenicichla britskii*, do ribeirão Taquari (A e D), do rio Paranapanema (B e E) e *C. haroldoi* (C e F), respectivamente. Em detalhe, nos cariótipos, as constrições secundárias..... 48
- Figura 2** – Metáfases somáticas com banda C de: *Crenicichla britskii*, do ribeirão Taquari (A), do rio Paranapanema (B) e *C. haroldoi* (C). As setas indicam os pares cromossômicos com constrição secundária e as cabeças de setas as constrições secundárias adicionais em *C. britskii*..... 49
- Figura 3** – Pares cromossômicos com constrições secundárias, AgNORs, banda C e CMA3 das populações de *C. britskii*..... 49

### CAPÍTULO 2

- Figura 1** – Cariótipos e pares AgNORs/CMA3 de: *Crenicichla lepidota* (A e D), *C. maculata* (B e E) e *C. punctata* (C e F), respectivamente. Em detalhe, nos cariótipos, as constrições secundárias ..... 61
- Figura 2** – Metáfases somáticas com banda C para *Crenicichla lepidota* (A) com cromossomo B (cabeça de seta), *C. maculata* (B) e *C. punctata* (C). As setas indicam os cromossomos com constrição secundária..... 62

### CAPÍTULO 3

- Figura 1** – Cariótipos de *Gymnogeophagus gymnogenys*, do Saco da Alemoa/Barra do Ribeiro (A) e Gasômetro (B), com os pares AgNORs e CMA3 (C e D, respectivamente)..... 76
- Figura 2** – Cariótipo e pares AgNORs/CMA3 de *Gymnogeophagus labiatus* (A, B e C), respectivamente ..... 77
- Figura 3** – Cariótipo e pares AgNORs/CMA3 de *Geophagus brasiliensis* (A, B e C), respectivamente ..... 77
- Figura 4** – Metáfases somáticas com banda C para: *G. gymnogenys* do Saco da Alemoa/Barra do Ribeiro (A), do Gasômetro (B), *G. labiatus* (C) e *Geophagus brasiliensis* (D). As setas indicam os cromossomos com as constrições secundárias ..... 78
- Figura 5** – Desenho esquemático mostrando a possível ocorrência de inversão pericêntrica no par 20 de *G. gymnogenys* do Gasômetro, com a NOR em posição terminal, originando o par 3 da população do Saco da Alemoa/Barra do Ribeiro, com a NOR em posição intersticial. Ambos pares cromossômicos apresentam heteromorfismo de tamanho nesta região ..... 78

### CAPÍTULO 4

- Figura 1** – Cariótipo de *Australoheros* sp. com identificação do cromossomo portador da constrição secundária (box)..... 89
- Figura 2** – Metáfases somáticas de *Australoheros* sp. submetidas aos tratamentos de impregnação por nitrato de prata (A), CMA3 (B), DAPI (C) e banda C (D). As setas indicam os cromossomos da NOR e as cabeças de setas o cromossomo com a heterocromatina intersticial ..... 90

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Dados cariotípicos da família Cichlidae (2n = número diplóide, NF= número fundamental).....	18
---	----

### CAPÍTULO 1

<b>Tabela 1</b> – Resumo dos resultados obtidos com o gênero <i>Crenicichla</i> no presente trabalho (2n = número diplóide, NF = número fundamental, CS = constrição secundária, NORs = regiões organizadoras de nucléolos, HC = heterocromatina, CMA3 = cromomicina A3) .....	41
--	----

### CAPÍTULO 2

<b>Tabela 1</b> – Frequência de cromossomos B nas células somáticas de <i>C. lepidota</i> .....	55
---	----

### CAPÍTULO 3

<b>Tabela 1</b> – Resumo dos resultados obtidos com os gêneros <i>Gymnogeophagus</i> e <i>Geophagus</i> no presente trabalho (2n = número diplóide, NF = número fundamental, CS = constrição secundária, NORs = regiões organizadoras de nucléolos, HC = heterocromatina, CMA3 = cromomicina A3).....	68
---	----

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	14
1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A FAMÍLIA CICHLIDAE .....	14
1.2 ASPECTOS CITOGENÉTICOS DA FAMÍLIA CICHLIDAE .....	16
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	31
2.1 OBJETIVO GERAL .....	31
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	31
<b>3 ESPÉCIES ESTUDADAS E LOCAIS DE COLETA</b> .....	32
3.1 BACIA DA LAGOA DOS PATOS/RS.....	32
3.2 BACIA DO RIO PARANAPANEMA .....	32
<b>CAPÍTULO 1 – DIVERSIDADE CARIOTÍPICA ENTRE DUAS ESPÉCIES DE <i>CRENICICHLA</i> (PERCIFORMES, CICHLIDAE) DA BACIA DO RIO PARANAPANEM *</b> .....	36
Resumo .....	37
Introdução.....	38
Material e Métodos.....	38
Resultados.....	39
Discussão .....	41
Referências .....	45
<b>CAPÍTULO 2 – ESTUDOS CITOGENÉTICOS EM TRÊS ESPÉCIES DE <i>CRENICICHLA</i> (PERCIFORMES, CICHLIDAE) DA BACIA HIDROGRÁFICA LAGOA DOS PATOS/RS*</b> .....	50
Resumo .....	51
Introdução.....	52
Material e Métodos.....	53
Resultados e Discussão.....	53
Referências .....	58

<b>CAPÍTULO 3 – CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA DE <i>GEOPHAGUS BRASILIENSIS</i> E DE DUAS ESPÉCIES DE <i>GYMNOGEOPHAGUS</i> (CICHLIDAE, GEOPHAGINAE) DO LAGO GUAÍBA/RS*</b> .....	63
Resumo .....	64
Introdução.....	65
Material e Métodos.....	66
Resultados.....	66
Discussão .....	68
Referências .....	73
<b>CAPÍTULO 4 – PRIMEIRA DESCRIÇÃO CITOGENÉTICA DO GÊNERO <i>AUSTRALOHEROS</i> (CICHLIDAE, CICHLASOMATINAE)*</b> .....	79
Resumo .....	80
Introdução.....	81
Material e Métodos.....	81
Resultados e Discussão.....	82
Referências .....	86
<b>4 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	91
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	93

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A FAMÍLIA CICHLIDAE

Os Perciformes compõem a maior ordem dos Teleósteos atuais, sendo considerada a maior e a mais diversificada, e compreende, entre as suas 18 subordens, cerca de 150 famílias, com aproximadamente 1.500 gêneros e 9.300 espécies (NELSON, 1994). No entanto, quase 60% das espécies neotropicais descritas se encontram em apenas oito famílias: Gobiidae, Cichlidae, Labridae, Serranidae, Blenniidae, Pomacentridae, Sciaenidae e Apogonidae. As espécies que compõem esta ordem estão amplamente distribuídas e dominam a vida oceânica entre os vertebrados, além de formarem o maior componente da ictiofauna em muitos ambientes dulcícolas tropicais e subtropicais. Devido à sensibilidade a baixas temperaturas, quase nenhuma espécie é encontrada no extremo sul da América do Sul e extremo Norte da América do Norte (BURGESS, 1991).

Não há nenhum atributo, ou seja, um caráter especializado ou uma combinação de caracteres, que possa definir os Perciformes como um grupo monofilético, não podendo assim ser definido cladisticamente, sendo claramente um grupo polifilético e, portanto, não-natural (BRUM, 1994). Lauder e Liem (1983) acreditam que os Perciformes seja um grupo evolutivo basal e que vários outros grupos são derivados deste. Quando comparados aos teleósteos inferiores, este grupo alcançou um nível evolutivo significativo apesar de ser um grupo diverso ecológica e morfologicamente (NELSON, 1994).

A família Cichlidae representa o maior e mais diversificado grupo de peixes entre os Perciformes Neotropicais, sendo considerado um dos maiores grupos de teleósteos, com cerca de 1290 espécies distribuídas em, aproximadamente, 227 gêneros, sendo que a grande maioria habita a África e América do Sul, com algumas espécies encontradas na América Central e do Norte e em partes da Ásia (MOYLE; CECH JUNIOR, 2000). As outras famílias de Perciformes ricas em espécies são: a Percidae, na Europa e América do Norte com 162 espécies, e a Osphronemidae, no sul da Ásia, com 50 espécies (NELSON, 1994).

Os representantes da família Cichlidae, como os Scianidae, têm os raios anteriores da dorsal e anal e o primeiro raio da ventral transformados em espinhos, entretanto, a linha lateral é interrompida, uma anterior, que corre mais dorsalmente e outra posterior que corre sobre o meio do pedúnculo caudal (BRITSKI *et al.*, 1986).

Os ciclídeos, em sua maioria, são peixes adaptados a ambientes lênticos, sendo por isso comumente encontrados em lagoas marginais, lagos e mesmo em rios nos locais de águas mais tranquilas. O principal fator que promove especiação nos ciclídeos é o fato de adaptarem-se a ambientes com certas condições extremas e a maior parte deles terem adaptações em relação à alimentação. Talvez, a riqueza e diversidade de espécies quanto a adaptações tróficas estejam diretamente relacionadas à larga exploração de habitats e nichos (MOYLE e CECH JUNIOR, 2000). Uma característica marcante é a sua tendência de formar grupos extremamente especializados nos grandes lagos, especialmente

na África, nos lagos Malawi, Victoria e Tanganika contendo, mais ou menos, 900 espécies endêmicas de ciclídeos (FRYER; ILES, 1972; RIBBINK, 1990).

A reprodução nos ciclídeos não apresentam uma época bem definida, como ocorre em outras famílias de peixes, podendo reproduzirem-se por um período mais longo, fazendo-se, contudo, necessários mais estudos sobre comportamento reprodutivo na natureza. Esses peixes não apresentam dimorfismo sexual, diferindo somente no tamanho corpóreo, onde os maiores são os machos, a não ser na época de reprodução quando, então, algumas características podem diferenciar os sexos. O cuidado parental é marcante entre os indivíduos desta família, sendo que este papel é desempenhado principalmente pelas fêmeas, com exceção dos poucos casos onde o cuidado é biparental. Um outro traço característico é o cuidado com os ovos e guarda das larvas, onde muitas espécies incubam e desenvolvem seus embriões oralmente (MOYLE; CECH JUNIOR, 2000).

No Brasil, os ciclídeos representam apenas 6% da fauna de peixes de água doce (FELDBERG, *et al.*, 2003), e esses peixes representam 2% do total de peixes exportados do Brasil como ornamentais, além de terem um papel muito importante na pescaria tanto como fonte de alimento, quanto como nas atividades de recreação e comércio para o ecoturismo, já que sua distribuição pelo território nacional é ampla (BRITSKI *et al.*, 1986).

A família Cichlidae tem sido considerada um grupo monofilético sendo extensivamente estudada porque constitui um exemplo de irradiação adaptativa. Kullander (1998) propôs uma árvore filogenética para a família Cichlidae baseada em caracteres morfológicos, onde organizou os ciclídeos nas seguintes subfamílias: Etroplinae, Pseudocrenilabrinae, Retroculinae, Cichlinae (tribos: Crenicichlini e Cichlini), Heterochromidinae, Astronotinae (tribos: Astronotini e Chaetobranchini), Geophaginae (tribos: Geophagini, Acarichthyini e Crenicaratini) e Cichlasomatinae (tribos: Acaroninii, Cichlasomatini e Heroini). Neste mesmo estudo, Kullander propôs que o gênero *Retroculus* é considerado o mais basal dos ciclídeos neotropicais, seguido por *Cichla* e *Crenicichla*, que

são considerados grupos irmãos.

Farias *et al.* (2000), utilizando as informações morfológicas e moleculares disponíveis, propuseram uma nova árvore filogenética para os Cichlidae, sendo esta análise de filogenia considerada a mais completa para os ciclídeos sul-americanos. Esta nova árvore filogenética mostrou-se bastante semelhante à anteriormente proposta por Kullander (1998), corroborando os dados que os ciclídeos africanos e neotropicais pertencem claramente a diferentes clados monofiléticos. Entretanto, algumas diferenças foram observadas como, por exemplo, em relação à localização do gênero *Crenicichla*, que Farias *et al.* (2000) não considera como sendo basal e sim localizado junto à subfamília Geophaginae; os gêneros basais são: *Retroculus*, *Cichla* e *Astronotus*. Outras diferenças foram em relação à *Acaronia* que não pertence mais a tribo Acaroninii, sendo incluída agora na tribo Cichlasomatini, dentro da subfamília Cichlasomatinae; e ao gênero *Heterochromis*, que Kullander (1998) coloca com sendo um ciclídeo neotropical e na nova árvore filogenética como pertencente ao clado dos ciclídeos africanos (FARIAS *et al.*, 2000).

## 1.2 ASPECTOS CITOGENÉTICOS DA FAMÍLIA CICHLIDAE

De modo geral, os estudos citogenéticos em peixes têm crescido de forma expansiva ao longo dos anos, mas continuam sendo poucos os dados obtidos, quando comparados a outras classes de vertebrados. Um levantamento das informações cromossômicas sobre peixes, feito por Brum (1995), relatou que cobrem apenas 14% das espécies conhecidas.

Na ordem Perciformes, caracterizada como a maior e a mais diversificada dentre os Teleósteos, os dados citogenéticos podem ser considerados escassos, particularmente em espécies marinhas, apesar da grande maioria dos Perciformes habitarem o ambiente marinho. Segundo o levantamento de Affonso (2000), foram descritos os cariótipos de cerca de 600 espécies de Perciformes, correspondendo, aproximadamente, a 7% o número de espécies descritas para esta ordem, de modo que 80% das espécies descritas citogeneticamente são de populações dulcícolas. Segundo Feldberg *et al.* (2003), das 150 famílias de Perciformes, em 50 delas são encontradas, no mínimo, uma espécie cariotipada.

Nos Perciformes, o número diplóide (2n) mais frequente é o de 48 cromossomos, com predominância de acrocêntricos, sendo uma característica altamente

conservativa no grupo. No entanto, o número fundamental (NF), portanto a fórmula cariotípica, apresenta uma grande variação, com a maioria das espécies apresentando um NF igual ou superior a 48 (BRUM, 1995; BRUM; GALETTI JUNIOR, 1997; entre outros).

Os padrões divergentes de cariótipos em Perciformes são encontrados, preferencialmente, nas espécies dulcícolas, representadas na sua maioria pela família Cichlidae, que é a mais estudada citogeneticamente, ou em outras famílias como os Gobiidae e Bleniidae, que apresentam hábitos mais sedentários. Essa constatação parece corroborar a importância do isolamento geográfico, vagilidade e tamanho populacional na formação e fixação de rearranjos cromossômicos durante a evolução das espécies e contribuindo para maior grau de variação entre as populações (BRUM, 1996; BRUM; GALETTI JUNIOR, 1997; GALETTI JUNIOR *et al.*, 2000).

Os primeiros estudos citogenéticos realizados na família Cichlidae iniciaram-se com Post, em 1965, nas espécies *Hemichromis bimaculatus*, *Neolamprolous leleupi*, *Oreochromis alcalicus*, *Pseudocrenilabrus multicolor* e *Pseudocrenilabrus multicolor*. Entre as 1.292 espécies conhecidas apenas 120 têm sido analisadas cariotipicamente em estudos onde, na maioria das vezes, estão limitados à determinação do número diplóide ( $2n$ ), o qual foi encontrado variando de 32 a 60 cromossomos. Estes resultados estão compilados na tabela 1:

**Tabela 1** – Dados cariotípicos da família Cichlidae (2n = número diplóide, NF = número fundamental).

Subfamília	Espécies	Localidade	2n	Fórmula Cariotípica	NF	Referências
Etroplinae	<i>Etroplus maculatus</i>		46			8
	<i>E. suratensis</i>		48			8
Pseudocrenilabrinae	<i>Haplochromis burtoni</i>	África	40	14m,sm+26st,a	54	21
	<i>H. flavijosephi</i>	Mar da Galiléia	44	10m,sm+34st,a	54	16
	<i>Hemichromis bimaculatus</i>		44		88	3
			44		88	15
	<i>Melanochromis auratus</i>	África	46	12m,sm+34st,a	58	21
	<i>Neolamprolous leleupi</i>		48			3
	<i>Oreochromis macrochir</i>	Zaire	44			6
			44	6m,sm+38st,a	50	20
	<i>O. alcalicus</i>		48			3
	<i>O. andersonii</i>		44	4m,sm+40st,a	48	20
			44	6m,sm+38st,a	50	20
	<i>O. aureus</i>	Mar da Galiléia	44	10m,sm+34st,a	54	16
			44	6m,sm+38st,a	50	21
	<i>O. mossambicus</i>		44			9; 11
			44	44m,sm	88	5
	<i>O. niloticus</i>	Piscicultura	40			11
	44				2; 6; 18; 27; 32	
	44		4m,sm+40st,a	48	62	
<i>Pelvicachromis pulcher</i>		48			3	
<i>Pseudocrenilabrus multicolor</i>		44			3	
<i>Sarotherodon galilaeus</i>		44			11; 13; 16	
		44	6m,sm+38st,a	50	20	
<i>S. mossambica</i>	África	44	6m,sm+38st,a	50	21	

	<i>S. multifasciatus</i>		44			22
	<i>Tilapia busumana</i>		44			22
	<i>T. congica</i>	Zaire	44	10m,sm+34st,a	54	20
	<i>T. guineensis</i>		44	8m,sm+36st,a	52	20
	<i>T. macrocephala</i>		32			1
	<i>T. mariae</i>		40	4m,sm+36st,a	44	20
		África	40	8m,sm+32st,a	48	21
	<i>T. rendalli</i>	Ribeirão Preto (SP)	44	16m,sm+28st,a	60	14
		Rio Iguaçu (PR)	44	10m,sm+34st,a	54	52
	<i>T. sparrmanii</i>	Zaire	42	8m,sm+34st,a	50	20; 21
	<i>T. zillii</i>		38			13
		Mar da Galiléia	44	10m,sm+34st,a	54	16
	<i>Tristramella sacra</i>	Mar da Galiléia	44	6m,sm+38st,a	50	16
	<i>T. simonies</i>	Mar da Galiléia	44	6m,sm+38st,a	50	16
Cichlinae	<i>Cichla</i> sp.	Tucuruí (PA); Amazonas (AM)	48	48st,a	48	29; 43
	<i>C. monoculus</i>	Amazonas (AM)	48	48st,a	48	43
	<i>C. temensis</i>	Fonte comercial; Amazonas (AM)	48	48st,a	48	17; 43
	<i>Crenicichla</i> sp.		46			40
		Rio Paraná (Argentina)	48	6m,sm+42st,a	54	34; 41
		Rio Itajaí-Açu (SC)	48	8m,sm+40st,a	56	56
	<i>Crenicichla</i> sp. 1	Rio Iguaçu (PR)	48	8m,sm+40st,a	56	68
	<i>Crenicichla</i> sp. 2	Rio Iguaçu (PR)	48	8m,sm+40st,a	56	68
	<i>Crenicichla</i> sp. A	Amazonas (AM)	48	6m,sm+42st,a	54	36
	<i>Crenicichla</i> sp. B	Amazonas (AM)	48	8m,sm+40st,a	56	36
	<i>C. cincta</i>	Amazonas (AM)	48	8m,sm+40st,a	56	60
	<i>C. "saxatilis"</i>	Uruguai	48	4m,sm+44st,a	52	10

	<i>C. cf. saxatilis</i>	Rio Peixe-boi, PA	48			51
	<i>C. iguassuensis</i>	Rio Iguaçú (PR)	48	6m,sm+42st,a	54	63
		Rio Iguaçú (PR)	48	8m,sm+40st,a	56	68
	<i>C. inpa</i>	Amazonas (AM)	48	6m,sm+42st,a	54	60
	<i>C. lacustris</i>	Registro (SP)	48	6m,sm+42st,a	54	25; 26
		Rio Caçõ (RJ)	48	10m,sm+38st,a	58	61
	<i>C. lepidota</i>	Miranda (MS) e Rio Paraná (PR)	48	6m,sm+42st,a	54	17; 25; 26; 37
		Misiones (Argentina)	48			58
	<i>C. lucius</i>	Fonte comercial-	48	-	-	17
	<i>C. niederleinii</i>	Misiones (Argentina)	48			58
		Rio Piquiri (PR)	48	6m,sm+42st,a	54	63
		Rio Tibagi (PR)	48	10m,sm+38st,a	58	56
		Rio Paraná (PR)	48	14m,sm+34st,a	62	37
	<i>C. notophthalmus</i>	Fonte comercial-	48	6m,sm+42st,a	54	17
	<i>C. reticulata</i>	Rio Uatumã e Amazonas (AM)	48	6m,sm+42st,a	54	50; 60
	<i>C. semifasciata</i>	Misiones (Argentina)	48			58
		Miranda (MS)	48	6m,sm+42st,a	54	25; 26
	<i>C. strigata</i>	Fonte comercial	48	6m,sm+42st,a	54	17
	<i>C. vittata</i>	Miranda (MS)	48	6m,sm+42st,a	54	25; 26
Astronotinae	<i>Astronotus</i> sp.	Rio Paraguai (MT)	48			40
	<i>A. crassipinnis</i>	Amazonas (AM)	48	18m,sm+30st,a	66	39
	<i>A. ocellatus</i>		48		96	15
		Fonte comercial	48	6m,sm+42st,a	54	17
		Miranda (MS); Manaus (AM)	48	12m,sm+36st,a	60	25; 26
	<i>Chaetobranchopsis australis</i>	Miranda (MS)	48	48st,a	48	25; 26
Geophaginae	<i>Acarichthys heckelli</i>	Fonte comercial	48	6m,sm+42st,a	54	17
	<i>Apistogramma agassizii</i>	Fonte comercial	46	24m,sm+22st,a	70	17
	<i>A. borellii</i>	Fonte comercial	38	22m,sm+16st,a	60	17
	<i>A. ortmanni</i>	Fonte comercial	46	24m,sm+22st,a	70	17
	<i>A. steindachneri</i>		46		92	15

	<i>A. trifasciata</i>	Misiones (Argentina)	46			58
	<i>Dicrossus filamentosus</i>	Fonte comercial	46	12m,sm+34st,a	58	17
	<i>Geophagus</i> sp.	Rio Paraná (Argentina)	48		50	41
	<i>G. altifrons</i>	Amazonas (AM)	48	4m,sm+44st,a	52	38
	<i>G. brasiliensis</i>	Rio Claro (SP); Rio Paranapanema (SP)	48			45
			48		90-92	15
		Brotas; São Carlos; Pirassununga; Registro (SP)	48	2m,sm+46st,a	50	25; 26
		Ribeirão Preto (SP)	48	3m,sm+45st,a	51	14
		Fonte comercial; Amazônia; Rio Tibagi (PR); Rio Iguaçú (PR)	48	4m,sm+44st,a	52	17; 53; 69
		Maricá (RJ); Rio Iguaçú (PR)	48	6m,sm+42st,a	54	44; 47; 67
		Lagoa Rodrigo de Freitas (RJ); Rio Paranapanema (SP); Rio Sapucaí (MG)	48	8m,sm+40st,a	56	35; 37; 44; 46
	<i>G. surinamensis</i>	Fonte comercial, Amazonas (AM)	48	4m,sm+44st,a	52	17; 25; 26
	<i>Guianacara</i> sp.	Rio Trombetas (PA)	48	4m,sm+44st,a	52	30
	<i>Gymnogeophagus</i> sp.	Rio Paraná (Argentina)	48			58
	<i>G. gymnogenys</i>	Bacia Jacuí/Tramandaí (RS)	48	4m,sm+44st,a	52	28
	<i>G. balzanii</i>	Miranda (MS); Rio Paraná (Argentina)	48	2m,sm+46st,a	50	24, 26; 41
	<i>G. labiatus</i>	Bacia Jacuí/Tramandaí (RS)	48	4m,sm+44st,a	52	28
	<i>G. lacustris</i>	Bacia Jacuí/Tramandaí (RS)	48	4m,sm+44st,a	52	28
	<i>G. rhabdotus</i>	Bacia Jacuí/Tramandaí (RS)	48	4m,sm+44st,a	52	28
	<i>Satanoperca acuticeps</i>	Rio Peixe-boi (PA)	48			55
	<i>S. jurupari</i>	Amazônia (AM)	48			19
		Fonte comercial; Catalão (AM)	48	4m,sm+44st,a	52	17; 52
		Catalão (AM)	48	5m,sm+43st,a	53	52
		Catalão (AM)	48	6m,sm+42st,a	54	36; 52
	<i>S. pappaterra</i>	Rio Paraná (PR)	48	6m,sm+42st,a	54	37
Cichlasomatinae	<i>Acaronia nassa</i>	Marchantaria e Catalão (AM)	50	50st,a	50	36
	<i>Aequidens</i> sp.	Amazônia (AM)	48	48st,a	48	38

<i>A. metae</i>		48	6m,sm+42st,a	54	17; 64
<i>A. plagiozonatus</i>	Rio Paraná (PR)	48			31
<i>A. pulcher</i>		48	4m,sm+44st,a	52	64
<i>A. rivalatus</i>		48	8m,sm+40st,a	56	64
<i>Amphilophus citrinellus</i>		48		96	15
		48	8m,sm+40st,a	56	17
		48	36m,sm+12st,a	84	7
<i>A. macracanthus</i>		48		96	15
		48	6m,sm+42st,a	54	17
<i>Archocentrus centrarchus</i>		48	6m,sm+42st,a	54	17
<i>A. nigrofasciatus</i>	Rio Cuarto (Costa Rica)	48		96	15
		48	4m,sm+44st,a	52	17
<i>A. septemfasciatus</i>	Rio Cuarto (Costa Rica)	48	6m,sm+42st,a	54	17
<i>Bujurquina</i> sp.	I. Mindú (AM)	48	8m,sm+40st,a	56	66
<i>B. vittata</i>	Misiones (Argentina)	44			58
		44	26m,sm+18st,a	70	17; 64
<i>Caquetaia kraussii</i>		50	6m,sm+44st,a	56	17
<i>C. spectabilis</i>	Amazonas (AM)	50	50st,a	50	38
<i>Cichlasoma</i> sp. C	Rio Paraguai (MT)	46			40
<i>C. amazonarum</i>	I. Mindú (AM)	48	2m,sm+46st,a	50	38
<i>C. beani</i>	México	48	6m,sm+42st,a	54	17
<i>C. bimaculatum</i>		44	44st,a	44	49
		48	6m,sm+42st,a	54	17
<i>C. dimerus</i>	Misiones, Argentina	48			58
<i>C. facetum</i>	Uruguai	48	8m,sm+40st,a	56	10
	Registro (SP); Rio Claro (SP); São Mateus do Sul (PR); Rio Tibagi (PR)	48	10m,sm+38st,a	58	25; 26; 47; 67
<i>C. istlanum</i>	Rio Amacuzar e Rio Huámito (México)	48	8m,sm+40st,a	56	54
<i>C. octofasciatus</i>		48		96	15
		48	6m,sm+42st,a	54	17

<i>C. paranaense</i>	Guaravera, Londrina (PR)	48	14m,sm+34st,a	62	48
	Rio Paraná (PR)	48	20m,sm+28st,a	68	37
<i>C. salvini</i>		52		104	15
	Belize	52	28m,sm+24st,a	80	17
<i>C. trimaculatus</i>		48	6m,sm+42st,a	54	17
<i>Cleithracara maronii</i>		50		100	15
		50	12m,sm+38st,a	62	64
<i>Herichthys cyanoguttatus</i>		48		94	15
	México	48	6m,sm+42st,a	54	17
<i>H. labridens</i>	S. Rioverde (México)	48	6m,sm+42st,a	54	17
<i>H. minckleyi</i>	México	48	6m,sm+42st,a	54	17
<i>Heros</i> sp.	Marchantaria e Catalão (AM)	48	6m,sm+42st,a	54	36
<i>Herotilapia multispinosa</i>		48		96	15
	Fonte comercial	48	6m,sm+42st,a	54	17
<i>Hypselecara coryphaenoides</i>		48	6m,sm+42st,a	54	17
<i>Laetacara</i> cf. <i>dorsigera</i>	Rio Paraná (PR)	46	2m,sm+46st,a	48	65
		45	3m,sm+46st,a	48	65
		44	4m,sm+44st,a	48	65
		43	5m,sm+44st,a	48	65
<i>Mesonauta festivus</i>		48		96	15
		48	8m,sm+40st,a	56	17
	Rio Negro (AM)	48	12m,sm+36st,a	60	59
<i>M. insignis</i>	Rio Negro (AM)	48	12m,sm+36st,a	60	59
<i>Nandopsis tetracanthus</i>	Rio San Juan, (Cuba)	48	6m,sm+42st,a	54	23
<i>Nannacara anomala</i>		44	18m,sm+26st,a	62	17
<i>Neetroplus nematopus</i>		48	8m,sm+40st,a	56	17
<i>Parachromis dovii</i>	Rio Cuarto (Costa Rica)	48	8m,sm+40st,a	56	17
<i>P. managuensis</i>		48		96	15
		48	6m,sm+42st,a	54	17
<i>Pterophyllum scalare</i>	Fonte comercial; Amazônia (BR)	48	4m,sm+44st,a	52	17; 39

<i>Symphysodon aequifasciatus</i>	Amazônia (BR)	60	42m,sm+18micr	102	57
		60	42m,sm+18micr	102	42
		60	citótipos A e B	104	4
		60	44m,sm+16st,a	104	38
		60	44m,sm+16micr	118	17
		60	58m,sm+2st,a		
<i>S. discus</i>	Manacapuru (AM); Amazônia (BR)	60	42m,sm+18micr	102	36
		60	46m,sm+14micr	106	42
		60	48m,sm+12micr	108	42
<i>Uaru amphiacanthoides</i>		46	8m,sm+38st,a	54	17

**Referências:** 1- Jakowska (1950); 2- Chervinski (1964); 3- Post (1965); 4- Ohno e Atkin (1966); 5- Natarajan e Subrahmanyam (1968); 6- Jalabert *et al.* (1971); 7- Nishikawa *et al.* (1973); 8- Natarajan e Subrahmanyam (1974); 9- Fukuoka e Muramoto (1975); 10- Oyhenart-Perera *et al.* (1975); 11- Badr e El Dir (1976); 12- Prasad e Manna (1976); 13- Badr e El Dir (1977); 14- Michele e Takahaski (1977); 15- Zahner (1977); 16- Kornfield *et al.* (1979); 17- Thompson (1979); 18- Arai e Koike (1980); 19- Moreira-Filho *et al.* (1980); 20- Vervoort (1980); 21- Thompson (1981); 22- Nijjhae *et al.* (1983); 23- Ráb *et al.* (1983); 24- Feldberg e Bertollo (1984); 25- Feldberg e Bertollo (1985a); 26- Feldberg e Bertollo (1985b); 27- Majumbar e McAndrews (1986); 28- Peixoto e Erdtmann (1988); 29- Vênere (1988); 30- Feldberg *et al.* (1990); 31- Martins-Santos *et al.* (1990); 32- Foresti *et al.* (1993); 33- Fenocchio *et al.* (1994); 35- Oliveira *et al.* (1994); 36- Salgado *et al.* (1994); 37- Martins *et al.* (1995); 38- Salgado *et al.* (1995); 39- Krichanã *et al.* (1996); 40- Rezende *et al.* (1996); 41- Roncati *et al.* (1996); 42- Salgado *et al.* (1996); 43- Alves (1998); 44- Brum *et al.* (1998); 45- Corazza *et al.* (1998); 46- Couto *et al.* (1998); 47- Quijada e Cestari (1998); 48- Loureiro e Dias (1998); 49- Santos *et al.* (1998); 50- Alves *et al.* (1999); 51- Farias *et al.* (1999); 52- Mendonça *et al.* (1999); 53- Mizoguchi e Martins-Santos (1999); 54- Uribe-Alcocer *et al.* (1999); 55- Farias *et al.* (2000); 56- Loureiro *et al.* (2000); 57- Mesquita *et al.* (2000); 58- Roncati *et al.* (2000); 59- Santos *et al.* (2001); 60- Benzaquem *et al.* (2002); 61- Brum *et al.* (2002); 62- Torres e Leão (2002); 63- Lorscheider (2004); 64- Marescalchi (2005); 65- Martins-Santos *et al.* (2005); 66- Mendonça (pers. comm.) *apud* Feldberg *et al.*, 2003; 67- Vicari *et al.* (2006); 68- Mizoguchi *et al.* (2007); 69- Pires *et al.* (2008).

**Fonte:** Atualizada e modificada a partir de Thompson (1979), Affonso (2000) e Feldberg *et al.* (2003).

Conforme demonstrado na tabela anterior, o número diplóide  $2n = 48$  cromossomos é encontrado em 78 das 120 espécies de ciclídeos analisadas até o momento (65%). De acordo com Thompson (1979) o número diplóide igual 48 cromossomos é o mais basal neste grupo de peixes, o que explica sua alta frequência dentro da família. Segundo Feldberg e Bertollo (1985a), a evolução dos cromossomos dos Cichlidae deve ser conservativa, com muitas espécies mantendo o número diplóide de 48 cromossomos e com inversões pericêntricas explicando as variações do número diplóide (NF), de 32 a 60.

Segundo Cano *et al.* (1982), as inversões pericêntricas estão entre os principais mecanismos envolvidos na evolução do cariótipo em Teleósteos, levando a alterações no número de braços cromossômicos. A maioria das opiniões apontam para uma tendência no aumento do número fundamental (NF), seguida da redução do número diplóide ( $2n$ ). Realmente, os dados compilados em ciclídeos evidenciam que a ocorrência de modificações que alteram a morfologia cromossômica são mais frequentes que aquelas envolvendo variações numéricas, o que já foi relatado para ciclídeos sul-americanos por Thompson (1979) e Feldberg e Bertollo (1985a).

Desta maneira pode ser traçado um modelo de distribuição geográfica dos números diplóides, onde os ciclídeos africanos apresentam um  $2n$  igual a 44, com variação de 32 a 48 cromossomos e um NF de 44 a 88; enquanto os ciclídeos neotropicais apresentam um  $2n$  igual a 48, com variação de 38 a 60 cromossomos e um NF de 44 a 118 (Tabela 1).

O estudo cromossômico realizado por Thompson (1979) em 41 espécies de ciclídeos neotropicais forneceu o primeiro cenário para o entendimento da evolução cariotípica desta família. Dentre as espécies estudadas, 31 apresentaram  $2n$  igual a 48 cromossomos, sendo que, entre as demais, foram encontradas 7 espécies com  $2n$  abaixo ( $2n = 38, 44$  e  $46$ ) e 3 espécies com  $2n$  acima daquele valor ( $2n = 50, 52$  e  $60$ ).

Posteriormente, vários outros pesquisadores contribuíram com dados citogenéticos, como Kornfield (1984) que apresentou informações cromossômicas para 70 espécies de ciclídeos.

Feldberg e Bertollo (1985a), realizaram estudos citogenéticos em 10 espécies de ciclídeos de várias localidades, sendo eles: *Astronotus ocellatus*, *Batrachops semifasciatus*, *Cichlasoma facetum*, *Chaetobranchopsis australe*, *Crenicichla lacustris*, *Crenicichla lepidota*, *Crenicichla vittata*, *Geophagus brasiliensis*, *Geophagus surinamensis* e *Gymnogeophagus balzanii*. Todas as espécies apresentam  $2n = 48$  cromossomos, em ambos os sexos, ocorrendo variações no NF: *C. australe* NF = 48, *G. brasiliensis* e *G. balzanii* apresentaram NF = 50, *G. surinamensis* NF = 52, *B. semifasciatus* e os três *Crenicichla* NF =

54, *C. facetum* NF = 58 e *A. ocellatus* NF = 60. A impregnação pelo nitrato de prata evidenciou em todas as espécies 1 par de cromossomos portadores da NOR, localizada na porção terminal ou intersticial, exceto em *C. australe* que apresentou apenas 1 cromossomo nucleolar. Todas as marcações das NORs se encontravam sobre as constrições secundárias (Feldberg e Bertollo, 1985b).

Martins *et al.* (1995) estudando 5 espécies de ciclídeos: *Cichlasoma paranaense*, *Geophagus brasiliensis*, *Satanoperca papaterra*, *Crenicichla niederleinii* e *C. lepidota*, da região de Porto Rico, da bacia do rio Paraná – PR, exceto *G. brasiliensis* que pertencia ao rio Pirapó, da bacia do rio Paranapanema – PR, observaram um número diplóide (2n) igual a 48 cromossomos em todas as espécies, em ambos os sexos, mas também houve variações nas fórmulas cariotípicas entre eles (Tabela 1).

Ainda, nestas cinco espécies analisadas por Martins *et al.* (*op. cit.*), a heterocromatina foi limitada à região pericentromérica e a blocos sobre a constrição secundária, exceto em *C. niederleinii* que não apresentou um padrão de banda C satisfatório e somente em *C. lepidota* apareceu uma marcação intersticial adicional. A análise das regiões organizadoras de nucléolo (NORs) detectou apenas 1 par nas espécies, exceto em *C. lepidota* que apresentou NORs múltiplas (2 pares).

Outro estudo em *Geophagus brasiliensis* foi conduzido por Brum *et al.* (1998) de duas lagoas diferentes do Rio de Janeiro: Rodrigo de Freitas e Maricá. Em ambas as localidades o número diplóide encontrado foi de 48 cromossomos, sendo o NF igual a 56 e 54, respectivamente. As NORs foram encontradas no braço curto de 1 par cromossômico, com marcações terminais; mas na população da lagoa Rodrigo de Freitas observou-se um mosaico de NORs, sendo encontradas de 1 a 6 marcações, com variações no tipo cromossômico. O bandamento C evidenciou marcações pericentroméricas e blocos heterocromáticos teloméricos em alguns cromossomos.

Loureiro (1999) também realizou estudos em *G. brasiliensis* das bacias dos rios Tibagi – PR e Itajaí-Açu – SC e duas populações de *Cichlasoma paranaense*, apenas da bacia do rio Tibagi – PR, que revelaram o 2n igual a 48 cromossomos e NF = 54 e 68, respectivamente. A NOR em *G. brasiliensis* estava localizada em 1 par de cromossomos st-a coincidindo com a constrição secundária, já em *C. paranaense* este par se localizava em cromossomos sm, exceto uma das populações que apresentava NORs múltiplas. Em ambas as espécies o tratamento com cromomicina (CMA<sub>3</sub>) coincidiu com as marcações encontradas pela impregnação pelo nitrato de prata, e o fluorocromo DAPI não revelou nenhuma marcação, sendo as contrições secundárias negativas para este.

Em *G. brasiliensis* a heterocromatina se manteve conservada na região centromérica, sendo também observada em região telomérica, correspondendo à constrição secundária, e uma marcação intersticial. Em *C. paranaense*, após utilização da enzima de restrição *Alu* I foi observado um padrão semelhante à distribuição da heterocromatina, localizada em posição centromérica e um bloco telomérico sobre a constrição secundária (LOUREIRO, 1999).

Estudos realizados por Uribe-Alcocer *et al.* (1999) em *Cichlasoma instlanum*, pertencente aos rios Amacuzar e Huámito no México, revelaram  $2n = 48$  cromossomos e  $NF = 56$ , nas duas populações. O padrão do bandamento G, com bandas centroméricas em alguns cromossomos sm e intersticiais em alguns st-a, foi similar em exemplares de ambas as localidades.

O primeiro dado citogenético do gênero *Crenicichla* foi apresentado por Oyhenart-Perera *et al.* em 1975, descrevendo *C. sexatilis*, mostrando  $2n = 48$  com 2 pares de cromossomos metacêntricos e 22 pares de acrocêntricos e número fundamental (NF) igual 52. Posteriormente, Thompson (1979) investigou 4 espécies do gênero *Crenicichla*: *C. lepidota*, *C. lucius*, *C. notophthalmus* e *C. strigata*, todas com  $2n = 48$  e estrutura cariotípica de 6 cromossomos sm e 42 cromossomos st-a e  $NF = 54$ .

Loureiro *et al.* (2000) estudaram duas espécies de *Crenicichla*: *C. niederleinii*, da bacia do rio Tibagi – PR e *Crenicichla* sp., da bacia do rio Itajaí-Açu – SC, com número diplóide igual a 48 cromossomos e  $NF$  igual a 56 e 58, respectivamente. A constrição secundária foi encontrada no braço curto do primeiro par cromossômico metacêntrico em ambas as espécies onde, através da impregnação por nitrato de prata, mostrou-se AgNOR positiva. O bandamento C mostrou-se conservativo, apresentando o mesmo padrão observado por Martins *et al.* (1995), em *C. niederleinii* e *C. lepidota*.

Feldberg e Bertollo (1985b) também tinham observado que a constrição secundária era AgNOR positiva nas espécies *Crenicichla lacustris*, *C. vittata*, *C. lepidota* e Martins *et al.* (1995) em *C. niederleinii*.

Ainda, nas duas espécies de *Crenicichla* analisadas por Loureiro *et al.* (2000), o tratamento com CMA<sub>3</sub> mostrou resultados similares a do nitrato de prata (NOR), caracterizando uma região rica em bases CG e no tratamento com DAPI não foi observada nenhuma marcação, sendo a região da constrição secundária negativa, semelhante ao resultado de Loureiro (1999) em *G. brasiliensis* e *C. paranaense*.

Lorscheider (2004) estudando as espécies *C. niederleinii* e *C. iguassuensis*, dos rios Piquiri e Iguaçu – PR, respectivamente, verificou um  $2n$  igual a 48 cromossomos e

NF = 64. As NORs estavam localizadas no segundo par de cromossomos sm, correspondendo com a constrição secundária. O fluorocromo específico mitramicina, evidenciou regiões CG ricas em um par cromossômico, correspondente à NOR. A heterocromatina mostrou-se distribuída nas regiões centroméricas e em blocos associados às NORs.

Mais recentemente, Mizoguchi *et al.* (2007) analisaram três espécies de *Crenicichla*: *C. iguassuensis*, *Crenicichla* sp. 1 e *Crenicichla* sp. 2, do rio Iguazu – PR. As análises citogenéticas mostraram similaridades em relação ao  $2n = 48$  cromossomos, fórmulas cariotípicas e NF = 56. A impregnação por nitrato de prata evidenciou marcações intersticiais no braço curto do primeiro par metacêntrico para todas as três populações de *Crenicichla*, coincidentes com as constrições secundárias e com as marcações de cromomicina A<sub>3</sub>. O padrão de heterocromatina também foi similar entre as três espécies, com bandas pericentroméricas em quase todos os cromossomos, entretanto, *Crenicichla* sp. 2 apresentou marcações em ambas regiões terminais de alguns cromossomos, padrão este que não tinha sido observado ainda no gênero *Crenicichla*. A NOR não se mostrou banda C positiva, podendo ser característico destas espécies do rio Iguazu, já que a mesma espécie analisada por Lorscheider (2004), do rio Piquiri - PR, apresentou associação da heterocromatina com a NOR.

Em estudos feitos com *Geophagus brasiliensis* por Pires *et al.* (no prelo) de diferentes pontos da bacia do rio Tibagi - PR, também foi observada a ocorrência de um complemento de 48 cromossomos, sendo a maioria do tipo subtelo-acrocêntrico, uma característica comum em *G. brasiliensis*, com NF = 52. A AgNOR foi observada no braço curto de um par cromossômico do grupo st-a, coincidindo com a constrição secundária, nas duas populações sendo que em uma delas foi observado um heteromorfismo de tamanho desta região. Resultados coincidentes foram encontrados pelo tratamento com o fluorocromo cromomicina (CMA<sub>3</sub>), comprovando que a NOR, nesta espécie, é rica em pares de bases CG. A heterocromatina mostrou-se distribuída na região centromérica da maioria dos cromossomos, assim como na constrição secundária.

Vários trabalhos como os de Feldberg e Bertollo (1985b), Martins *et al.* (1995), Brum *et al.* (1998), Loureiro (1999), Loureiro *et al.* (2000), relatam um heteromorfismo no tamanho das NORs entre os cromossomos homólogos, podendo ocorrer variações tanto intra quanto interindividuais.

Em 2006, Vicari *et al.* analisaram *G. brasiliensis* e *C. facetum* provenientes de diferentes rios do estado do Paraná, as quais apresentaram  $2n = 48$  cromossomos, com predominância de cromossomos do tipo subtelo-acrocêntricos, caracterizando um NF = 54 e

58, respectivamente. A região organizadora de nucléolos foi identificada no braço curto de um par st-a, coincidente com a constrição secundária e correspondente às marcações pelo fluorocromo CMA<sub>3</sub>. A banda C revelou marcações heterocromáticas nas regiões pericentroméricas e AgNORs para ambas as espécies. Entretanto, os autores verificaram bandas intersticiais em alguns cromossomos de *G. brasiliensis* do rio Jaguariaíva, além de apresentar uma maior quantidade de heterocromatina quando comparada com as outras populações.

A hibridação *in situ* (FISH), quando realizada com sondas de DNAr 18S, revela com exatidão os cromossomos portadores das regiões organizadoras de nucléolos, confirmando os resultados obtidos pelas técnicas de nitrato de prata, como pode ser evidenciado em *Oreochromis niloticus* (OLIVEIRA *et al.*, 1998; OLIVEIRA *et al.*, 1999), *Geophagus brasiliensis* (PIRES *et al.*, no prelo; VICARI *et al.*, 2006) e *Cichlasoma facetum* (VICARI *et al.*, *op. cit.*). Em relação à utilização da sonda de DNAr 5S, Vicari *et al.* (2006) observaram marcações intersticiais no braço longo de cromossomos diferentes aos dos portadores dos cístrons de DNAr 18S, em *C. facetum* e *G. brasiliensis*.

Polimorfismos cromossômicos já foram relatados em Cichlidae por Martins-Santos *et al.* (2005), onde a espécie *Laetacara cf. dorsigera* apresentou 4 citótipos diferentes, com  $2n = 46, 45, 44$  e  $43$  cromossomos. As diferenças nas fórmulas cariotípicas estavam relacionadas com o número de cromossomos metacêntricos presentes, sendo estes inversamente proporcionais ao seu número diplóide, levando assim a um NF constante igual 48. Eventos de fusões cêntricas, como a translocação Robertsoniana, e formação de isocromossomo, estariam envolvidos neste processo de polimorfismo, explicando a variação do número diplóide e dos cromossomos metacêntricos nesta espécie.

Pesquisadores como Thompson (1979), Feldberg e Bertollo (1985a), Brum *et al.* (1998), Martins *et al.* (1995), Loureiro *et al.* (2000), entre outros, não confirmam a presença de cromossomo sexual nas espécies de ciclídeos estudadas.

Segundo Feldberg *et al.* (2004), que realizou um trabalho com *Crenicichla reticulata*, *Cichla monoculus* e *Cichla* sp. da bacia Amazônica, foi possível verificar a presença de cromossomos supranumerários ou Bs em células somáticas. Essas três espécies apresentaram  $2n$  igual a 48 cromossomos, mais 1 a 3 microcromossomos B. A banda C revelou que este microcromossomo era completamente heterocromático.

Martins-Santos *et al.* (2005) também observaram em *Laetacara cf. dorsigera* de 1 a 2 cromossomos B em um dos seus citótipos ( $2n = 44$  cromossomos) e sua origem poderia ser explicada pela perda de segmentos cromossômicos da região centromérica,

envolvidos no processo de fusão cêntrica de dois acrocêntricos.

Anteriormente, Feldberg e Bertollo (1984) e Martins *et al.* (1995) observaram cromossomos B em *Gymnogeophagus balzanii*, *Geophagus brasiliensis*, *Satanoperca papaterra* e *Crenicichla niederleinii*. Em *G. balzanii* o cromossomo B estava limitado a células germinativas (FELDBERG e BERTOLLO, 1984; SALGADO *et al.*, 1994; respectivamente). Corpúsculos de cromatina foram encontrados em células somáticas de *G. brasiliensis* da bacia do rio Paranapanema – PR, *S. papaterra* e *C. niederleinii* da bacia do rio Paraná – PR, e estes corpúsculos podem ser considerados cromossomos B microcromossomos (MARTINS *et al.*, 1995).

Considerando os dados cromossomais disponíveis em mais de 120 espécies de ciclídeos, somente oito espécies foram descritas carregando cromossomos B. Isto representa cerca de 5,2% dos ciclídeos cariotipados, o qual consiste com a frequência de cromossomos B nos peixes em geral (FELDBERG *et al.*, 2004).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Este trabalho teve por objetivo geral caracterizar citogeneticamente diferentes espécies da família Cichlidae, visando contribuir com mais informações a respeito desta família.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- analisar e comparar os cariótipos de espécies de peixes da família
- Cichlidae da bacia do Rio Paranapanema, da bacia do Lago Guaíba/RS e do Tramandaí/RS;
- detectar as regiões organizadoras de nucléolos (NORs) e analisar a distribuição de heterocromatina;
- identificar as regiões cromossômicas ricas em pares de bases G-C e A-T; contribuir com mais dados citogenéticos sobre este grupo de peixes para um melhor entendimento de suas relações evolutivas.

### 3 ESPÉCIES ESTUDADAS E LOCAIS DE COLETA

Para o presente trabalho foram analisadas nove espécies de peixes da família Cichlidae, pertencendo a quatro gêneros: *Australoheros*, *Crenicichla*, *Geophagus* e *Gymnogeophagus* (Figura 1). Estas espécies foram coletadas em diferentes pontos de duas bacias hidrográficas distintas:

#### 3.1 BACIA DA LAGOA DOS PATOS/RS

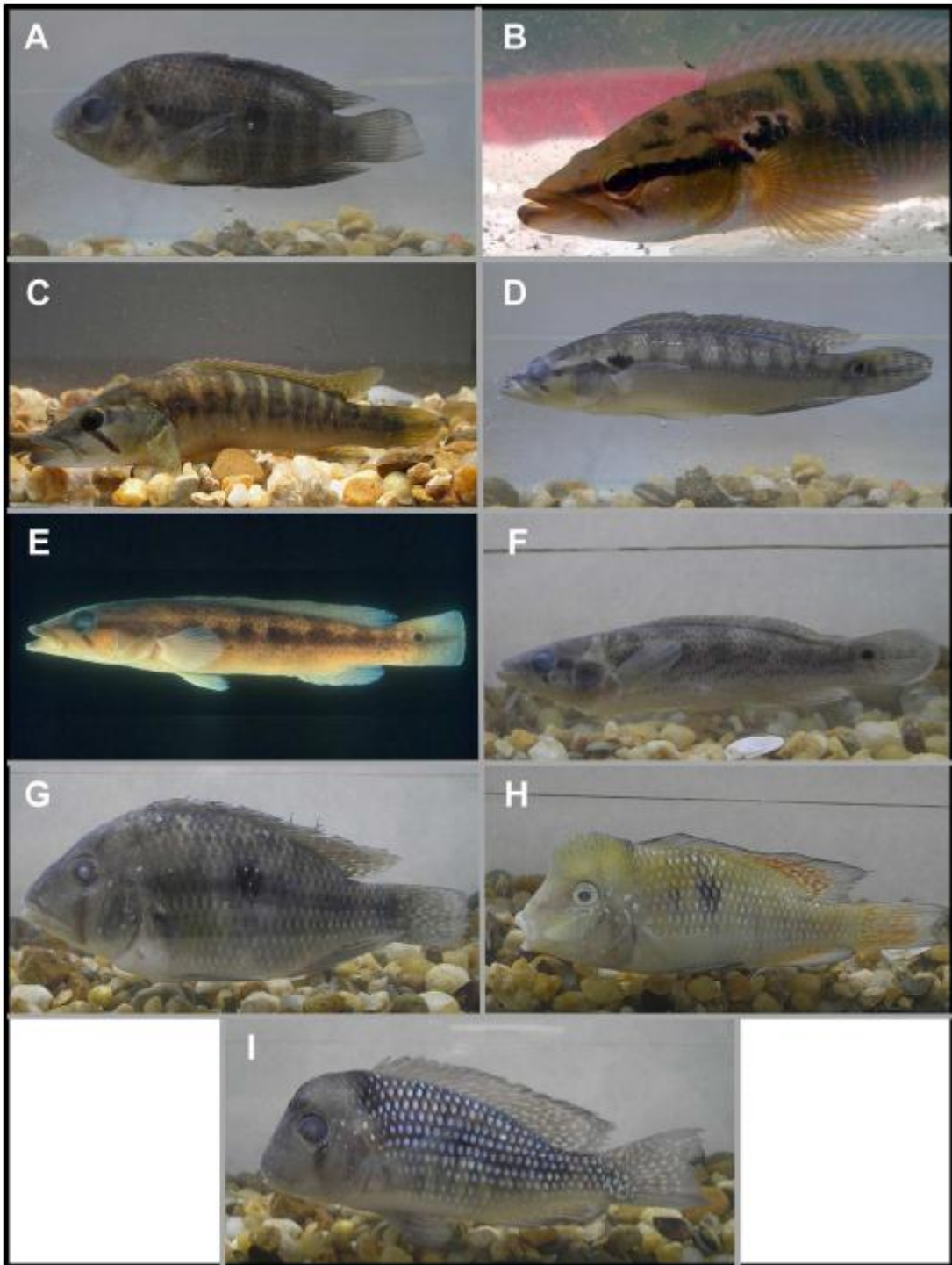
A bacia Lagoa dos Patos pode ser subdividida em duas outras menores: as bacias do Lago Guaíba e do Tramandaí (Figura 2). No Lago Guaíba foram coletadas seis espécies, em diferentes pontos, sendo:

- Saco da Alemoa: *Geophagus brasiliensis*, *Crenicichla lepidota*, *Crenicichla punctata*, *Gymnogeophagus gymnogenys*, *Gymnogeophagus labiatus* e *Australoheros* sp.;
- Gasômetro: *G. brasiliensis*, *C. lepidota*, *C. punctata* e *G. gymnogenys*;
- Barra do Ribeiro: *G. gymnogenys*;
- Forqueta: *G. labiatus*, *C. punctata* e *Australoheros* sp.;
- Forquetinha: *Australoheros* sp.

Na bacia do Tramandaí foram coletadas apenas duas espécies: *Crenicichla maculata* e *Australoheros* sp., ambas do rio Maquiné (Figura 2)

#### 3.2 BACIA DO RIO PARANAPANEMA

Nesta bacia foram coletadas duas espécies de *Crenicichla*: *C. britskii*, coletada no ribeirão Taquari/PR e rio Paranapanema/SP, e *C. haroldoi* coletada no ribeirão Pavão/PR (Figura 3).

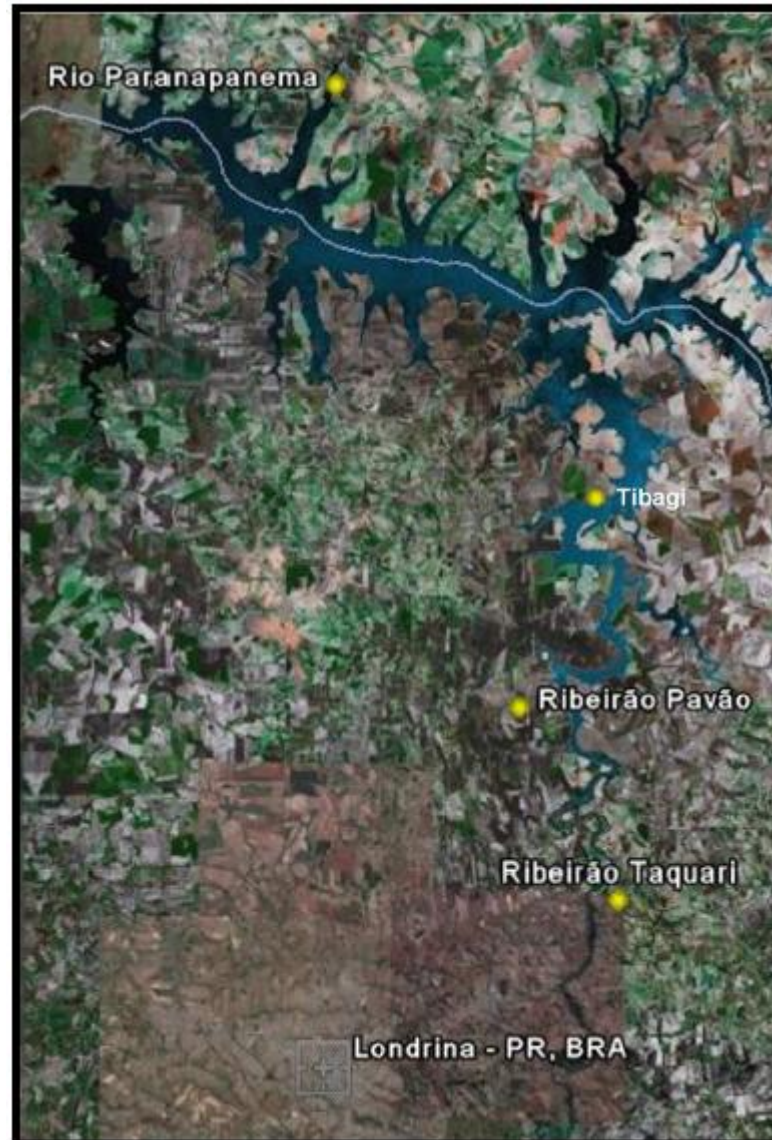


**Figura 1** – Fotos das espécies coletadas: *Australoheros* sp. (A), *Crenicichla britskii* (B), *Crenicichla haroldoi* (C), *Crenicichla lepidota* (D), *Crenicichla maculata* (E), *Crenicichla punctata* (F), *Geophagus brasiliensis* (G), *Gymnogeophagus gymnogenys* (H) e *Gymnogeophagus labiatus* (I).



**Figura 2** – Imagens de satélite da Bacia da Lagoa dos Patos/RS e do Tramandaí/RS. Os pontos amarelos indicam os locais de coletas.

Fonte: Google Earth.



**Figura 3** – Imagens de satélite dos locais de coleta da bacia do rio Paranapanema. Os pontos amarelos indicam os locais de coletas.

**Fonte:** Google Earth.

## CAPÍTULO 1

# **Diversidade cariotípica entre duas espécies de *Crenicichla* (Perciformes, Cichlidae) da bacia do rio Paranapanema\***

\* Este artigo será enviado para Journal of Fish Biology.

## **Diversidade cariotípica entre duas espécies de *Crenicichla* (Perciformes, Cichlidae) da bacia do rio Paranapanema.**

Larissa Bettin Pires<sup>1</sup>, Lucia Giuliano-Caetano<sup>1</sup> e Ana Lúcia Dias<sup>1</sup>

1. Departamento de Biologia Geral, Universidade Estadual de Londrina, CCB, 86051-990, Londrina, PR, Brasil, larissa.pires@gmail.com

### **Resumo**

As análises citogenéticas foram realizadas em duas espécies pertencentes ao gênero *Crenicichla*: *C. britskii* e *C. haroldoi*, coletadas em diferentes pontos da bacia do rio Paranapanema. As duas espécies apresentaram um número diplóide igual a 48 cromossomos, com diferenças intra e interespecíficas quanto às fórmulas cariotípicas. *Crenicichla britskii*, apresentou  $2m + 6sm + 40st-a$  e  $NF = 56$  para a população do ribeirão Taquari/PR; e  $4m + 6sm + 38st-a$  e  $NF = 58$  para a população do rio Paranapanema/SP; *C. haroldoi* apresentou  $6m + 4sm + 38st-a$  e  $NF = 58$ . O nitrato de prata detectou NORs simples em ambas as espécies, com exceção da população de *C. britskii* do rio Paranapanema que apresentou uma variação de 2 a 4 cromossomos nucleolares. As NORs foram coincidentes com constrições secundárias, exceto em *C. britskii* do rio Paranapanema que apresentou apenas um dos pares AgNORs (par 5) correspondente à constrição secundária. A heterocromatina mostrou-se distribuída nas regiões pericentroméricas dos cromossomos, sendo que as constrições secundárias revelaram-se heterocromáticas. A banda C revelou NORs heterocromáticas para as espécies, exceto um dos pares nucleolares (par 6) de *C. britskii* do rio Paranapanema, o qual também se mostrou CMA<sub>3</sub> negativo. Todos os demais cromossomos AgNORs foram CMA<sub>3</sub> positivos e através da coloração com DAPI não foi evidenciada nenhuma marcação fluorescente. Este trabalho mostra pela primeira vez os dados citogenéticos para estas espécies e revelam uma variabilidade cariotípica para *C. britskii* e um padrão conservativo para *C. haroldoi*.

**Palavras-Chaves:** *Crenicichla*, Cichlidae, NOR, BC, fluorocromos, Paranapanema

## Introdução

A família Cichlidae apresenta uma grande variedade de espécies de peixes, sendo considerada um grupo altamente especializado (Kullander, 1998). Dentre os ciclídeos, o gênero *Crenicichla* é um dos mais numerosos, compreendendo cerca de 74 espécies predadoras, facilmente reconhecidas devido a forma do corpo alongada, boca grande e prognata, ocorrendo em sua grande maioria na região tropical e subtropical da América do Sul (Kullander & Lucena, 2006).

Os ciclídeos são os peixes mais estudados citogeneticamente entre os Perciformes. No entanto, no gênero *Crenicichla*, apenas quinze espécies foram analisadas até o momento e, destas, apenas *Crenicichla* sp. não apresentou o número diplóide igual a 48 cromossomos, segundo um levantamento citogenético realizado por Feldberg *et al.* (2003).

O objetivo do presente trabalho foi analisar duas espécies de *Crenicichla*: *C. britskii* e *C. haroldoi*, através de diferentes técnicas de bandamento cromossômico, visando contribuir com mais informações para uma melhor caracterização deste gênero, sendo a primeira descrição citogenética para estas espécies.

## Material e Métodos

Foram analisados 9 exemplares (4 machos e 5 fêmeas) de *Crenicichla britskii* coletados no ribeirão Taquari/PR e no rio Paranapanema/SP; e 4 espécimes (2 machos e 2 fêmeas) de *Crenicichla haroldoi* coletados no ribeirão Pavão/PR. Todas as localidades pertencem à bacia do rio Paranapanema.

Para a obtenção dos cromossomos mitóticos, foi utilizada a técnica de preparação direta, proposta por Bertollo *et al.* (1978). A morfologia dos cromossomos foi embasada na razão dos braços proposta por Levan *et al.* (1964), com modificações, classificando-os em metacêntricos (m), submetacêntricos (sm), considerados com 2 braços cromossômicos, e subtelo-acrocêntricos (st-a) com 1 braço para a determinação do número fundamental (NF).

A detecção da região organizadora de nucléolos (NORs) pela impregnação por nitrato de prata e a determinação do padrão de heterocromatina foram realizados de acordo com as técnicas descritas por Howell e Black (1980) e Sumner (1972), respectivamente. Para a determinação dos sítios ricos em bases GC e AT foram utilizadas as técnicas de coloração com cromomicina A<sub>3</sub> e DAPI, de acordo com as técnicas de coloração descritas por Schweizer (1980), com modificações.

## Resultados

As duas analisadas apresentaram o número diplóide (2n) igual a 48 cromossomos, no entanto, foram observadas diferenças nas fórmulas cariotípicas: *Crenicichla britskii* com 4m + 6sm + 38st-a e NF = 58 para ambas as populações (Figura 1A e B); e *C. haroldoi* apresentou 6m + 4sm + 38st-a e NF = 58 (Figura 1C) (Tabela 1).

Os espécimes de *Crenicichla britskii*, do ribeirão Taquari (PR) apresentaram uma constrição secundária localizada na região terminal do braço longo do 5° par cromossômico do complemento, sendo um cromossomo do tipo sm (Figura 1A). Em *C. britskii* do rio Paranapanema (SP) e *C. haroldoi*, as constrições secundárias localizaram-se intersticialmente no braço curto do primeiro par cromossômico do grupo m (Figura 1B e

C). Além disso, *C. britskii* nas duas localidades, apresentaram uma constrição secundária adicional no braço longo do par 20 (st-a), para a população do Taquari e par 5 (sm) para a população do Paranapanema (Figura 1 A e B); nesta última localidade foi observado um heteromorfismo de tamanho da constrição entre os homólogos desse par (Tabela 1 e Figura 3).

As regiões organizadoras de nucléolos (AgNORs) foram localizadas em um par de cromossomos para *C. britskii* do ribeirão Taquari/PR e *C. haroldoi*, com marcações terminais no braço longo do 5° par do complemento (sm) (Figura 1D) e intersticiais no braço curto do maior par metacêntrico (Figuras 1F e 2C). As NORs foram coincidentes com as constrições secundárias observadas pela coloração com Giemsa.

Em *C. britskii*, da população do rio Paranapanema/SP, foi possível observar uma variação de 2 a 4 cromossomos AgNORs, estando as marcações localizadas nas regiões terminais dos braços curtos de um par subtelo-acrocêntrico (par 6) e dos braços longos de um par submetacêntrico (par 5), sendo este último coincidente com a constrição secundária adicional observada na coloração com Giemsa e apresentando o mesmo heteromorfismo quanto ao tamanho (Figuras 1E, 3 e Tabela 1).

A banda C revelou marcações heterocromáticas, distribuídas na região pericentromérica da grande maioria dos cromossomos e associadas às NORs em ambas espécies (Figura 2 A, B e C), exceto *C. britskii* do rio Paranapanema cuja NOR localizada no par 6 é banda C negativa (Figura 2 B). Em *C. britskii* as constrições observadas no par 1 (população do rio Paranapanema) e no par 20 (ribeirão Taquari) não relacionadas à AgNORs mostraram-se heterocromáticas (Figura 2 A e B).

O tratamento com o fluorocromo cromomicina A<sub>3</sub> evidenciou marcações fluorescentes coincidentes com a NOR, nas duas espécies analisadas, apresentando no par 5 de *C. britskii* do rio Paranapanema, o mesmo heteromorfismo de tamanho que já tinha

sido evidenciado pelo Giemsa e prata (Figura 1 D, E e F). *C. britskii* do rio Paranapanema, também apresentou uma marcação intersticial CMA<sub>3</sub> positiva no braço curto do primeiro par metacêntrico (Tabela 1). Na coloração com DAPI estas regiões não apresentaram marcações fluorescentes, aparecendo como bandas negativas (Figura 1 D, E e F).

**Tabela 1** - Resumo dos resultados obtidos com o gênero *Crenicichla* no presente trabalho (2n = número diplóide, NF = número fundamental, CS = Constrição Secundária, NORs = Regiões Organizadoras de Nucléolos, HC = Heterocromatina, CMA<sub>3</sub> = Cromomicina A<sub>3</sub>).

Espécies	Localidade	2n	Fórmula Cariotípica	NF	CS	NORs	HC	CMA <sub>3</sub>
<i>Crenicichla britskii</i>	Paranapanema (SP)	48	4 m + 6 sm + 38 st-a	58	Par 1 (i) Par 5 (t)*	Múltipla: Par 6 (t) Par 5 (t)*	C	Par 1 (i) Par 5 (t)*
	Taquari (PR)	48	4 m + 6 sm + 38 st-a	58	Par 5 (t) Par 20 (t)	Simples: Par 5 (t)	C	Par 5 (t)
<i>Crenicichla haroldoi</i>	Pavão (PR)	48	6 m + 4 sm + 38 st-a	58	Par 1 (i)	Simples: Par 1 (i)	C	Par 1 (i)

**Legenda:** t = terminal; i = intersticial; C = pericentromérica; \* = heteromorfismo.

## Discussão

As duas espécies de *Crenicichla* analisadas revelaram um número diplóide (2n) de 48 cromossomos, que ocorre em todas as espécies do gênero *Crenicichla* analisadas até o momento, exceto *Crenicichla* sp., estudada por Rezende *et al.* (1996), que apresentou 2n = 46 cromossomos. Segundo Thompson (1979), os ciclídeos apresentam 2n = 48 cromossomos do tipo subtelo-acrocêntricos em espécies basais, onde a presença de cromossomos meta-submetacêntricos significa que o cariótipo é derivado e quanto maior a presença de cromossomos acrocêntricos mais ancestral será o cariótipo. Esta hipótese é compartilhada por Feldberg *et al.* (2003) que considera o gênero *Crenicichla* mais derivado, pois apresenta cromossomos metacêntricos e submetacêntricos.

Apesar das espécies analisadas apresentarem o mesmo número diplóide,, elas diferiram na quantidade de cromossomos metacêntricos e submetacêntricos. *C. britskii*

apresentou 4m + 6sm + 38st-a e *C. haroldoi* 6m + 4sm + 38st-a. Tais diferenças podem ser devidas à inversões pericêntricas que estão desempenhando um papel importante na diversidade cariotípica destas espécies.

*C. britskii* do rio Paranapanema e *C. haroldoi* apresentaram uma constrição intersticial no braço curto do primeiro par cromossômico do grupo m, que também foi descrito por outros autores em outras espécies do gênero *Crenicichla*, como: *Crenicichla* sp., *C. iguassuensis*, *C. lacustris*, *C. lepidota*, *C. niederleinii* e *C. vittata* (Feldberg & Bertollo, 1985; Martins *et al.*, 1995; Loureiro *et al.*, 2000 e Mizoguchi *et al.*; 2007); demonstrando que este cromossomo, com constrição secundária intersticial, parece ser característico do gênero. *C. britskii*, do ribeirão Taquari, entretanto, não mostrou este par m com constrição intersticial e sim na região terminal do braço longo do 5° par cromossômico do complemento, sendo um cromossomo do tipo sm (Figura 3).

Interessante notar, que em *C. britskii*, de ambas as localidades, observou-se uma constrição secundária adicional no braço longo do par 20, para a população do Taquari e par 5 para a população do Paranapanema, com heteromorfismo de tamanho (Figura 3). A observação desta constrição secundária adicional nunca tinha sido relatada na literatura, podendo indicar, a princípio, uma característica diferencial para *C. britskii*.

Analisando os resultados obtidos para *Crenicichla haroldoi*, verificamos que os padrões encontrados tanto para a macro quanto a microestrutura foram semelhantes com as da literatura, apresentando características consideradas típicas deste gênero, tais como, a presença do maior par cromossômico com constrição secundária intersticial no braço curto, como visto em várias outras espécies de *Crenicichla* já estudadas (Feldberg *et al.*, 2003). Outras características como: um par de cromossomos marcados intersticialmente pelo nitrato de prata e CMA<sub>3</sub>, correspondente com a constrição secundária, e a distribuição pericentromérica da heterocromatina e coincidente com a

NOR, também são consideradas conservadas para *Crenicichla*, como frequentemente observado neste gênero por Martins *et al.* (1995), Loureiro *et al.* (2000), Mizoguchi *et al.* (2007), entre outros.

Entretanto, em *C. britskii* não foi observada esta conservação cariotípica, apesar de possuírem o mesmo número diplóide tão conservado no gênero e na família Cichlidae, pois apresentaram características próprias, que as diferiram em relação ao padrão geral encontrado para as demais espécies analisadas até o momento, bem como entre as populações aqui estudadas.

Na análise das NORs, através da impregnação por nitrato de prata, foi verificado um sistema de NORs simples para *C. britskii*, do ribeirão Taquari, com marcações no braço longo de um par cromossômico sm (par 5) correspondentes à constrição secundária (Figura 3). No entanto, em *C. britskii* do rio Paranapanema, foram observados 2 pares nucleolares: o par 5, correspondente à constrição secundária, e o par 6; a constrição encontrada no par 1 não é coincidente com sítios AgNORs (Figura 3). A ocorrência de NORs múltiplas pode indicar que esta população apresenta características apomórficas em relação à da outra localidade estudada, que possui NORs simples. O heteromorfismo de tamanho encontrado no par 5 em *C. britskii* do rio Paranapanema, pode ser devido a um crossing-over desigual entre os cromossomos homólogos.

A heterocromatina em *Crenicichla britskii* mostrou-se distribuída nas regiões pericentroméricas da maioria dos cromossomos e nas constrições secundárias, característica comum do gênero, entretanto, somente as constrições do par 5 para ambas as populações são correspondentes às AgNORs (Figura 3), indicando a presença de heterocromatina associada aos cístrons ribossomais e também não relacionada às NORs (Figura 3). O único relato de NORs múltiplas neste gênero foi feito por Martins *et al.* (1995) em *C. lepidota*, coletada na região de Porto Rico, da bacia do rio Paraná/PR.

Em *C. britskii* do rio Taquari foram verificadas marcações CMA<sub>3</sub> nos mesmos sítios AgNORs, entretanto *C. britskii*, do rio Paranapanema, que possui NORs múltiplas, apresentou novamente um padrão distinto, sendo observado que apenas um dos pares AgNOR (par 5) é CMA<sub>3</sub> positivo, isto é, rico em bases GC (Figura 3). Nesta mesma localidade observou-se uma marcação intersticial no par 1, que é coincidente com a heterocromatina sendo esta, portanto, composta predominantemente de bases GC (Figura 3), diferente das heterocromatinas pericentroméricas.

As diferenças citogenéticas encontradas em *C. britskii* podem ser resultantes de um isolamento geográfico entre as populações do ribeirão Taquari/PR e do rio Paranapanema/SP. Segundo Ploeg (1991) ao estudar *C. britskii*, verificou que esta espécie era endêmica da bacia do Alto Paraná e que este endemismo era resultante da pequena capacidade de deslocamento destes peixes, pelo fato de serem altamente territorialistas, de modo geral, não realizam extensas migrações ao longo do seu ciclo de vida e mantêm-se isoladas (Castro, 1999).

De acordo com Oliveira *et al.* (1988), populações que apresentam menor mobilidade e quantidade de indivíduos são mais instáveis em relação à sua macroestrutura cariotípica, visto que o fluxo gênico é menor proporcionando, assim, uma maior taxa de fixação de alguma alteração cromossômica. É o que pode estar ocorrendo com as duas populações de *C. britskii*, onde o isolamento geográfico facilitaria a fixação de rearranjos cromossômicos, levando a um processo de especiação, sendo que a população de *C. britskii* do rio Paranapanema apresenta características mais derivadas que a do ribeirão Taquari.

## Referências

- Bertollo, L. A. C., Takahashi, C. S., Moreira-Filho, O. (1978) Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). *Brazil. J. Genet* **1**, 103-120.
- Castro, R. M. C. (1999) Evolução da ictiofauna de riachos sul-americanos: padrões gerais e possíveis processos causais. *In: Caramaschi, E. P., Mazzoni, R., Peres-Neto, P. R. (eds) Ecologia de Peixes de Riachos. Série Oecologia Brasiliensis, Rio de Janeiro, Brasil, p. 139-155.*
- Feldberg, E., Bertollo, L. A. C. (1985) Karyotypes of 10 species of neotropical Cichlids (Pisces, Perciformes). *Caryologia* **38**, 257-268.
- Feldberg, E., Porto, J. I. R., Bertollo, L. A. C. (2003) Chromosomal changes and adaptation of cichlid fishes during evolution. *In: Val, A.L.; Kapoor, B.G., Fish Adaptations, New Dehli & New York, Science Publishers. 418p.*
- Howell, W. M., Black, D. A. (1980) Controlled silver staining of nucleolus organizing regions with a protective colloidal developer: a one step method. *Experientia* **36**, 1014-1015.
- Kullander, S. O. (1998) A phylogeny and classification of the South American Cichlidae (Teleostei: Perciformes). *In: Malabarba, L. R.; Reis, R. E.; Vari, R. P.; Lucena, Z. M.*

S.; Lucena. C. A. S., *Phylogeny and classification of neotropical fishes*. EDIPUCS. 1998.

Kullander, S. O., Lucena, C. A. S. (2006) A review of the species of *Crenicichla* (Teleostei: Cichlidae) from the Atlantic coastal rivers of Southeastern Brazil from Bahia to Rio Grande do Sul States, with descriptions of three new species. *Neotropical Ichthyology* **4**, 127-146.

Levan, A., Fredga, K., Sandberg, A. A. (1964) Nomenclature for centromeric position on chromosome. *Hereditas* **52**, 201-204.

Loureiro, M. A., Giuliano-Caetano, L., Dias, A. L. (2000) Cytogenetic characterization of two species of the Genus *Crenicichla* (Pisces, Cichlidae). *Cytologia* **65**, 57-63.

Martins, I. C., Portella-Castro, A. L. B., Júlio Jr, H.F. (1995) Chromosomes analysis of 5 species of the Cichlidae family (Pisces, Perciformes) from the Parana river. *Cytologia* **60**, 223-231.

Mizoguchi, S. M. H. K., Portella-Castro, A. L. B., Martins-Santos, I. C. (2007) Cytogenetic characterization of *Crenicichla* (Pisces, Perciformes, Cichlidae) of the Iguaçu river. *Genetics and Molecular Research* **6**, 650-656.

Oliveira, C. L. F., Almeida-Toledo, L. M., Foresti, F., Britski, H. A., Toledo-Filho, S. A. (1988) Chromosome formulae of Neotropical freshwater fishes. *Brazilian Journal of Genetic* **11**, 577-624.

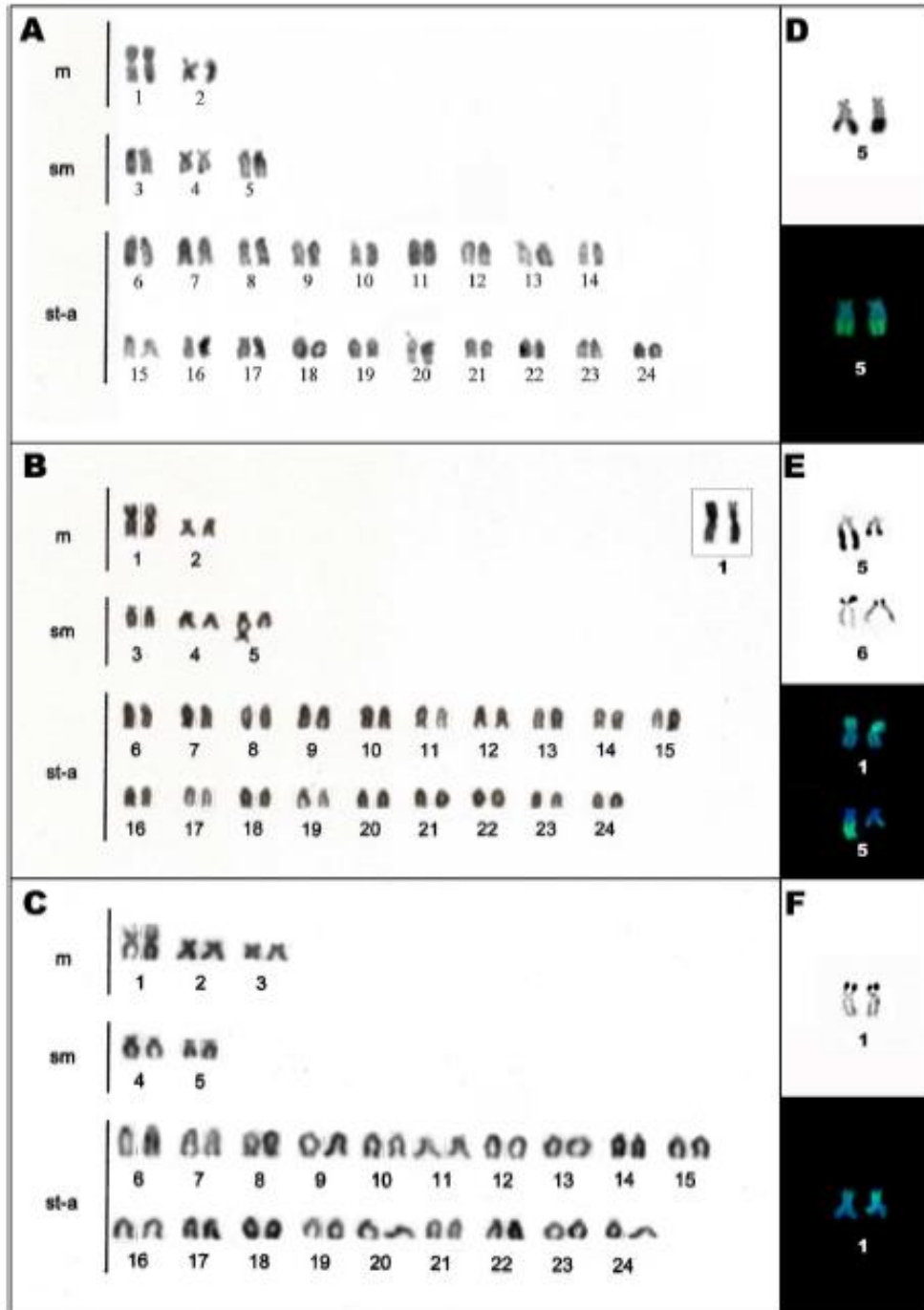
Ploeg, A. (1991) Revision of the South American cichlid genus *Crenicichla* Heckel, 1840, with descriptions of fifteen new species and considerations on species groups, phylogeny and biogeography (Pisces, Perciformes, Cichlidae). Academic Proefschrift, Universiteit van Amsterdam, 1991.

Rezende, A. B., Queiroz, C. C., Caldart, F. A., Ribeiro, L., Miyazawa, C. S. (1996) Notas preliminares do estudo cariotípico de distintos grupos de peixes da bacia do rio Paraguai, no estado do Mato Grosso. In: *VI Simpósio de Citogenética Evolutiva Aplicada em Peixes Neotropicais*. p.105.

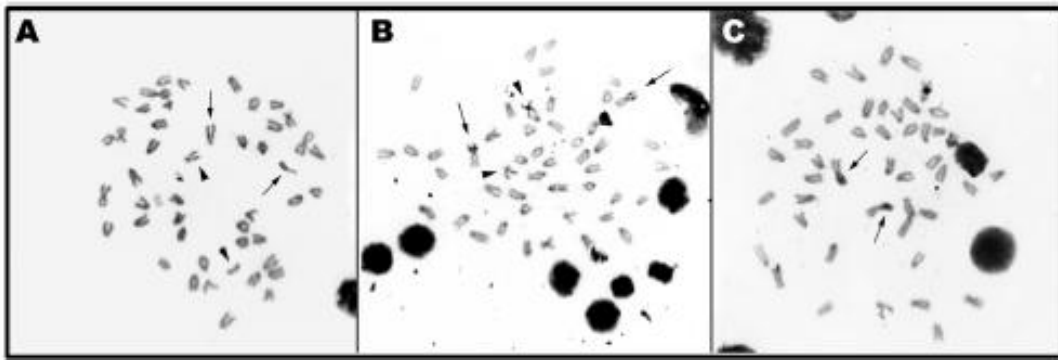
Schweizer, D (1980) Simultaneous fluorescent staining of R bands and specific heterochromatic regions (DA/DAPI) in human chromosomes. *Cytogenetics and Cell Genetics* **27**, 190-193.

Sumner, A. T. (1972) A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Expl. Cell. Res* **75**, 304-306.

Thompson, K. W. (1979) Cytotaxonomy of 41 species of neotropical Cichlidae. *Copeia* **4**, 679-691.



**Figura 1** – Cariótipos e pares AgNORs/CMA3 de: *Crenicichla britskii*, do ribeirão Taquari (A e D), do rio Paranapanema (B e E) e *C. haroldoi* (C e F), respectivamente. Em detalhe, nos cariótipos, as constrições secundárias.



**Figura 2** – Metáfases somáticas com banda C de: *Crenicichla britskii*, do ribeirão Taquari (A), do rio Paranapanema (B) e *C. haroldoi* (C). As setas indicam os pares cromossômicos com constrição secundária e as cabeças de setas as constrições secundárias adicionais em *C. britskii*.

		Pares Cromossômicos			
		1	5	6	20
<b>Taquari</b>	Giemsa				
	NOR				
	Banda C				
	CMA <sub>3</sub> / DAPI				
<b>Paranapanema</b>	Giemsa				
	NOR				
	Banda C				
	CMA <sub>3</sub> / DAPI				

**Figura 3** – Pares cromossômicos com constrições secundárias, AgNORs, Banda C e CMA<sub>3</sub> das populações de *C. britskii*.

## CAPÍTULO 2

# **Estudos citogenéticos em três espécies de *Crenicichla* (Perciformes, Cichlidae) da bacia hidrográfica Lagoa dos Patos/RS\***

\* Este artigo será enviado para Biological Research.

# Estudos citogenéticos em três espécies de *Crenicichla* (Perciformes, Cichlidae) da bacia hidrográfica Lagoa dos Patos/RS

LARISSA BETTIN PIRES<sup>1\*</sup>, LUIZ ROBERTO MALABARBA<sup>2</sup>, LUCIA GIULIANO-CAETANO<sup>1</sup> e ANA LÚCIA DIAS<sup>1</sup>

1. Departamento de Biologia Geral, Universidade Estadual de Londrina, CCB, 86051-990, Londrina, PR, Brasil, \* Corresponding autor: larissa.pires@gmail.com

2. Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 91501-970, Porto Alegre, RS, Brasil.

## Resumo

No presente trabalho foram analisadas três espécies de *Crenicichla*, coletadas na região da Lagoa dos Patos/RS. Todos exemplares apresentaram  $2n = 48$  cromossomos, distribuídos em  $4m + 6sm + 38st-a$  e  $NF = 58$  para *Crenicichla punctata* e  $6m + 42st-a$  e  $NF = 54$  para *Crenicichla maculata* e *Crenicichla lepidota*, com ocorrência de cromossomos B de tamanho pequeno nesta última espécie, com variação tanto inter quanto intra-individual e totalmente heterocromático. Em todas as espécies as NORs localizaram-se na região intersticial do braço curto do maior par cromossômico do complemento, correspondentes às constrições secundárias, sendo que em *C. maculata* foi observado heteromorfismo de tamanho da NOR. O tratamento com  $CMA_3$  revelou apenas a NOR com marcações fluorescentes e com o DAPI não foi evidenciada nenhuma marcação cromossômica. A heterocromatina mostrou-se distribuída principalmente nas regiões pericentroméricas dos cromossomos e coincidentes com as NORs. Este estudo mostra a primeira descrição citogenética de *C. maculata* e *C. punctata* e confirma um padrão conservativo no gênero, mostrando mais uma ocorrência de cromossomos B neste grupo de peixes.

**Palavras-Chaves:** *Crenicichla*, Cichlidae, cromossomos B, bandamento cromossômico, Lagoa dos Patos/RS

## Introdução

O sistema hidrológico do Rio Grande do Sul é composto por duas bacias de drenagem principais: a Bacia do Uruguai, cujas águas vão ter no estuário do Rio da Prata, e a Bacia do Sudeste, que predomina na porção leste do Estado. A Bacia do Sudeste divide-se em dois subsistemas, sendo o mais importante o da Laguna dos Patos, onde está localizado o complexo do Lago Guaíba (Hartmann e Scheittini, 1991).

A Bacia do Lago Guaíba representa um importante manancial hídrico, sendo um local de ocorrências sazonais de algumas espécies de peixes provenientes do sul da Lagoa dos Patos com 56 espécies residentes permanentes, abrigando igualmente grande diversidade animal e vegetal (Möllerke et al., 2003).

Dentro dos ciclídeos neotropicais, o gênero *Crenicichla* apresenta 74 espécies válidas, sendo considerado o mais numeroso, e é amplamente distribuído no território brasileiro (Kullander, 2003). Este gênero é bastante estudado do ponto de vista citogenético, com o primeiro estudo realizado por Oyhenart-Perera et al. (1975) em *Crenicichla sexatilis*. Desde então, vários estudos citogenéticos vem sendo realizados, estando em sua maioria resumidos à identificação do número diplóide, totalizando 15 espécies analisadas, até o momento.

Este trabalho teve por objetivo caracterizar citogeneticamente três espécies de *Crenicichla*: *C. lepidota*, *C. maculata* e *C. punctata*, através de análise convencional e de bandamento cromossômico, sendo a primeira descrição para as duas últimas espécies, visando contribuir com mais informações para este grupo de peixes.

## Material e Métodos

No presente estudo foram analisadas três espécies de *Crenicichla*: 5 indivíduos (2 machos, 1 fêmea e 2 de sexo indeterminado) de *C. lepidota*, 18 indivíduos (12 machos, 5 fêmeas e 1 de sexo indeterminado) de *C. punctata*, coletados em diferentes pontos da bacia do Lago Guaíba: Saco da Alemoa, Gasômetro e rio Forqueta, sendo que só *C. punctata* foi coletada nesta última localidade, e 6 indivíduos (2 machos e 4 fêmeas) de *C. maculata*, coletados no rio Maquiné/RS.

As preparações cromossômicas foram obtidas de acordo com a técnica de preparação direta, descrita por Bertollo et al. (1978). Os cromossomos foram classificados em metacêntricos (m), submetacêntricos (sm) e subtelo-acrocêntricos (st-a), conforme Levan et al. (1964), com modificações. Os cromossomos meta e submetacêntricos foram considerados com dois braços e o grupo st-a com um braço, para determinação do número fundamental (NF).

As regiões organizadoras de nucléolos e o padrão de distribuição da heterocromatina foram evidenciados segundo as técnicas propostas por Howell e Black (1980) e Sumner (1972), respectivamente. Os tratamentos com fluorocromos base específicos cromomicina A<sub>3</sub> e DAPI foram realizados de acordo com a técnica de coloração descrita por Schweizer (1980), com modificações.

## Resultados e Discussão

Estes são os primeiros dados citogenéticos para *Crenicichla maculata* e *C. punctata* e assim como *C. lepidota* todas apresentaram um conservado número diplóide

(2n) de 48 cromossomos, corroborando com os dados da literatura até o momento, já que todas as espécies de *Crenicichla* possuem este 2n, exceto *Crenicichla* sp., estudada por Rezende et al. (1996) com  $2n = 46$  cromossomos. Entretanto, apesar da conservação do número diplóide, variações na fórmula cariotípica foram encontradas, onde *C. lepidota* e *C. maculata* apresentaram a mesma constituição de  $6m + 42st-a$  e número fundamental (NF) igual a 54 (Figura 1 A e B) e *C. punctata*  $4m + 6sm + 38st-a$  e  $NF = 58$  (Figura 1C). O número fundamental (NF), bem como o 2n, está entre as faixas encontradas na literatura, que é de 52 à 62.

Variações na fórmula cariotípica, como as encontrada em *Crenicichla punctata* em relação às outras duas espécies, já foram encontradas em outras espécies de *Crenicichla* e pode ser atribuída a eventos de inversões pericêntricas, como já sugerido por Feldberg e Bertollo (1985).

Para as três espécies analisadas foi observada uma constrição secundária intersticial no braço curto do primeiro par cromossômico do grupo m (Figura 1A, B e C), o qual parece ser um cromossomo característico deste gênero, talvez um marcador citotaxonômico, sendo observado também em *C. lacustris* e *C. vittata* (Feldberg e Bertollo, 1985), *C. lepidota* (Martins et al., 1995), *Crenicichla* sp., *C. niederleinii* (Loureiro et al., 2000) e *C. iguassuensis* (Mizoguchi et al., 2007).

Nas populações de *C. lepidota* dos 5 indivíduos analisados apenas dois apresentaram de 1 a 3 cromossomos B ou supranumerários, de tamanho pequeno (Figura 1 A), com variação tanto inter quanto intra-individual, numa frequência de 13,64 % (Tabela 1), sendo que um deles com uma maior frequência deste cromossomo. Dois e três Bs foram observados apenas em *C. lepidota* da população do Gasômetro/RS que, coincidentemente é uma região mais urbana e mais poluída.

**Tabela 1** - Freqüência de cromossomos B nas células somáticas de *C. lepidota*.

INDIVÍDUOS	LOCALIDADE	SEXOS	N° DE CROMOSSOMOS B				TOTAL
			0	1	2	3	N° DE CÉLULAS
174	Gasômetro	♂	3	4	4	1	12
208	Gasômetro	♀	26	0	0	0	26
248	Saco da Alemoa	♀	8	11	0	0	19
253	Saco da Alemoa	♂	28	0	0	0	28
298	Saco da Alemoa	♂	25	0	0	0	25
<b>Total</b>			90	15	4	1	110
(%)			81,82	13,64	3,64	0,9	100

A presença de cromossomos B na família Cichlidae está restrita a apenas algumas espécies, sendo encontrados tanto em células germinativas de *Gymnogeophagus balzanii* (Feldberg e Bertollo, 1984), quanto em células mitóticas de *Cichla* sp., *Cichla monoculus*, *Crenicichla reticulata* (Feldberg et al., 2004) e *Laetacara* cf. *dorsigera* (Martins-Santos et al., 2005). Outros relatos de possíveis cromossomos B foram feitos por Martins et al. (1995), que descreveram a presença de “corpúsculos de cromatina” em células somáticas de *Geophagus brasiliensis*, *Satanoperca papaterra* e *Crenicichla niederleini*. O cromossomo B evidenciado em *C. lepidota* apresentou-se totalmente heterocromático após o tratamento de banda C (Figura 2 A), como encontrado por Feldberg et al. (2004).

As regiões organizadoras de nucléolos (NORs) foram detectadas pela impregnação por prata em apenas um par cromossômico, em todas as espécies, sendo o primeiro par do complemento com marcações intersticiais no braço curto (Figura 1 D, E e F), coincidentes com as constrições secundárias vistas na coloração com Giemsa, caracterizando assim um sistema de NORs simples para as espécies; em *C. maculata* foi possível verificar um heteromorfismo de tamanho da NOR (Figura 1 E).

A presença de NORs simples, localizadas intersticialmente no braço curto do maior par cromossômico é bastante conservado neste gênero, como visto por Loureiro et al. (2000), Mizoguchi et al. (2007), entre outros; sendo encontrada apenas variação quanto à identificação do cromossomo portador da NOR, podendo ser em cromossomos metacêntricos (Martins et al., 1995; Loureiro et al., 2000; Mizoguchi et al., 2007) ou submetacêntricos (Martins et al., 1995).

NORs múltiplas foram relatadas em *Crenicichla lepidota*, da região de Porto Rico proveniente da bacia do rio Paraná/PR, analisada por Martins et al. (1995), sendo observados 2 pares nucleolares, situação distinta da encontrada nesta mesma espécie do presente trabalho. *C. lepidota* já foi analisada em 3 diferentes localidades e em cada uma delas esta espécie mostrou algumas particularidades próprias. Na população analisada por Feldberg e Bertollo (1985), na região de Miranda/MS, a NOR estava localizada no braço longo do par m; Martins et al. (1995), na região de Porto Rico/PR, encontraram NORs múltiplas e na população do Lago Guaíba foram encontrados cromossomos B. Estas diferenças entre as três populações podem ser explicadas pelo fato de pertencerem à bacias hidrográficas distintas, ocorrendo portanto um isolamento geográfico entre elas, o que facilitaria a fixação de rearranjos cromossômicos, não havendo, é claro, um fluxo gênico entre as populações, proporcionando que *C. lepidota*, em cada localidade, apresente uma característica própria.

Pela coloração com o fluorocromo cromomicina A<sub>3</sub> foram evidenciadas, para as três espécies analisadas, marcações fluorescentes coincidentes com as NORs, indicando que são ricas em pares de base GC. Os exemplares de *C. maculata* apresentaram o mesmo heteromorfismo de tamanho que já tinha sido evidenciado na coloração com Giemsa e prata. Na coloração com DAPI estas regiões não apresentaram marcações fluorescentes, aparecendo como bandas negativas, revelando a ausência de regiões ricas

em AT. Estes dados coincidem com os encontrados na literatura para o gênero por Loureiro et al. (2000) e Mizoguchi et al. (2007). Entretanto, apenas os primeiros autores utilizaram o DAPI.

A distribuição da heterocromatina foi semelhante em todas as espécies de *Crenicichla* analisadas, sendo observadas marcações pericentroméricas na grande maioria dos cromossomos e associadas às NORs (Figura 2 A, B e C). O mesmo heteromorfismo de tamanho observado na coloração com Giemsa e prata foi encontrado na banda C.

Este padrão de distribuição de heterocromatina é bem característico do gênero sendo observado em diferentes espécies, como em *C. lepidota* (Martins et al., 1995), *Crenicichla* sp., *C. niederleinii* (Loureiro et al., 2000) e *C. reticulata* (Feldberg et al., 2004). No entanto, Mizoguchi *et al.* (2007) analisando *Crenicichla* do rio Iguaçu/PR, verificaram que a NOR é banda C negativa, o que poderia, segundo os autores, caracterizar as espécies de *Crenicichla* do rio Iguaçu/PR.

Os dados obtidos neste trabalho, para as três espécies analisadas, confirmam um processo evolutivo mais conservativo no gênero *Crenicichla*, bem como na família Cichlidae, contribuindo com mais informações no gênero, uma vez que traz a primeira descrição cariotípica de *C. maculata* e *C. punctata* e também mais uma ocorrência de Bs na família Cichlidae e a primeira em *C. lepidota*.

## Referências

- BERTOLLO LAC, TAKAHASHI CS, MOREIRA-FILHO O (1978) Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). Brazilian Journal of Genetics, 1: 103-120.
- FELDBERG E., BERTOLLO LAC (1984) Discordance in chromosome number among somatic and gonadal tissue cells of *Gymnogeophagus balzanii* (Pices: Cichlidae) Rev. Bras. Genet. 4 (IV): 639-645.
- FELDBERG E., BERTOLLO LAC (1985) Karyotypes of 10 species of neotropical Cichlids (Pisces, Perciformes). Caryologia 38: 257-268.
- FELDBERG E, PORTO JIR, ALVES-BRINN MN, MENDONÇA MNC, BENZAQUEM DC (2004) B chromosomes in Amazonian cichlid species. Cytogenetic and Genome Research 106:195-198.
- HARTMANN C, SCHETTINI CAF (1991) Aspectos hidrológicos na desembocadura da Laguna dos Patos, RS. Revista Brasileira de Geociências 21 (4): 371-377.
- HOWELL WM, BLACK DA (1980) Controlled silver staining of nucleolus organizing regions with a protective colloidal developer: a one step method. Experientia 36: 1014-1015.

KULLANDER SO (2003) Family Cichlidae Pp 605-654 *In*: REIS RE, KULLANDER SO, FERRARIS JR.CJ (Org) Check list of the freshwater fishes of South and Central America. Edipucrs, Porto Alegre, 729p.

LEVAN A, FREDGA K, SANDBERG AA (1964) Nomenclature for centromeric position on chromosome. *Hereditas* 52: 201-204.

LOUREIRO MA, GIULIANO-CAETANO L, DIAS AL (2000) Cytogenetic characterization of two species of the Genus *Crenicichla* (Pisces, Cichlidae). *Cytologia* 65: 57-63.

MARTINS IC, PORTELLA-CASTRO ALB, JÚLIO JR HF (1995) Chromosomes analysis of 5 species of the Cichlidae family (Pisces, Perciformes) from the Parana river. *Cytologia* 60: 223-231.

MARTINS-SANTOS IC, PORTELA-CASTRO ALB, JULIO JR HF (2005) Chromosomal polylophism and speciation in *Laetacara cf. dorsigera* (Teleostei, Perciformes, Cichlidae) from the river Paraná PR Brazil. *Caryologia* 58 (2): 95-101.

MIZOGUCHI SMHK, PORTELA-CASTRO ALB, MARTINS-SANTOS IC (2007) Cytogenetic characterization of *Crenicichla* (Pisces, Perciformes, Cichlidae) of the Iguaçu river. *Genetics and Molecular Research* 6 (3): 650-656.

MÖLLERKE RO, NOLL IB, SANTO MABE, NORTE DM (2003) Níveis de Arsênio total como indicador biológico, na avaliação da qualidade do pescado (*Leporinus*

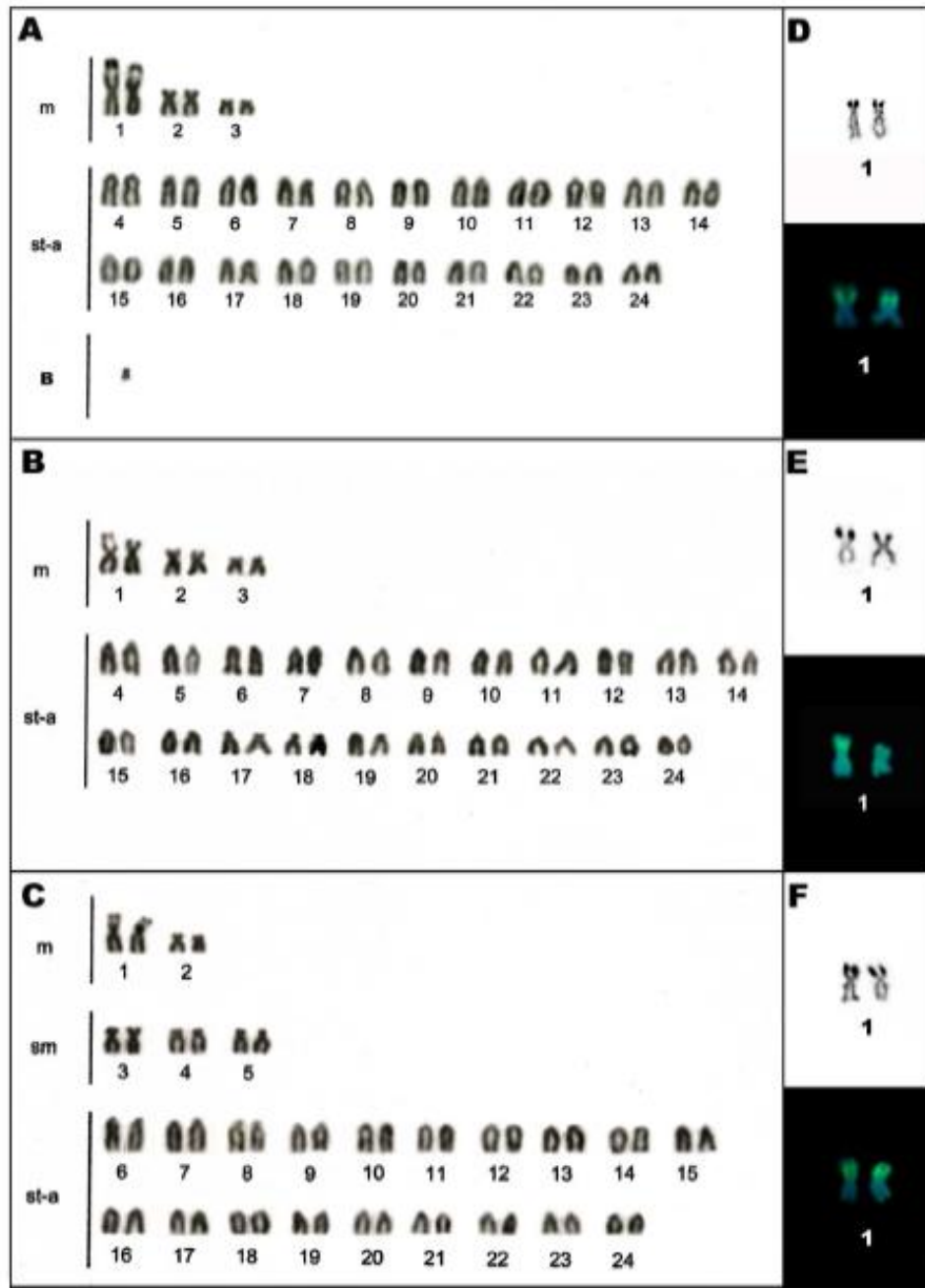
*obtusidens* e *Pimelodus maculatus*) do Lago Guaíba em Porto Alegre RS-Brasil. Rev. Inst. Adolfo Lutz 62 (2): 117-121.

OYHENART-PERERA MF, LUENGO JA, BRUM-ZORILLA N (1975) Estudio citogenetico de *Cichlasoma facetum* (JENYNS) y *Crenicichla sexatilis* (LINN.) (Teleostei. Cichlidae). Ver. Biol. del Uruguay 3: 29-36.

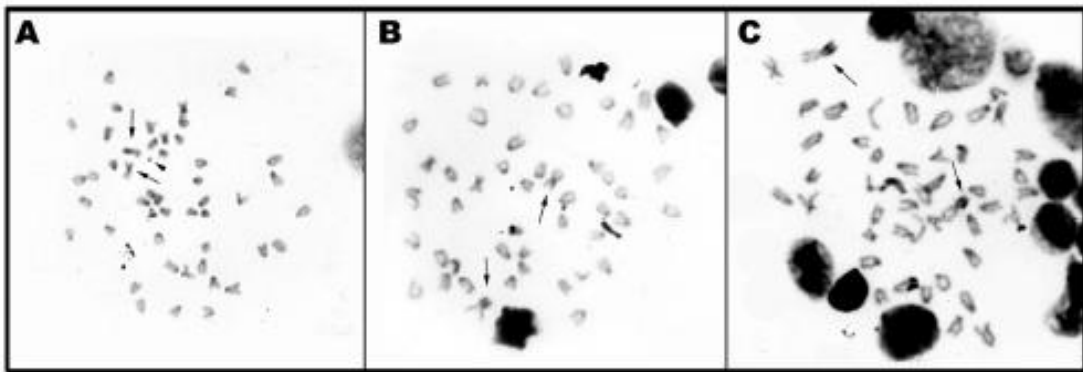
REZENDE AB, QUEIROZ CC, CALDART FA, RIBEIRO L, MIYAZAWA CS (1996) Notas preliminares do estudo cariotípico de distintos grupos de peixes da bacia do rio paraguai, no estado do Mato Grosso. In: VI Simpósio de Citogenética Evolutiva Aplicada em Peixes Neotropicais, SBG, Anais..., p.105.

SCHWEIZER, D (1980) Simultaneous fluorescent staining of R bands and specific heterochromatic regions (DA/DAPI) in humans chromosomes. Cytogenetics and Cell Genetics, 27: 190-193.

SUMNER, AT (1972) A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. Experimental Cell Research, 74: 304-306.



**Figura 1** - Cariótipos e pares AgNORs/CMA3 de: *Crenicichla lepidota* (A e D), *C. maculata* (B e E) e *C. punctata* (C e F), respectivamente.



**Figura 2** – Metáfases somáticas com banda C para *Crenicichla lepidota* (A) com cromossomo B (cabeça de seta), *C. maculata* (B) e *C. punctata* (C). As setas indicam os cromossomos com constrição secundária.

## CAPÍTULO 3

**Caracterização citogenética de *Geophagus  
brasiliensis* e de duas espécies de *Gymnogeophagus*  
(Cichlidae, Geophaginae) do lago Guaíba/RS\***

\* Este artigo será enviado para Cytogenetic and Genome Research.

## Caracterização citogenética de *Geophagus brasiliensis* e de duas espécies de *Gymnogeophagus* (Cichlidae, Geophaginae) do lago Guaíba/RS

Larissa Bettin Pires<sup>a</sup>, Luiz Roberto Malabarba<sup>b</sup>, Lucia Giuliano-Caetano<sup>a</sup> e Ana Lúcia Dias<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Biologia Geral, Universidade Estadual de Londrina, CCB, 86051-990, Londrina, PR, Brasil, larissa.pires@gmail.com

<sup>b</sup> Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 91501-970, Porto Alegre, RS, Brasil.

### Resumo

Neste trabalho foram analisadas 3 espécies de peixes pertencentes à subfamília Geophaginae (Cichlidae) de diferentes localidades do lago Guaíba/RS: Barra do Ribeiro, Gasômetro e Saco da Alemoa; e no rio Forqueta/RS. Todas as espécies apresentaram o mesmo número diplóide igual a 48 cromossomos, sendo que *Gymnogeophagus gymnogenys* apresentou duas fórmulas cariotípicas: a população do Saco da Alemoa/Barra do Ribeiro com  $4m + 44st-a$  e  $NF = 52$  e a população do Gasômetro com  $6m + 42st-a$  e  $NF = 54$ . *Gymnogeophagus labiatus* apresentou uma constituição cariotípica de  $4m + 4sm + 40st-a$  e  $NF = 56$  e *Geophagus brasiliensis* de  $4sm + 44st-a$  e  $NF = 52$ . Nas três espécies foram detectadas NORs simples, exceto na população de *G. gymnogenys* do Saco da Alemoa/Barra do Ribeiro que apresentou uma variação de 2 a 4 cromossomos com regiões nucleolares. Todas as NORs foram coincidentes com as constrições secundárias, sendo observado um heteromorfismo de tamanho destas regiões em *Gymnogeophagus gymnogenys* e *Geophagus brasiliensis*. O tratamento com  $CMA_3$  mostrou-se correspondente às AgNORs, e com o DAPI não foi evidenciada nenhuma marcação fluorescente. O padrão de distribuição da heterocromatina foi semelhante em todas as espécies, estando limitada às regiões pericentroméricas dos cromossomos e associadas às NORs, com exceção de *G. labiatus* que apresentou apenas as marcações pericentroméricas. Os dados mostram um padrão conservativo em *Geophagus brasiliensis* e uma variabilidade cariotípica nas espécies de *Gymnogeophagus*.

## Introdução

Dentre os Perciformes, a família Cichlidae é uma das maiores famílias de vertebrados com 1300 espécies descritas, com estimativa de até 1870 espécies. Somente as famílias de peixes dos Gobiidae e Cyprinidae, com 1875 e 2010 espécies, respectivamente, competem pela posição da família mais numerosa (Kullander, 1998).

A distribuição das espécies de ciclídeos é ampla, habitando a África, América do Sul, América Central e partes da Ásia e América do Norte, vivendo nos mais variados habitats (Moyle e Cech Junior, 2000).

Os Cichlidae da América do Sul compreendem cerca de 50 gêneros e aproximadamente 450 espécies, e foi organizada por Kullander, em 1998, em oito subfamílias: Etroplinae, Pseudocrenilabrinae, Retroculinae, Cichlinae, Heterochromidinae, Astronotinae, Geophaginae e Cichlasomatinae.

A subfamília Geophaginae apresenta 18 gêneros, mas pouco se sabe sobre a citogenética deste grupo, pois apenas sete gêneros possuem algum tipo de informação: *Acarichthys*, *Apistogramma*, *Dicrossus*, *Geophagus*, *Guianacara*, *Gymnogeophagus* e *Satanoperca*, sendo que *Geophagus brasiliensis* é a espécie mais estudada citogeneticamente. A maioria dos dados obtidos nesta subfamília estão relacionados apenas a identificação do número diplóide, fórmula cariotípica e localização das NORs.

O presente estudo teve como objetivo uma análise citogenética em três espécies de dois gêneros, *Gymnogeophagus* e *Geophagus*, da subfamília Geophaginae, do lago Guaíba/RS, através de diferentes técnicas de bandamento cromossômico, visando contribuir com mais informações para um melhor entendimento da evolução cariotípica neste grupo de peixes.

## Material e Métodos

Neste trabalho, foram analisadas três espécies da subfamília Geophaginae: 15 indivíduos (8 machos, 5 fêmeas e 2 de sexo indeterminado) de *Gymnogeophagus gymnogenys*, 13 indivíduos (5 machos, 5 fêmeas e 3 de sexo indeterminado) de *G. labiatus* e 10 indivíduos (5 machos e 5 fêmeas) de *Geophagus brasiliensis*, coletados em diferentes pontos do lago Guaíba/RS, nos pontos Barra do Ribeiro, Gasômetro e Saco da Alemoa; e no rio Forqueta/RS (Tabela 1).

Os cromossomos mitóticos foram obtidos pela técnica de obtenção direta, descrita por Bertollo et al. (1978). A classificação dos cromossomos em metacêntricos (m), submetacêntricos (sm) e subtelo-acrocêntricos (st-a), seguiram a proposta por Levan *et al.* (1964), com modificações. Os cromossomos meta e submetacêntricos foram considerados com dois braços e o grupo st-a com um braço para determinação do número fundamental (NF).

O padrão de banda C foi obtida de acordo com a técnica descrita por Sumner (1972) e as regiões organizadoras de nucléolos (NORs) pelo método de Howell e Black (1980). Os tratamentos com fluorocromos base específicos cromomicina A<sub>3</sub> e DAPI foram realizados de acordo com as técnicas de coloração descritas por Schweizer (1980), com modificações.

## Resultados

Os resultados obtidos para as três espécies revelaram número diplóide (2n) igual a 48 cromossomos, entretanto, diferenças nas fórmulas cariotípicas foram

observadas. *Gymnogeophagus gymnogenys* apresentou  $4m + 44st-a$  e número fundamental (NF) igual a 52 para as populações da Barra do Ribeiro e Saco da Alemoa (Figura 1A); e na população do Gasômetro, a fórmula foi de  $6m + 42st-a$  e  $NF = 54$  (Figura 1B); *Gymnogeophagus labiatus* apresentou  $4m + 4sm + 40st-a$  e  $NF = 56$  (Figura 2A) e *Geophagus brasiliensis*  $4sm + 44st-a$  e  $NF = 52$  (Figura 3A) (Tabela 1).

Uma constrição secundária em *G. gymnogenys* localiza-se em posição intersticial do braço longo do par 3 (st-a) para a população do Saco da Alemoa/Barra do Ribeiro, e na região terminal do braço curto do par 20 (st-a) para a do Gasômetro, apresentando heteromorfismo de tamanho entre os homólogos (Figura 1 A e B, respectivamente). Em *G. labiatus* a constrição secundária localiza-se intersticialmente no braço curto do maior par do complemento (Figura 2A) e em *G. brasiliensis* no par 6 (st-a) em região terminal, visível em alguns exemplares analisados, sendo observado heteromorfismo entre os cromossomos homólogos (Figura 3A).

Pela impregnação por nitrato de prata foram evidenciadas NORs simples em *Gymnogeophagus labiatus*, *G. gymnogenys* (população do Gasômetro) e *G. brasiliensis*, com 1 par de marcações intersticiais no braço curto de um par metacêntrico para a primeira espécie (Figura 2B), e terminais no braço curto de um par subtelo-acrocêntrico, com heteromorfismo de tamanho para as duas últimas, todas coincidentes com as constrições secundárias (Figura 1D e 3B, respectivamente).

Nos espécimes de *G. gymnogenys*, da população Saco da Alemoa/Barra do Ribeiro, foi identificado um sistema de NORs múltiplas, com variação de 2 a 4 cromossomos nucleolares, com marcações nas regiões terminais do braço curto de um par subtelo-acrocêntrico (par 9) e intersticiais do braço longo do par 3 (st-a), sendo esta última coincidente com a constrição secundária e com heteromorfismo de tamanho entre os homólogos desta região (Figura 1C) (Tabela 1).

A coloração com o fluorocromo cromomicina A<sub>3</sub> evidenciou, em todas as espécies, marcações fluorescentes coincidentes com os sítios AgNORs e com o DAPI não foram observadas marcações fluorescentes, sendo que as constrições secundárias mostraram-se menos evidentes em algumas espécies (Figuras 1 C e D; 2-C e 3-C).

Através da técnica de banda C, a heterocromatina foi visualizada distribuída preferencialmente na região pericentromérica da maioria dos cromossomos e com blocos heterocromáticos correspondentes às constrições secundárias associados às NORs, exceto em *G. labiatus* (Figura 4). O mesmo heteromorfismo visualizado com Giemsa e prata em *G. gymnogenys* e *G. brasiliensis*, foi verificado na banda C.

**Tabela 1** - Resumo dos resultados obtidos com os gêneros *Gymnogeophagus* e *Geophagus* no presente trabalho (2n = número diplóide, NF = número fundamental, CS = Constrição Secundária, NORs = Regiões Organizadoras de Nucléolos, HC = Heterocromatina, CMA<sub>3</sub> = Cromomicina A<sub>3</sub>).

Espécies	Localidade	2n	Fórmula Cariotípica	NF	CS	NORs	HC	CMA <sub>3</sub>
<i>Gymnogeophagus gymnogenys</i>	Saco da Alemoa e Barra do Ribeiro (RS)	48	4 m + 44 st-a	52	Par 3 (i)*	Múltiplas: Par 3 (i) * Par 9 (t)	C	Par 3 (i) * Par 9 (t)
	Gasômetro (RS)	48	6 m + 42 st-a	54	Par 20 (t) *	Simples: Par 20 (t) *	C	Par 20 (t) *
<i>Gymnogeophagus labiatus</i>	Saco da Alemoa e Rio Forqueta (RS)	48	4 m + 4 sm + 40 st-a	56	Par 1 (i)	Simples: Par 1 (i)	C	Par 1 (i)
<i>Geophagus brasiliensis</i>	Saco da Alemoa e Gasômetro (RS)	48	4 sm + 44 st-a	52	Par 6 (t) *	Simples: Par 6 (t) *	C	Par 6 (t) *

**Legenda:** t = terminal; i = intersticial; C = pericentromérica; \* = heteromorfismo.

## Discussão

As espécies aqui analisadas revelaram número diplóide de 48 cromossomos, sendo este observado para todas as espécies de *Gymnogeophagus* e *Geophagus* analisadas até o momento (Feldberg e Bertollo, 1985a; Peixoto e Erdtmann, 1988; Brum et al., 1998, Vicari et al., 2006; Pires et al., no prelo), bem como para outros gêneros da subfamília

Geophaginae (Feldberg et al., 2003), entretanto diferentes números cromossômicos foram relatados:  $2n = 38$  em *Apistogramma borelli* (Thompson, 1979) e  $2n = 46$  em *Apistogramma agassizii*, *A. ortmanni*, *A. steindachneri* e *Dicrossus filamentosus* (Zahner, 1977; Thompson, 1979), mostrando uma pequena variabilidade cariotípica nesta subfamília.

Feldberg et al. (2003) sugerem que o número diplóide de 48 cromossomos é o basal em ciclídeos neotropicais, visto que é identificado na maioria das espécies, composto em sua maioria por cromossomos do tipo st-a, resultando em um pequeno número fundamental.

Apesar de o número diplóide ser conservado nas diferentes espécies de *Gymnogeophagus* e em *Geophagus brasiliensis* estudadas até o momento, variações nas fórmulas cariotípicas foram encontradas entre as espécies e dentro da mesma espécie (Feldberg et al., 2003), como as observadas aqui em *G. gymnogenys* (população do Gasômetro) e *G. labiatus*.

Peixoto e Erdtmann (1988) também estudaram as mesmas espécies de *Gymnogeophagus* aqui analisadas de outras localidades (bacia do Jacuí e sistema do rio Tramandaí), que também fazem parte do Sistema Hidrográfico da Lagoa dos Patos/RS, e encontraram uma fórmula cariotípica de  $4m,sm + 44st-a$  e  $NF = 52$ . Esta constituição foi igual apenas à população de *G. gymnogenys* do Saco da Alemoa/Barra do Ribeiro (Tabela 1). As variações cariotípicas encontradas nas duas espécies de *Gymnogeophagus* das diferentes localidades do sistema hidrográfico da Lagoa dos Patos/RS podem ser devidas a eventos de rearranjos cromossômicos, do tipo inversões pericêntricas.

A espécie *Geophagus brasiliensis* já foi analisada por diversos autores e, apesar do constante  $2n = 48$ , foram observadas variações na fórmula cariotípica (Martins et al., 1995; Brum et al., 1998 e Vicari et al., 2006). A constituição cariotípica de  $4sm + 44st-$

a, aqui observada em *G. brasiliensis*, mostrou semelhanças com os trabalhos de Thompson (1979) e Pires et al. (no prelo).

Kullander (1998) e Farias *et al.* (2000) baseados em caracteres morfológicos e moleculares, respectivamente, propuseram que “*Geophagus brasiliensis*” parece ser um complexo de espécies. Os dados citogenéticos encontrados em revisão feita por Feldberg et al. (2003), somados aos do presente estudo corroboram estas análises uma vez que foram observadas variações entre as populações, de 2 a 8 cromossomos do tipo m-sm, indicando a existência de espécies crípticas neste grupo (Brum et al., 1998) ou de que esta espécie poderia estar em um processo inicial de especiação.

Um padrão de NORs simples foi detectado em *Gymnogeophagus labiatus* e *Geophagus brasiliensis*, seguindo o padrão geral da família Cichlidae, na qual as AgNORs estão localizadas nos maiores pares cromossômicos do complemento, seja do grupo m-sm ou st-a, correspondendo a um provável caráter plesiomórfico para este grupo de peixes (Feldberg et al., 2003).

Peixoto e Erdtmann (1988) observaram o mesmo par AgNOR, tipo m observado neste estudo, em *G. labiatus* da bacia do Jacuí e Tramandaí/RS, e diferentes populações de *G. brasiliensis* (Vicari et al., 2006; Pires et al., no prelo, entre outros) também apresentaram as NORs simples no grupo st-a. Entretanto, um mosaicismos de NORs já foi observado em *G. brasiliensis* provenientes da lagoa Rodrigo de Freitas/RJ, sendo esta a única descrição de NORs múltiplas para esta espécie (Brum et al., 1998). O heteromorfismo de tamanho da NOR também foi visto em outras populações de *G. brasiliensis*, sendo confirmado por Vicari et al. (2006) e Pires et al. (no prelo), através da hibridação *in situ* (FISH), resultado da diferença no número de cópias de DNAr 18S entre os cromossomos homólogos .

Em *G. gymnogenys* foi observada uma variabilidade das NORs dentro da mesma espécie. A população do Gasômetro apresentou a NOR simples, no par st-a 20, e as populações do Saco da Alemoa/Barra do Ribeiro apresentaram NORs múltiplas nos pares st-a 3 e 9, como resumido na tabela 1, indicando que estas últimas apresentam caracteres mais derivados que a população do Gasômetro. A figura 5 mostra que o par 20 de *G. gymnogenys* do Gasômetro com marcação terminal da NOR, pode ter originado o par 3 das populações do Saco da Alemoa/Barra do Ribeiro que possui marcação intersticial, através de uma inversão pericêntrica, visto que ambos os pares possuem heteromorfismo de tamanho das NORs.

Os dados obtidos com o fluorocromo cromomicina A<sub>3</sub> indicam que as NORs, em todas as espécies, são ricas em pares de bases GC, pois se mostraram CMA<sub>3</sub> positivas, sendo este o padrão mais encontrado na família Cichlidae. Através do tratamento com DAPI não foi observada nenhuma marcação fluorescente, indicando que os cromossomos destas espécies não apresentam regiões ricas em pares de bases AT. Dados de CMA<sub>3</sub> e DAPI relatados na literatura existem apenas para *G. brasiliensis* (Loureiro, 1999; Vicari et al., 2006; Pires et al., no prelo), cujos resultados são os mesmos aqui obtidos.

O padrão de heterocromatina foi semelhante em todas as espécies analisadas, sendo preferencialmente distribuída na região pericentromérica da maioria dos cromossomos, com blocos heterocromáticos correspondentes às NORs, exceto em *G. labiatus* que apresentou estas regiões banda C negativa, podendo ser uma característica própria da espécie, uma vez que a presença de heterocromatina associada aos cístrons ribossomais têm sido encontrada em várias espécies desta família, tais como *Satanoperca papaterra* (Martins et al., 1995), *Crenicichla niederleinii* (Loureiro et al., 2000),

*Cichlasoma facetum* (Vicari et al., 2006), *Geophagus brasiliensis* (Pires et al., no prelo), entre outros.

Os dados aqui obtidos confirmam que *Geophagus brasiliensis* possui características citogenéticas bem conservadas em relação às demais populações estudadas desta espécie, sendo que as diferenças encontradas baseiam-se principalmente nas fórmulas cariotípicas, podendo ser resultado de rearranjos cromossômicos, tais como inversões pericêntricas, indicando um possível processo inicial de especiação.

Entretanto, no gênero *Gymnogeophagus*, a macroestrutura cariotípica, bem como a localização das NORs e distribuição da heterocromatina, mostrou-se variável nas duas espécies aqui analisadas, bem como em *G. gymnogenys* de diferentes localidades, o que pode indicar uma evolução cariotípica mais divergente neste gênero.

## Referências

- Bertollo LAC, Takahashi CS, Moreira-Filho O: Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). *Braz J Genet* 1: 103-120 (1978).
- Brum MJ, Oliveira CC, Voigt N, Côrrea MMO: Karyotypic discrepancy between populations of *Geophagus brasiliensis* (Perciformes: Cichlidae), including the topotypical population, with possible taxonomic implications. *J. Comp. Biol.* 2: 177-184 (1998).
- Farias IP, Orti G, Meyer A: Total evidence: Molecules, Morphology, and the Phylogenetics of cichlids fishes. *Journal of Experimental Zoology* 288: 76-92 (2000).
- Feldberg E, Bertollo LAC: Karyotypes of 10 species of neotropical Cichlids (Pisces, Perciformes). *Caryologia* 38: 257-268 (1985a).
- Feldberg E, Bertollo LAC: Nucleolar organizing regions in some species of Neotropical cichlid fish (Pisces, Perciformes). *Caryologia* 38: 319-324 (1985b).
- Feldberg E, Porto JIR, Bertollo LAC: Chromosomal changes and adaptation of cichlid fishes during evolution, in: Val AL, Kapoor BG (eds): *Fish Adaptations*, pp 285-308 (Science Publishers, 2003).

Howell WM, Black DA: Controlled silver staining of nucleolus organizing regions with a protective colloidal developer: a one step method. *Experientia* 36: 1014-1015 (1980).

Kullander SO: A phylogeny and classification of the south american Cichlidae (Teleostei: Perciformes), in: Malabarba LR, Reis RE, Vari RP, Lucena ZMS, Lucena CAS (eds): *Phylogeny and classification of neotropical fishes*, pp. 461-494 (EDIPUCS, 1998).

Levan A, Fredga K, Sandberg AA: Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52: 201-204 (1964).

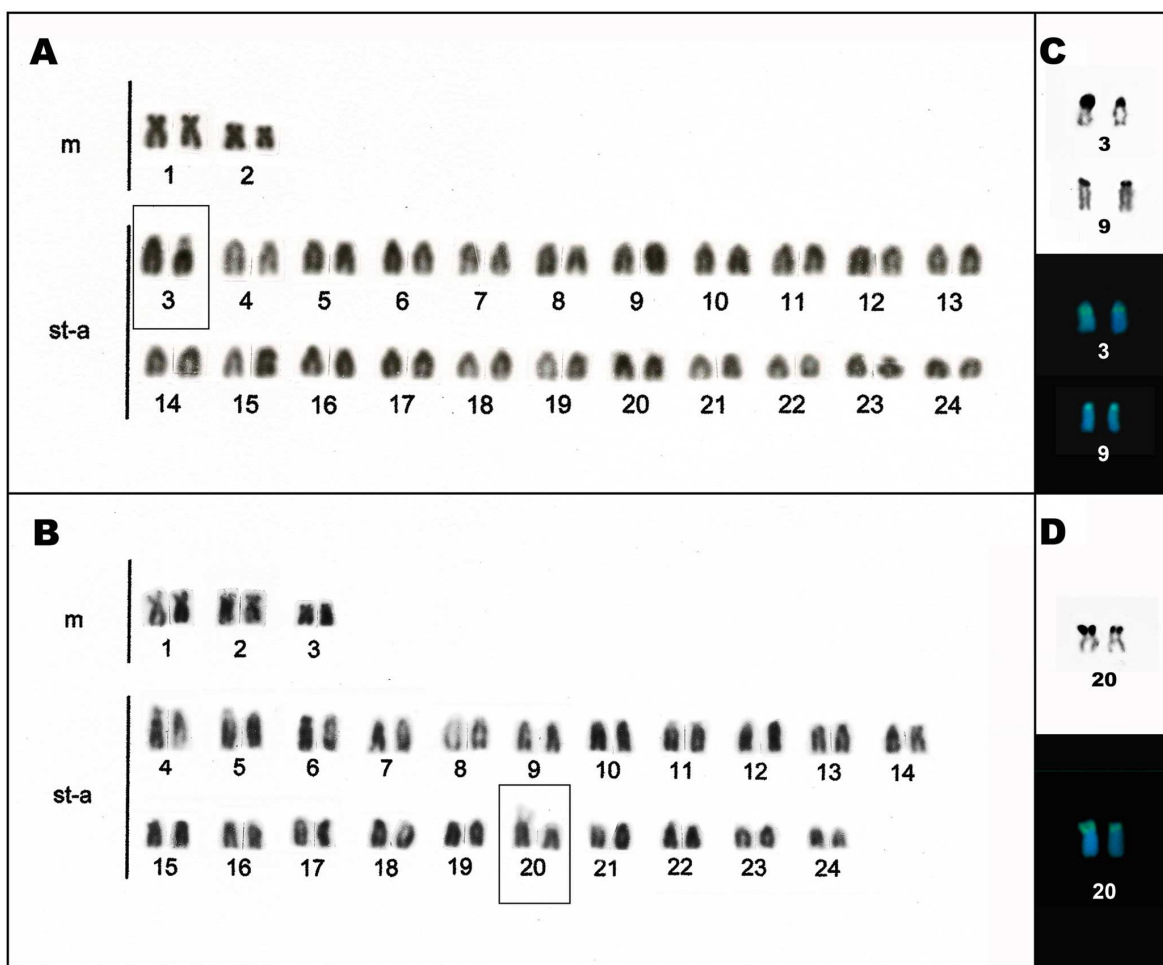
Loureiro MA: Análise citogenética em quatro espécies da família Cichlidae (Pisces, Perciformes). Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Londrina: Londrina. 98p (1999).

Loureiro MA, Giuliano-Caetano L, Dias AL: Cytogenetic characterization of two species of the Genus *Crenicichla* (Pisces, Cichlidae). *Cytologia* 65: 57-63 (2000).

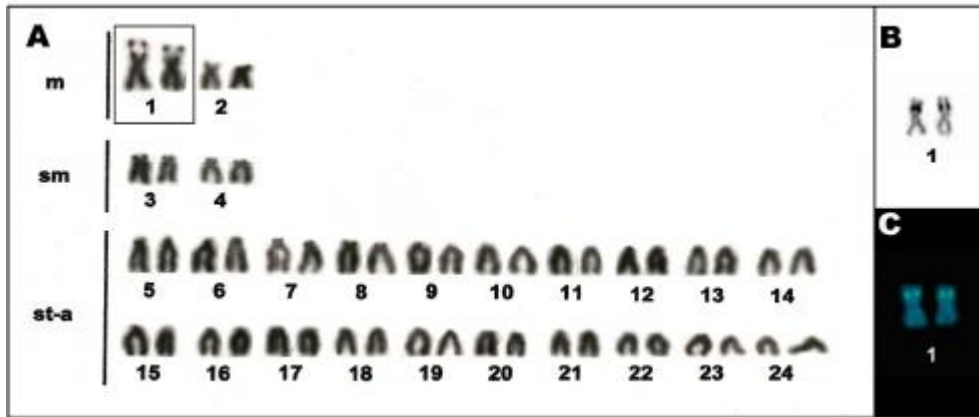
Martins IC, Portella-Castro ALB, Júlio Jr HF: Chromosomes analysis of 5 species of the Cichlidae family (Pisces, Perciformes) from the Parana river. *Cytologia* 60: 223-231 (1995).

Moyle PB, Cech Junior JJ: *Fishes: an introduction to ichthyology*. 4. ed. Upper Saddle River: Prentice-Hall, 612 p. (2000).

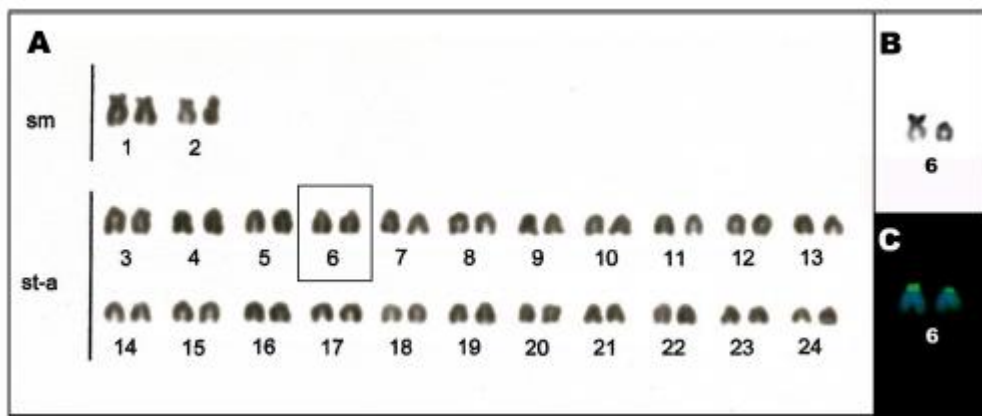
- Peixoto RM, Erdtmann B: Estudos citogenéticos no gênero *Gymnogeophagus* (Pisces, Perciformes, Cichlidae) *In*: II Simpósio de Citogenética Evolutiva Aplicada em Peixes Neotropicais, SBG, Anais..., 27p. (1988).
- Pires LB, Giuliano-Caetano L, Dias AL: Karyotype similarities among two populations of *Geophagus brasiliensis* (Perciformes, Cichlidae) from the Tibagi river basin/PR/Brazil. *Caryologia*: (No Prelo).
- Schweizer D: Simultaneous fluorescent staining of R bands and specific heterochromatic regions (DA/DAPI) in humans chromosomes. *Cytogenet Cell Genet* 27: 190-193 (1980).
- Sumner AT: A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Expl Cell Res* 75: 304-306 (1972).
- Thompson KW: Cytotaxonomy of 41 species of neotropical Cichlidae. *Copeia* 4: 679-691 (1979).
- Vicari MR, Artoni RF, Moreira-Filho O, Bertollo LAC: Basic and molecular cytogenetics in freshwater Cichlidae (Osteichthyes, Perciformes). Karyotypic conservatism and divergence. *Caryologia* 59: 260-266 (2006).
- Zahner E (1977) *Apud*: Feldberg E, Porto JIR, Bertollo LAC: Chromosomal changes and adaptation of cichlid fishes during evolution. Pp. 285-308. *In*: Val, A.L. & B.G. Kapoor (Eds.). *Fish Adaptations*. U.S., 418p. (2003).



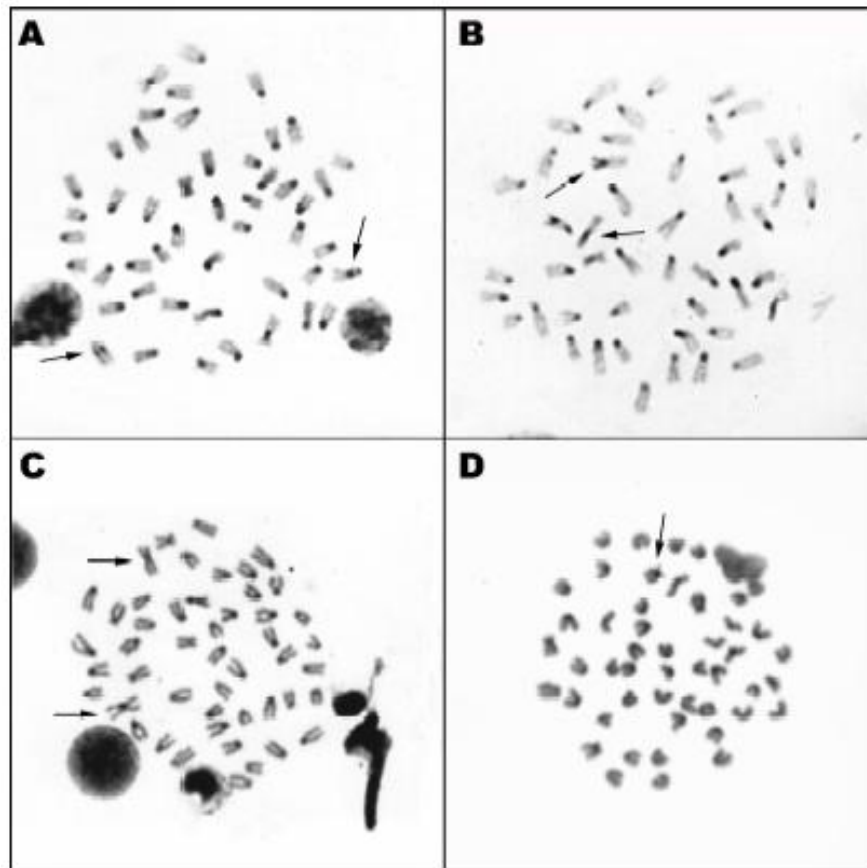
**Figura 1** – Cariótipos de *Gymnogeophagus gymnogenys*, do Saco da Alemoa/Barra do Ribeiro (A) e Gasômetro (B), com os pares AgNORs e CMA<sub>3</sub> (C e D, respectivamente).



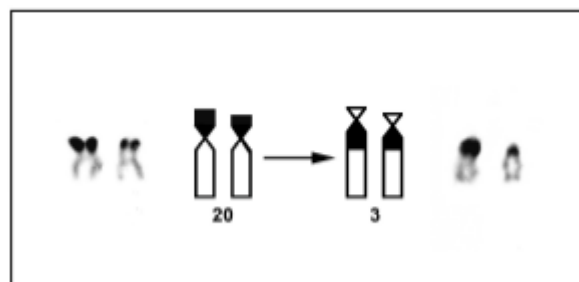
**Figura 2** – Cariótipo e pares AgNORs/CMA3 de *Gymnogeophagus labiatus* (A, B e C), respectivamente.



**Figura 3** – Cariótipo e pares AgNORs/CMA3 de *Geophagus brasiliensis* (A, B e C), respectivamente.



**Figura 4** – Metáfases somáticas com banda C para: *G. gymnogenys* do Saco da Alemoa/Barra do Ribeiro (A), do Gasômetro (B), *G. labiatus* (C) e *Geophagus brasiliensis* (D). As setas indicam os cromossomos com as constrições secundárias.



**Figura 5** – Desenho esquemático mostrando a possível ocorrência de inversão pericêntrica no par 20 de *G. gymnogenys* do Gasômetro, com a NOR em posição terminal, originando o par 3 da população do Saco da Alemoa/Barra do Ribeiro, com a NOR em posição intersticial. Ambos pares cromossômicos apresentam heteromorfismo de tamanho nesta região.

## CAPÍTULO 4

# **Primeira Descrição Citogenética do Gênero *Australoheros* (Cichlidae, Cichlasomatinae)\***

\* Este artigo será enviado para Neotropical Ichthyology.

## Primeira Descrição Citogenética do Gênero *Australoheros* (Cichlidae, Cichlasomatinae)

Larissa Bettin Pires\*, Luiz Roberto Malabarba\*\*, Lucia Giuliano-Caetano\* e Ana Lúcia Dias\*

\* Universidade Estadual de Londrina. Departamento de Biologia Geral. CCB, Rodovia Celso Garcia Cid, Km 380. 86051-990 Londrina, PR, Brasil, larissa.pires@gmail.com

\*\* Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Departamento de Zoologia. IB, Av. Bento Gonçalves, 9500, bloco IV, prédio 43435, 90540-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

### Resumo

Foram analisados citogeneticamente 12 exemplares de *Australoheros* sp. coletados nas bacias do lago Guaíba/RS e Tramandaí/RS. Este gênero foi recentemente separado do complexo '*Cichlasoma*' *facetum* através de caracteres morfológicos e moleculares. Os dados citogenéticos revelaram um número diplóide de 48 cromossomos, com fórmula cariotípica de  $2m + 8sm + 38st-a$  e  $NF = 58$ , com uma constrição secundária no braço curto do par 8 (st-a), visível apenas em algumas preparações. As NORs foram evidenciadas em apenas um par de cromossomos subtelo-acrocêntricos, na região terminal do braço curto, sendo coincidente com a constrição secundária observada pela coloração convencional. A heterocromatina mostrou-se distribuída na região pericentromérica na grande maioria dos cromossomos e nos sítios AgNORs, sendo observado uma marcação intersticial no braço longo de um cromossomo st-a. O tratamento com CMA<sub>3</sub> evidenciou marcações fluorescentes, correspondentes às NORs e na região heterocromática intersticial; o DAPI se mostrou negativo nestas mesmas regiões, sendo que o local da marcação intersticial mostrou-se mais pálido, em algumas preparações cromossômicas. Este estudo mostra a primeira descrição citogenética do gênero *Australoheros* e apresenta dados que corroboram sua separação de '*Cichlasoma*' *facetum*

**Palavras-Chaves:** *Australoheros*, '*Cichlasoma*' *facetum*, Cichlidae, bandamento cromossômico

## Introdução

A família Cichlidae representa o maior e mais diversificado grupo de peixes entre os Perciformes neotropicais, sendo assim considerada um dos maiores grupos de teleósteos, com cerca de 1300 espécies (Moyle & Cech Junior, 2000). A maioria das espécies que compõem esta família tem ampla distribuição, ocorrendo na América Central e na América do Sul, sendo encontrados representantes em quase todas as bacias hidrográficas sul-americanas (Nelson, 1994).

Na Bacia do Prata são encontradas várias espécies de ciclídeos, sendo '*Cichlasoma*' *facetum*, uma das mais freqüentes, distribuída em quase toda a bacia hidrográfica formada pelos rios Paraná, Paraguai e Uruguai (Rican & Kullander, 2006).

Rican & Kullander (2006) analisando populações de '*Cichlasoma*' *facetum* de diferentes áreas, notaram que elas eram frequentemente distintas entre si e que '*Cichlasoma*' *facetum* representa taxonomicamente um complexo de espécies. Estes autores, separaram uma parte deste grupo através de caracteres morfológicos e moleculares e descreveram um novo gênero, que passou a chamar *Australoheros*.

Uma vez que não existem estudos citogenéticos deste novo gênero, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar citogeneticamente *Australoheros* sp., além de contribuir com mais dados cariotípicos para a subfamília Cichlasomatinae.

## Material e Métodos

Foram analisados 12 exemplares de *Australoheros* sp., coletados em três localidades diferentes, sendo que 5 (3 machos e 2 fêmeas) foram do rio Forqueta e 6 (3

machos e 3 fêmeas) do rio Forquetinha, ambos afluentes do rio Taquari/RS, e 1 fêmea do rio Maquiné, que pertence a bacia do Tramandaí/RS.

As preparações cromossômicas foram obtidas de acordo com a técnica de preparação direta, descrita por Bertollo *et al.* (1978). Os cromossomos foram classificados em metacêntricos (m), submetacêntricos (sm) e subtelo-acrocêntricos (st-a), conforme Levan *et al.* (1964), com modificações. Os cromossomos meta e submetacêntricos foram considerados com dois braços e o grupo st-a com um braço para determinação do número fundamental (NF).

As regiões organizadoras de nucléolos e o padrão de distribuição da heterocromatina foram evidenciados segundo as técnicas propostas por Howell & Black (1980) e Sumner (1972), respectivamente. Os tratamentos com fluorocromos base específicos cromomicina A<sub>3</sub> e DAPI foram realizados de acordo com as técnicas de coloração descritas por Schweizer (1980), com modificações.

## **Resultados e Discussão**

Todos os exemplares de *Australoheros* sp., das diferentes localidades, apresentaram número diplóide de  $2n = 48$  cromossomos, com fórmula cariotípica de  $2m + 8sm + 38st-a$  e número fundamental (NF) igual a 58 (Figura 1). Foi identificada em algumas preparações, a presença de constrição secundária na região terminal do braço curto do par cromossômico 8 (Figura 1 - box). Nenhuma diferença entre os cariótipos de machos e fêmeas foi evidenciada entre os exemplares.

O número diplóide de 48 cromossomos é bastante conservado em Cichlidae, sendo identificado na maioria das espécies da subfamília Cichlasomatinae, com exceção de

*Bujurquina vittata*, *Cichlasoma bimaculatum*, *Nannacara anomala* com  $2n = 44$  (Thompson, 1979), *Cichlasoma* sp. (rio Paraguai/MT), *Uaru amphiacanthoides* com  $2n = 46$  (Thompson, 1979), *Acaronia nassa*, *Caquetaia kraussi*, *C. spectabilis*, *Cleithracara maronii* com  $2n = 50$  (Zahner, 1977; Thompson, 1979), *Cichlasoma salvini* com  $2n = 52$  (Zahner, 1977; Thompson, 1979) e *Symphysodon aequifasciatus* com  $2n = 60$  (Thompson, 1979). A subfamília Cichlasomatinae é a que apresenta maior variação do  $2n$  dentro da família Cichlidae, podendo estar ocorrendo processos de fusão e fissão (Feldberg *et al.*, 2003) e, no gênero *Symphysodon* ( $2n = 60$ ), um possível evento de poliploidização com perda de cromossomos (Thompson, 1976 e Kornfield, 1984 *apud* Feldberg *et al.*, 2003).

Neste trabalho, *Australoheros* sp. apresentou fórmula cariotípica de  $2m + 8sm + 38st-a$ , semelhante a de *Cichlasoma facetum* estudada por Feldberg & Bertollo (1985a) e Vicari *et al.* (2006), quando agrupados os cromossomos em  $m-sm$  ( $10m + 38st-a$ ), diferenciando-se apenas da estudada por Oyhenart-Perera *et al.* (1975) que apresentou  $8m,sm + 40 st-a$ .

O tratamento com nitrato de prata revelou um sistema de NORs simples, com os sítios AgNORs localizados na posição terminal do braço curto, correspondente ao par 8, sendo coincidente com uma constrição secundária, visível em algumas preparações (Figura 2 A). Estes resultados obtidos para *Australoheros* sp. são semelhantes aos encontrados para *Cichlasoma facetum* por Feldberg & Bertollo (1985b) e Vicari *et al.* (2006), que observaram marcações no braço curto de um cromossomo do tipo  $st-a$  entretanto, Feldberg & Bertollo (1985b), não identificaram qual era o par cromossômico portador da NOR.

Na subfamília Cichlasomatinae, como nos Cichlidae em geral, com raras exceções, o padrão de NORs simples é o mais encontrado, fazendo com que esta característica seja considerada plesiomórfica em relação às NORs múltiplas, relatada nesta

subfamília nos gêneros *Caquetaia*, *Cichlasoma*, *Mesonauta* e *Symphysodon*, como pode ser visto na revisão feita por Feldberg *et al.* (2003).

A coloração com o fluorocromo cromomicina A<sub>3</sub> revelou, em *Australoheros* sp., marcações no braço curto de um cromossomo st-a, coincidentes com os sítios da NOR, e com o fluorocromo DAPI, específico para AT, nenhuma marcação fluorescente foi observada, reforçando que as NORs são ricas em pares de bases GC (Figura 2 B e C, respectivamente). Este mesmo padrão encontrado para os tratamentos de CMA<sub>3</sub> e DAPI foi evidenciado por outros autores, como Loureiro (1999) e Vicari *et al.* (2006), em outras espécies de cichlasomatídeos.

O padrão de distribuição da heterocromatina foi observado, principalmente, nas regiões pericentroméricas de todos os cromossomos do complemento, sendo observadas marcações heterocromáticas terminais coincidentes aos sítios AgNOR (Figura 2D). A distribuição da heterocromatina em *Australoheros* sp. mostrou-se semelhante ao padrão geral encontrado em ciclídeos e para *Cichlasoma facetum* por Vicari *et al.* (2006), onde blocos heterocromáticos estão praticamente restritos às regiões pericentroméricas dos cromossomos e associadas às NORs. Martins *et al.* (1995) e Loureiro (1999) analisando *Cichlasoma paranaense*, encontraram o mesmo padrão de distribuição da heterocromatina.

Em *Australoheros* sp., além do padrão heterocromático citado, também foi observada heterocromatina intersticial no braço longo de um cromossomo subteloacêntrico (Figura 2D), marcação não encontrada em *Cichlasoma facetum*, o que pode indicar uma característica deste gênero, podendo ser um marcador citotaxonômico, diferenciando assim *Australoheros* sp. de *C. facetum*, grupo do qual o gênero aqui estudado foi separado, através de caracteres morfológicos e moleculares, por Rican & Kullander (2006).

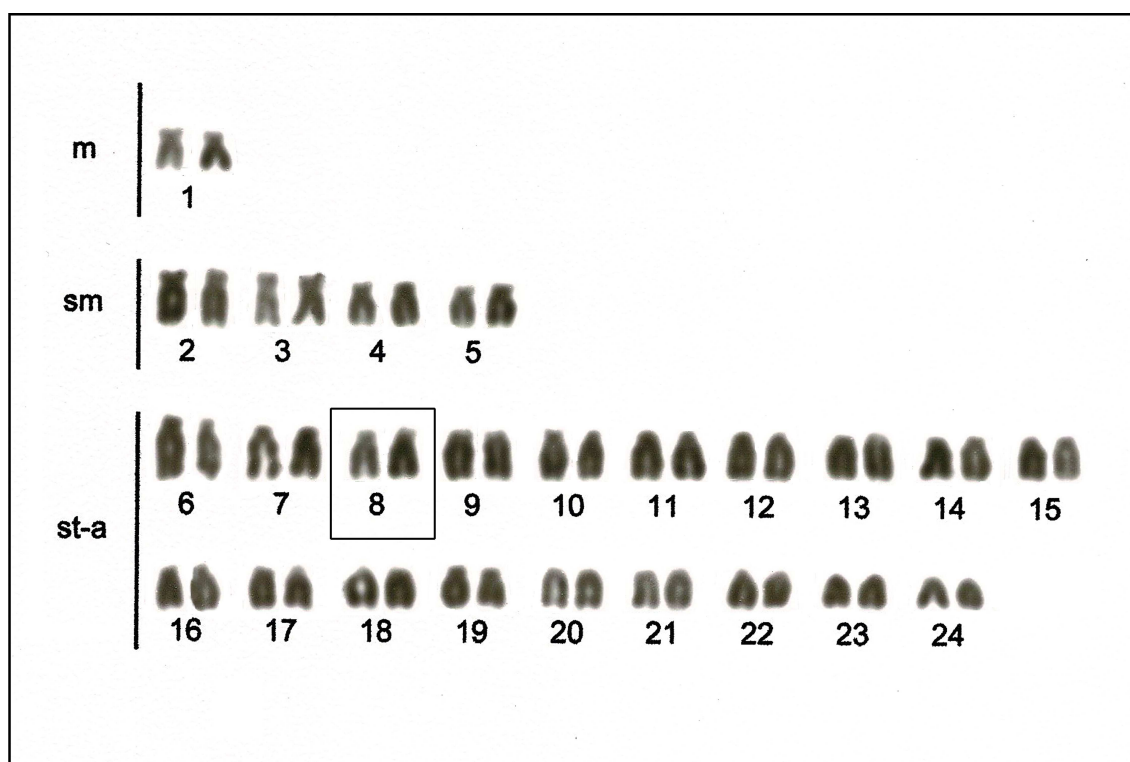
O presente estudo relata os primeiros dados citogenéticos do gênero *Australoheros* e os resultados obtidos indicam um padrão geral da subfamília Cichlasomatinae e família Cichlidae, reforçando a idéia da evolução cromossômica conservativa neste grupo de peixes.

## Referências

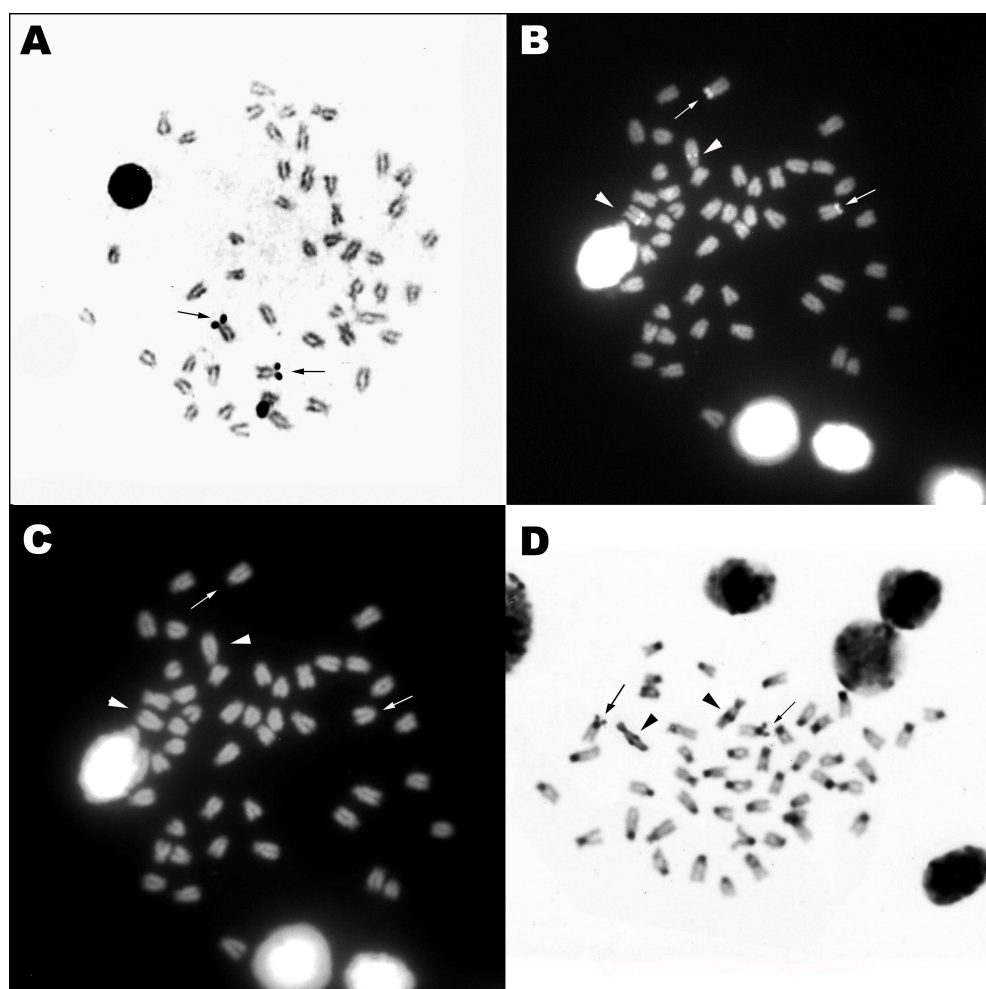
- Bertollo, L. A. C.; C. S. Takahashi & O. Moreira-Filho. 1978. Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). *Brazilian Journal of Genetics*, 1: 103-120.
- Feldberg, E. & L. A. C. Bertollo. 1985a. Karyotypes of 10 species of neotropical Cichlids (Pisces, Perciformes). *Caryologia*, 38: 257-268.
- Feldberg, E. & L. A. C. Bertollo. 1985b. Nucleolar organizing regions in some species of Neotropical cichlid fish (Pisces, Perciformes). *Caryologia*, 38: 319-324.
- Feldberg, E., J. I. R. Porto & L. A. C. Bertollo. 2003. Chromosomal changes and adaptation of cichlid fishes during evolution. Pp. 285-308. In: Val, A.L. & B.G. Kapoor (Eds.). *Fish Adaptations*. U.S., 418p.
- Howell, W. M. & D. A. Black. 1980. Controlled silver staining of nucleolus organizing regions with protective colloidal developer: a 1 - step method. *Experientia*, 36: 1014-1015.
- Kornfield, I. L. 1984. *Apud*: Feldberg, E., J. I. R. Porto & L. A. C. Bertollo. 2003. Chromosomal changes and adaptation of cichlid fishes during evolution. Pp. 285-308. In: Val, A.L. & B.G. Kapoor (Eds.). *Fish Adaptations*. U.S., 418p.

- Levan, A., K. Fredga & A. A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52: 201-220.
- Loureiro, M. A. 1999. Análise citogenética em quatro espécies da família Cichlidae (Pisces, Perciformes). Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 98p.
- Martins, I. C., A. L. B. Portella-Castro & H. F. Júlio Junior. 1995. Chromosome analysis of 5 species of the Cichlidae family (Pisces, Perciformes) from the Parana river. *Cytologia*, 60: 223-231.
- Moyle, P. B. & J. J. Cech Junior. 2000. *Fishes: an introduction to ichthyology*. 4<sup>th</sup> edition. New Jersey, Prentice-Hall, 612p.
- Nelson, J. S. 1994. *Fishes of the world*. 3<sup>rd</sup> edition. New York, JohnWiley Sons, 624p.
- Oyhenart-Perera, M. F., J. A. Luengo & N. Brum-Zorilla. 1975. Estudio citogenético de *Cichlasoma facetum* (JEMNYNS) y *Crenicichla sexatilis* (LINN.) (Teleostei. Cichlidae). *Revista Biologica del Uruguay*, 3: 29-36.
- Rican, O. & S. O. Kullander. 2006. Character- and tree-based delimitation of species in the '*Cichlasoma*' *facetum* group (Teleostei, Cichlidae) with the description of a new genus. *Journal of Zoological Systematics & Evolutionary Research*, 44: 136-152.

- Schweizer, D. 1980. Simultaneous fluorescent staining of R bands and specific heterochromatic regions (DA/DAPI) in humans chromosomes. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 27: 190-193.
- Sumner, A. T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental Cell Research*, 74: 304-306.
- Thompson, K. W. 1976. *Apud*: Feldberg, E., J. I. R. Porto & L. A. C. Bertollo. 2003. Chromosomal changes and adaptation of cichlid fishes during evolution. Pp. 285-308. In: Val, A.L. & B.G. Kapoor (Eds.). *Fish Adaptations*. U.S., 418p.
- Thompson, K. W. 1979. Cytotaxonomy of 41 species of neotropical Cichlidae. *Copeia*, 4: 679-691.
- Vicari, M. R., R. F. Artoni, O. Moreira-Filho & L. A. C. Bertollo. 2006. Basic and molecular cytogenetics in freshwater Cichlidae (Osteichthyes, Perciformes). Karyotypic conservatism and divergence. *Caryologia*, 59: 260-266.
- Zahner, E. 1977. *Apud*: Feldberg, E., J. I. R. Porto & L. A. C. Bertollo. 2003. Chromosomal changes and adaptation of cichlid fishes during evolution. Pp. 285-308. In: Val, A.L. & B.G. Kapoor (Eds.). *Fish Adaptations*. U.S., 418p.



**Figura 1** – Cariótipo de *Australoheros* sp. com identificação do cromossomo portador da constrição secundária (box).



**Figura 2** – Metáfases somáticas de *Australoheros* sp. submetidas aos tratamentos de impregnação por nitrato de prata (A), CMA<sub>3</sub> (B), DAPI (C) e Banda C (D). As setas indicam os cromossomos da NOR e as cabeças de setas o cromossomo com a heterocromatina intersticial.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

1. Todas as espécies analisadas apresentaram um número diplóide de 48 cromossomos, característico da família Cichlidae, entretanto foram encontradas diferenças nas fórmulas cariotípicas;
2. As espécies do gênero *Crenicichla* da bacia do rio Paranapanema apresentaram fórmulas cariotípicas distintas, sendo que cada população de *Crenicichla britskii analisada* mostrou características próprias, indicando uma diversidade cariotípica nesta espécie;
3. As espécies *C. lepidota* e *C. maculata* do sistema Lagoa dos Patos apresentaram a mesma fórmula cariotípica, diferindo de *C. punctata*. Em *Crenicichla lepidota* foi observada a presença de cromossomos B, totalmente heterocromáticos;
4. As espécies de *Gymnogeophagus* apresentaram variações intra e interespecíficas quanto à constituição cariotípica;
5. *Geophagus brasiliensis* apresentou cariótipo semelhante a outras populações anteriormente analisadas; neste trabalho foi descrita pela primeira vez a fórmula cariotípica de *Australoheros* sp., mostrando características comuns à subfamília Cichlasomatinae;
6. Todas as espécies de *Crenicichla* apresentaram uma constrição secundária intersticial no braço curto do maior par cromossômico, do tipo metacêntrico, considerado característico do gênero, com exceção de *C. britskii* do ribeirão Taquari/PR;
7. Em todas as espécies foi observado um sistema de NORs simples, exceto as espécies *C. britskii* do rio Paranapanema e *G. gymnogenys* do Saco da Alemoa/Barra do Ribeiro que apresentaram uma variação de 2 a 4 cromossomos nucleolares, indicando, portanto, a ocorrência de NORs múltiplas;
8. As NORs foram coincidentes com as constrições secundárias, com exceção de *C. britskii* do rio Paranapanema e *G. gymnogenys* do Saco da Alemoa/Barra do Ribeiro, que apresentaram apenas um dos pares da NOR correspondente com a constrição secundária;

9. Foi observado heteromorfismo de tamanho entre os cromossomos homólogos nas espécies *C. britskii* do rio Paranapanema, *C. maculata*, *G. gymnogenys* e *G. brasiliensis*;
10. O fluorocromo CMA3 evidenciou regiões GC ricas correspondentes ao par da NOR em todas as espécies. Em *C. britskii* do rio Paranapanema e *Australoheros* sp. foram também evidenciadas marcações CMA3 intersticiais em um outro par de cromossomos;
11. O fluorocromo DAPI não evidenciou marcações fluorescentes em nenhuma das espécies;
12. A heterocromatina mostrou-se distribuída nas regiões pericentroméricas e coincidente às NORs, exceto em *G. labiatus* e *C. britskii* do rio Paranapanema que apresentaram os pares da NOR, o par 1 e o par 6, banda C negativo; nesta última espécie e em *Australoheros* sp. foram observadas marcações intersticiais heterocromáticas em um outro par de cromossomos;
13. Os dados citogenéticos obtidos para as duas populações de *C. britskii* sugerem que esta espécie pode estar em um processo inicial de especiação;
14. Os dados aqui apresentados mostram uma evolução cariotípica conservada na família Cichlidae, revelando algumas características próprias de cada gênero analisado.

## REFERÊNCIAS

- AFFONSO, P. R. A. M. Caracterização citogenética de peixes de recifes de corais da Família Pomacanthidae (Perciformes). Dissertação (Mestrado em Genética e Evolução). Universidade Federal de São Carlos: São Carlos, 146p., 2000.
- ALVES, M. N. Análise citogenética na família Cichlidae: gênero *Cichla* (Schneider, 1801) (Perciformes, Labroidei). Dissertação (Mestrado em Biologia de Água Doce e Pesca Interior). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia: Manaus, 1998.
- ALVES, M. N.; SANTOS, M. N. M.; FELDBERG, E. Presença de cromossomos supranumerários em três espécies de Cichlidae da bacia Amazônica. *In: XIII ENCONTRO BRASILEIRO DE ICTIOLOGIA*, São Carlos, SP, 155p., 1999.
- ARAI, R.; KOIKE, A. A karyotype study on two species of freshwater fishes transplanted into Japan. *Bull. Nat. Sci. Mus.*, 6: 275-278, 1980.
- BADR, E. A.; EL-DIB, S. I. Effects of water pollution on the cell division cycle and chromosome behavior in *Tilapia* spp. *J. Cell. Biol.*, 70: 189a., 1976.
- BADR, E. A.; EL-DIB, S. I. Cytological studies on three species of the cichlid fish. *Egypt. J. Genet. Cytol.*, 6: 44-51, 1977.
- BENZAQUEM, D. C.; SILVA, A. M.; PORTO, J. I. R.; FELDBERG, E. Caracterização cromossômica em três espécies do gênero *Crenicichla* Heckel, 1840 da Amazônia Central. *In: IX SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA E GENÉTICA DE PEIXES*, Maringá, PR, 96p., 2002.
- BRITSKI, H. A.; SATO, Y.; ROSA, A. B. S Manual de identificação de peixes da região de 3 Marias. 2. ed. Brasília: CODEVASP, 115 p., 1986.
- BRUM, M. J. I. Evolução cariotípica dos teleósteos marinhos e suas correlações com a filogenia deste grupo (com especial ênfase aos clupeiformes, perciformes e tetraodontiformes). Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais). Universidade Federal de São Carlos: São Carlos, 184 p., 1994.
- BRUM, M. J. I. Correlação entre a filogenia e a citogenética dos peixes teleósteos. *Série Monografias*, 2: 5-42., 1995.

BRUM, M. J. I. Cytogenetics studies of Brazilian marine fish. *Brazilian Journal of Comparative Biology*. 19 (3): 421-427, 1996.

BRUM, M. J. I.; GALETTI JUNIOR, P. M. Teleostei ground plan karyotype. *J. Comp. Biol.*, 2 (2): 91-102, 1997.

BRUM, M. J. I.; OLIVEIRA, C. C.; VOIGT, N.; CÔRREA, M. M. O. Karyotypic discrepancy between populations of *Geophagus brasiliensis* (Perciformes: Cichlidae), including the topotypical population, with possible taxonomic implications. *J. Comp. Biol.*, 2 (3): 177-184, 1998.

BRUM, M. J.; NETO, A. F.; MOTA, L. G. Análise cariotípica de *Crenicichla lacustris* (Perciformes, Cichlidae) do Estado do Rio de Janeiro. In: IX SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA E GENÉTICA DE PEIXES, Maringá, PR, 97p., 2002.

BURGESS, W. E. Two new genera of angelfishes, Family Pomacanthidae. *Tropical Fish Hobbyist*. 39: 68-70, 1991.

CANO, J.; THODE, G.; ALVAREZ, M. C. Karyoevolutive considerations in 29 Mediterranean Teleost fishes. *Vie Milieu*, 32 (1): 21-24, 1982.

CHERVINSKI, J. Preliminary experiments in cichlids hybrids. *Bamidgeh*, 16: 95- 105, 1964.

CORAZZA, L. C. Q.; PORTO-FORESTI, F; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Estudo citogenético em populações de *Geophagus brasiliensis* de diferentes bacias hidrográficas. In: VII SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA EVOLUTIVA APLICADA EM PEIXES NEOTROPICAIS, Londrina, PR, 19p., 1998.

COUTO, T, M.; ABREU, C. S.; MAISTRO, E. L.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Análises cariotípicas preliminares na espécie *Geophagus brasiliensis* (Pisces, Cichlidae) proveniente do rio Sapucaí, represa de Furnas, MG. In: VII SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA EVOLUTIVA APLICADA EM PEIXES NEOTROPICAIS, Londrina, PR, 20p., 1998.

FARIAS, I.P.; ORTÍ, G.; MEYER, A. 2000. Total Evidence: Molecules, Morphology, and the Phylogenetics of Cichlid Fishes. *Journal of Experimental Zoology*. 288: 76-92, 2000.

FARIAS, L. N.; PIECZARKA, J. C.; NAGAMACHI, C. Y.; SOUTO, P. S. S.; COELHO, P. N.; BARROS, R. M. Estudos cariotípicos de duas espécies da família Cichlidae (Pisces, Perciformes) do rio Peixe-boi (Amazônia, PA). *Genet. Mol. Biol.* (suplemento) 22 (3): 73p., 1999.

FARIAS, L. N.; NAGAMACHI, C. Y.; BARROS, R. M.; RODRIGUES, L. R. R.; PIECZARKA, J. C. Estudos citogenéticos em *Aequidens tetramerus* e *Satanoperca acuticeps* (Perciformes, Cichlidae) do rio Peixe-boi (Amazônia, PA). In: VIII SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA EVOLUTIVA APLICADA EM PEIXES NEOTROPICAIS, Manaus, AM, 91p., 2000.

FELDBERG, E.; BERTOLLO, L. A. C. Discordance in chromosome number among somatic and gonadal tissue cells of *Gymnogeophagus balzanii* (Pices: Cichlidae). *Rev. Bras. Genet.*, 4(4): 639-645, 1984.

FELDBERG, E.; BERTOLLO, L. A. C. Karyotypes of 10 species of neotropical Cichlids (Pisces, Perciformes). *Caryologia*, 38: 257-268, 1985a.

FELDBERG, E.; BERTOLLO, L. A. C. Nucleolar organizing regions in some species of Neotropical cichlid fish (Pisces, Perciformes). *Caryologia*, 38: 319-324, 1985b.

FELDBERG, E.; PORTO, J. I. R.; NAKAYAMA, C. M. Caracterização cariotípica em *Guianacara* sp. (Perciformes, Labrodei, Cichlidae) do rio trombetas – PA. In: III SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA EVOLUTIVA APLICADA EM PEIXES NEOTROPICAIS, Botucatu, SP, 39p., 1990.

FELDBERG, E.; PORTO, J. I. R.; BERTOLLO, L. A. C. Chromosomal changes and adaptation of cichlid fishes during evolution. In: VAL, A.L.; KAPOOR, B.G., *Fish Adaptations*, New Dehli & New York, Science Publishers, 418p., 2003.

FELDBERG, E.; PORTO, J. I. R.; ALVES-BRINN, M. N.; MENDONÇA, M. N. C.; BENZAQUEM, D. C. B chromosomes in Amazonian cichlid species. *Cytogenetic and Genome Research*, 106:195-198. 2004.

FENOCCHIO, A. S.; PASTORI, M. C.; LOPEZ, P. A.; SANCHEZ, S.; ALBERDI, A. J.; BORDENAVE, S.; DIB, M. C. Levantamento citogenético em peixes de água doce da Argentina: resumo das espécies estudadas. In: V SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA EVOLUTIVA APLICADA EM PEIXES NEOTROPICAIS, São Carlos, SP, 8p., 1994.

FORESTI, F.; OLIVEIRA, C.; GALETTI, P. M.; ALMEIDA-TOLEDO, L. F. Synaptonemal complex analysis in spermatocytes of tilapia *Oreochromis niloticus* (Pisces, Cichlidae). *Genome*, 36: 1124-1128, 1993.

FRYER, G.; ILES, T. D. The Cichlids Fishes of the Great Lakes of Africa: their biology and Evolution. EdinBurg, Tropical Fish Hobbyist Publications, 641 p., 1972.

FUKUOKA, H.; MURAMOTO, J. Somatic and meiotic chromosomes of *Tilapia mossambica* Peters. *Chromosome Inf. Serv.*, 18: 4-6, 1975.

GALETTI JR, P. M.; AGUILAR, C. T.; MOLINA, W. Na overview of marine fish cytogenetics. *Hydrobiologia*, 420: 55-62, 2000.

JAKOWSKA, S. Spermatogenesis in the cichlid fish *Tilapia macrocephala* (Beeker). *Trans. Am. Microsc. Soc.*, 69: 403-413, 1950.

JALABERT, B.; KAMMACHER, P.; LESSENT, P. Descriptive genetics of cichlids fishes. In: In: TURNER, B. J. (eds.), *Evolutionary Genetics of Fishes*. New York, Springer, 636p., 1971.

KORNFELD, I. L.; RITTE, U.; RICHLER, C.; WAHRMAN, J. Biochemical and cytological differentiation among cichlid fishes of the sea of Galilee. *Evolution*, 33: 1- 14. 1979.

KORNFELD, I. L. Descriptive genetics of cichlids fishes. In: *Evolutionary genetics of fishes*. New York, Springer, 636p., 1984.

KRICHANÃ, S. R. L.; FALCÃO, J. N.; FELDBERG, E.; PORTO, J. I. R. Caracterização citogenética de três espécies de peixes ornamentais da bacia amazônica. In: VI SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA EVOLUTIVA APLICADA EM PEIXES NEOTROPICAIS, São Carlos, SP, 91p., 1996.

KULLANDER, S. O. 1998. A phylogeny and classification of the south American Cichlidae (Teleostei: Perciformes). In: MALABARBA, L. R.; REIS, R. E.; VARI, R. P.; LUCENA, Z. M. S.; LUCENA, C. A. S. *Phylogeny and classification of neotropical fishes*. Porto Alegre, EDIPUCS, 603 p., 1998.

LAUDER, C. V.; LIEM, K. F. The evolution and interrelationships of the actinopterygian fishes. *Bull. Mus. Comp. Zool.*, 150 (3): 95-197. 1983.

LORSCHIEDER, C. A. Análises citogenéticas em duas espécies do gênero *Crenicichla* (Pisces, Perciformes, Cichlidae). Monografia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná: Cascavel, 63p., 2004.

LOUREIRO, M. A.; DIAS, A. L. Regiões organizadoras de nucléolo (NORs) múltiplas em *Cichlasoma paranaense* (Pisces, Cichlidae) da região de Guaravera, Londrina, PR. In: VII SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA EVOLUTIVA APLICADA EM PEIXES NEOTROPICAIS, Londrina, PR, 18p., 1998.

LOUREIRO, M. A. Análise citogenética em quatro espécies da família Cichlidae (Pisces, Perciformes). Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento). Universidade Estadual de Londrina: Londrina, 98p., 1999.

LOUREIRO, M. A.; GIULIANO-CAETANO, L.; DIAS, A. L. Cytogenetic characterization of two species of the Genus *Crenicichla* (Pisces, Cichlidae). *Cytologia* 65: 57-63. 2000.

MAJUMBAR, K. C.; McANDREW, B. J. Relative DNA content of somatic nuclei and chromosomal studies in three genera, *Tilapia*, *Sarotherodon* and *Oreochromis* of the tribe Tilapini (Pisces, Cichlidae). *Genetica*, 68: 175-188. 1986.

MARESCALCHI, O. Karyotype and mitochondrial 16S gene characterizations in seven south American Cichlasomatini species (Perciformes, Cichlidae). *JZS*. 43 (1): 22-28. 2005.

MARTINS-SANTOS, I.C.; PORTELLA-CASTRO, A. L. B.; JULIO JR, H. F. Estudo cromossômico de *Aequidens plagiozonatus* (Perciformes, Cichlidae) do rio Paraná. In: III SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA EVOLUTIVA APLICADA EM PEIXES NEOTROPICAIS, Botucatu, SP, 40p. 1990.

MARTINS, I. C.; PORTELLA-CASTRO, A. L. B.; JÚLIO JR., H.F. Chromosomes analysis of 5 species of the Cichlidae family (Pisces, Perciformes) from the Parana river. *Cytologia*, 60: 223-231. 1995.

MARTINS-SANTOS, I.C.; PORTELLA-CASTRO, A. L. B.; JULIO JR, H. F. Chromosomal polylorhism and speciation in *Laetacara* cf. *dorsigera* (Teleostei, Perciformes, Cichlidae) from the river Paraná PR Brazil. *Caryologia*, 58 (2): 95-101. 2005.

MENDONÇA, M. N. C.; PORTO, J. I. C.; FELDBERG, E. Ocorrência de três citótipos em *Satanoperca* aff. *Jurupari* (Perciformes Cichlidae) no Catalão, Manaus, AM. *Genet. Mol. Biol.* (suplemento) 22: 69p. 1999.

MESQUITA, D. R.; FELDBERG, E.; PORTO, J. I. R. Análise da variabilidade cromossômica do peixe ornamental acará-disco (*Symphysodon aequifasciatus*) da Amazônia: população natural de Manacapuru, AM. In: VII SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA EVOLUTIVA APLICADA EM PEIXES NEOTROPICAIS, Londrina, PR, 34p. 2000.

MICHELE, J. L.; TAKAHASHI, C. S. Comparative Cytology of *Tilapia rendalli* and *Geophagus brasiliensis* (Cichlidae, Pisces). *Cytology*, 42: 535-537. 1977.

MIZOGUCHI, S. M. H. N.; MARTINS-SANTOS, I. C. Análise citogenética de *Crenicichla iguassuensis* e *Tilapia rendalli* (Pisces, Cichlidae) da bacia do rio Iguaçú. *Genet. Mol. Biol.* (suplemento) 22: 80p. 1999.

MIZOGUCHI, S. M. H. K.; PORTELLA-CASTRO, A. L. B.; MARTINS-SANTOS, I. C. Cytogenetic characterization of *Crenicichla* (Pisces, Perciformes, Cichlidae) of the Iguaçú river. *Genetics and Molecular Research*, 6: 650-656. 2007.

MOREIRA-FILHO, O.; BERTOLLO, L. A. C.; FERRARI, I.; TAKAHASHI, C. S.; FORESTI, F. Estudos citogenéticos em peixes da região amazônica. III. Ordem Perciformes. *Ciência e Cultura* (suplemento), 32: 734. 1980.

MOYLE, P. B.; CECH JUNIOR, J. J. Fishes: an introduction to ichthyology. 4. ed. Upper Saddle River: Prentice-Hall, 612 p. 2000.

NATARAJAN, R.; SUBRAHMANYAM, K. *Apud*: KORNFIELD, I. L.; RITTE, U.; RICHLER, C.; WAHRMAN, J. 1979. Biochemical and cytological differentiation among cichlid fishes of the sea of Galilee. *Evolution*, 33: 1-14. 1968.

NATARAJAN, R.; SUBRAHMANYAM, *Apud*: KORNFIELD, I. L. 1984. Descriptive genetics of cichlid fishes. *In*: TURNER, B. J. (eds.), *Evolutionary Genetics of Fishes*. New York, Springer, 636p. 1974.

NELSON, J. S. Fishes of the World. 2. ed. New York: John Wiley & Sons. 600 p. 1994.

NIJJHAE, B.; NATEG, C. K.; AMEDJO, S. D. Chromosome studies on *Sarotherodon niloticus*, *S. multifasciatus* and *Tilapia busumana*. *In*: PROC. INTERN. SYMP. ON *Tilapia* IN AQUACULTURE, Nazareth, Israel, 256-260p. .1983.

NISHIKAWA, S.; AMAOKA, K. KARASAWA, T. A preliminary study on the chromosomes of *Cichlasoma citrinella* (Cichlidae, Pisces). *Chrom. Inform. Serv.*, 14: 32-33. 1973.

OHNO, S.; ATKIN, N. B. Comparative DNA values and chromosome complements of eight species of fishes. *Chromosoma*, 18: 455-466. 1966.

OLIVEIRA, C.C.; BRUM, M. J. I.; CÔRREA, M. M. O; GALETTI, P. M. Caracterização cromossômica de *Geophagus brasiliensis* (Perciformes, Cichlidae) da localidade tipo (Rio de Janeiro). *In*: V SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA EVOLUTIVA APLICADA EM PEIXES NEOTROPICAIS, SãoCarlos, SP, 23p. 1994.

- OLIVEIRA, C.; LABBÉ, J.; WRIGHT, J. M. Localization of the 5S and 18S rRNA genes to metaphase chromosomes of cichlids fish, *Oreochromis niloticus*. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 81: 112. 1998.
- OLIVEIRA, C.; CHEW, J. S. K.; PORTO-FORESTI, F.; DOBSON, M. J.; WRIGHT, J. M. A LINE2 repetitive DNA sequence from the cichlid fish *Oreochromis niloticus*: sequence analysis and chromosomal distribution. *Chromosoma*, 108: 457- 468.1999.
- OYHENART-PERERA. M. F., LUENGO, J. A., BRUM-ZORILLA, N. Estudio citogenético de *Cichlasoma facetum* (JENYNS) y *Crenicichla sexatilis* (LINN.) (Teleostei. Cichlidae). *Ver. Biol. del Uruguay*, 3: 29-36. 1975.
- PEIXOTO, R. M.; ERDTMANN, B. Estudos citogenéticos no gênero *Gymnogeophagus* (Pisces, Perciformes, Cichlidae). *In: II SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA EVOLUTIVA APLICADA EM PEIXES NEOTROPICAIS*, Maringá, PR, 27p. 1988.
- PIRES, L. B.; GIULIANO-CAETANO, L.; DIAS, A. L. No Prelo. Karyotype similarities among two populations of *Geophagus brasiliensis* (Perciformes, Cichlidae) from the Tibagi river basin/PR/Brazil. *Caryologia*.
- POST, A. *Apud*. DENTON, T. E. Fish Chromosome Methodology. Springfield, USA, Charles C. Thomas, Publ, 166p. 1965.
- PRASAD, R.; MANNA, G. K. Chromosomes of the fishes *Tilapia mossambica* and *Notopterus notopterus*. *Chromosome Inf. Serv.*, 21: 11-13. 1976.
- QUIJADA, C. C. D.; CESTARI, M. M. Estudos citogenéticos em *Cichlasoma facetum* e *Geophagus brasiliensis* pertencentes a São Mateus do Sul-PR. *In: VII SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA EVOLUTIVA APLICADA EM PEIXES NEOTROPICAIS*, Londrina, PR, 22p. 1998.
- RÁB, P.; LIEHMAN, P.; PROKES, M. Karyotype of *Cichlasoma tetracanthum* (Pisces, Cichlidae) from Cuba. *Folia Zoologica*, 32: 185-188. 1983.
- RIBBINK, A. J. Alternative life styles of some African Cichlids fishes. *Environment Biology of Fishes*, 37: 87-100. 1990.

REZENDE, A. B.; QUEIROZ, C. C.; CALDART, F. A.; RIBEIRO, L.; MIYAZAWA, C. S. Notas preliminares do estudo cariotípico de distintos grupos de peixes da bacia do rio paraguaí, no estado do Mato Grosso. *In: VI SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA EVOLUTIVA APLICADA EM PEIXES NEOTROPICAIS*, São Carlos, SP, 105p. 1996.

RONCATI, H. A.; FENOCCHIO, A. S.; PASTORI, M. C.; SANCHEZ, S.; ALBERTI, A. J. Descripción cariotípica de cinco géneros de cichlidos (Perciformes) de la Republica Argentina. *In: VI SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA EVOLUTIVA APLICADA EM PEIXES NEOTROPICAIS*, São Carlos, SP, 90p. 1996.

RONCATI, H. A.; FENOCCHIO, A. S.; PASTORI, M. C.; SANCHEZ, S.; BRASSESCO, M. S. Diversidad cariotípica em cinco géneros de peces de la família Cichlidae (Perciformes). *In: VIII SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA EVOLUTIVA APLICADA EM PEIXES NEOTROPICAIS*, Manaus, AM, 33p. 2000.

SALGADO, S. M.; FELDBERG, E.; PORTO, J. I. R. Estudos citogenéticos na família Cichlidae (Perciformes, Labroidei) da bacia Amazônica Central. *In: V SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA EVOLUTIVA APLICADA EM PEIXES NEOTROPICAIS*, São Carlos, SP, 47p. 1994.

SALGADO, S. M.; FELDBERG, E.; PORTO, J. I. R. Estudos citogenéticos em cinco espécies da família Cichlidae (Perciformes-Labroidei), da bacia Amazônia Central. *Genet. Mol. Biol.* (suplemento) 18: 463p. 1995.

SALGADO, S. M.; FALCÃO, J. N.; FELDBERG, E.; PORTO, J. I. R. Ocorrência de citótipos diferentes em *Symphysodon discus* (Perciformes, Cichlidae) da bacia amazônica. *In: VI SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA EVOLUTIVA APLICADA EM PEIXES NEOTROPICAIS*, São Carlos, SP, 89p. 1996.

SANTOS, A. C.; NAKAYAMA, C. M.; FELDBERG, E. Estudos citogenéticos no gênero *Mesonauta* (Perciformes: Cichlidae) da bacia Amazônica. *In: X JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO INPA*, Manaus, AM, 123-125p. 2001.

SANTOS, L. O. S.; SANA, D. C. S., MOLINA, W. F. Citogenética comparativa entre os ciclídeos *Cichlasoma bimaculatum* e o híbrido *Oreochromis niloticus* X *O. mossambicus* (Pisces, Perciformes). *In: XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGIA*, Recife, PE, 239p. 1998.

THOMPSON, K. W. Cytotaxonomy of 41 species of neotropical Cichlidae. *Copeia*, 4: 679-691. 1979.

THOMPSON, K. W. Karyotypes of six species of African Cichlidae (Pisces, Perciformes). *Experientia*, 37: 351-352. 1981.

TORRES, R. A.; LEÃO, A. G. Chromosomal Analysis in a Fish Stock of Tilapia (Pisces: Perciformes: Cichlidae). *Estudos de Biologia*, 24 (49): 39-42. 2002.

URIBE-ALCOCER, M.; TÉLLEZ-VARGAS, C.; DÍAZ-JAIMES, P. Chromosomes of *Cichlasoma istlanum* (Perciformes: Cichlidae) and karyotype comparison of two presumed subspecies. *Rev. Biol. Trop.*, 47 (4): 1051-1059. 1999.

VENERE, P.C. Nota sobre os cromossomos de algumas espécies do baixo rio Tocantins (Reservatório de Tucuruí, PA). *In: II SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA EVOLUTIVA APLICADA EM PEIXES NEOTROPICAIS*, Maringá, PR, 36p. 1988.

VERVOORT, A. The karyotypes of seven species of *Tilapia* (Teleostei: Cichlidae). *Cytologia*, 45: 651-656. 1980.

VICARI, M. R.; ARTONI, R. F.; MOREIRA-FILHO, O; BERTOLLO, L. A. C. Basic and molecular cytogenetics in freshwater Cichlidae (Osteichthyes, Perciformes). Karyotypic conservatism and divergence. *Caryologia*, 59 (3): 260- 266. 2006.

ZAHNER, E. 1977. *Apud: KORNFIELD, I. L.* Descriptive genetics of cichlid fishes. *In: TURNER, B. J.* (eds.), *Evolutionary Genetics of Fishes*. New York, Springer, 636p. 1984.