



**UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA**

TATIANA PERES DE ASSIS MAIA

**“ESTUDOS CITOGENÉTICOS EM PEIXES DA SUBFAMÍLIA
LORICARIINAE (SILURIFORMES, LORICARIIDAE)”**

Londrina
2008

TATIANA PERES DE ASSIS MAIA

**“ESTUDOS CITOGENÉTICOS EM PEIXES DA SUBFAMÍLIA
LORICARIINAE (SILURIFORMES, LORICARIIDAE)”**

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)

M217e Maia, Tatiana Peres de Assis.

Estudos citogenéticos em peixes da subfamília Loricariinae (siluriformes,
loricariidae) / Tatiana Peres de Assis Maia. – Londrina, 2008.
62f. : 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. Peixes – Citogenética – Teses. 2. Bandamento cromossômico – Teses.
3. Rineloricaria – Teses. I. Dias, Ana Lúcia. II. Instituto Agronômico do Paraná. III. EMBRAPA.
IV. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas.
Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular.V. Título.

CDU 576.3::575.1

TATIANA PERES DE ASSIS MAIA

**“ESTUDOS CITOGENÉTICOS EM PEIXES DA SUBFAMÍLIA
LORICARIINAE (SILURIFORMES, LORICARIIDAE)”**

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 Cláudio Oliveira
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho” – Campus Botucatu

Londrina, 15 de fevereiro de 2008.

Quero, um dia, poder dizer às pessoas que nada foi em vão... que o AMOR existe, que vale a pena se doar às amizades a às pessoas, que a vida é bela sim, e que eu sempre dei o melhor de mim... e que valeu a pena!

Luís Fernando Veríssimo

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por estar sempre me abençoando e me fortalecendo em minha vida.

Aos meus pais **Deusdney e Zelinda**, pelo amor e apoio incondicional em todos os momentos da minha vida, amo muito vocês!

Aos meus irmãos **Lucemary, Sandro e Wanderson**, pelo amor, pelo apoio, pelo incentivo, enfim, por tudo.

Às minhas sobrinhas **Paula e Maya**, por serem mais do que sobrinhas ou amigas, são duas irmãs.

Ao meu namorado **Roberto**, por estar sempre ao meu lado me dando muito amor e carinho, me ajudando em todos os momentos de minha vida, por toda paciência e incentivo, e até pelas broncas!

Aos meus amigos **Rayane, Oswaldir, Rayane, Juliana, Salime**, por todo carinho e ajuda durante o mestrado. Em especial às minhas amigas **Ana Rafaela, Márcia e Marilane**, por serem mais do que amigas, três irmãs, me dando um apoio incondicional. Muito obrigada!

Às minhas Orientadoras **Ana Lúcia Dias e Lucia Giuliano-Caetano**, pela oportunidade e pela orientação.

Ao professor **Prof. Dr. Cláudio Oliveira**, por aceitar fazer parte da minha banca, pelas críticas e sugestões deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. André Luís Laforga Vanzela** por ter permitido o uso do seu laboratório, e pelas críticas e sugestões deste trabalho.

Aos colegas de laboratório **Rafael, Rosiley, Gabriel, Tatiane, Tamara, Larissa Lacerda, Juliana, Vitor** pelo companheirismo no laboratório e por todos os momentos de descontração, e em especial agradeço ao **Treco** e a **Michelli**, por serem pessoas muito queridas para mim, pela amizade e apoio. Muito Obrigado a todos vocês.

Aos colegas de Mestrado: **Letícia, Helen, Iara, Marcela, Juliana, Ariane, Clelton, Yuldi e Rafael**, pelas conversas jogadas fora, pelos momentos de descontração, enfim, pela amizade.

Aos técnicos de laboratório **Dário e Melissa**, por todas as brincadeiras e ajuda prestada durante este trabalho, que foram muito importantes.

A **Tereza e Edna**, pelas brincadeiras as quais demos boas risadas.

A **Sueli**, por ser um verdadeiro anjo dentro do mestrado, me ajudando com papelada, burocracia, etc.

Aos professores do Programa de Mestrado em Genética e Biologia Molecular, por todo conhecimento passado.

A Universidade Estadual de Londrina e CAPES, pelo suporte e apoio financeiro.

E a quem eu tenha esquecido de mencionar e que de certa forma ajudaram na realização deste trabalho. Um muito obrigado!

MAIA, Tatiana Peres de Assis. **Estudos citogenéticos em peixes da subfamília Loricariinae (siluriformes, loricariidae)**. 2008. 73f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2008.

RESUMO

A subfamília Loricariinae apresenta 209 espécies distribuídos em 31 gêneros, sendo que até o momento apenas 15 espécies foram estudadas citogeneticamente. Frente à grande variabilidade interespecífica que é encontrada na macroestrutura cariotípica da subfamília Loricariinae, este grupo é um excelente material para estudos citogenéticos. No presente estudo foram analisadas cinco espécies da subfamília Loricariinae: *Loricariichthys platymetopon* e *Rineloricaria pentamaculata*, coletados na bacia do Rio Paranapanema; *Loricariichthys anus*, *Rineloricaria cadeae* e *Rineloricaria strigilata*, coletados no sistema hidrográfico do lago Guaíba/RS. Os exemplares foram submetidos a análises cariotípicas por meio da coloração convencional (Giemsa), impregnação por nitrato de prata, bandamento C e fluorocromos base-específicos Cromomicina A3 e DAPI. Na análise com Giemsa, *Loricariichthys platymetopon* e *Loricariichthys anus* apresentaram $2n=54$ cromossomos, entretanto com diferentes fórmulas cariotípicas. *Loricariichthys platymetopon* apresentou $6m+18sm+4st+26a$ e *L. anus* $8m+16sm+4st+26a$, sendo que nesta última espécie foi encontrado um polimorfismo estrutural no par 25, tanto para machos como para fêmeas. O gênero *Rineloricaria*, apresentou número diplóide, de $2n=56$ cromossomos ($2m+6sm+48a$) para *R. pentamaculata*, $2n=62$ cromossomos ($2sm+2st+58a$) para *R. cadeae* e $2n=70$ ($4sm+2st+64a$) para *R. strigilata*. A impregnação pelo nitrato de prata detectou RONS simples para todas as espécies, sendo intersticial somente para *L. anus*. A coloração com CMA_3 mostrou-se correspondente a estas regiões, que apresentam-se negativas com DAPI. A heterocromatina mostrou-se distribuída na região pericentromérica da maioria dos cromossomos e também associada às RONS em todas as espécies analisadas. Os resultados obtidos no presente trabalho são importantes para uma melhor caracterização das espécies estudadas e podem auxiliar nos estudos relacionados a evolução cariotípica desta subfamília.

Palavras-chave: Peixe. Citogenética. Citogenética animal.

MAIA, Tatiana Peres de Assis. **Estudos citogenéticos em peixes da subfamília loricariinae (siluriformes, loricariidae)**. 2008. 73f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2008.

ABSTRACT

The subfamily Loricariinae has about 209 species and 31 genera, of which only 15 have been examined, distributed in five genera. The great interspecific variability found at the karyotypic macrostructure of this subfamily, make this group an excellent material for cytogenetics studies. At the present study, five species belonging to the subfamily Loricariinae were investigated: *Loricariichthys platymetopon* and *Rineloricaria pentamaculata*, from Paranapanema river basin/PR; *Loricariichthys anus*, *Rineloricaria cadeae* and *Rineloricaria strigilata* from hydrographic system of Guaíba lake/RS. The specimens were submitted into cytogenetics studies by convencional color (Giemsa), silver nitrate staining, C- banding and Cromomicin A3 and DAPI fluorochromes. At Giemsa analysis, *L. platymetopon* and *L. anus* presented $2n=54$ chromosomes, but with different karyotypic formulas. *L. platymetopon* showed $6m+18sm+4st+26a$ and *L. anus* $8m+16sm+4st+26a$, at the last species has been found an structural polymorphism, for males and females. The *Rineloricaria* genus showed a variation of the diploid number, since $2n=56$ chromosomes ($2m+6sm+48a$) to *R. pentamaculata*, $2n= 62$ chromosomes ($2sm+2st+58a$) to *R. cadeae* and $2n=70$ ($4sm+2st+64a$) to *R. strigilata*. The silver nitrate evidence simple NORs for all species, and, only *L. anus* showed interstitial. The CMA₃ fluorochrome showed the same pattern as AgNORs chromosomes, being negative for DAPI. The heterochromatin is distributed in pericentromeric regions and also NOR associated in all analyzed species. The results obtained on this work are importante to improve the characterization of the species and make possible the studies related to the karyotypic evolution of this subfamily.

Keywords: Fish. Cytogenetics. Animal cytogenetics.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Mapa dos locais de coleta: A) Rio Paranapanema; B) Rio Jacutinga; C) Água da Floresta; D) Ribeirão Jacucaca e Água do Oito26
- Figura 2** – Foto dos locais de coleta: A) Rio Paranapanema; B) Rio Jacutinga; C) Ribeirão Jacucaca; D) Água do Oito e E) Água da Floresta.....27
- Figura 3** – Mapa dos locais de coleta: A) Mapa Hidrográfico: 1 – Rio Forquetinha; 2 – Rio Taquari; 3 – Rio Jacuí; B) Lago Guaíba: 1 - Arroio Capivara; 2 – Arroio da Estação Agronômica da UFRS; 3 – Rio Jacuí.....28
- Figura 4** – Foto dos locais de coleta: A) Lago Guaíba – Arroio Capivara; B) Rio Forquetinha ; Estação Agronômica da UFRGS.....29
- Figura 5** – Espécies analisadas: A) *L. platymetopon*; B) *L. anus*; C) *R. strigilata*; D) *R. cadeae*; E) *R. pentamaculata*.....31

CAPITULO I

- Figura 1** – Cariótipo de *L. platymetopon* corado com giemsa. O quadrado evidencia a constrição secundária no par 1653
- Figura 2** – Cariótipos de *L. anus* corados com giemsa: a) citótipo A e b) citótipo B. Os quadrados evidenciam a constrição secundária no par 21 e o * o heteromorfismo encontrado no par 25.....54
- Figura 3** – Par cromossômico de *Loricariichthys anus* e *Loricariichthys platymetopon* evidenciando a constrição secundária com giemsa, nitrato de prata, bandeamento C e sobreposição dos fluorocromos CMA₃/DAPI.....55

CAPITULO II

- Figura 1** – Cariótipos corados com giemsa de: A) *Rineloricaria pentamaculata*, B) *Rineloricaria cadeae* e C) *Rineloricaria strigilata*. O quadrado evidencia a constrição secundária no par 5 para *R. pentamaculata*, par 9 para *R. cadeae* e par 9 para *R. strigilata*.....70

Figura 2 – Par cromossômico de *Rineloricaria cadeae*, *Rineloricaria strigilata* e *Rineloricaria pentamaculata* evidenciando a constrição secundária com giemsa, nitrato de prata, bandeamento C e sobreposição dos fluorocromos CMA₃/DAPI71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estudos Citogenéticos na Família Loricariidae segundo Kavalco *et al.* (2005), com modificações17

CAPITULO I

Tabela 1 – Estudos citogenéticos realizados no gênero *Loricariichthys*. 2n= número diplóide; NF= número fundamental; m=metacêntrico; sm=submetacêntrico; st=subtelocêntrico e a= acrocêntrico56

CAPITULO II

Tabela 1 – Estudos Citogenéticos realizados dentro de gênero *Rineloricaria*. 2n= número diplóide; NF= número fundamental; m=metacêntrico; sm=submetacêntrico; st=subtelocêntrico e a= acrocêntrico72

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 ASPECTOS GERAIS FAMÍLIA LORICARIIDAE, COM ÊNFASE EM LORICARIINAE	12
1.2 ESTUDOS CITOGENÉTICOS NA FAMÍLIA LORICARIIDAE.....	13
1.3 REARRANJOS CROMOSSÔMICOS	22
2 OBJETIVOS	24
2.1 OBJETIVO GERAL	24
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
3 CARACTERIZAÇÃO DOS LOCAIS DE COLETA E ESPÉCIES ESTUDADAS	25
3.1 LOCAIS DE COLETA.....	25
3.2 ESPÉCIES ESTUDADAS	30
3.3 TÉCNICAS UTILIZADAS	32
REFERÊNCIAS	33
CAPITULO I – Análise citogenética em duas espécies do gênero Loricariichthys (Loricariidae, Loricariinae)	38
RESUMO.....	39
INTRODUÇÃO.....	40
MATERIAIS E MÉTODOS	41
RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47
CAPITULO II – Caracterização cariotípica de três espécies do gênero Rineloricaria (Siluriformes, Loricariidae, Loricariinae)	57
RESUMO.....	58
INTRODUÇÃO.....	59
MATERIAIS E MÉTODOS	60
RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66
CONSIDERAÇÕES FINAIS	73

1 INTRODUÇÃO

1.1 ASPECTOS GERAIS FAMÍLIA LORICARIIDAE, COM ÊNFASE EM LORICARIINAE

A família Loricariidae compreende os peixes vulgarmente conhecidos como cascudos, que são resistentes e podem ficar fora da água por um longo período devido ao fato de apresentarem uma grande vascularização das paredes do estômago. Isto auxilia na respiração, e juntamente com a respiração branquial, eles podem ocupar habitats bem variados, vivendo preferencialmente em ambientes lóticos, em rios não muito profundos com fundo arenoso ou pobre em rochas. Para suportar tais ambientes eles apresentam-se anatomicamente de forma achatados, possuem ventosas bucais, nadadeiras anatomicamente modificadas (WEBER *apud* REIS *et al.* 2003).

Sua distribuição ocorre na maioria da Região Neotropical, desde o norte da Costa Rica até o sul da Argentina (FERRARIS JR *apud* REIS *et al.* 2003). São caracterizados pela baixa fecundidade, com relativamente poucos ovos e grandes, e em alguns casos há dimorfismo sexual e cuidado parental (MENEZES, 1949), o que é comparável às condições observadas nas espécies de ciclídeos dos rios do leste africano (SCHAEFER; STEWART, 1993).

Reis *et al.* (2006) levando em consideração os estudos realizados por Armbruster (2004) sugeriram que a família Loricariidae é dividida em seis subfamílias: Lithogeninae, Neoplecostominae, Hypoptopomatinae, Loricariinae, Delturinae e Hypostominae. A subfamília Hypostominae encontra-se subdividida em cinco tribos: Corymbophanini; Rhinelepini; Pterygoplichtini; Ancistrini e Hypostomini.

A subfamília Loricariinae tem sido considerada um grupo monofilético bem definido, sendo grupo irmão da Hypostominae (SCHAEFER, 1987; PINNA, 1998), apresentando 209 espécies distribuídas em 31 gêneros (FERRARIS, 2007). As maiores das espécies desta subfamília são de tamanhos pequenos a médios, sendo a *Spatuloricaria euacanthagenys* a maior espécie encontrada, atingindo mais de um metro e meio, enquanto que *Hartiella crassicauda* é a menor espécie atingindo poucos

centrímetros (REIS *et al.*, 2003).

Morfologicamente, há uma tendência da cabeça, corpo e especialmente do pedúnculo caudal se tornarem achatados, ocorrendo o alongamento do corpo, aumentando o número de vértebras e projetando o “focinho” para frente (ISBRUCKER, 1981 *apud* REIS *et al.* 2003).

Uma outra característica importante é a presença de dimorfismo sexual, caracterizado pelo tamanho e localização dos odontóides na cabeça, corpo, pela nadadeira peitoral, e pela forma do lábio inferior (REIS *et al.*, 2003).

Esta subfamília é encontrada principalmente nos rios da América do Sul, desde a bacia de La Plata até os rios do sul do México. Poucas espécies ocorrem na costa do Pacífico nos rios da Colômbia, Equador e Panamá.

1.2 ESTUDOS CITOGENÉTICOS NA FAMÍLIA LORICARIIDAE

Estudos citogenéticos relacionados à família Loricariidae mostram que esta apresenta uma grande variação em relação ao número diplóide, variando desde $2n=36$ em *Rineloricaria latirostris* (GIULIANO-CAETANO, 1998) até $2n=96$ em *Upsilodus* sp. (KAVALCO *et al.*, 2005).

Na Tabela 1 estão compilados dados citogenéticos da família Loricariidae cuja fonte foi Kavalco *et al.* (2005), sendo que algumas modificações foram feitas adotando a classificação das subfamílias propostas por Reis *et al.* (2006).

Na subfamília Hypoptopomatinae estudos citogenéticos realizados por Andreatta *et al.* (1994) demonstram que neste grupo há uma tendência para manter o número cromossômico de $2n = 54$. Entretanto, ocorreram variações em *Otoncinclus aff. vestitus* com $2n = 72$ e *Hisonotus gibbosus* com $2n = 58$ (ANDREATTA *et al.*, 1993; 2000, respectivamente), e em *Microlepidogaster leucofrenatus*, com $2n$ variando de 54 a 56 cromossomos devido à presença de cromossomos B (ANDREATTA *et al.*, 1993; 1994). Também já foram registrados sistemas sexuais do tipo XX/XY em *Pseudotonciclus tietensis*, e do tipo ZZ/ZW em *Microlepidogaster leucofrenatus* e *Otoncinclus aff. vestitus*

(ANDREATA *et al.* 1992; 1993).

Em Neoplecostominae, foram estudados citogeneticamente *Neoplecostomus paranensis*, por Alves *et al.* (1999), *Neoplecostomus microps*, *Neoplecostomus paranensis*, *Isbrueckerichthys alipionis* e *Isbrueckerichthys duseni*, *Pareiorhaphis splendens* (*cit. como Hemipsilichthys splendens*), *Pareiorhaphis steindachneri* (*cit. como Hemipsilichthys steindachneri*), *Pareiorhaphis vestigipinnis* (*cit. como Hemipsilichthys vestigipinnis*) e *Pareiorhaphis* n. sp. (*cit. como Hemipsilichthys* n. sp.), por Alves *et al.* (2005), sendo que todas as espécies apresentaram $2n = 54$ cromossomos.

Delturinae, a nova subfamília proposta por Reis *et al.* (2006), teve Para a subfamília Hypostominae, apenas uma espécie estudada na tribo Corymbophanini, *Corymbophanes* n. sp. realizado por Alves *et al.* (2005), apresentando um número diplóide de 54 cromossomos.

Na tribo Ancistrini, o primeiro estudo foi realizado por Artoni (1996) em *Panaque cf. nigrolineatus* e *Hemiancistrus* sp., ambas apresentando número diplóide de 52 cromossomos. Lara (1998) descreveu *Ancistrus* sp. com $2n = 48$ cromossomos. Alves *et al.* (2003) estudaram *Ancistrus* n.sp.1 com $2n = 38$, *Ancistrus* n.sp.2 e *Ancistrus multispinnis* com $2n = 52$ cromossomos. Oliveira *et al.* Evidenciaram um número diplóide de 52 cromossomos para *Hemiancistrus spinosissimus* e *Hemiancistrus spilomma*, sendo descrito um sistema sexual do tipo ZZ/ZW para esta última espécie. Mariotto *et al.* (2004) encontraram para *Ancistrus cf. dubius* $2n=44$ e Mariotto e Miyazawa (2006) estudando quatro populações de *Ancistrus cf. dubius* encontraram $2n=44$ com a presença de um sistema sexual do tipo XX/XY em uma das populações.

Para a tribo Hypostomini os gêneros *Liposarcus* e *Hypostomus* são os mais estudados. *Liposarcus anisitis* apresentou o número diplóide de 52 cromossomos, com ausência de cromossomos acrocêntricos, dando uma possível proximidade com *Hypostomus emarginatus* que também possui $2n=52$ cromossomos (ARTONI *et al.* 1995).

Para o gênero *Hypostomus*, Michelle (1977) estudou quatro espécies, sob antiga denominação de *Plecostomus*, encontrando $2n = 58$ para *Hypostomus*

ancistroides e *Hypostomus macrops*; $2n = 72$ para *Hypostomus paulinus*; e $2n = 74$ para *Hypostomus strigaticeps*.

Artoni e Bertollo (1996) estudaram espécimes coletados da bacia do Alto rio Paraná, e verificaram uma variabilidade de $2n = 68$ a 80 cromossomos. Casale (2003) estudou 4 espécies, verificando $2n = 68$ cromossomos para *Hypostomus derby* e *Hypostomus commersonii*; e $2n = 74$ cromossomos para *Hypostomus myersi* e *Hypostomus albopunctatus*.

Cereali (2006) estudou algumas espécies do gênero *Hypostomus* do Planalto da Bodoquena, MS e observou que: *Hypostomus* sp.3-córrego Salobrinha-NUP4247 possui $2n=82$ e $NF=102$ e $2n=84$ com $NF=104$, sendo a variação cromossômica devida a presença de 2 cromossomos extras; *Hypostomus* sp.2-rio Perdido-NUP4249 apresentou $2n = 84$ cromossomos e $NF=106$ e *Hypostomus cochliodon* $2n = 64$ cromossomos, com um possível sistema sexual XX/XY o qual é diferenciado pelo número fundamental (NF), tendo a fêmea $NF = 99$ e o macho $NF = 100$.

Rubert (2007) analisando também algumas espécies do gênero *Hypostomus* da bacia do rio Tibagi/PR observou que: *H. nigromaculatus* e *H. paulinus* apresentam $2n=76$ cromossomos; *H. strigaticeps*, *H. regani* possuem $2n= 72$ e *H. ancistróides* apresenta $2n= 68$, *H. nigromaculatus* do rio Mogi- Guaçu apresentou $2n=76$ cromossomos.

Na subfamília Loricariinae, apenas cinco gêneros foram estudados, mostrando que esta subfamília apresenta uma complexidade cariotípica (KAVALCO *et al.* 2005), e dentre as 209 espécies de Loricariinae, apenas 15 foram estudadas citogeneticamente.

Uma avaliação dos dados mostra uma grande variabilidade quanto ao número diplóide, desde $2n = 36$ cromossomos em *Rineloricaria latirostris* (GIULIANO-CAETANO, 1998) a $2n = 74$ cromossomos em *Sturisoma* cf. *nigrirostrum* (Artoni e Bertollo, 2001). Michelle (1977) estudando *Loricaria macrodon* evidenciou um número diplóide de 58 cromossomos. *Loricariichthys platymetopon* apresenta número diplóide de 54 cromossomos (SCAVONE; JÚLIO Jr., 1995);. Alves *et al.* (2003) evidenciaram para *Hartia kronei* $2n = 58$; *Hartia loricariformis* $2n = 52$; *Rineloricaria pentamaculata* $2n$

= 56 e *Rineloricaria kronei* $2n = 64$ cromossomos, e Kavalco *et al.* (2005) evidenciaram para *Harttia loricariformis* $2n=56$ cromossomos.

Nesta subfamília não são raros os exemplos de polimorfismo relacionados ao número cromossômico e fórmula cariotípica: Scavone e Julio Jr. (1993/1994) observaram cromossomos supranumerários em *Loricaria*; em *Rineloricaria latirostris* ocorreu uma variação de $2n= 36$ a 48 cromossomos (GIULIANO-CAETANO 1998) e Errero-Porto (2007) encontrou em *Rineloricaria pentamaculata* um número diplóide constante com 56 cromossomos, mas duas fórmulas cariotípicas diferentes, além da presença de cromossomos B.

A presença de cromossomos sexuais foi observada em *Loricariichthys platymetopon* (SCAVONE; JULIO Jr., 1995), que possui um sistema sexual do tipo ZZ/ZW e *Harttia carvalhoi* com um sistema sexual múltiplo do tipo XX/XY1Y2 (CENTOFANTE *et al.*, 2006).

Essa grande diversidade cariotípica, aliada ao fato de que as diferenças morfológicas nem sempre são evidentes, coloca essa subfamília entre aquelas que apresentam dificuldades em sua taxonomia, assim como na compreensão de suas relações evolutivas. Frente à grande variabilidade interespecífica que é encontrada na macroestrutura cariotípica da subfamília Loricariinae, acredita-se ser este grupo um excelente material para estudos citogenéticos.

Tabela 1 – Estudos Citogenéticos na Família Loricariidae segundo Kavalco *et al.* (2005), com modificações.

Subfamília	Espécie	Localidade	2n	Fórmula Cariotípica	Ref.	
Hypoptopomatinae	<i>Hisonotus gibbosus</i>	Rio Betari (SP)	58		1	
	<i>Hisonotus nigricauda</i>	Rio Guaíba (RS)	54	26m+20sm+8st	32	
	<i>Hisonotus leucofrenatus</i>	Ribeirão Cavallo (SC)	54	22m+24sm+6st+2a	32	
	<i>Hisonotus</i> sp.	Rio Paraitinga (SP)	54	26m+26sm+2st	32	
	<i>Hisonotus</i> sp.	Ribeirão Grande (SP)	54	26m+26sm+2st	32	
	<i>Microlepidogaster depressicauda</i>	Rio Santo Inácio (SP)	54	14m+28sm+2st+10a	2	
	<i>Microlepidogaster leucofrenatus</i>	Rio Poço Grande (SP)	54	48sm+8st	3	
	<i>Microlepidogaster leucofrenatus</i>	Rio Marumbi (PR)	54	22m+24sm+4st+2a	2	
	<i>Microlepidogaster</i> sp 1	Rio Alambari (SP)	54	30m+20sm+4st	2	
	<i>Microlepidogaster</i> sp 2	Ribeirão Moia (SP)	54	22m+28sm+4st	2	
	<i>Microlepidogaster</i> sp	Ribeirão Jacutinga (SP)	54		4	
	<i>Microlepidogaster</i> sp	Ribeirão Quinta (SP)	54		5	
	<i>Otocinclus aff. vestitus</i>	Rio Livramento (PA)	72	22m+12sm+4st+34a	2	
	<i>Otocinclus affinis</i>	Rio Biguá (SP)	54	46m+8sm	2	
	<i>Otocinclus affinis</i>	Rio Bonito (RJ)	54	40m+12sm+2st	2	
	<i>Pseudotoncinclus maculicauda</i>	Rio Poço Grande (SP)	54	20m+32sm+2st	6	
	<i>Pseudotoncinclus tietensis</i>	Rio Grande (SP)	54	26m+20sm+6st	7	
	<i>Pseudotoncinclus obtusa</i>	Rio Itanhaém (SP)	54	26m+18sm+4st+6a	2	
	Loricariinae	<i>Harttia kronei</i>	Rio Betari (SP)	58	42m/sm+16st/a	8
		<i>Harttia loricariformis</i>	Ribeirão Grande (SP)	52	32m/sm+20st/a	8
<i>Harttia loricariformis</i>		Rio Paraitinga (SP)	56	16m+22sm+10st+8a	25	
<i>Loricaria</i> sp		Rio Solimões (AM)	62		9	
<i>Loricaria</i> sp		Rio Paraná (PR)	64	10m+6sm+4st+44a	10	
<i>Loricaria</i> sp		Rio Guaíba (RS)	66	2m+2sm+62a	8	
<i>Loricaria macrodon</i>			58	18m+2sm+38st/a	11	
<i>Loricaria parva</i>			48		12	
<i>Loricaria prolixa</i>		Rio Paraná (PR)	62	20m+4sm+38a	10	

Subfamília	Espécie	Localidade	2n	Fórmula Cariotípica	Ref.
Loricariinae	<i>Loricariichthys sp</i>	Rio Paraná (ARG)	54	6m+26sm+4st+18a	13
	<i>Loricariichthys platymetopon</i>	Rio Paraná (PR)	54	6m+20sm+4st+24a	14,2
			54	7m+20sm+4st+23a	14,2
	<i>Rineloricaria sp</i>	Rio Betari (SP)	70	2m/sm+68st/a	8
	<i>Rineloricaria kronei</i>	Ribeirão Cavallo (RS)	64	6m/sm+58st/a	8
	<i>Rineloricaria kronei</i>	Rio Itaipocu (SC)	64	6m/sm+58st/a	8
	<i>Rineloricaria latirostris</i>	Rio Passa Cinco (SP)	44	12m+4sm+28a	15
			44	10m+4sm+30a	15
			44	13m+2sm+28a	15
			44	13m+4sm+27a	15
			44	13m+1sm+30a	15
			44	10m+4sm+30a	15
			44	10m+3sm+31a	15
	<i>Rineloricaria latirostris</i>	Rio Passa Cinco (SP)	46	10m+3sm+33a	15
	<i>Rineloricaria latirostris</i>	Rio Mogi-Guaçu (SP)	36	24m/sm+12st/a	15
			37	23m/sm+14st/a	15
			38	22m/sm+16st/a	15
			39	21m/sm+18st/a	15
			40	20m/sm+20st/a	15
	<i>Rineloricaria latirostris</i>	Ribeirão Três Bocas (PR)	43	17m/sm+26st/a	15
			44	16m/sm+28st/a	15
			46	14m/sm+32st/a	15
	<i>Rineloricaria latirostris</i>	Ribeirão Três Bocas (PR)	47	13m/sm+34st/a	15
			48	12m/sm+36st/a	15
		Rio Passa Cinco (SP)	44	16m/sm+28st/a	15
			45	15m/sm+30st/a	15
	<i>Rineloricaria latirostris</i>	Rio Passa Cinco (SP)	46	14m/sm+32st/a	15
		47	13m/sm+34st/a	15	
<i>Rineloricaria pentamaculata</i>	Ribeirão Keller (PR)	56	8m/sm+48st/a	15,2	
<i>Rineloricaria pentamaculata</i>	Ribeirão Keller (PR), Córrego	56	8m/sm+48st/a	26	
	Tatupeba, Córrego Tauá	56	9m/sm+47st/a	26	

Subfamília	Espécie	Localidade	2n	Fórmula Cariotípica	Ref.
Hypostominae Tribo Ancistrini	<i>Ancistrus</i> sp	Rio Paraná (PR)	48	18m+14sm+12st+4a	17
	<i>Ancistrus</i> sp	Rio Betari (SP)	52	32m/sm+20st/a	8
	<i>Ancistrus</i> sp	Rio Itapocu (SC)	52	28m/sm+24st/a	8
	<i>Ancistrus</i> sp	Ribeirão São Francisco (AC)	38	30m/sm+8st/a	8
	<i>Ancistrus</i> cf. <i>dubius</i>	Ribeirão Serra das Araras (MG)	44	18m+10sm+16st/a	30
	<i>Ancistrus</i> cf. <i>dubius</i>	Rio Coxipó (MT)	42	24m+10sm+8st/a	31
	<i>Ancistrus</i> cf. <i>dubius</i>	Riacho Pari (MT)	42	24m+10sm+8st/a	31
	<i>Ancistrus</i> cf. <i>dubius</i>	Riacho Flechas (MT)	42	24m+10sm+8st/a	31
	<i>Ancistrus</i> cf. <i>dubius</i>	Riacho Fundo (MT)	42	24m+10sm+8st/a	31
	<i>Hemiancistrus</i> sp	Rio Araguaia (MT)	52	20m+20sm+12st/a	20
	<i>Hemiancistrus spilomma</i>	Rio Araguaia (MT)	52	25m+21sm+8st	33
				24m+22sm+8st	33
	<i>Hemiancistrus spinosissimus</i>	Rio Araguaia (MT)	52	26m+22sm+4st	33
	<i>Megalancistrus aculeatus</i>	Rio Paraná (PR)	52	26m+26sm	17
	<i>Panaque</i> cf. <i>nigrolineatus</i>	Rio Araguaia (MT)	52	26m+20sm+6st/a	20
Tribo Hypostomini	<i>Hypostomus affinis</i>	Ribeirão Jacuí (SP)	68	14m+14sm+12st+26a	25
	<i>Hypostomus albopunctatus</i>	Rio Mogi-Guaçu (SP)	74	10m+20sm+44st/a	18
	<i>Hypostomus ancistroides</i>	Ribeirão Monjolinho (SP)	68	16m+18sm+34st/a	18
	<i>Hypostomus ancistroides</i>		68	10m+26sm+32st/a	29
	<i>Hypostomus</i> aff. <i>auroguttatus</i>	Rio Mogi-Guaçu (SP)	76	8m+30sm+38st/a	18
	<i>Hypostomus emarginatus</i>	Rio Araguaia (MG)	52	16m+30sm+8st	20
	<i>Hypostomus macrops</i>		68	10m+14sm+44st/a	11
	<i>Hypostomus paulinus</i>		74	10m+20sm+44st/a	11
	<i>Hypostomus paulinus</i>	Ribeirão Três Bocas	76	6m+16sm+54st/a	29
	<i>Hypostomus plecostomus</i>		54	24m/sm+12st+18a	19
	<i>Hypostomus regani</i>	Rio Mogi-Guaçu (SP)	72	10m+20sm+42st/a	18
	<i>Hypostomus regani</i>	Ribeirão Jacutinga (PR)	72	10m+18sm+44st/a	29
	<i>Hypostomus cochliodon</i>	Rio Salobra e Córrego	64	16m+20sm+28st/a	28
		Salobrinha (MS)		16m+19sm+27st/a	

Subfamília	Espécie	Localidade	2n	Fórmula Cariotípica	Ref.
Tribo Hypostomini	<i>Hypostomus nigromaculatus</i>	Rio Mogi-Guaçu (SP)	76	8m+20sm+48st/a	29
	<i>Hypostomus nigromaculatus</i>	Ribeirão Três Bocas e Ribeirão Apertados	76	6m+20sm+50st/a	29
	<i>Hypostomus strigaticeps</i>		72	10m+16sm+46st/a	29
	<i>Hypostomus</i> sp A	Ribeirão Rincão (SP)	70	18m+14sm+38st/a	18
	<i>Hypostomus</i> sp B	Rio Mogi-Guaçu (SP)	72	12m+18sm+42st/a	18
	<i>Hypostomus</i> sp B	Rio Mogi-Guaçu (SP)	72	13m+18sm+41st/a	21
	<i>Hypostomus</i> sp D ¹	Rio Mogi-Guaçu (SP)	72	10m+26sm+36st/a	18
	<i>Hypostomus</i> sp D ²	Rio Mogi-Guaçu (SP)	72	14m+20sm+38st/a	18
	<i>Hypostomus</i> sp E	Rio Mogi-Guaçu (SP)	80	8m+16sm+56st/a	18
	<i>Hypostomus</i> sp F	Rio São Francisco (MG)	76	10m+16sm+50st/a	17
	<i>Hypostomus</i> sp F	Rio São Francisco (MG)	75	10m+17sm+48st/a	21
	<i>Hypostomus</i> sp G	Rio Araguaia (MG)	64	14m+24sm+26st/a	24
			64	15m+24sm+25st/a	24
	<i>Hypostomus</i> sp 1	Ribeirão Quinta (SP)	72		5
	<i>Hypostomus</i> sp 2	Ribeirão Alambari (SP)	68		5
	<i>Hypostomus</i> sp 3	Rio Paranapanema (SP)	66		5
	<i>Hypostomus</i> sp 4	Ribeirão Hortelã (SP)	76		5
	<i>Hypostomus</i> sp.3 - córrego Salobrinha NUP 4247	Rio Salobra e Córrego Salobrinha (MS)	82	6m+14sm+62st/a	28
	<i>Hypostomus</i> sp.2 - rio Perdido NUP 4249	Rio Perdido (MS)	84	6m+16sm+62st/a	28
	<i>Liposarcus anisitsi</i>	Rio Preto (SP)	52	16m+24sm+8st+4a	23
	<i>Liposarcus</i> sp	Rio Tietê (SP)	52		5
	<i>Rhnielepis aspera</i>	Rio Paraná (PR)	54	20m+26sm+8st	20
	<i>Pogonopoma wertheimeri</i>	Rio Macuri (BA)	54	20m+30sm+4st	20
<i>Pterygoplichthys multiradiatus</i>	Rio Solimões (AM)	52		9	
TriboCorymbophanini	<i>Corymbophanes</i> n. sp	Rio Chopotó (MG)	54	20m+20sm+14st	27

Subfamília	Espécie	Localidade	2n	Fórmula Cariotípica	Ref.
Neoplecostominae	<i>Kronichthys laeerta</i>	Rio Marumbi (PR)	54	20m+20sm+14st	27
	<i>Kronichthys subteres</i>	Rio Betari (SP)	54	20m+20sm+14st	27
	<i>Neoplecostomus microps</i>	Ribeirão Grande (SP) Pindamonhagaba	54	42m/sm+12st/a	8
	<i>Neoplecostomus microps</i>	Ribeirão Grande (SP) Campos do Jordão	54	42m/sm+12st/a	8
	<i>Neoplecostomus microps</i>	Rio Paraitinga (SP)	54	24m+20sm+10st	25
	<i>Neoplecostomus microps</i>	Ribeirão Hortelã (SP)	54	20m+20sm+14st	27
	<i>Neoplecostomus paranensis</i>	Ribeirão Hortelã (SP)	54	38m/sm+18st/a	8
	<i>Neoplecostomus paranensis</i>	Ribeirão Sapateiro (SP)	54	20m+20sm+14st	27
	<i>Isbrueckerichthys alipionis</i>	Rio Betari (SP)	54	38m/sm+16st/a	8
	<i>Isbrueckerichthys duseni</i>	Rio Betari (SP)	54	20m+20sm+14st	27
	<i>Pareiorhaphis splendens</i> (cit. <i>Hemipsilichthys splendens</i>)	Rio Marumbi (PR)	54	20m+30sm+4st	27
	<i>Pareiorhaphis splendens</i> (cit. <i>Hemipsilichthys splendens</i>)	Rio São João (SC)	54	20m+30sm+4st/a	8,27
	<i>Pareiorhaphis steindachneri</i> (cit. <i>Hemipsilichthys steindachneri</i>)	Ribeirão Cavallo (SC)	54	20m+20sm+14st/a	8,27
	<i>Pareiorhaphis vestigipinnis</i> (cit. <i>Hemipsilichthys vestigipinnis</i>)	Rio Caveiras (SC)	54	20m+20sm+14st	27
	<i>Pareiorhaphis sp</i> (cit. <i>Hemipsilichthys n. sp.</i>)	Rio dos Patos (PR)	54	20m+20sm+14st	27
	Delturinae	<i>Pareiohina rudolphi</i>	Ribeirão Grande (SP)	54	48m/sm+6st/a
<i>Upsilodus sp</i>		Rio Paraitinha (SP)	96	16m+8sm+72a	25

Referências:

- | | | | | |
|-----------------------------------|-------------------------------------|--|-----------------------------------|------------------------------------|
| 1 - ANDREATA <i>et al.</i> (2000) | 8 - ALVES (2000) | 15 - GIULIANO-CAETANO (1998) | 22 - SCAVONE e JULIO Jr (1995) | 29 - RUBERT (2007) |
| 2 - ANDREATA <i>et al.</i> (1994) | 9 - DELLA-ROSA <i>et al.</i> (1980) | 16 - GIULIANO-CAETANO <i>et al.</i> (1999) | 23 - ARTONI <i>et al.</i> (1999) | 30 - MARIOTTO <i>et al.</i> (2004) |
| 3 - ANDREATA <i>et al.</i> (1993) | 10 - SCAVONE e JULIO Jr (1994) | 17 - ARTONI (1998) | 24 - ARTONI <i>et al.</i> (1998) | 31 - MARIOTTO e MIYAZAWA (2006) |
| 4 - CARVALHO <i>et al.</i> (1998) | 11 - MICHELLE <i>et al.</i> (1977) | 18 - ARTONI e BERTOLLO (1996) | 25 - KAVALCO <i>et al.</i> (2005) | 32 - ANDREATA <i>et al.</i> (2006) |
| 5 - FENERICH (1998) | 12 - GYLDENHOLM e SCHEEL (1971) | 19 - MURAMOTO <i>et al.</i> (1968) | 26 - ERRERO-PORTO (2007) | 33 - OLIVEIRA <i>et al.</i> (2006) |
| 6 - ANDREATA (1991) | 13 - FENOCCHIO (1993) | 20 - ARTONI e BERTOLLO (2001) | 27 - ALVES <i>et al.</i> (2005) | |
| 7 - ANDREATA <i>et al.</i> (1992) | 14 - SCAVONE (1993) | 21 - ARTONI e BERTOLLO (1999) | 28 - CEREALI (2006) | |

1.3 REARRANJOS CROMOSSÔMICOS

Entende-se como polimorfismo cromossômico a existência de duas ou mais formas diferentes para um mesmo cromossomo, que pode ocorrer entre diferentes células do indivíduo, entre indivíduos diferentes da mesma população ou entre populações diferentes da mesma espécie. Podem ser de dois tipos: numéricas, relacionadas ao número diplóide, ou estruturais, relacionadas à estrutura cromossômica, estas afetando a morfologia do cromossomo como por exemplo a mudança na posição dos centrômeros ou da constrição secundária (GUERRA, 1988).

Segundo Guerra (1988), o polimorfismo cromossômico pode causar três efeitos:

- a. alterar o conjunto gênico em expressão, devido ao efeito de posição causado por: deleção, duplicação, inversão, transposição e translocação;
- b. alterar a frequência de recombinação gênica, formando grupos de ligação devido a translocações, fusões-fissões cêntricas, ou bloqueando a recombinação gênica por inversão ou transposição;
- c. reduzir ou mesmo impedir o fluxo gênico, o que levará ao isolamento reprodutivo que contribuirá para o processo de especiação, devido a poliploidia, aneuploidia, translocações, transposição e inversões.

O tamanho da população tem um papel importante na fixação das alterações cromossômicas ocorridas sendo que, nas pequenas populações, as mudanças cromossômicas podem ser eliminadas ao acaso ou fixadas, devido a consangüinidade ou deriva genética. Em populações grandes, o fator predominante é a seleção relacionada com mecanismos de acúmulo.

O número de análises citogenéticas publicadas, desde a descoberta de cromossomos, tem revelado uma grande diversidade cariotípica em números, tamanho e organização de regiões homólogas entre táxons relacionados. As técnicas citogenéticas de bandamento mostram ser de grande valia para melhor visualizar as diferenças entre espécies muito próximas. Muitas técnicas podem demonstrar algumas diferenças estruturais entre cariótipos que formalmente foram considerados

indistinguíveis (CANO *et al.* 1982).

Em peixes, as variações cromossômicas são conhecidas desde 1964, quando Roberts estudou *Lepomis cyanellus* (Centrarchidae) que apresentou uma variação cromossômica de $2n=48$ e 46 cromossomos. Depois disso, muitos outros exemplos de variação numérica foram relatados, sendo que os estudos em salmonídeos são os mais relevantes, com predominância dos rearranjos Robertsonianos responsáveis pelas variações numéricas que ocorrem neste grupo de peixes. Em relação aos peixes neotropicais, vários grupos apresentam polimorfismo numérico e/ou estrutural como: Sternopygidae; Erythrinidae; Tetragonopterinae; Zeiformes (peixes marinhos); Loricariidae entre outros, nos quais os principais rearranjos cromossômicos que ocorreram foram as inversões pericêntricas e as fusões/fissões cêntricas.

Os rearranjos cromossômicos dificilmente incidem simultaneamente nos homólogos, sendo introduzidos nas populações naturais em heterozigose e, através de cruzamentos, surgem os descendentes homozigotos.

Certos polimorfismos são típicos de alguns gêneros e até de famílias ou ordens de animais, tendo um grande significado evolutivo e também uma considerável antiguidade filogenética. As vantagens da variação genética são evidentes, quanto maior o número de tipos genéticos disponíveis em uma população existirá uma maior probabilidade de incluir genótipos capazes de suportar mudanças estacionais ou temporais. A variabilidade também pode possibilitar uma maior ocupação ambiental, tornando possível a colonização de habitats marginais e vários subnichos, agindo em direção oposta à da especiação (MAYR, 1977).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar citogeneticamente diferentes espécies pertencentes à subfamília Loricariinae e aos gêneros *Loricariichthys* e *Rineloricaria* coletados em duas bacias hidrográficas: Bacia do Rio Paranapanema/PR/SP e Sistema Hidrográfico do Lago Guaíba/RS.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1 – Caracterizar a macroestrutura cromossômica de diferentes espécies de peixes pertencentes à subfamília Loricariinae coletadas em diferentes bacias hidrográficas, visto que esta subfamília apresenta uma variabilidade no número diplóide, gerando assim uma confusão taxonômica.

2 – Identificar a posição e a localização das Regiões Organizadoras de Nucléolos (RONs).

3 – Analisar o padrão de distribuição da heterocromatina constitutiva.

4 – Determinar as regiões ricas em GC e AT através da coloração com fluorocromos base-específico.

3 CARACTERIZAÇÃO DOS LOCAIS DE COLETA E ESPÉCIES ESTUDADAS

3.1 LOCAIS DE COLETA

As coletas foram realizadas em vários afluentes pertencentes à bacia do rio Paranapanema/SP e sistema hidrográfico do lago Guaíba/RS.

Bacia do Rio Paranapanema:

- Rio Paranapanema (S: 22° 42' 30,3"; W: 51° 04' 08,4"), localizado no município de Iepê/SP (Figura 1A e 2a);
- Rio Jacutinga (S: 23° 17' 25,9"; W: 50° 58' 47"), Água da Floresta (S: 23° 12' 23,3"; W: 50° 56' 49,1"), próximos ao município de Jataizinho/PR (Figura 1B e 2b; 1C e 2e, respectivamente);
- Ribeirão Jacucaca (S: 23° 38' 18,5"; W: 51° 20' 44,9"), Água do Oito (S: 23° 40' 54"; W: 51° 18' 54,2"), localizados próximos da cidade de Califórnia/PR; (Figura 1D e 2c; 2d)

Sistema hidrográfico do Lago Guaíba/RS:

- Arroio Capivara (S: 30° 17' 33,3"; W: 51° 19' 23,6"), localizado no município Barra do Ribeiro/RS (Figura 3B-1 e 4a);
- Arroio da Estação Agronômica da UFRGS (S: 30° 06' 02"; W: 51° 41' 42"), localizado no município de Eldorado do Sul/RS (Figura 3B-2, 4c);
- Afluente do Rio Taquari: Rio Forquetinha (S: 29° 19' 20,9"; W: 52° 14' 03,6"), localizado no município de Canoas do Vale/RS (Figura 3A-1 e 4b).



Figura 1 – Localização dos locais de coletas: A) Rio Paranapanema; B) Rio Jacutinga; C) Água da Floresta; D) Ribeirão Jacucaca e Água do Oito.



Figura 2 – Foto dos locais de coleta: a) Rio Paranapanema; b) Rio Jacutinga; c) Ribeirão Jacucaca; d) Água do Oito e e) Água da Floresta



Figura 3 – Locais de coleta: A) Mapa Hidrográfico: 1 – Rio Forquetinha; 2 – Rio Taquari; 3 – Rio Jacuí; B) Lago Guaíba: 1 - Arroio Capivara; 2 – Arroio da Estação Agronômica da UFRS; 3 – Rio Jacuí.



Figura 4 – Foto dos locais de coleta: a) Lago Guaíba – Arroio Capivara; a) Rio Forquetinha; e c) Arroio da Estação Agronômica da UFRS

3.2 ESPÉCIES ESTUDADAS

Foram analisadas 5 espécies pertencentes à subfamília Loricariinae: *Loricariichthys platymetopon*, *Loricariichthys anus*, *Rineloricaria pentamaculata*, *Rineloricaria cadeae* e *Rineloricaria strigilata*.

- *L. platymetopon*: 14 exemplares (14 fêmeas), coletados no rio Jacutinga, rio Paranapanema e Água da Floresta (Figura 5a);

- *L. anus*: 8 exemplares (4 machos e 4 fêmeas), coletados no lago Guaíba – Arroio Capivara (Figura 5b);

- *R. strigilata*: 6 exemplares (3 machos e 3 fêmeas), coletados no Rio Forquetinha ((Figura 5c);

- *R. cadeae*: 8 exemplares (3 machos e 5 fêmeas), coletados no lago Guaíba (Figura 5d);

- *Rineloricaria pentamaculata*: 14 exemplares (9 machos e 5 fêmeas), coletados no ribeirão Jacucaca e Água do Oito (Figura 5e);

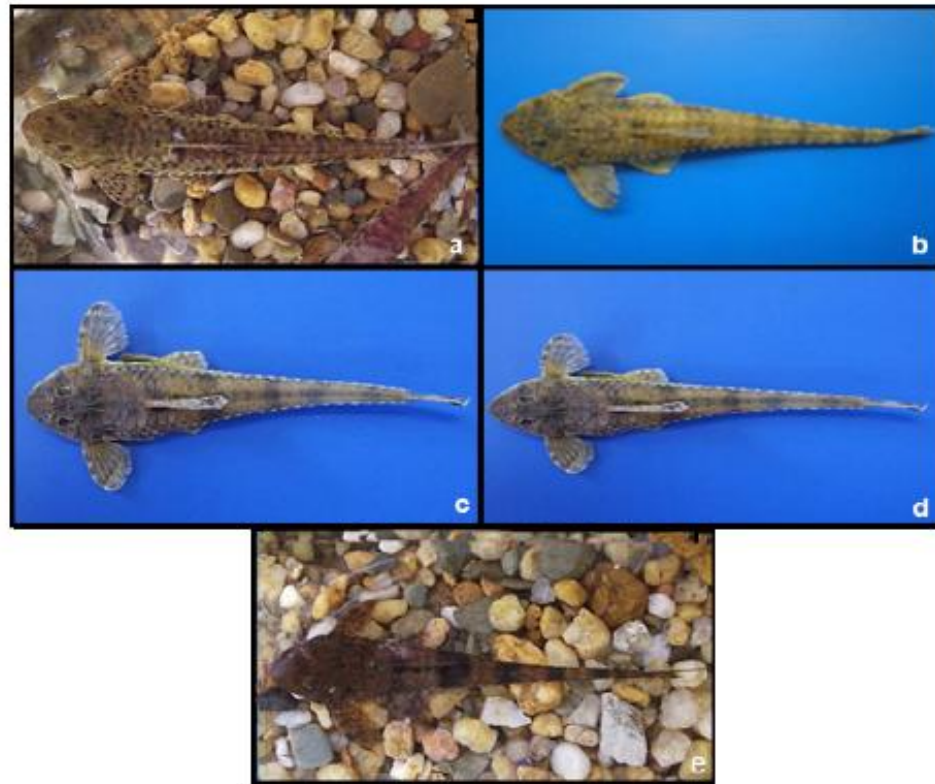


Figura 5 – Espécies analisadas: a) *Loricariichthys platymetopon*; b) *Loricariichthys anus*; c) *Rineloricaria strigilata*; d) *Rineloricaria cadeae*; e) *Rineloricaria pentamaculata*.

3.3 TÉCNICAS UTILIZADAS

3.3.1 - Indução ao aumento do número de mitoses pela técnica de suspensão de levedura (OLIVEIRA *et al.*, 1988)

3.3.2 - Preparação de cromossomos mitóticos pela técnica de suspensão celular (BERTOLLO *et al.*, 1978)

3.3.3 - Preparo de lâminas e coloração convencional por Giemsa

3.3.4 - Impregnação por prata (HOWELL; BLACK, 1980)

3.3.5 - Determinação da distribuição da heterocromatina constitutiva (SUMNER, 1972)

3.3.6 – Determinação das regiões ricas em pares de base GC e AT, através do tratamento da tripla coloração CMA₃/DA/DAPI (SCHWEIZER, 1980);

3.3.7 – A montagem dos cariótipos seguiu a nomenclatura de Levan *et al.*, 1964, com algumas modificações. Para o cálculo do número fundamental (NF) os cromossomos do tipo metacêntricos (m), submetacêntricos(sm) e subtelocêntricos (st) foram considerados com dois braços e cromossomos acrocêntricos (a) com um braço.

REFERÊNCIAS

- ALVES, A.L.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F., Ocorrência de Microcromossomo B em *Neoplecostomus paranensis* (Siluriforme, Loricariidae). *Genet. Molec. Biol.*, 22: p. 100, 1999.
- ALVES, A.L. Análise da evolução dos gêneros da subfamília Hemipsilichthiinae (Ostariophysi, Siluriformes, Loricariidae) com base em caracteres cromossômicos e de DNA mitocondrial. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas, área de concentração: Zoologia) – Universidade Estadual Paulista – UNESP, Botucatu, SP, 2000.
- ALVES, A.L.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Karyotype variability in eight species of the subfamilies Loricariinae and Ancistrinae (Teleostei, Siluriformes, Loricariidae). *Caryologia* 56: p. 57-63, 2003.
- ALVES, A.L.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Comparative cytogenetic analysis of eleven species of subfamilies Neoplecostominae and Hypostominae (Siluriformes: Loricariidae). *Genetica* 124: p. 127-136, 2005.
- ANDREATA A.A., ALMEIDA-TOLEDO L.F., OLIVEIRA, C. & TOLEDO-FILHO S.A. Chromosome studies in Hypoptopomatinae (Pisces, Siluriformes, Loricariidae): I. XX/XY sex chromosome heteromorphism in *Pseudotocinclus tietensis*. *Cytologia* 57: p. 369-372, 1992.
- ANDREATA A.A., ALMEIDA-TOLEDO L.F., OLIVEIRA C & TOLEDO-FILHO S.A. Chromosome studies in Hypoptopomatinae (Pisces, Siluriformes, Loricariidae): I1 ZZ/ZW sex chromosome system, B chromosomes, and constitutive heterochromatin differentiation in *Microlepidogaster leucofrenatus*. *Cytogenet. Cell Genet.* 63: p. 215-220, 1993.
- ANDREATA A.A., ALMEIDA-TOLEDO L.F., OLIVEIRA C. & TOLEDO-FILHO S.A. Cytogenetic studies on the subfamily Hypoptopomatinae (Pisces, Siluriformes, Loricariidae). III. Analysis of seven species. *Caryologia* 47: p. 27-37, 1994.
- ANDREATA, A.A.; ALVES, A.L.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. *Hisonotus gibbosos* (Teleostei, Loricariidae) segundo Hypoptopomatineo com número diplóide diferente de 54 cromossomos. *Genet. Molec. Biol.*, 23, p.57, 2000.

- ANDREATA, A.A.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Karyological characterization of four Neotropical fish species of the genus *Hisonotus* (Teleostei, Loricariidae, Hypotopomatinae) from distinct Brazilian river basins. *Genet. Molec. Biol.*, 29(1): p. 62-66, 2006.
- ARTONI, R.F.; BERTOLLO, L.A.C. Cytogenetic studies on Hypostominae (Pisces, Siluriformes, Loricariidae). Considerations on karyotype evolution in the genus *Hypostomus*. *Caryologia*, 49: p. 81-90, 1996.
- ARTONI, R.F. Estudos citogenéticos na família Loricariidae, com ênfase no gênero *Hypostomus* LACEPEDE (1803) (Pisces, Siluriforme). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos – UFSCAR – SP, 1996.
- ARTONI R.F.; BERTOLLO L.A.C. Trends in the Kariotype evolution of Loricariidae fish (Siluriformes). *Hereditas* 134: p. 201-210, 2001.
- BERTOLLO, L. A. C.; TAKAHASHI, C. S.; MOREIRA-FILHO, O. Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). *Rev. Bras. Genet.* I: p. 103-120, 1978.
- CANO J.; THODE, G.; SÁNCHEZ, M. L. Estudio ceriológico en dos especies de Serránidos del Mediterráneo (Pesces: Perciformes). *Doñana Acta Vert.*, 9: p. 5-12, 1982.
- CASALE, V.C. Estudos Citogenéticos Comparativos em Quatro Espécies Pertencentes ao Gênero *Hypostomus* (Pisces, Siluriformes, Loricariidae). Monografia de Conclusão de curso, Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, Campus de Cascavel, 2003.
- CAVALLINI, M. M.; BERTOLLO, L. A. C. Indução de mitoses em *Hoplias cf. malabaricus* (Teleostei, Characiformes, Erythrinidae). Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais, II, 1988, Maringá. Resumos... Maringá: Universidade Estadual de Maringá, p.32, 1988.
- CENTOFANTE, L.; BERTOLLO, L.A.C.; MOREIRA-FILHO, O. Cytogenetic characterization and description of na XX/XY1Y2 sex chromosomes system in catfish *Harttia carvalhoi* (Siluriformes, Loricariidae). *Cytog. Gen. Res.*, 112: p. 320- 324. 2006.

CEREALI, S.S.; Estudos Citogenéticos de Loricariidae (Siluriformes) do Planalto da Bodoquena – Mato Grosso do Sul. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Londrina – UEL, Londrina, PR, 2006.

ERRERO-PORTO, F. Estudo citogenético e de polimorfismo cromossômico em populações do gênero *Rineloricaria* (Loricariidae, Siluriformes) da bacia do rio Paraná. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Maringá, UEM, Maringá, PR, 2007.

FERRARIS JR., C.J. Checklist of catfishes, recent and fossil (Osteichthyes: Siluriformes), and catalogue of siluriform primary types. *Zootaxa*, 1418: p. 1-628, 2007.

GIULIANO-CAETANO, L.; Polimorfismo Cromossômico Robertsoniano em Populações de *Rineloricaria latirostris* (Pisces, Loricariidae). Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, São Carlos, SP, 1998.

GUERRA, M. Introdução à Citogenética Geral. Rio de Janeiro, Ed. Guanabara, 142p., 1988.

HOWELL, W. M.; BLACK, D. A. Controlled silver staining of nucleous organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia*, 36: 1014- 1015, 1980.

ISBRÜCKER, I.J.H. Classification and catalogue of the mailed Loricariidae (Pisces, Siluriformes). *Verslagen en Technische Gegevens, Instituut voor Taxonomische Zoölogie, Zoölogische Museum, Universiteit van Amsterdam*; cap 22, p.1 – 181, 1981.

KAVALCO, K.F.; PAZZA, R.; BERTOLLO, L.A.C.; MOREIRA-FILHO, O. Karyotypic diversity and evolution of Loricariidae (Pisces, Siluriformes). *Heredity*, 94: p. 180- 186, 2005.

LARA, M.C.S. Aspectos citogenéticos de quatro espécies de peixes da subfamília Ancistrinae (Siluriformes, Loricariidae) da bacia do rio Paraná. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá, PR, 1998.

LEVAN, A.; FREDGA, K.; SANDBERG, A.A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52: p. 201-220, 1964.

MARIOTTO, S.; ARTINO, R.F.; MIYAZAWA, C.S. Occurrence of sexual chromosome, of the type ZZ/ZW in *Ancistrus* cf. *dubius* (Loricariidae, Ancistrinae) of the Paraguay River Basin, Mato Grosso, Brazil. *Caryologia*, 57: p. 327-331, 2004.

MARIOTTO, S.; MIYAZAWA, C.S. *Ancistrus* cf. *dubius* (Siluriformes, Ancistrinae), a complex of species. 1. Chromossomic characterization of four populations and occurrence of sexual chromossomes os type XX/XY, in the Pantanal basin of Mato Grosso, Brazil. *Caryologia*, 59: p. 299-304, 2006.

MAYR, E. Populações, espécies e especiação. São Paulo: Ed. Nacional, ed. Da Universidade de São Paulo, v. 5. 485 p., 1977.

MENEZES, R.S.; Alimentação de carí chicote, "*Loricaria typus*" Bleeker, da Bacia do Rio Parnaíba, Piauí (Actinopterygii, Loricariidae, Loricariinae). *Rev. Bras. Biol.*, cap. 9, p. 381 – 387, 1949.

MICHELLE, J.L.; TAKAHASHI, C.S.; FERRARI, I. Karyotypic studies of some species of the family Loricariidae (PISCES). *Cytologia* 42: p. 536-549, 1977.

OLIVEIRA, R.R.; SOUZA, I.L.; VENERE, P.C. Karyotype description of three species of Loricariidae (Siluriformes) and occurrence of the ZZ/ZW sexual system in *Hemiancistrus spilomma* Cardoso & Lucinda, 2003. *Neot. Ichthyol.*, 4: p. 93-97, 2006.

PINNA, M.C.C. Phylogenetic relationships of Neotropical Siluriformes (Teleostei: Ostariophsi) Historical Overview and Synthesis of Hypotheses. *In*: Malabarba, R. M.; Reis, R. E.; Vari, R. P.; Lucena, C. A. Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes. Porto Alegre: EDIPURCRS, 375p, 1998.

REIS, R.E.; KULLANDER, S.O.; FERRARIS Jr, C.J.; Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America. EDIPUCRS, Porto Alegre, 2003.

REIS, R.E.; PEREIRA, E.H.L.; ARMBRUSTER, J.W. Delturinae, a new loricariid catfish subfamily (Teleostei, Siluriformes), with revisions of *Delturus* and *Hemipsilichthys*. *Zool. J. Linnean Soc.*, 147: p. 227-299, 2006.

RUBERT, M. Estudos citogenéticos em diferentes populações do gênero *Hypostomus* (Loricariidae, Hypostominae). Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Londrina, UEL, Londrina, PR, 2007.

SCAVONE, M.D.P.; JULIO Jr.; H.F. Cytogenetic analysis and probable supernumerary chromosomes of *Loricaria prolixa* and *Loricaria* sp. Females (Loricariidae – Siluriformes) from the Paraná river basin. Rev. Ictiol., 2/3: 41-47, 1993/94.

SCAVONE, M.D.P.; JÚLIO Jr., H.F. Cytogenetics analysis and heterochromatin distribution in ZZ/ZW sex chromosomes of the mailed catfish *Loricariichthys platymetopon* (Loricariidae: Siluriformes). Rev. Bras. Genet., 1: p. 31-35, 1995.

SCHAEFER, S.A. Osteologi of *Hypostomus plecostomus* (Linnaeus), with a phylogenetic analysis of the Loricariid subfamilies (Pisces, Siluroidei) Cont. Sci. Nat. Hist. Mus. Los Angeles county, 1987.

SCHAEFER, S.A.; STEWART, D.J.; Systematics of the *Panaque dentex* species group (Siluriformes: Loricariidae), wood-eating armored catfishes from tropical South America. Ichthyol; p. 309-342, 1993.

SCHWEIZER, D. Simultaneous fluorescent staining of R bands and specific heterochromatic regions (DA/DAPI) in human chromosomes. Cytog. Cell Genet., 77, p. 190-193, 1980.

SUMNER, A. T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. Experimental Cell Research, v. 75, p.304-306, 1972.

CAPÍTULO I

Análise citogenética em duas espécies do gênero *Loricariichthys* (Loricariidae, Loricariinae).*

* Este artigo será submetido à publicação na revista "Caryologia".

Análise citogenética em duas espécies do gênero *Loricariichthys* (Loricariidae, Loricariinae).

TATIANA PERES DE ASSIS MAIA¹, LUCIA GIULIANO-CAETANO¹, L.R. MALABARBA², e ANA LÚCIA DIAS¹

1 – Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Biologia Geral, 86051-970, Londrina, PR, Brasil. Telefone: ++55-43-33714257, fax: ++55-43-33714527 E-mail: anadias@uel.br.

2 – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências, Departamento de Zoologia, 91501970 - Porto Alegre, RS - Brasil

RESUMO

No presente trabalho foram analisadas duas espécies pertencentes ao gênero *Loricariichthys*: *Loricariichthys platymetopon* da bacia do rio Paranapanema e *Loricariichthys anus* do sistema hidrográfico do lago Guaíba, por meio de coloração convencional (Giemsa), impregnação por nitrato de prata, bandamento-C e fluorocromos base-específicos. A análise convencional revelou um número diplóide de 54 cromossomos para as duas espécies estudadas, *L. platymetopon* com $6m+18sm+4st+26a$, e *L. anus* com $8m+16sm+4st+26a$, sendo observado a presença de um polimorfismo estrutural em *L. anus* com um cromossomo acrocêntrico maior e outro de tamanho menor. A impregnação por nitrato de prata detectou RONS simples para as duas espécies, sendo terminal em *L. platymetopon* e intersticial para *L. anus*. Quanto ao padrão de banda C as duas espécies apresentam heterocromatina distribuída nas regiões pericentroméricas e associadas às RONS. A análise por CMA₃ mostrou marcação fluorescente somente na RON, sendo esta região negativa quando corada com DAPI, mostrando-se portanto rica

em GC. Os dados obtidos neste trabalho vêm contribuir para uma melhor caracterização de *Loricariichthys*.

Palavras chave: polimorfismo estrutural, heterocromatina, *Loricariichthys*, RONS.

INTRODUÇÃO

A família Loricariidae é encontrada somente na região Neotropical, comumente conhecidos por cascudos, ocupando o segundo lugar em número de espécies, com 716 espécies já descritas, distribuídas entre 96 gêneros (FERRARIS, 2007) e seis subfamílias (REIS *et al.* 2006). Ocupam habitats bastante variados, demonstrando assim uma grande capacidade adaptativa (ISBRUCKER, 1981 *apud* REIS *et al.* 2003).

A subfamília Loricariinae apresenta 209 espécies e 31 gêneros (FERRARIS, 2007). São peixes que habitam principalmente ambientes lênticos e semi-lóticos, de hábito noturno e se reproduzem nos meses quentes sendo que os machos carregam os ovos até o momento da eclosão (MARCUCCI *et al.* 2005). Apresentam o corpo alongado e um focinho projetado para a frente, com caudas achatadas e fortes quilhas laterais e, frequentemente, um entalhe na parte posterior da órbita e, em alguns casos a presença de um dimorfismo sexual caracterizada pela forma do lábio inferior (REIS; PEREIRA, 2000).

Os estudos citogenéticos realizados na subfamília Loricariinae são restritos a apenas cinco gêneros, *Loricaria*, *Hartia*, *Rineloricaria*, *Loricariichthys* e *Sturisoma*. O gênero *Loricariichthys* possui 18 espécies (FERRARIS, 2007) e apenas três espécies foram analisadas citogeneticamente (FENOCCHIO, 1993; SCAVONE; JULIO

JR, 1995; CARNEIRO *et al.* 1998) até o momento. Todas as espécies analisadas apresentaram um número diplóide constante de 54 cromossomos, entretanto são observadas diferenças na fórmula cariotípica.

Devido ao número pequeno de espécies estudadas pertencentes ao gênero *Loricariichthys*, no presente trabalho serão estudadas duas espécies visando contribuir para a compreensão da estrutura cromossômica do gênero.

MATERIAIS E MÉTODOS

No presente trabalho foram analisados 14 exemplares (14 fêmeas) de *Loricariichthys platymetopon*, coletados nos rios Paranapanema, no município de Iepê/SP e Jacutinga e Água da Floresta, localizada no município de Jataizinho/PR, pertencentes à bacia do rio Paranapanema e 8 exemplares (4 machos e 4 fêmeas) de *Loricariichthys anus*, coletados no Arroio Capivara – lago Guaíba/RS.

Os cromossomos mitóticos foram obtidos de acordo com a técnica de preparação direta de acordo com BERTOLLO *et al.* (1978). A detecção das regiões organizadoras de nucléolos foi realizada pela impregnação por nitrato de prata (HOWELL e BLACK, 1980). Para determinação do padrão de distribuição da heterocromatina, foi utilizada a técnica da Banda C (SUMNER, 1972). Para determinação dos sítios ricos em GC e AT foi utilizada a técnica da tripla coloração CMA₃/DA/DAPI (SCHWEIZER, 1980). Os cromossomos foram classificados em metacêntricos (m), submetacêntricos (sm), subtlocêntricos (st) e acrocêntricos (a), segundo LEVAN *et al.* (1964). O número fundamental (NF) foi calculado levando-se em consideração que os cromossomos metacêntricos, submetacêntricos e

subtelocêntricos apresentam dois braços e os cromossomos do tipo acrocêntricos um braço.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Loricariichthys platymetopon apresentou um número diplóide de 54 cromossomos com fórmula cariotípica constituída por $6m+18sm+4st+26a$ e número fundamental (NF) igual a 82 (Figura 1), e *Loricariichthys anus* apresentou 54 cromossomos, com fórmula cariotípica de $8m+16sm+4st+26a$ e $NF=82$ (Figura 2), sendo observados, nesta última espécie, dois citótipos distintos: no citótipo A, todos os cromossomos encontram-se pareados (Figura 2a), enquanto que no citótipo B foi observado um par heteromórfico, com um cromossomo acrocêntrico maior e outro de tamanho menor (Figura 2b), ocorrendo em 28,6% dos indivíduos analisados. Os dois citótipos foram encontrados tanto para machos quanto para fêmeas. O polimorfismo estrutural encontrado em *Loricariichthys anus* é relatado pela primeira vez neste gênero. O citótipo B provavelmente dever ter surgido devido a uma deleção, o que pode implicar na não fixação deste, devido a perda de uma grande quantidade de material genético.

Exemplo de polimorfismo com variação de tamanho entre homólogos foi observado em *Tatera indica* (YOSIDA, 1981). Este roedor apresenta $2n=68$ com oito pares de cromossomos com dois braços (26 a 33), vinte e cinco pares de acrocêntricos (1 a 25) e um par sexual do tipo XY. O menor par de braços (par 33) apresentou três tamanhos designados por tipos A, B e C. O tipo A corresponde ao de maior tamanho sendo submetacêntrico (sm); o tipo B é também submetacêntrico de tamanho mediano e mais freqüente; e o tipo C é o menor e do tipo

subtelocêntrico. Os exemplares analisados apresentavam várias combinações: AB, AC, BB, e BC, as formas AA e CC não foram encontradas podendo ser letais, segundo a autora. A possível explicação é que o tipo B, por ser mais freqüente, deve ter originado o tipo A por duplicação e o tipo C surgiu devido a uma inversão e deleção.

Em *Loricariichthys anus* pode estar ocorrendo algo semelhante ao roedor acima descrito e, ampliando a amostragem, talvez possam ser observadas outras formas de tamanho do par 25; por outro lado, não se pode ignorar o fato, que a deleção pode tornar o gameta inviável e este rearranjo não ser fixado pela falta de genes essenciais.

As duas espécies de *Loricariichthys* aqui analisadas apresentaram o mesmo número diplóide de 54 cromossomos e NF igual a 82, diferenciando-se pela quantidade de cromossomos do tipo meta/submetacêntrico: *Loricariichthys platymetopon* apresenta 6m+18sm, enquanto que *Loricariichthys anus* possui 8m+16sm. O número de cromossomos do tipo subtelo/acrocêntrico (4st+26a) permaneceu constante nas duas espécies.

Dentre as 18 espécies existentes do gênero *Loricariichthys* (FERRARIS, 2007), apenas quatro espécies foram estudadas citogeneticamente (Tabela1), incluindo uma do presente estudo. O número diplóide de $2n=54$ cromossomos aparenta ser uma característica conservada neste gênero, porém, variações na fórmula cariotípica são encontradas, sendo que somente a quantidade de cromossomos subtelocêntricos é constante em todas as espécies (4st), os demais tipos cromossômicos são variáveis.

O número diplóide de 54 cromossomos aparentemente é uma condição plesiomórfica na família Loricariidae (ALVES, 2000; ARTONI; BERTOLLO, 2001;

KAVALCO *et al.* 2005), ocorrendo em pelo menos uma espécie da maioria das subfamília de Loricariidae, sendo mais comum na subfamília Hypoptopomatinae (ANDREATA *et al.* 1992, 1993, 1994) e Neoplecostominae (ALVES *et al.* 2005). Na subfamília Hypostominae, já foi descrita em *Hypostomus plecostomus* (MURAMOTO, OHNO e ATKIN, 1968), *Rhinelepis aspera* e *Pogonopoma wertheimeri* (ARTONI e BERTOLLO, 1999); *Corymbophanes* n. sp. (ALVES *et al.* 2005); para a subfamília Neoplecostominae: *Pareorhaphis splendens*, *P. steindachneri*, *P. vestigipinnis*, *Pareorhaphis* n. sp., *Isbrueckerichthys duseni*, *Kronichthys lacerta*, *K. subteres* e *Pareiorhina rudolphi* (ALVES *et al.* 2005). Na subfamília Loricariinae ocorre no gênero *Loricariichthys* (Tabela 1).

SCAVONE e JULIO JR. (1995) encontraram uma possível variabilidade cariotípica, caracterizando um sistema sexual do tipo ZZ/ZW em *Loricariichthys platymetopon*, sendo que as fêmeas apresentam 7m+20sm+4st+23a e os machos possuem 6m+20sm+4st+24a, o cromossomo W corresponde a um metacêntrico de tamanho grande e o Z corresponde ao maior cromossomo acrocêntrico. As populações coletadas na bacia do rio Paranapanema não apresentaram diferenciação na fórmula cariotípica. Entre os peixes neotropicais, cerca de 55 espécies possuem cromossomos sexuais diferenciados entre machos e fêmeas, correspondendo a 4% do total de espécies analisadas citogeneticamente (CENTOFANTE *et al.*, 2002), uma porcentagem baixa.

Em *Loricariichthys platymetopon* foi observada uma constrição secundária em posição terminal no par 16, coincidente com a localização das RONS (Figuras 1 e 3B e C). Em *Loricariichthys anus* o par 21 apresentou uma constrição secundária, em posição intersticial, coincidente com as RONS apresentando heteromorfismo de tamanho entre os homólogos (Figura 2 e 3A1 e C). Portanto, as duas espécies

mostraram ter um padrão de RONS característico de cada uma, tanto em relação ao par cromossômico quanto à posição destas regiões no cromossomo.

Loricariichthys platymetopon do rio Paraná, analisada por SCAVONE e JULIO JR. (1995) também apresentou RON simples e terminal, entretanto, em um par distinto da população do presente estudo, no par 14, também coincidente com uma constrição secundária.

Em Loricariinae outras espécies também apresentaram este mesmo fenótipo de RON terminal, como em: *Rineloricaria kronei*, *Rineloricaria cadeae* (ALVES *et al.* 2003); *Harttia loricariformis* (KAVALCO *et al.* 2005), entre outros. Entretanto, RONS intersticiais foram encontradas nesta subfamília sendo observadas em: *Harttia loricariformis* (ALVES *et al.* 2003), *Rineloricaria latirostris* (GIULIANO-CAETANO, 1998), entre outras.

O padrão de distribuição da heterocromatina observado nas duas espécies foi semelhante, estando localizado na região pericentromérica da maioria dos cromossomos e associada às RONS (Figura 3A-1 e B-1).

Este padrão de distribuição da heterocromatina já foi observado em outras espécies pertencente às subfamílias Loricariinae, como em *Loricariichthys platymetopon* (SCAVONE ; JULIO JR, 1995), *Rineloricaria latirostris* (GIULIANO-CAETANO, 1998) e *Harttia loricariformis* (KAVALCO *et al.* 2004), sendo aparentemente uma característica conservada dentro desta subfamília.

A coloração com o fluorocromo base-específico CMA₃ mostrou marcação fluorescente coincidentes com as RONS, e com o fluorocromo DAPI essa região apresentou-se negativa para as duas espécies (Figura 3A-3 e B-3); sendo estas regiões ricas em GC. Em relação às heterocromatinas pericentroméricas, que não estão destacadas por nenhum fluorocromo, estas devem apresentar uma

composição de bases tanto AT quanto GC muito próximas, assim como sugerem KAVALCO *et al.* (2004) para *Harttia loricariformis*. Dentro do gênero *Loricariichthys*, não existem estudos com fluorocromos.

Na família Loricariidae, a ocorrência de seqüências de heterocromatina rica em GC adjacente ou intercalar a RON é amplamente descrita para muitas espécies desta família (GIULIANO-CAETANO, 1998; ARTONI ; BERTOLLO, 1999; KAVALCO *et al.* 2004; RUBERT, 2007). Em Loricariinae regiões ricas em AT são raras, sendo descrita somente em *Rineloricaria latirostris* (GIULIANO-CAETANO, 1998), e em algumas espécies de Hypostominae (ARTONI ; BERTOLLO, 1999; RUBERT, 2007).

Neste trabalho estão sendo apresentadas pela primeira vez a descrição cariotípica de *Loricariichthys anus* e a análise de fluorocromos base-específico, contribuindo com mais informações neste grupo de peixes. Poucas são as espécies de *Loricariichthys* analisadas citogeneticamente até o momento, como citado acima, portanto se faz necessária a realização de mais análises para que a estrutura e evolução cromossômica do gênero, possam ser melhor compreendidas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, A.L., 2000 – *Análise da evolução dos gêneros da subfamília Hemipsilichthiinae (Ostariophysi, Siluriformes, Loricariidae) com base em caracteres cromossômicos e de DNA mitocondrial*. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas, área de concentração: Zoologia), Universidade Estadual Paulista – UNESP, Botucatu, SP.
- ALVES, A.L., OLIVEIRA, C. and FORESTI, F., 2003 – *Karyotype variability in eight species of the subfamilies Loricariinae and Ancistrinae (Teleostei, Siluriformes, Loricariidae)*. *Caryologia* 56: 57-63.
- ALVES, A.L., OLIVEIRA, C. and FORESTI, F., 2005 – *Comparative cytogenetic analysis of eleven species of subfamilies Neoplecostominae and Hypostominae (Siluriformes: Loricariidae)*. *Genetica* 124: 127-136.
- ANDREATA A.A., ALMEIDA-TOLEDO L.F., OLIVEIRA, C. and TOLEDO-FILHO S.A., 1992 – *Chromosome studies in Hypoptopomatinae (Pisces, Siluriformes, Loricariidae): I. XX/XY sex chromosome heteromorphism in **Pseudotocinclus tietensis***. *Cytologia* 57: 369-372.

ANDREATA A.A., ALMEIDA-TOLEDO L.F., OLIVEIRA C. and TOLEDO-FILHO S.A., 1993 – *Chromosome studies in Hypoptopomatinae (Pisces, Siluriformes, Loricariidae): 11 ZZ/ZW sex chromosome system, B chromosomes, and constitutive heterochromatin differentiation in **Microlepidogaster leucofrenatus***. Cytogenetics and Cell Genetics 63: 215-220.

ANDREATA A.A., ALMEIDA-TOLEDO L.F., OLIVEIRA C. and TOLEDO-FILHO S.A., 1994 – *Cytogenetic studies on the subfamily Hypoptopomatinae (Pisces, Siluriformes, Loricariidae). III. Analysis of seven species*. Caryologia 47: 27-37.

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

ARTONI R.F and BERTOLLO L.A.C., 2001 – *Trends in the Karyotype evolution of Loricariidae fish (Siluriformes)*. Hereditas 134: 201-210.

BERTOLLO, L. A. C., TAKAHASHI, C. S. and MOREIRA-FILHO, O., 1978 – *Cytotaxonomic considerations on **Hoplias lacerdae** (Pisces, Erythrinidae)*. Brazilian Journal of Genetics 1: 103-120.

- CARNEIRO, A.S.P., PAULS, E., OLIVEIRA, A.S.S., SILVA, L.P. and VIEIRA, W.S., 1998 – *Projeto Magagé: Estudos citogenéticos de **Harttia sp.** e **Loricariichthys sp.** (Pisces, Loricariidae) da bacia hidrográfica do rio Itabopoana (MG/ES/RJ)*. VII Simpósio de Citogenética e Genética de Peixes, Londrina – PR, Resumos p.B11.
- CENTOFANTE, L., BERTOLLO, L.A.C. and MOREIRA-FILHO, O., 2002 – *A ZZ/ZW sex chromosome system in a new species of the genus **Parodon** (Pisces, Parodontidae)*. *Caryologia* 55: 139-150.
- FERRARIS JR., C.J., 2007 – *Checklist of catfishes, recent and fossil (Osteichthyes: Siluriformes), and catalogue of siluriform primary types*. *Zootaxa* 1418: 1-628.
- FENOCCHIO, A.S., 1993 – *Cromossomos supranumerários no gênero **Rhamdia** (Pisces). Caracterização cromossômica e considerações sobre a evolução cariotípica nos Siluroidei*. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo – USP, São Paulo, SP.
- GIULIANO-CAETANO, L., 1998 – *Polimorfismo Cromossômico Robertsoniano em Populações de **Rineloricaria latirostris** (Pisces, Loricariidae)*. Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, São Carlos, SP.

- HOWELL, W. M. and BLACK, D. A., 1980 – *Controlled silver staining of nucleous organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method*. *Experientia*, 36: 1014-1015.
- ISBRUCKER, I.J.H., 1981 – *Classification and catalogue of the mailed Loricariidae (Pisces, Siluriformes)*. Verslagen en Technische Gegevens, Instituut voor Taxonomische Zoölogie, Zoölogische Museum, Universiteit van Amsterdam, 22, 1 – 181.
- KAVALCO, K.F., PAZZA, R., BERTOLLO, L.A.C. and MOREIRA-FILHO, O., 2004 – *Heterochromatin characterization of four fish species of the family Loricariidae (Siluriformes)*. *Hereditas*, 141: 237-242.
- KAVALCO, K.F., PAZZA, R., BERTOLLO, L.A.C. and MOREIRA-FILHO, O. *Karyotypic diversity and evolution of Loricariidae (Pisces, Siluriformes)*. *Heredity*, 94: 180-186.
- LEVAN, A., FREDGA, K. and SANDBERG, A.A., 1964 – *Nomenclature for centromeric position on chromosomes*. *Hereditas* 52: 201-220.
- MARCUCCI, K.M.I., ORSI, M.L. and SHIBATTA, O.A., 2005 – *Abundância e aspectos reprodutivos de **Loricariichthys platymetopon** (Siluriformes, Loricariidae) em quatro trechos da represa Capivara, médio rio Paranapanema*. *Iheringia, Série Zoologia*, 95(2): 197-203.

- MURAMOTO, J., OHNO, S. and ATKIN, N.B., 1968 – *On the diploid state of the fish order Ostariophysii*. *Chromosoma*, 24: 59-66.
- REIS, R.E. and PEREIRA, E.H., 2000 – *Three new species of the Loricariid catfish genus **Loricariichthys** (Teleostei: Siluriformes) from Southern South America*. *Copeia*, 4: 1029-1047.
- REIS, R.E., PEREIRA, E.H.L. and ARMBRUSTER, J.W., 2006 – *Delturinae, a new loricariid catfish subfamily (Teleostei, Siluriformes), with revisions of **Delturus** and **Hemipsilichthys***. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 147: 227-299.
- RUBERT, M., 2007 – *Estudos citogenéticos em diferentes populações do gênero **Hypostomus** (Loricariidae, Hypostominae)*. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Londrina – UEL, Londrina, PR.
- SCAVONE, M.D.P. and JULIO JR, H.F., 1995 – *Cytogenetics analysis and heterochromatin distribution in ZZ/ZW sex chromosomes of the mailed catfish **Loricariichthys platymetopon** (Loricariidae: Siluriformes)*. *Brazilian Journal of Genetics* 1: 31-35.
- SCHWEIZER, D., 1980 – *Simultaneous fluorescent staining of R bands and specific heterochromatic regions (DA/DAPI) in human chromosomes*. *Cytogenetic and Cell Genetic*, 77: 190-193.

SUMNER, A. T., 1972 – *A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin*. Experimental Cell Research, 75: 304-306.

YOSIDA, T.H., 1981 – *Chromosome polymorphism of the large naked-soled gerbil, **Tatera indica** (Rodentia, Muridae)*. The Japanese journal of genetics, 56 (3): 241-248.

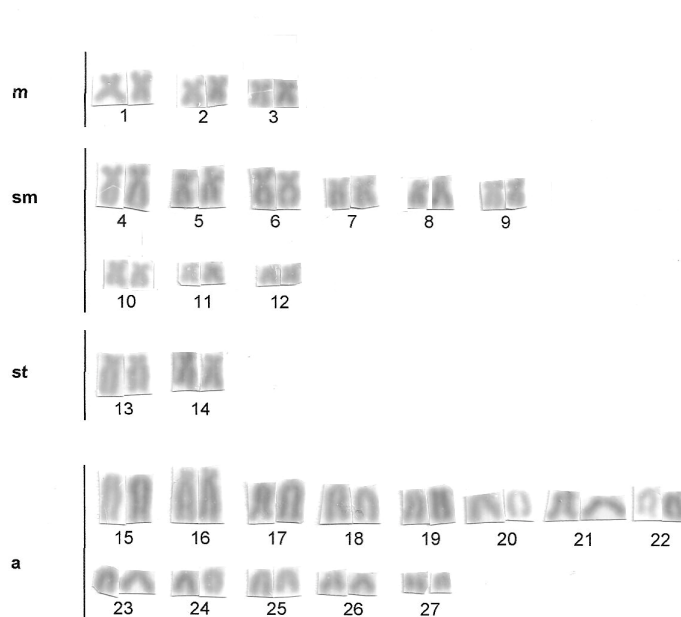


Figura 1: Cariótipo de *Loricariichthys platymetopon* corado com Giemsa. O quadrado evidencia a constrição secundária no par 16.

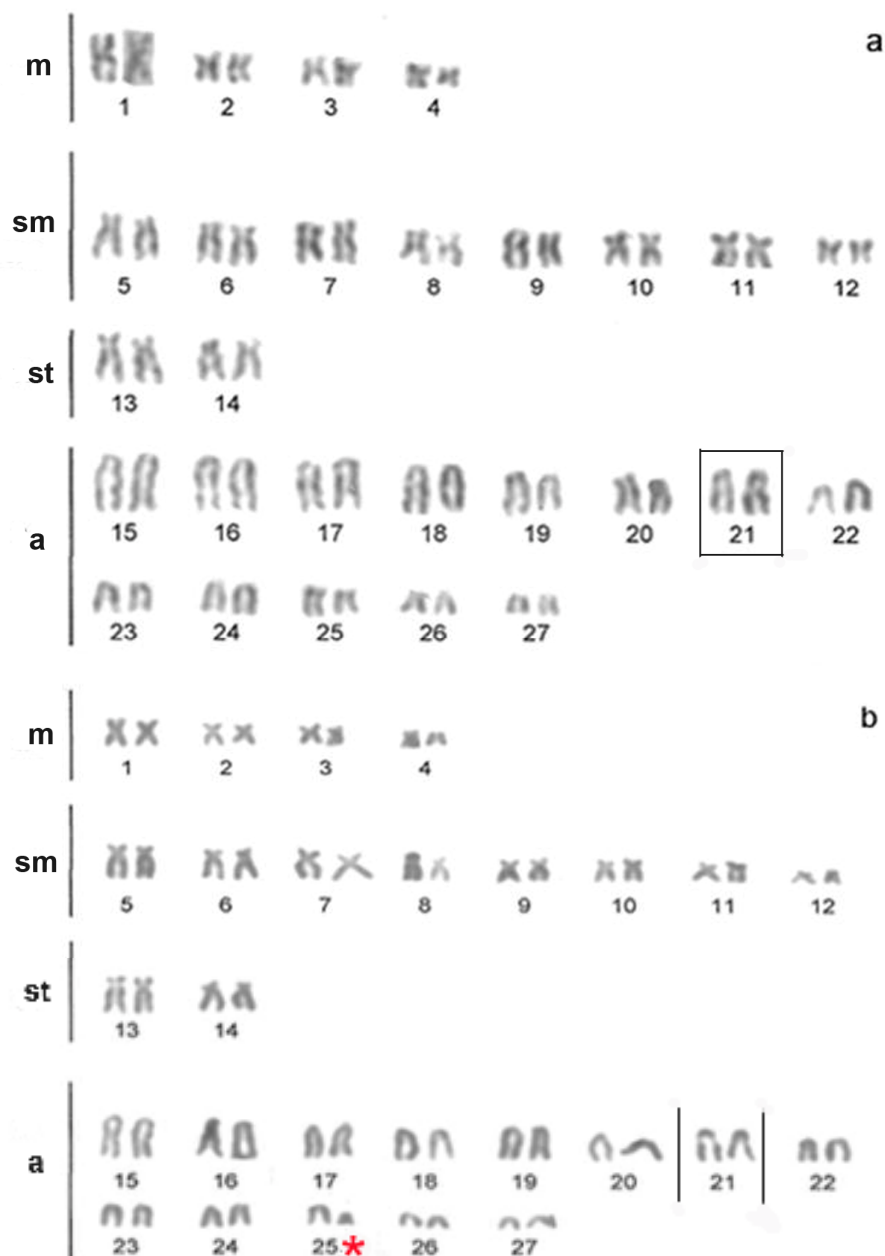


Figura 2: Cariótipos de *Loricariichthys anus* corados com Giemsa: a) citótipo A e b) citótipo B. Os quadrados evidenciam a constrição secundária no par 21 e o * o heteromorfismo encontrado no par 25.

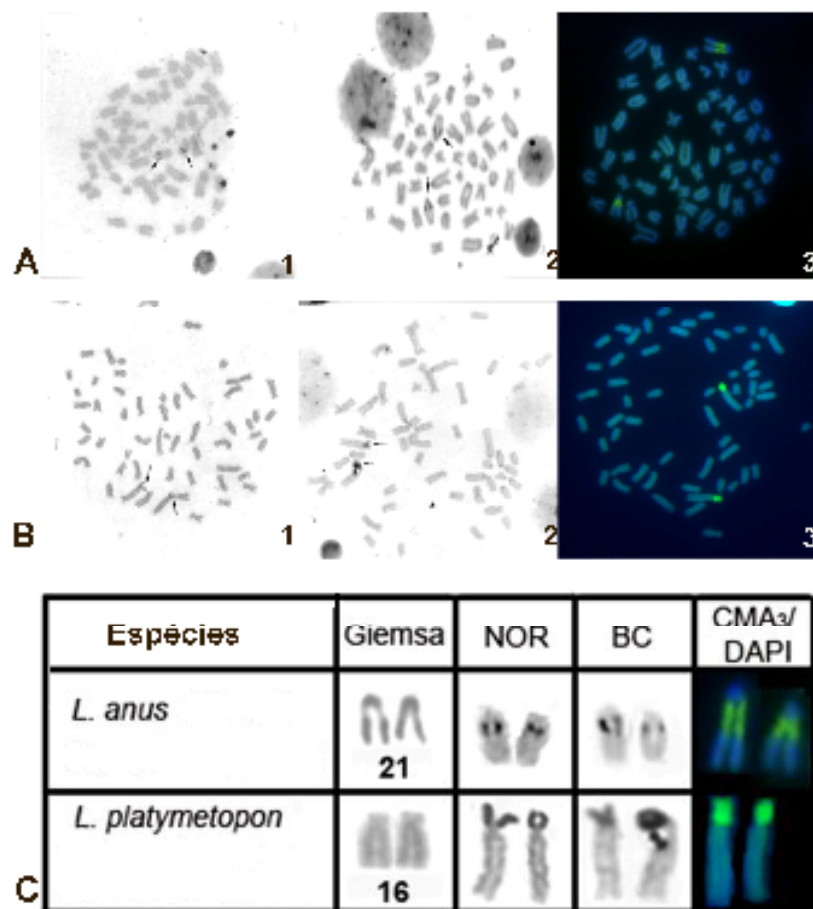


Figura 3: Bandamento cromossômico em *Loricariichthys anus* (A) e *Loricariichthys platymetopon* (B): 1. metáfases com AgNORs, 2. metáfases evidenciando a heterocromatina constitutiva e 3. metáfases sobrepostas depois de coradas com fluorocromos CMA₃/DAPI.. Constrição secundária evidenciada com: Giemsa, nitrato de prata, bandeamento C e sobreposição dos fluorocromos CMA₃/DAPI (C).

Tabela 1: Estudos citogenéticos realizados no gênero *Loricariichthys*. 2n= número diplóide; NF= número fundamental; m=metacêntrico; sm=submetacêntrico; st=subtelocêntrico; a= acrocêntrico

Espécie	Localidade	2n	NF	Fórmula Cariotípica	Ref.
<i>Loricariichthys</i> sp.	Rio Paraná – Argentina	54	90	6m+26sm+4st+18a	1
<i>Loricariichthys</i> sp.	Rio Itabapoana	54	82	28m+26a	2
<i>L. platymetopon</i>	Rio Paraná– Porto Rico-PR	54	85	7m+20sm+4st+23a	
		54	84	6m+20sm+4st+24a	3
<i>L. platymetopon</i>	Bacia Rio Paranapanema	54	82	6m+18sm+4st+26a	4
<i>L. anus</i>	Sist. H. do Lago Guaíba-RS	54	82	8m+16sm+4st+26a	4

Referências: 1 – FENOCCHIO, 1993; 2 – CARNEIRO *et al.*, 1998; 3 – SCAVONE e JULIO JR. 1995; 4 – Presente trabalho.

CAPÍTULO II

Caracterização cariotípica de três espécies do gênero *Rineloricaria* (Siluriformes, Loricariidae, Loricariinae). *

* Este artigo será submetido à publicação na revista "Caryologia".

Estudo cariotípico de três espécies do gênero *Rineloricaria* (Siluriformes, Loricariidae, Loricariinae).

TATIANA PERES DE ASSIS MAIA¹, LUCIA GIULIANO-CAETANO¹, MÔNICA S. RODRIGUEZ², J. L.R. MALABARBA²,
E ANA LÚCIA DIAS¹

1 – Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Biologia Geral, 86051-970, Londrina, PR, Brasil. Telefone: ++55-43-33714257, fax: ++55-43-33714527. E-mail: anadias@uel.br.

2 – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências, Departamento de Zoologia, 91501970 - Porto Alegre, RS - Brasil

RESUMO

No presente trabalho foram analisadas três espécies de peixes: *Rineloricaria pentamaculata* de afluentes do Rio Tibagi/PR, *Rineloricaria cadeae* do lago Guaíba/RS e *Rineloricaria strigilata* do rio Forquetinha/RS, por meio de coloração convencional (Giemsa), impregnação por nitrato de prata, bandamento-C e coloração com fluorocromos base-específicos. A análise com Giemsa revelou um número diplóide de 56 para *R. pentamaculata* (2m+6sm+48a), 62 cromossomos para *R. cadeae* (2sm+2st+58a) e 70 cromossomos para *R. strigilata* (4sm+2st+64a). A impregnação por nitrato de prata detectou RONS simples para as três espécies, em posição terminal, localizadas no quinto par para *R. pentamaculata*, com polimorfismo de tamanho, e nono par para *R. cadeae* e *R. strigilata*. Esta última espécie apresentou um heteromorfismo de tamanho da NOR. Quanto ao padrão de banda C foi observado que todas as espécies apresentam heterocromatina distribuída nas regiões pericentroméricas e associadas às RONS. A análise por CMA₃ mostrou marcação fluorescente coincidente com a RON, sendo esta região

negativa quando corada com DAPI, mostrando-se portanto rica em GC. Os resultados observados no presente trabalho confirmam que a variabilidade cariotípica, é uma característica comum deste grupo.

Palavras chave: *Rineloricaria*, heterocromatina, RONS, fluorocromos, variabilidade cariotípica.

INTRODUÇÃO

A subfamília Loricariinae, apresenta 31 gêneros distribuídos em 209 espécies (FERRARIS, 2007), sendo um dos maiores grupos de Loricariidae, em relação a número de espécies. O gênero *Rineloricaria* é formado por 22 espécies (FERRARIS, 2007), sendo peixes de pequeno a médio porte, com cabeça triangular, focinho coberto de placas, órbita com pequeno entalhe posterior, boca com lábios totalmente cobertos de papilas, dentes pequenos e cuspidados, apresentando dentes faríngeos. A região ventral é coberta de placas, abaixo das nadadeiras peitorais, onde há a presença de 2 a 5 fileiras de pequenas placas. A placa anal é limitada, anteriormente, por 3 a 4 grandes placas. A nadadeira caudal possui raios simples, podendo apresentar prolongamento (LANGEANI ; ARAÚJO, 1994).

As espécies de *Rineloricaria* podem ser encontradas em ambientes de corredeiras, fixados nas rochas ou troncos ou em fundos arenosos, enterrados sob a areia. São animais noturnos e alimentam-se de algas e detritos orgânicos (OYAKAWA *et al.* 2006). São pequenos e apresentam dimorfismo sexual característico dos machos, que apresentam odontóides hiperatrofiados nas laterais da cabeça e face dorsal dos raios das nadadeiras peitorais. Apresentam uma ampla

distribuição, desde a Costa Rica até o rio de La Plata, na Argentina, mostrando uma grande diversidade adaptativa, explorando vários habitats (FERRARIS, 2003 *apud* RODRÍGUES; MIQUELARENA, 2005). Algumas espécies, como *Rineloricaria strigilata* são encontradas em ambientes muito poluídos, comprovando a diversidade a diversos habitats (FLORES-LOPES *et al.*, 2001 *apud* RODRÍGUES; MIQUELARENA, 2005).

Estudos citogenéticos foram realizados em apenas cinco espécies do gênero *Rineloricaria*, e revelaram números diplóides variando de $2n=36$ cromossomos em *Rineloricaria latirostris* (GIULIANO-CAETANO, 1998) a $2n=70$ em *Rineloricaria* n. sp. (ALVES *et al.* 2003), o que demonstra uma grande diversidade cariotípica. Giuliano-Caetano (1998) evidenciou em *Rineloricaria latirostris* um polimorfismo numérico nesta espécie cujo número diplóide varia de $2n=36$ a 48 cromossomos, devido a translocações robertsonianas; ERRERO-PORTO (2007) também encontrou um polimorfismo numérico em *Rineloricaria pentamaculata*, devido a presença de cromossomos B.

Essa diversidade cariotípica faz com que este gênero seja um bom material para estudos citogenéticos. O presente trabalho tem por objetivo analisar citogeneticamente três espécies pertencentes ao gênero *Rineloricaria* visando contribuir para uma melhor caracterização citogenética do gênero.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram analisadas três espécies do gênero *Rineloricaria*: 14 exemplares (9 machos e 5 fêmeas) de *Rineloricaria pentamaculata*, coletados no Ribeirão Jacucaca e Água do Oito, afluentes do Rio Tibagi – PR, 8 exemplares (3 machos e

5 fêmeas) de *Rineloricaria cadeae* coletados no Lago Guaíba – RS, 6 exemplares (3 machos e 3 fêmeas) de *Rineloricaria strigilata* coletados no Rio Forquetinha – RS.

Os cromossomos mitóticos foram obtidos através da técnica de preparação direta, de acordo com BERTOLLO *et al.* (1978) e foram corados com Giemsa para análise convencional. A detecção das regiões organizadoras de nucléolos foi realizada pela impregnação por nitrato de prata (HOWELL; BLACK, 1980). Para determinação do padrão de distribuição da heterocromatina, foi utilizada a técnica da Banda-C (SUMNER, 1972). Para determinação dos sítios GC e AT-ricos foi utilizada a técnica da tripla coloração CMA/DA/DAPI (SCHWEIZER, 1980). Os cromossomos do tipo metacêntricos (m), submetacêntricos (sm) e subtelocêntricos (st) foram considerados com dois braços e os cromossomos acrocêntricos (a) foram considerados com um braço segundo com LEVAN *et al.* (1964), para o cálculo do número fundamental.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Rineloricaria pentamacula apresentou $2n=56$ cromossomos com fórmula cariotípica constituída de $2m+6sm+48a$, número fundamental (NF) igual a 64 e constrição secundária no quinto par (Figura 1a). Contudo ERRERO-PORTO (2007) analisando varias populações de *R. pentamaculata* encontrou diferenças na fórmula cariotípica e no número diplóide: a população do córrego Tauá apresentou exemplares com $9m/sm+47st/a$, e $NF=65$ indicando, segundo a autora, um polimorfismo estrutural devido a uma não disjunção meiótica de um par cromossomos acrocêntricos de tamanho médio, originando uma trissomia seguida de fusão de um destes cromossomos com o homólogo de um par acrocêntrico

pequeno, dando origem ao submetacêntrico extra no complemento; e também na população de Tauá alguns exemplares de *R. pentamaculata* apresentaram $2n$ de 56 a 59 devido a presença de cromossomos B.

Os exemplares de *Rineloricaria cadeae* apresentaram número diplóide igual a 62 cromossomos com fórmula cariotípica de $2sm+2st+58a$, $NF=66$, com constrição secundária no nono par (Figura 1b) diferente do resultado obtido por ALVES *et al.* (2003) que obteve número diplóide de $2n=66$ ($2m+64st/a$) e constrição secundária no segundo par para a mesma espécie (Tabela 1). Esta diferença encontrada em *R. cadeae* pode sugerir que se tratam de espécies diferentes ou que processos de não-disjunção meiótica ou mitótica podem ter ocorrido nesta espécie, o que confere a *R. cadeae* uma certa plasticidade cariotípica.

Os espécimes de *Rineloricaria strigilata* apresentaram $2n=70$ cromossomos e cariótipo constituído por $4sm+2st+64a$, $NF=76$, com uma constrição secundária também no nono par (Figura 1c). Este cariótipo já havia sido descrito para *Rineloricaria* n. sp. ($2sm+68a$) por ALVES *et al.* (2003), sendo este o número diplóide mais elevado para o gênero (Tabela 1); as duas espécies apesar de apresentarem o mesmo $2n$, possuem fórmulas cariotípicas diferentes, apresentando alteração na quantidade de sm e de cromossomos $st-a$. Segundo GIULIANO-CAETANO (1998) na subfamília Loricariinae, espécies que apresentam menor número cromossômico possuem uma quantidade maior de cromossomos do tipo meta/submetacêntricos, enquanto que espécies que apresentam maior número cromossômico prevalecem os cromossomos do tipo subtelo/acrocêntricos. Observando-se a Tabela 1 os dados encontrados corroboram com essa hipótese. Alves *et al.* (2003) também observaram para números diplóides maiores e uma maior quantidade de

cromossomos acrocêntricos em *Rineloricaria kronei*, *Rineloricaria cadeae* e *Rineloricaria* n. sp.

Os resultados obtidos para as espécies analisadas revelaram um número diplóide variando de 56, 62 e 70 cromossomos. Esta variação é coincidente ao encontrado em outras espécies desse gênero (Tabela 1), confirmando uma grande variabilidade cariotípica no grupo.

Os processos de inversão pericêntrica e fissões/fusões cêntricas são tidos como os principais processos que causa esta grande complexidade observada durante a história evolutiva da subfamília Loricariinae, sendo responsáveis pelas variações numérica e estrutural, como já sugerido por Alves *et al.* (2003) e Kavalco *et al.* (2005).

Em relação aos bandamentos cromossômicos, as três espécies de *Rineloricaria* apresentaram RONS simples, em posição terminal e coincidente com a constrição secundária (Figura 2). Em *Rineloricaria pentamaculata* do presente estudo e as analisadas por Errero - Porto (2007) a RON encontra-se no quinto par. Pode-se observar uma constância na localização das RONS no nono par de *Rineloricaria cadeae* e *Rineloricaria strigilata*, do presente estudo, enquanto que Alves *et al.* (2003) encontraram a RON no segundo par para *R. cadeae*.

Em *Rineloricaria pentamaculata* as RONS se apresentaram com e sem heteromorfismo de tamanho entre os cromossomos homólogos, caracterizando assim um polimorfismo e *Rineloricaria strigilata* apresentou um heteromorfismo de tamanho desta região em todas as metáfases analisadas, não sendo observado em *Rineloricaria cadeae*. (Figura 2D).

O heteromorfismo relacionado ao tamanho nas RONS observado em *Rineloricaria pentamaculata* e *Rineloricaria strigilata* pode ter ocorrido devido a um

crossing-over desigual ou duplicação gênica, como já sugerido por FORESTI *et al.* (1981) e ALMEIDA-TOLEDO *et al.* (2000) no grupo dos peixes. Este heteromorfismo de tamanho já foi encontrado em outras espécies do gênero, como em *Rineloricaria latirostris* (GIULIANO-CAETANO, 1998), *Rineloricaria kronei*, *Rineloricaria cadeae* e *Rineloricaria* n. sp. (ALVES *et al.*, 2003) e *Rineloricaria pentamaculata* (ERRERO- PORTO, 2007).

Segundo Sola *et al.* (1988) a presença de heterocromatina intercalar aos genes ribossomais pode facilitar permutas desiguais entre as cromátides, causando um polimorfismo da RON em relação ao tamanho. Este fato pode explicar o heteromorfismo evidenciado em algumas espécies de *Rineloricaria* (Figura 2D).

A posição da heterocromatina no gênero *Rineloricaria* do presente trabalho coincide com o padrão observado em outras espécies de Loricariinae, como, em *Loricariichthys platymetopon* (SCAVONE; JULIO JR., 1995); *Rineloricaria latirostris* (GIULIANO-CAETANO, 1998), *Rineloricaria pentamaculata* (ERRERO-PORTO, 2007); e *Harttia loricariformis* (KAVALCO *et al.* 2004), sendo resente bandas pericentroméricas em muitos cromossomos, e também coincidente com as RONs (Figura 2).

No presente estudo as regiões organizadoras de nucléolos apresentaram-se ricas em GC, enquanto que as regiões pericentroméricas não apresentaram nenhuma marcação com os fluorocromos utilizados, provavelmente as heterocromatinas pericentroméricas devem possuir uma composição de bases tanto AT quanto GC próximas (Figura 2), assim como em *Harttia loricariformis*, estudado por Kavalco *et al.* (2004). Giuliano-Caetano (1998) observou em *Rineloricaria latirostris* as heterocromatinas pericentroméricas ricas nas bases AT, as quais são

raras dentre os peixes, sendo descrita apenas entre algumas espécies de Hypostominae (ARTONI; BERTOLLO, 1999; RUBERT, 2007).

Os dados apresentados no presente trabalho vem a contribuir com maiores informações a respeito do gênero, visto que estudos realizados em *Rineloricaria* são escassos. O presente trabalho vem confirmar a variabilidade cariotípica observada, principalmente em relação ao número diplóide, mostrando que este gênero apresenta uma evolução diversificada, com várias modificações cariotípicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA-TOLEDO, LF., FORESTI, F. and TOLEDO-FILHO, S.A., 2000 – *Karyotypic evolution in Neotropical freshwater*. *Chromosomes Today*, 13: 169-182.
- ALVES, A.L., OLIVEIRA, C. and FORESTI, F., 2003 – *Karyotype variability in eight species of the subfamilies Loricariinae and Ancistrinae (Teleostei, Siluriformes, Loricariidae)*. *Caryologia* 56: 57-63.
- ARTONI, R.F. and BERTOLLO, L.A.C., 1999 – *Nature and distribution of constitutive heterochromatin in fishes, genus Hypostomus (Loricariidae)*. *Genetica*, 106: 209-214.
- BERTOLLO, L. A. C., TAKAHASHI, C. S. and MOREIRA-FILHO, O., 1978 – *Cytotaxonomic considerations on **Hoplias lacerdae** (Pisces, Erythrinidae)*. *Revista Brasileira de Genética*, 1: 103-120.
- ERRERO-PORTO, F., 2007 – *Estudo citogenético e de polimorfismo cromossômico em populações do gênero **Rineloricaria** (Loricariidae, Siluriformes) da bacia do rio Paraná*. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá, PR.
- FERRARIS JR., C.J., 2007 – *Checklist of catfishes, recent and fossil (Osteichthyes: Siluriformes), and catalogue of siluriform primary types*. *Zootaxa* 1418: 1-628.

- FLORES-LOPES, F., MALABARBA, L.R., PEREIRA, E.H.L. and SILVA, J.F.P., 2001 – *Alterações histológicas em placas ósseas do peixe cascudo **Rineloricaria strigilata** (Hensel) (Teleostei, Loricariidae) e sua frequência no lago Guaíba, Rio Grande do Sul, Brasil*. Revista Brasileira de Zoologia, 18(3): 699 – 709.
- FORESTI, F., ALMEIDA-TOLEDO, L.F. and TOLEDO-FILHO, S.A., 1981 – *A polymorphic nature of nucleolus organizer regions in fishes*. Cytogenetics and Cell Genetics, 31(3): 137-144.
- GIULIANO-CAETANO, L., 1998 – *Polimorfismo Cromossômico Robertsoniano em Populações de **Rineloricaria latirostris** (Pisces, Loricariidae)*. Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, São Carlos, SP.
- HOWELL, W. M. and BLACK, D. A., 1980 – *Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method*. Experientia, 36: 1014-1015.
- KAVALCO, K.F., PAZZA, R., BERTOLLO, L.A.C. and MOREIRA-FILHO, O., 2004 – *Heterochromatin characterization of four fish species of the family Loricariidae (Siluriformes)*. Hereditas, 141: 237-242.
- KAVALCO, K.F., PAZZA, R., BERTOLLO, L.A.C. and MOREIRA-FILHO, O., 2005 – *Karyotypic diversity and evolution of Loricariidae (Pisces, Siluriformes)*. Heredity, 94: 180-186.

- LANGIANI, F. and ARAUJO, R.B., 1994 – O gênero **Rineloricaria** Bleeker, 1862 (*Ostariophysi, Siluriformes*) na Bacia do Rio Paraná Superior. **Rineloricaria pentamaculata** SP.N. e **Rineloricaria latirostris** (Boulenger, 1900). Comunicação Museu de Ciências e Tecnologia, PUCRS, Série Zoologia, 7: 151-166.
- LEVAN, A., FREDGA, K. and SANDBERG, A.A., 1964 – *Nomenclature for centromeric position on chromosomes*. Hereditas 52: 201-220.
- OYAKAWA, O.T., AKAMA, A., MAUTARI, K.C. and NOLASCO, J.C., 2006 – *Peixes de Riachos da Mata Atlântica*. p. 201, Editora Neotrópica, São Paulo.
- REIS, R.E.; KULLANDER, S.O.; FERRARIS JR, C.J., 2003 – *Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America*. EDIPUCRS, Porto Alegre.
- RODRÍGUEZ, M.S. and MIQUELARENA, A.M., 2005 – *A new species of Rineloricaria (Siluriformes: Loricariidae) from the Paraná and Uruguay River basins, Misiones, Argentina*. Zootaxa 945: 1 – 15.
- RUBERT, M., 2007 – *Estudos citogenéticos em diferentes populações do gênero Hypostomus (Loricariidae, Hypostominae)*. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Londrina – UEL, Londrina, PR.

SCAVONE, M.D.P. and JULIO JR., H.F., 1995 – *Cytogenetics analysis and heterochromatin distribution in ZZ/ZW sex chromosomes of the mailed catfish **Loricariichthys platymetopon** (Loricariidae: Siluriformes)*. Revista Brasileira de Genética, 18: 31-35.

SCHWEIZER, D., 1980 – *Simultaneous fluorescent staining of R bands and specific heterochromatic regions (DA/DAPI) in human chromosomes*. Cytogenetic and Cell Genetic, 77: 190-193.

SOLA, L., NATILI, G.L. and CATAUDELLA, S., 1988 – *Cytogenetical characterization of **Odontesthes bonariensis** (Pisces, Atherinidae), an Argentine species introduced in Italy*. Genetica, 77: 217-224.

SUMNER, A. T., 1972 – *A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin*. Experimental Cell Research, 75: 304-306.

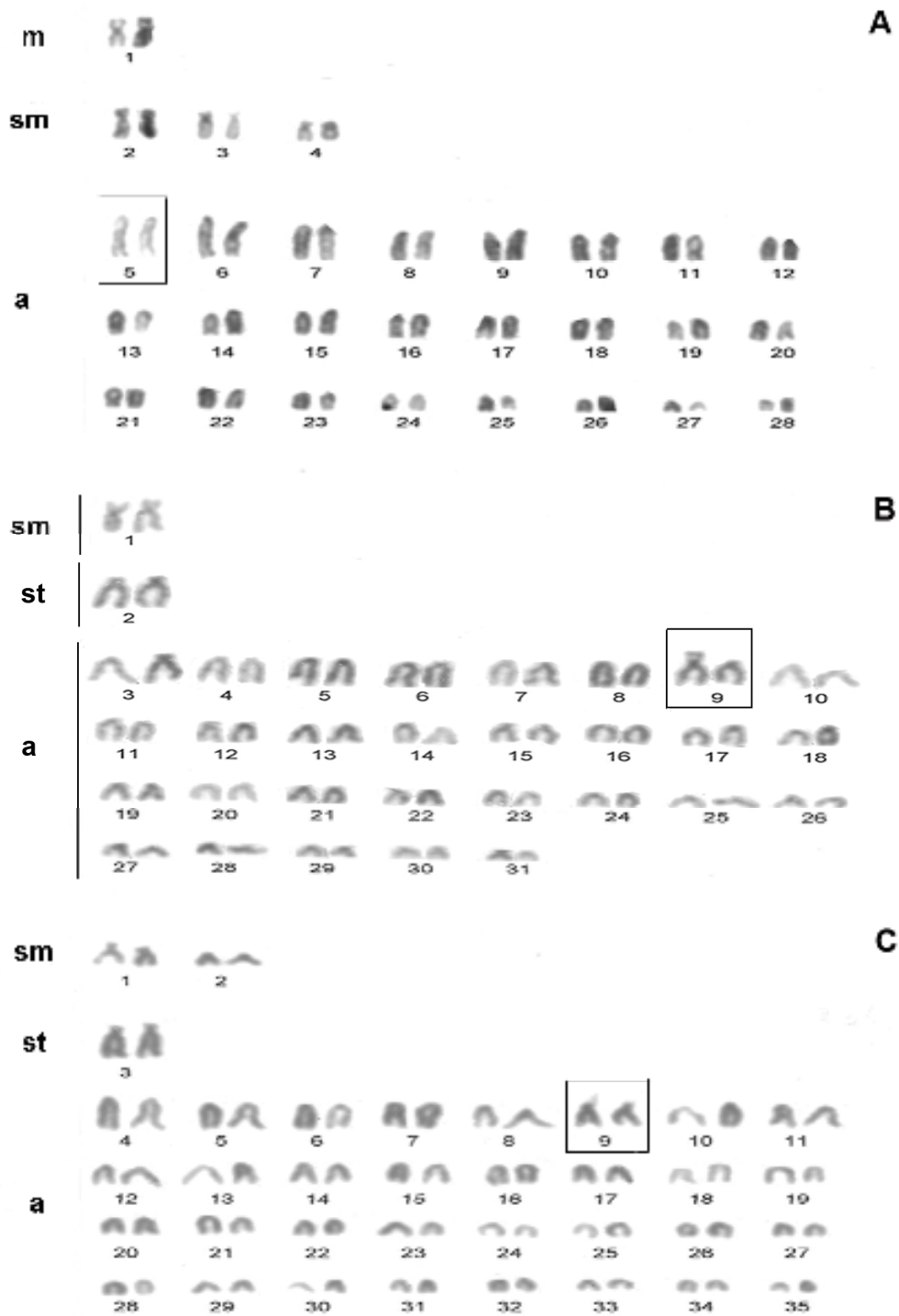


Figura 1: Cariótipos corados com giemsa de: **A)** *Rineloricaria pentamaculata*, **B)** *Rineloricaria cadeae* e **C)** *Rineloricaria strigilata*. O quadrado evidencia a constrição secundária no par 5 para *R. pentamaculata*, par 9 para *R. cadeae* e par 9 para *R. strigilata*.

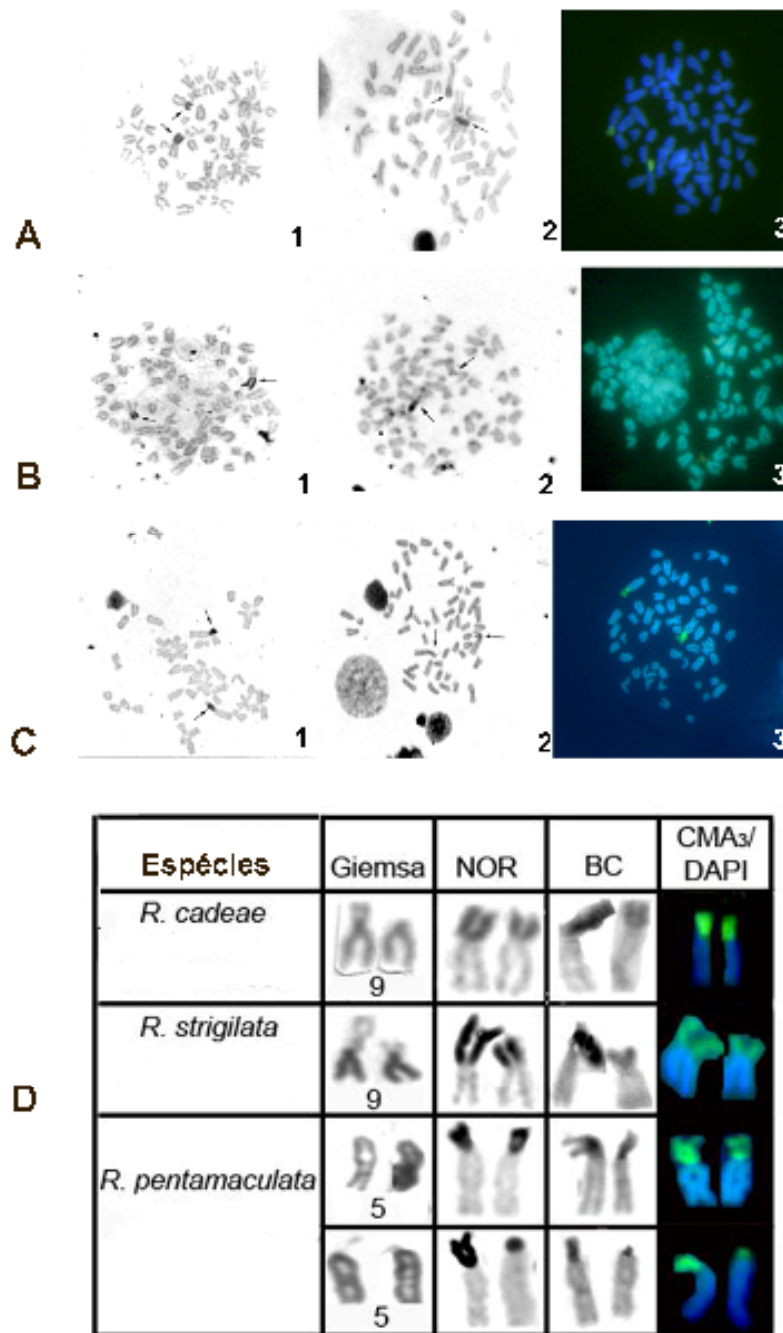


Figura 2: Bandamento cromossômico em *Rineloricaria cadeae* (A), *Rineloricaria strigilata* (B) e *Rineloricaria pentamaculata*: 1. metáfases com AgNORs, 2. metáfases evidenciando a heterocromatina constitutiva e 3. metáfases sobrepostas depois de coradas com fluorocromos CMA₃/DAPI.. Constrição secundária evidenciada com: Giemsa, nitrato de prata, bandeamento C e sobreposição dos fluorocromos CMA₃/DAPI (D).

Tabela 1: Estudos Citogenéticos realizados dentro de gênero *Rineloricaria*.

2n= número diplóide; NF= número fundamental; m=metacêntrico; sm=submetacêntrico; st=subtelocêntrico e a= acrocêntrico

Espécie	Localidade	2n	NF	Fórmula Cariotípica	Ref
<i>R. latirostris</i>	Rio Mogi-Guaçu – SP	36 - 40	60	24m/sm+12a; 23m/sm+14a 22m/sm+16a; 21m/sm+18a; 20m/sm+20a	1
<i>R. latirostris</i>	Ribeirão Três Bocas – PR	43 - 48	60	17m/sm+26a; 16m/sm+28a; 14m/sm+32a; 13m/sm+34a; 12m/sm+36a	1
<i>R. latirostris</i>	Rio Passa-Cinco – SP	43 - 48	60	17m/sm+26a; 16m/sm+28a; 15m/sm+30a; 16m/sm+29a; 14m/sm+32a; 13m/sm+34a; 14m/sm+32a	1
<i>R. latirostris</i>	Ribeirão Maringá – PR	46	60	14m/sm+32st/a	3
<i>R. pentamaculata</i>	Rio Keller, Córrego Tatupeba e Córrego Tauá – PR	56	64	8m/sm+48st/a	3
<i>R. pentamaculata</i>	Córrego Tauá – PR	56	66	9m/sm+47st/a	
<i>R. pentamaculata</i>	Rib. Jacucaca e Água do Oito – PR	56	64	2m+6sm+48a	4
<i>R. cadeae</i>	Rio Guaíba – RS	66	68	2m+64st/a	2
<i>R. cadeae</i>	Lago Guaíba – RS	62	66	2sm+2st+58a	4
<i>R. kronei</i>	Rio Itapocu – SC	64	70	6m/sm+58st/a	2
<i>Rineloricaria</i> n.sp.	Rio Betari – SP	70	72	2sm+68a	2
<i>R. strigilata</i>	Lago Guaíba – RS	70	76	4sm+2st+64a	4

Referências: 1 – GIULIANO-CAETANO, 1998; 2 – ALVES *et al.*, 2003; 3 – ERRERO-PORTO, 2007; 4 –

Presente trabalho.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

1 – As espécies estudadas no presente trabalho apresentaram uma variação no número diplóide de 54 a 70 cromossomos: *Loricariichthys platymetopon* apresentou $2n=54$ cromossomos (6m+18sm+4st+26a); *Loricariichthys anus* $2n=54$ cromossomos (8m+16sm+4st+26a); *Rineloricaria pentamaculata* $2n = 56$ cromossomos (2m+6sm+48a); *Rineloricaria cadeae* $2n = 62$ cromossomos (2sm+2st+58a); e *Rineloricaria strigilata* $2n=70$ cromossomos (4sm+2st+64a), confirmando uma variabilidade na subfamília Loricariinae.

2 – Em *Loricariichthys anus* foram encontrados dois citótipos distintos: o citótipo A com todos os cromossomos pareados; e o citótipo B apresentando o par 25 heteromórfico, sendo encontrados tanto para machos quanto para fêmeas.

3 – Todas as espécies apresentaram RONS simples e terminais, com exceção de *Loricariichthys anus*, que apresentou estas regiões em posição intersticial e com heteromorfismo de tamanho, que também foi evidenciado em *Rineloricaria strigilata*. Um polimorfismo das RONS foi encontrado em *Rineloricaria pentamaculata*.

4 – Todas as RONS mostraram-se coradas com o fluorocromo CMA3 e foram negativas para DAPI, sendo portanto regiões ricas em GC.

5 – O padrão de heterocromatina encontrado foi igual em todas as espécies analisadas, sendo distribuída nas regiões pericentroméricas e associadas às RONS.

6 – As espécies analisadas mostram que a subfamília Loricariinae apresenta uma grande complexidade cariotípica, que deve ter ocorrido, principalmente, devido a processos de inversões pericêntricas e fissões/fusões cêntricas durante a história evolutiva da subfamília Loricariinae.