



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

VITOR ANTONIO DELAI

**CARACTERIZAÇÃO CARIOTÍPICA DE TRÊS ESPÉCIES DE
PEIXES DA FAMÍLIA PARODONTIDAE
(CHARACIFORMES)**

Londrina
2009



Universidade Estadual de Londrina

Instituto Agrônomo do Paraná

Embrapa Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

VITOR ANTONIO DELAI

**CARACTERIZAÇÃO CARIOTÍPICA DE TRÊS ESPÉCIES DE
PEIXES DA FAMÍLIA PARODONTIDAE
(CHARACIFORMES)**

VITOR ANTONIO DELAI

**CARACTERIZAÇÃO CARIOTÍPICA DE TRÊS ESPÉCIES DE
PEIXES DA FAMÍLIA PARODONTIDAE
(CHARACIFORMES)**

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.

Orientadora: Dr^a. Ana Lúcia Dias

Londrina
2009

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca
Central da Universidade Estadual de Londrina.**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

D334c Delai, Vitor Antonio.

Caracterização cariotípica de três espécies de peixes da família Parodontidae (Characiformes) / Vitor Antonio Delai. – Londrina, 2009.

72 f. : 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, 2009.

Inclui bibliografia.

1. Peixe – Citogenética – Teses. 2. Peixe – Cariótipos – Teses. 3. Characideo – Teses. 4. Cromossomos sexuais – 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

VITOR ANTONIO DELAI

**CARACTERIZAÇÃO CARIOTÍPICA DE TRÊS ESPÉCIES DE PEIXES
DA FAMÍLIA PARODONTIDAE (CHARACIFORMES)**

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.

COMISSÃO EXAMINADORA:

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Lúcia Dias
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof^a. Dr^a Lucia Giuliano Caetano.
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Mário Sergio Mantovani
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 27 de fevereiro de 2009.

Dedico este trabalho à Deus e a toda minha família, principalmente aos meus pais e meus avós.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me sustentar todos os dias de minha vida, e por conceder a realização de um sonho.

À minha família, meus pais, Miguel Augusto Delai Neto e Maria Lucia Monzane, pelo amor incondicional, carinho, confiança, incentivo, dedicação e apoio, a meus avós paternos Dacy Aparecida Delai Antonio Delai e meus avós maternos Amara Inocência e Hugo Monzane, pelo amor, conselhos, compreensão, carinho e incentivo, a minha querida e amada irmã, e a todos meus familiares que de uma maneira ou outra contribuirão para o meu sucesso, estas são pessoas muito importantes em minha vida.

À Universidade Estadual de Londrina, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular.

À minha extraordinária Orientadora Dr^a Ana Lúcia Dias, pelos ensinamentos, pela paciência, incentivo nos momentos difíceis, carinho, dedicação e amizade, que serão lembrados por toda a vida.

À professora Lucia Giuliano Caetano pelos ensinamentos, conselhos, ajuda e amizade.

Aos amigos do laboratório de citogenética, Dr. Rafael Augusto de Carvalho e sua esposa Luciana, Fernando Treco, Gabriel, Tatiane Sampaio, Renata Rosa, Marceléia Rubert, Larissa Pires, Michelli Mendes, Jamille, Rosiley e Angélica pelo companherismo e amizade, muito obrigado a todos.

Aos membros da comissão examinadora, Prof^a Dr^a.Ana Lúcia Dias, Prof^a Dr^a. Lúcia Giuliano Caetano e Prof Dr. Mario Sergio Mantovani.

À todos os professores do mestrado, por todo o conhecimento passado.

Aos técnicos de laboratório Dário e Melissa, pelos favores, brincadeiras e ajudas prestadas.

À Sueli, secretaria do curso de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, por toda atenção e competência.

DELAI, Vitor Antonio. **Caracterização cariotípica de três espécies de peixes da família Parodontidae (Characiformes)**. 72 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina/PR.

RESUMO

O presente trabalho apresenta dados citogenéticos para três espécies da família Parodontidae: *Parodon nasus*, *Apareiodon ibitiensis* e *Apareiodon affinis* coletados em diferentes localidades dos baixo Paranapanema. Dezenove exemplares de *P. nasus* foram coletados no Ribeirão Água dos Patos, Iepê/SP, afluente do rio Paranapanema/SP, Ribeirão Três Bocas, Ribeirão Jacutinga e Ribeirão Apertados, Londrina/PR, afluentes do Rio Tibagi/PR, 7 exemplares de *Apareiodon ibitiensis* foram coletados apenas no Ribeirão dos Apertados e 27 exemplares de *Apareiodon affinis*, coletados no Ribeirão Água dos Patos, Ribeirão Jacutinga e Ribeirão Três Bocas. Todos os indivíduos de *Parodon nasus* e *Apareiodon ibitiensis* apresentaram $2n=54$ cromossomos m-sm e $NF=108$. A NOR, nestas duas espécies foi evidenciada na região terminal do braço longo de um par submetacêntrico, sendo o par 4 em *P. nasus*, apresentando um heteromorfismo de tamanho entre os homólogos. A Banda C revelou blocos heterocromáticos nas regiões centroméricas e terminais de alguns cromossomos do complemento. O fluorocromo CMA_3 evidenciou regiões ricas em pares de base CG coincidentes com as NORs, e o DAPI não evidenciou nenhuma marcação. Em *A. affinis* todos os machos apresentaram um número diplóide $2n = 54$ cromossomos m-sm e $NF = 108$ e as fêmeas apresentaram um $2n=55$, sendo $53\ m-sm + 2\ st$ e $NF = 110$, sendo observado nestas populações um sistema de cromossomos sexuais múltiplos do tipo ZZ/ZW_1W_2 , ocorrendo uma variação interpopulacional em relação aos cromossomos sexuais. Os indivíduos fêmeas coletados nos Ribeirões Água dos Patos e Jacutinga, apresentaram somente um cromossomo metacêntrico número 1, que corresponderia ao cromossomo Z e os indivíduos fêmeas de *A. affinis* do Ribeirão Três Bocas apresentaram somente um submetacêntrico de tamanho mediano, provavelmente correspondente ao cromossomo 7, que corresponderia ao cromossomo Z nesta população. A NOR manteve-se conservada em todas as populações, sendo evidenciada no par 27 na região terminal do braço longo, coincidente com marcações CMA_3 positivas e com um bloco heterocromático. A heterocromatina foi também evidenciada nas regiões centroméricas e terminais de alguns cromossomos. Os resultados obtidos evidenciam uma similaridade entre as populações de *Parodon nasus* e *Apareiodon ibitiensis* e apresentam mais uma ocorrência do sistema cromossômico sexual múltiplo ZZ/ZW_1W_2 em *Apareiodon affinis*, sendo observado um padrão diferente nos indivíduos do Ribeirão Três Bocas, o que pode estar diferenciando esta população.

Palavras-chaves: *Apareiodon*. *Parodon*. Citogenética. Cromossomos sexuais. Bandamento cromossômico.

DELAI, Vitor Antonio. **Karyotype characterization of three species of fish of the Parodontidae family (Characiformes)**. 2009. 72 p. Dissertation (Masters in Genetics and Molecular Biology) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR.

ABSTRACT

This paper presents cytogenetic data for three species of the family Parodontidae: *Parodon nasus*, *Apareiodon ibitiensis* and *Apareiodon affinis* collected in different locations of Tibagi and Paranapanema rivers. Nineteen specimens of *P. nasus* were collected in Água dos Patos Stream, Iêpe/SP, a tributary of the Paranapanema river/SP, Três Bocas, Apertados and Jacutinga Stream, Londrina/PR, tributaries of the Tibagi River/PR, 7 specimens of *Apareiodon ibitiensis* were collected only in Apertados Stream and 27 specimens of *Apareiodon affinis*, collected in Água dos Patos, Três Bocas and Jacutinga Stream. All individuals of *Parodon nasus* and *Apareiodon ibitiensis* presented $2n = 54$ chromosomes m-sm and FN=108. The NOR in these two species was evident in the terminal region of the long arm of a submetacentric pair, the pair 4 in *P. nasus*, with a heteromorphism of size between chromosomes homologous. The C-banding revealed heterochromatic blocks in the centromeric and terminal regions of some chromosomes of the complement. The fluorochrome CMA₃ showed regions rich in GC base pairs coincident with the NORs and the DAPI did not reveal any labeling. In *A. affinis* all males showed a $2n = 54$ chromosomes m-sm and FN=108 and the females showed a $2n=55$, with 53 m-sm + 2 st and FN=110, being observed in these populations a system of sex chromosomes multiple ZZ/ZW₁W₂, with a variation interpopulation for the sex chromosomes. Individuals females collected in Água dos Patos and Jacutinga Stream showed only one metacentric chromosome number 1, which correspond to the Z chromosome and female individuals of *A. affinis* of Três Bocas Stream had only a medium size submetacentric, probably the chromosome 7, which correspond to the Z chromosome in this population. The NOR has remained conserved in all populations, as evidenced in par 27 in the terminal region of the long arm, coinciding with CMA₃ positive and heterochromatic block. The heterochromatin was also observed in centromeric and terminal regions of some chromosomes. The results showed a similarity between the populations of *Parodon nasus* and *Apareiodon ibitiensis* and presented another occurrence of multiple sex chromosome system ZZ/ZW₁W₂ in *Apareiodon affinis*, with a different pattern observed in individuals of Três Bocas Stream, which can be differentiating the population.

Key-words: *Apareiodon.*, *Parodon.* Cytogenetic. Sexual chromosomes. Chromosome banding.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Espécies coletadas: (a) <i>Parodon nasus</i> , (b) <i>Apareiodon ibitiensis</i> , (c) <i>Apareiodon affinis</i>	26
Figura 2 - Imagem de Satélite da Bacia do Rio Paranapanema	27
Figura 3 - Locais de coletas (a) Ribeirão Três Bocas; (b) Ribeirão dos Apertados; (c) Ribeirão Jacutinga; (d) Ribeirão Água dos Patos	28

CAPITULO 1

Figura 1 - Cariótipos com coloração convencional de Giemsa de: (a) <i>Parodon nasus</i> , (b) <i>Apareiodon ibitiensis</i> . Em destaque em (a) a constrição secundária. Nos boxes o par cromossômico com AgNOR, Banda C (apenas em a), CMA ₃ e DAPI	43
Figura 2 - Metáfases somáticas com Banda C de: (a) <i>Parodon nasus</i> ; (b) <i>Apareiodon ibitiensis</i>	44

CAPITULO 2

Figura 1 - Cariótipos com coloração convencional de Giemsa de <i>Apareiodon affinis</i> , (fêmea e macho) dos Ribeirões Jacutinga e Água dos Patos.....	62
Figura 2 - Cariótipos com coloração convencional de Giemsa de <i>Apareiodon affinis</i> , (fêmea e macho) do Ribeirão Três Bocas.....	63
Figura 3 - Cariótipos com Banda C de <i>Apareiodon affinis</i> do Ribeirão Três Bocas (fêmea) e do Ribeirão Jacutinga (macho)	64
Figura 4 - Par cromossômico 27 de <i>Apareiodon affinis</i> evidenciado com nitrato de Prata, Banda C, CMA ₃ , DAPI: (a) População do Ribeirão Três Bocas; (b) População do Ribeirão Jacutinga.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados citogenéticos na família Parodontidae. $2n$ = número diplóide; NF = número fundamental	23
--	----

CAPÍTULO 2

Tabela 1 - Dados citogenéticos no gênero <i>Apareiodon</i> . $2n$ =número diplóide; NF=número fundamental.....	55
---	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A FAMÍLIA PARODONTIDAE.....	13
1.2	ASPECTOS CITOGENÉTICOS DA FAMÍLIA PARODONTIDAE.....	15
1.2.1	Gênero <i>Apareiodon</i>	15
1.2.2	Gênero <i>Parodon</i>	19
2	OBJETIVOS	23
2.1	OBJETIVO GERAL	23
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
3	MATERIAL E LOCAIS DE COLETA	24
3.1	AFLUENTES DO RIO TIBAGI/PR	24
3.1.1	Ribeirão Três Bocas, Município de Londrina PR (Figura 3a):.....	24
3.1.2	Ribeirão dos Apertados, Município de Londrina PR (Figura 3b):	24
3.1.3	Ribeirão Jacutinga, Município de Jataizinho, PR (Figura 3c):.....	24
3.2	AFLUENTE DO RIO PARANAPANEMA/SP	24
3.2.1	Ribeirão Água dos Patos, Município de Iepê, SP (Figura 3d):.....	24
	CAPITULO 1	27
	CONSERVADORISMO CROMOSSÔMICO EM <i>PARODON NASUS</i> E <i>APAREIODON IBITIENSIS</i> , DA FAMÍLIA PARODONTIDAE, DE DIFERENTES LOCALIDADES	28
	Resumo	29
	Introdução.....	30
	Material e Métodos.....	31
	Resultados.....	32
	Discussão	33
	Referência Bibliográficas	37

CAPITULO 2	44
DETERMINAÇÃO CROMOSSÔMICA SEXUAL DO TIPO ZZ/ZW ₁ W ₂ EM DIFERENTES POPULAÇÕES DE <i>APAREIODON AFFINIS</i> (CHARACIFORMES, PARODONTIDAE).....	44
Resumo	45
Introdução.....	46
Material e Métodos.....	47
Resultados.....	48
Discussão.....	49
Referência Bibliográficas	55
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	64
5 REFERÊNCIAS	67

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A FAMÍLIA PARODONTIDAE

A família Parodontidae, dentro da ordem Characiformes, representa um grupo relativamente pequeno sendo composta por três gêneros: *Parodon*, *Apareiodon* e *Saccodon*, conhecidos popularmente como “canivetes” e “charutos” no Brasil e “virolitos” e “rollizos” no restante da América Latina, estes animais se encontram distribuídos desde o Canal do Panamá até a bacia do rio do Prata na Argentina, estando ausentes na costa da bacia da Patagônia e no canal Amazônico (Pavanelli 2003).

Os gêneros desta família são peixes de pequeno porte, aproximadamente 14 a 17 cm, de corpo fusiforme, são frequentemente encontrados em águas correntes, apresentam nadadeiras peitorais bem desenvolvidas, o que possibilita uma maior fixação ao substrato rochoso onde se alimentam, sobretudo raspando o epifíton. As principais diferenças morfológicas entre os 3 gêneros estão relacionadas a presença ou ausência de dentes mandibulares associada ao padrão de coloração corporal. No gênero *Parodon* um dos primeiros a serem descritos, é característico a presença de pequenos dentes mandibulares e uma mancha acompanhando a linha lateral em zigue-zague; em *Apareiodon* ausência de dentes mandibulares e uma faixa acompanhando a linha lateral contínua; em *Saccodon* ausência de dentes mandibulares e primeiros raios das nadadeiras peitorais indivisos. (Pavanelli e Britski 2003).

Recentemente, Pavanelli (2003) reorganizou a família em 25 espécies válidas, sendo 14 *Apareiodon*, 11 *Parodon* e 3 *Saccodon*, além de outras espécies ainda não inseridas nesta nova revisão. As espécies válidas são:

- **Apareiodon Eigenmann, 1916**

- ✓ *Apareiodon affinis* Steindachner, 1879
- ✓ *Apareiodon davisii* Fowler, 1941
- ✓ *Apareiodon gransabana* Starnes & Schindler, 1993
- ✓ *Apareiodon hasemani* Eigenmann, 1916
- ✓ *Apareiodon ibitiensis* Campos, 1944
- ✓ *Apareiodon itapicuruensis* Eigenmann & Henn, 1916
- ✓ *Apareiodon machrisi* Travassos, 1957
- ✓ *Apareiodon orinocensis* Bonilla, Machado–Alison, Silveira, Chernoff, Lopes & Lasso, 1999
- ✓ *Apareiodon piracicabae* Eigenmann & Norris, 1907
- ✓ *Apareiodon vittatus* Garavello, 1977

- ***Parodon* Valenciennes, in Curvier & Valenciennes, 1850**

- ✓ *Parodon apolinari* Myers, 1930
- ✓ *Parodon bifasciatus* Eigenmann, 1912
- ✓ *Parodon buckeyi* Boulenger, 1887
- ✓ *Parodon caliensis* Boulenger, 1895
- ✓ *Parodon carrikeri* Fowler, 1940
- ✓ *Parodon guyanensis* Géry, 1959
- ✓ *Parodon hilarii* Reinhardt, 1866
- ✓ *Parodon nasus* Kner, 1859
- ✓ *Parodon pongoensis* Allen, 1942
- ✓ *Parodon suborbitalis*, Valenciennes, 1850

- ***Saccodon* Kner, 1863**
- ✓ *Saccodon dariensis* Meek & Hildebrand, 1913
- ✓ *Saccodon terminalis* Eigenmann & Henn, 1914
- ✓ *Saccodon wagneri* Kner, 1863

1.2 ASPECTOS CITOGENÉTICOS DA FAMÍLIA PARODONTIDAE.

Na família Parodontidae 12 espécies já foram descritas citogeneticamente sendo 4 pertencentes ao gênero *Parodon* e 9 ao gênero *Apareiodon*. Abaixo, estão descritas as principais características citogenéticas dos gêneros *Apareiodon* e *Parodon* e, na tabela 1, estão concentrados todos os dados de número diplóide, fórmula cariotípica, cromossomos sexuais e NOR, modificados a partir de Bellafronte *et al.* (2005).

1.2.1 Gênero *Apareiodon*

Na literatura são encontrados dados citogenéticos para as seguintes espécies de *Apareiodon*: *A. affinis*, *A. ibitiensis*, *Apareiodon* sp, *A. piracicabae*, *A. vittatus*, *Apareiodon* sp. A, *Apareiodon* sp. B, *Apareiodon* sp. C e *Apareiodon vladii*. como relacionados na tabela 1.

Na espécie *Apareiodon affinis* encontram-se populações que possuem heterogametia feminina com cromossomos sexuais múltiplos do tipo ZZ/ZW₁ZW₂, assim como populações sem cromossomo sexual.

Estudos realizados em diferentes populações de *Apareiodon affinis* da bacia do Alto Paraná por Moreira-Filho *et al.* (1980, 1985), Jesus *et al.* (1999) e por Jorge e Moreira-Filho (2000), e no rio Sapucaí (MG) por Leite e Maistro (2004) revelaram um número diplóide de 54 cromossomos e número fundamental (NF) igual 108) para os machos e 55 cromossomos e

número fundamental (NF) igual 110) para as fêmeas, revelando assim uma heterogametia feminina, isto é, um sistema de cromossomos sexuais múltiplos, do tipo ZZ/ZW_1W_2 , onde o macho possui os dois cromossomos metacêntricos grandes correspondendo ao 1º par (ZZ), sendo o sexo homogamético e as fêmeas possuem apenas um cromossomo metacêntrico grande (Z) e dois cromossomos sem homologia, W_1 e W_2 , sendo o sexo heterogamético. Estes cromossomos sexuais, provavelmente, devem ter se originado de um processo de rearranjo estrutural do primeiro par de cromossomos metacêntricos, tendo ocorrido uma fissão cêntrica em um dos homólogos, do primeiro par, seguido por uma inversão pericêntrica, resultando em fêmeas portadoras dos cromossomos submetacêntricos W_1W_2 , segundo Jesus *et al.* (1999).

Jesus *et al.* (1999) analisando uma população de *Apareiodon affinis* do rio Cuiabá e Jorge e Moreira-Filho (2000) estudaram diferentes populações desta espécie no Baixo Paraná (Rios Ituzaingó, Ita, Ibaté, Corrientes e Reconquista), na Argentina, revelaram um número diplóide de 54 cromossomos em ambos os sexos, não sendo evidenciados cromossomos sexuais múltiplos.

Foram relatadas as duas situações acima citadas, isto é, ausência e presença de cromossomos sexuais, em uma única população de *Apareiodon affinis* de Posadas, Província de Misiones–Argentina (Calgaro *et al.* 2004).

Um outro mecanismo cromossômico sexual foi relatado neste gênero em *Apareiodon vladii* (Rosa *et al.* 2006) e *Apareiodon* sp (Vicari *et al.* 2006), sendo um sistema sexual simples do tipo ZZ/ZW , onde as fêmeas apresentaram o cromossomo 21, um pequeno metacêntrico, sem homologia, sendo o cromossomo Z , e um subtelocêntrico grande sem correspondência no macho, o cromossomo W , caracterizando assim uma heterogametia feminina. Em *Apareiodon* sp o cromossomo Z foi considerado um submetacêntrico (Vicari *et al.* 2006). O cromossomo W teria se originado, em ambas as espécies, de uma amplificação da

heterocromatina do braço curto de um dos homólogos do par 21, segundo os autores acima citados.

Em outras espécies do gênero foi encontrado um conservadorismo quanto ao número de cromossomos, sendo observado em *Apareiodon piracicabae* (Moreira-Filho *et al.* 1984, 1985), em *Apareiodon sp. A*, *Apareiodon sp. B* e *Apareiodon sp. C*. *Apareiodon vittatus* e *Apareiodon ibitiensis* (Moreira-Filho *et al.* 1984, 1985; Jesus e Moreira-Filho, 2000a) um número diplóide igual 54, sem diferenciação cromossômica sexual. Em um grupo de *Apareiodon piracicabae* do rio Passa-Cinco, foi relatado um cromossomo extra do tipo B (Falcão *et al.* 1984).

Em geral, os cromossomos em *Apareiodon* são encontrados distribuídos em metacêntricos, submetacêntricos e subtelocêntricos. Exceções foram observadas em *Apareiodon affinis* do rio Cuiabá (Jesus *et al.* 1999) e da Bacia do Baixo Paraná (Argentina) (Jorge e Moreira-Filho 2000), sendo encontrados cromossomos acrocêntricos em ambos os sexos. Nesta última população foi observada uma variação relacionada ao número de cromossomos meta/submetacentrico (48–50), subtelocentrico (0–4), acrocentrico (0–6) e conseqüentemente uma variação no número fundamental de 102 a 108, sendo possível determinar 10 citótipos. É provável que a origem destes cromossomos se deve a um mecanismo de inversão pericêntrica em cromossomos com dois braços, sendo esta condição mais derivada dentro deste gênero. (Jorge e Moreira-Filho 2000).

Pela técnica de banda C, as espécies do gênero *Apareiodon* apresentaram blocos heterocromáticos preferencialmente em regiões centroméricas e algumas regiões terminais como em *A. affinis* do Alto Paraná analisada por Jesus *et al.* (1999) e do rio Sapucaí por Leite e Maistro (2004), em *Apareiodon sp. A*, *Apareiodon sp. B*, *Apareiodon sp. C*, *Apareiodon vittatus*, *Apareiodon ibitiensis* e *Apareiodon piracicabae* analisados por Jesus e Moreira-Filho

(2000a), em *Apareiodon vladii* por Rosa et al. (2006) e em *Apareiodon* sp por Vicari et al. (2006).

Em *A. affinis* do rio Cuiabá, além dos blocos pericentroméricos e alguns terminais, foi observada uma banda heterocromática intersticial no braço longo de um par acrocêntrico, característico dos espécimes desta população (Jesus et al. 1999).

Em *Apareiodon affinis* com sistema sexual ZZ/ZW₁W₂ analisada por Jesus et al. (1999) o cromossomo Z possui blocos heterocromáticos em ambas terminações, sendo que o cromossomo W₁ apresentou-se com um pequeno bloco heterocromático na região pericentromérica e um bloco mais evidente na região terminal do braço longo, e o cromossomo W₂ apresentou uma forte marcação na região pericentromérica, juntamente com uma pequena marcação na região intersticial e um bloco na região terminal do braço longo. Resultados similares foram encontrados por Leite e Maistro (2004) em uma população do rio Sapucaí (Alfenas, Minas Gerais).

De um modo geral, as regiões organizadoras de nucléolo (NORs), se apresentam em apenas um par neste gênero, sendo observada, principalmente, no braço longo de um cromossomo subtelocêntrico (tabela 1), exceto para *A. affinis* do rio Cuiabá que apresenta a NOR em um par cromossômico acrocêntrico (Jesus et al. 1999) e para *Apareiodon piracicabae* que mostra um polimorfismo intra e interindividual relacionado ao número, posição e tamanho das NORs, sendo observados desde uma NOR simples em somente um dos homólogos até uma dupla NOR em ambos cromossomos (Jesus e Moreira-Filho 2000a). Estudos anteriores indicam que esta dupla NOR provavelmente resulta de uma inversão paracêntrica em um cromossomo ancestral envolvendo uma NOR simples e uma região heterocromática adjacente (Moreira-Filho et al. 1984).

Em *Apareiodon affinis*, *Apareiodon ibitiensis*, *Apareiodon vladii* e *Apareiodon* sp. B a heterocromatina está localizada coincidente à região organizadora de nucléolo, (Moreira-Filho

et al. 1984; Jesus *et al.* 1999; Jesus e Moreira-Filho, 2000a; Leite e Maistro 2004), enquanto que em *A. piracicabae* e em *Apareiodon* sp. A (Jesus e Moreira-Filho 2000a) e em *A. vladii* (Rosa *et al.* 2006) a heterocromatina está adjacente à NOR.

A caracterização do número de cromossomos nucleolares em uma espécie, pela técnica de impregnação por nitrato de prata exige uma análise cuidadosa, pois por muitas vezes o DNAr pode não estar ativo, possuindo assim mais cístrons ribossômicos. Em *Apareiodon vladii* foi utilizada sonda de DNAr 18S localizando esse sítio de transcrição no 26º par, correspondente ao par marcado pelo nitrato de prata (Rosa *et al.* 2006), o mesmo ocorrendo em *Apareiodon* sp após (Vicari *et al.* 2006) utilizarem a sonda de DNAr 18S.

1.2.2 Gênero *Parodon*

No gênero *Parodon* as espécies analisadas foram *Parodon* sp, *Parodon hilarii*, *Parodon nasus* (anteriormente citada como *P. tortuosus*) e *Parodon pongoensis* (anteriormente citada como *Parodon* sp.) todas com $2n=54$ cromossomos como relacionado na tabela 1 porém, com algumas variações na fórmula cariotípica. Em uma análise citogenética em *Parodon nasus* (Rio Cuiabá) e *Parodon tortuosus* (Rio Passa-Cinco), Bellafronte *et al.* (2005) não evidenciaram nenhuma diferença cariotípica considerável entre essas duas espécies comprovando o que Pavanelli (2003) propôs em uma revisão taxonômica, de que *Parodon tortuosus* é sinônimo de *Parodon nasus*.

Em *Parodon nasus* foram observados 48 cromossomos meta-submetacêntricos e 6 subtlocêntricos em uma população do rio Passa Cinco (Moreira-Filho *et al.* 1985; Jesus e Moreira-Filho, 2000b; Bellafronte *et al.* 2005), do Córrego Paiol Grande, SP (Centofante *et al.* 2002) e do rio Cuiabá (Bellafronte *et al.* 2005).

No rio Araguaia uma população de *Parodon pongoensis* apresentou uma fórmula cariotípica de 50 cromossomos meta-submetacêntricos e 4 subtelocêntricos (Jesus e Moreira-Filho 2000b).

Estudos realizados em uma população de *Parodon hilarii* do Córrego das Portas (Bacia do Rio São Francisco) demonstraram um sistema cromossômico sexual do tipo ZZ/ZW, onde as fêmeas apresentam um cromossomo subtelocêntrico correspondente ao W. Este cromossomo apresentou-se 30 a 40% maior que os maiores cromossomos do complemento, devido a um processo de heterocromatinização que conduziu a um alongamento unidirecional no braço longo desse cromossomo, uma vez que o cromossomo Z apresenta pouca heterocromatina (Moreira-Filho *et al.* 1993; Jesus e Moreira-Filho 2000b).

Este mecanismo cromossômico sexual do tipo ZZ/ZW foi também encontrado em uma população de *Parodon* sp. do córrego Paiol Grande (São Bento do Sapucaí, SP), onde o cromossomo Z corresponde a um submetacêntrico médio e o cromossomo W a um metacêntrico grande (Centofante *et al.* 2002).

A banda C em *Parodon hilarii* revelou pequenos blocos heterocromáticos na região pericentromérica em quase todos os cromossomos do complemento, embora mais evidentes em alguns cromossomos e blocos heterocromáticos conspícuos em algumas regiões terminais (Moreira-Filho *et al.* 1993; Jesus e Moreira-Filho. 2000b). Em *Parodon nasus* a heterocromatina também ocorre preferencialmente em regiões pericentromérica e algumas regiões terminais com blocos conspícuos e coincidentes com a NOR (Jesus e Moreira-Filho. 2000b; Centofante *et al.* 2002; Bellafronte *et al.* 2005), assim como em *Parodon* sp (Centofante *et al.* 2002).

A região organizadora de nucléolos foi encontrada no par 25 em duas populações de *Parodon nasus* (Moreira-Filho *et al.* 1984, Centofante *et al.* 2002), no par n° 15 em *Parodon hilarii* (Moreira-Filho *et al.* 1993; Jesus e Moreira-Filho 2000b; Vicente *et al.* 2001) e em

Parodon sp. (Centofante *et al.* 2002), e no par n° 2 em *Parodon pongoensis* (Jesus e Moreira-Filho 2000b).

Pela coloração com cromomicina A₃ foram evidenciadas marcações coincidentes com a NOR em *Parodon pongoensis* e *Parodon nasus*, sendo adjacente em *Parodon hilarii* (Vicente *et al.* 2001).

Estudos realizados com sondas de DNAr 18S, pela hibridação *in situ*, revelaram uma coincidência com as regiões organizadoras de nucléolo (NORs), evidenciadas pela técnica de impregnação por nitrato de prata e CMA₃, confirmando que esses cístrons estão localizados em apenas um par cromossômico em *Parodon hilarii*, *Parodon sp.* e *Parodon nasus* (Vicente *et al.* 2001). Já a sonda de DNAr 5S evidenciou estes cístrons em dois pares cromossômicos nas três espécies analisadas: em *Parodon hilarii* na região do braço curto do 11° par e na região pericentromérica do 19° par; em *Parodon sp* no braço curto do 8° par e na região pericentromérica do 15° par e em *Parodon nasus*, na região pericentromérica do 17° par e no braço curto do 25° par. (Vicente *et al.* 2001).

Em *Parodon nasus* o cluster de DNAr 18S e 5S se localizaram num mesmo cromossomo, mas em extremidades opostas. Portanto, nas espécies *Parodon sp.* e *Parodon hilarii* a localização desses genes pode ser considerada como marcador espécie-específico. Outra verificação que pode ser feita é que os clusters de DNA 5S são adjacentes à região heterocromática em *Parodon hilarii* e *Parodon sp.* e coincidentes em *Parodon nasus* (Vicente *et al.* 2001).

Tabela 1 - Dados citogenéticos na família Parodontidae. 2n = número diplóide; NF = número fundamental

Espécies	Localidade	Sexo	2n	Formula Cariotípica	FN	Sistema Sexual	NORs	Ref
Parodon								
<i>Parodon naus</i> (citado como <i>tortuosus</i>)	Rio Passa-Cinco,SP	F-M	54	48 M/SM, 6 ST	108	-	Par nº25 (ST)	Moreira-Filho <i>et al.</i> (1984, 1985), Jesus e Moreira-Filho (2000b), Vicente <i>et al.</i> (2001)
	Córrego Paiol Grande, SP	F-M	54	48 M/SM, 6 ST	108	-	Par nº25 (ST)	Centofante <i>et al.</i> (2002)
	Rio Passa-Cinco	F-M	54	48 M/SM, 6 ST	108	-	Par nº25 (ST)	Bellafronte <i>et al.</i> (2005)
	Rio Cuiabá	F-M	54	48 M/SM, 6 ST	108	-	Par nº25 (ST)	“
<i>Parodon pongoensis</i> (citado como <i>Parodon sp</i>)	Rio Araguaia, MT	F-M	54	50 M/SM, 4 ST	108	-	Par nº2 (SM)	Vicente <i>et al.</i> (2001) Jesus e Moreira-Filho (2000b)
	<i>Parodon hilarii</i>	Córrego Porta, MG	F	54	53 M/SM, 1ST	108	ZW	Par nº15 (SM)
“		M	54	54M/SM	108	ZZ	Par nº15 (ST)	“
Rio São Francisco, MG		F	54	53M/SM, 1ST	108	ZW	Par nº 15 (M)	Moreira-Filho <i>et al.</i> (1993)
“		M	54	54M/SM	108	ZZ	Par nº15 (M)	“
Córrego Porta, MG		F	54	54M/SM	108	ZZ	-	Vicente <i>et al.</i> (2003)
<i>Parodon sp</i>	Córrego Paiol Grande, SP	M	54	54M/SM	108	ZW	-	“
		F	54	54 M/SM	108	ZW	Par nº15 (SM)	Centofante <i>et al.</i> (2002)
		M	54	54 M/SM	108	ZZ	Par nº15 (SM)	“
Apareiodon								
<i>Apareiodon ibitiensis</i> <i>Apareiodon vladii</i>	Rio Passa-Cinco,SP	F-M	54	50 M/SM, 4 ST	108	-	Par nº26 (ST)	Moreira-Filho <i>et al.</i> (1984, 1985), Jesus e Moreira-Filho (2000a)
	Rio Piquiri, PR	F	54	50 M/SM, 4 ST	108	ZW	Par nº26 (ST)	Rosa <i>et al.</i> (2006)
	“	M	54	50 M/SM, 4 ST	108	ZZ	Par nº26 (ST)	“
<i>Apareiodon piracicabe</i>	Rios Passa Cinco/ Mogi-Guaçu, SP	F-M	54	52 M/SM, 2 ST	108	-	Par nº27 (ST)	Moreira-Filho <i>et al.</i> (1984, 1985), Jesus e Moreira-Filho (2000a)
	Rio Passa-Cinco SP	F-M	55	52 M/SM, 2 ST, 1 B	110	-	-	Falcão <i>et al.</i> (1984)
<i>Apareiodon sp. A</i>	Córrego Frio, MG	F-M	54	50 M/SM, 4 ST	108	-	Par nº26 (ST)	Jesus e Moreira-Filho (2000a)
<i>Apareiodon sp. B</i>	Córrego Barreiro Grande, MG	F-M	54	50 M/SM,4 ST	108	-	Par nº26 (ST)	“
<i>Apareiodon sp. C</i>	Rio Araguaia, MT	F-M	54	52 M/SM, 2 ST	108	-	-	“
<i>Apareiodon vittatus</i>	Rio Timbó, MT	F-M	54	52 M/SM, 2 ST	108	-	Par nº27 (ST)	“
<i>Apareiodon sp</i>	Rio Verde, PR	F	54	47M/SM, 6ST	108	ZW	Par nº25 (ST)	Vicari <i>et al.</i> (2006)
	“	M	54	48M/SM, 6ST	108	ZZ	Par nº25 (ST)	“
<i>Apareiodon affinis</i>	Passa-Cinco, Mogi-Guaçu, Piracicaba	F	55	51 M/SM, 4ST	110	ZW ₁ W ₂	Par nº26 (ST)	Moreira-Filho <i>et al.</i> (1980, 1984), Jesus <i>et al.</i> (1999)
	Passa-Cinco, Mogi-Guaçu, SP	M	54	50 M/SM, 4ST	108	ZZ	Par nº26 (ST)	Moreira-Filho <i>et al.</i> (1980, 1984), Jorge e Moreira-Filho (2000)
	Ituzaingó, Itá Ibaté, Corrientes e Reconquista	F-M	54	a= 50 M/SM, 4 ST	108	-	-	Jorge e Moreira-Filho (2000)
	“	F-M	54	b= 50 M/SM, 2 ST, 2 A	106	-	-	“
	“	F-M	54	c= 50 M/SM, 3 ST, 1 A	107	-	-	“
	“	F-M	54	d= 50 M/SM, 2 ST, 2 A	106	-	-	“
	“	F-M	54	e= 50 M/SM, 1 ST, 3 A	105	-	-	“
	“	F-M	54	f= 50 M/SM, 2 ST, 2 A	106	-	-	“
	“	F-M	54	g= 50 M/SM, 1 ST, 3 A	105	-	-	“
	“	F-M	54	h= 50 M/SM, 4 A	104	-	-	“
	“	F-M	54	i= 49 M/SM, 5 A	103	-	-	“
	“	F-M	54	j= 48 M/SM, 6 A	102	-	-	“
	Rio Cuiabá, MT	F-M	54	42 M/SM, 12 ST/A	98	-	Par nº23 (ST)	Jesus <i>et al.</i> (1999)
Rio Sapucaí, MG	F	55	51M/SM, 4ST	110	ZW ₁ W ₂	Par nº26	Leite e Maistro (2004)	
“	M	54	50M/SM,4ST	108	ZZ	-	“	

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho teve como objetivo geral analisar citogeneticamente três espécies de peixes da família Parodontidae de diferentes localidades, contribuindo assim com mais dados cariotípicos neste grupo de peixes.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

O presente trabalho teve por objetivos específicos:

1. Analisar e comparar o cariótipo de três espécies da família Parodontidae, coletadas em diferentes localidades das bacias dos rios Tibagi-PR e Paranapanema-SP.
2. Verificar a ocorrência de cromossomos sexuais em *Apareiodon affinis*.
3. Detectar as regiões organizadoras de nucléolo (NORs) e o padrão de distribuição da heterocromatina.
4. Identificar as regiões cromossômicas ricas em bases G-C e A-T.
5. Comparar os resultados obtidos com outras populações de parodontídeos anteriormente analisadas.
6. Contribuir com os estudos citogenéticos, para uma melhor compreensão da estrutura cromossômica e dos processos evolutivos ocorridos nesta família.

3 MATERIAL E LOCAIS DE COLETA

No presente trabalho foram analisadas três espécies de peixes pertencentes à família Parodontidae: *Parodon nasus*, *Apareiodon ibitiensis* e *Apareiodon affinis* (Figura 1), coletadas em diferentes localidades dos rios Tibagi e Paranapanema (Figura 2), conforme a seguir:

3.1 AFLUENTES DO RIO TIBAGI/PR:

3.1.1 Ribeirão Três Bocas, Município de Londrina PR (Figura 3a):

Apareiodon affinis: 11 indivíduos (3 machos e 8 fêmeas).

Parodon nasus: 6 indivíduos (4 machos e 2 fêmeas).

3.1.2 Ribeirão dos Apertados, Município de Londrina PR (Figura 3b):

Apareiodon ibitiensis: 7 indivíduos. (2 machos e 5 fêmeas).

Parodon nasus: 2 indivíduos (2 machos).

3.1.3 Ribeirão Jacutinga, Município de Jataizinho, PR (Figura 3c):

Apareiodon affinis: 6 indivíduos (1 macho e 5 fêmeas).

Parodon nasus: 3 indivíduos (2 machos e 1 fêmea).

3.2 AFLUENTE DO RIO PARANAPANEMA/SP:

3.2.1 Ribeirão Água dos Patos, Município de Iepê, SP (Figura 3d):

Apareiodon affinis: 10 indivíduos (4 machos e 6 fêmeas).

Parodon nasus: 8 indivíduos. (4 machos e 4 fêmeas).

Figura 1 – Espécies coletadas: (a) *Apareiodon affinis*, (b) *Apareiodon ibitiensis*, (c) *Parodon nasus*.

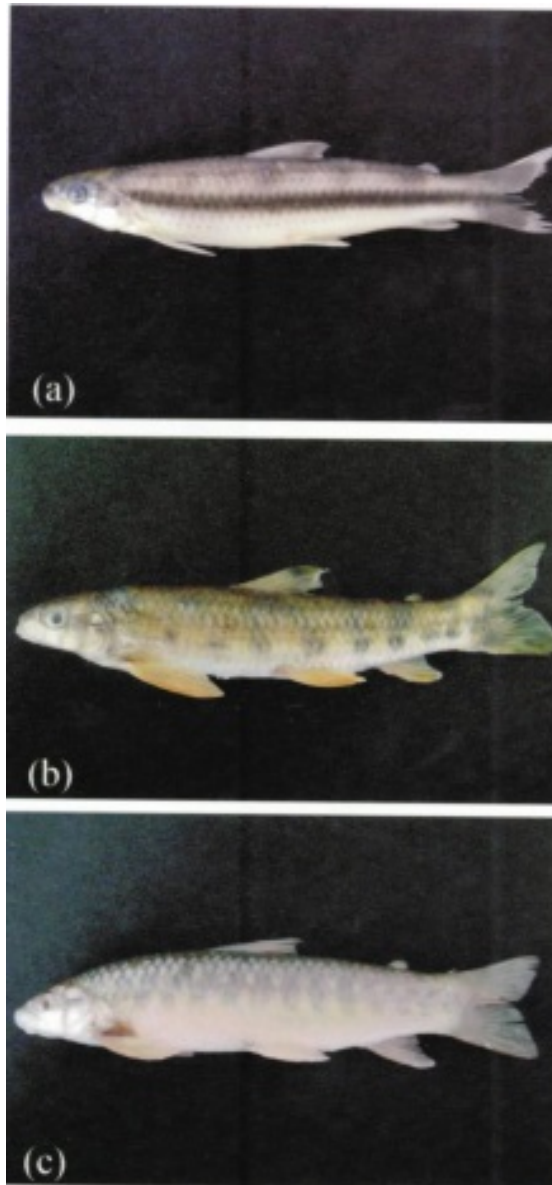
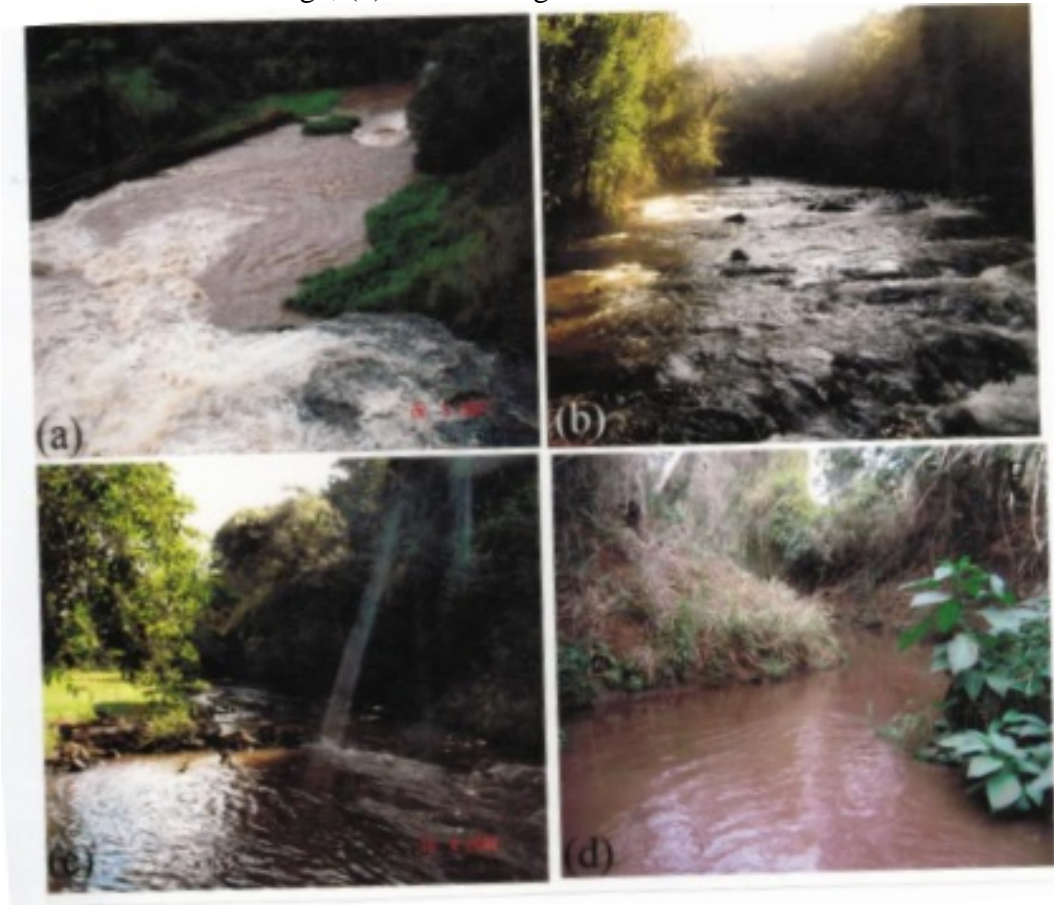


Figura 2 – Imagem de Satélite da Bacia do Rio Paranapanema. **Fonte.** Google maps.



Figura 3 – Locais de coletas (a) Ribeirão Três Bocas; (b) Ribeirão dos Apertados; (c) Ribeirão Jacutinga; (d) Ribeirão Água dos Patos.



CAPITULO 1

CONSERVADORISMO CROMOSSÔMICO EM *PARODON NASUS* E
APAREIODON IBITIENSIS, DA FAMÍLIA PARODONTIDAE, DE
DIFERENTES LOCALIDADES (CHARACIFORMES, PARODONTIDAE).

* Este artigo será submetido para a revista **Ichthyological Research**.

Conservadorismo cromossômico em *Parodon nasus* e *Apareiodon ibitiensis*, da família Parodontidae, de diferentes localidades

Vitor Antonio Delai, Helen Alves Penha e Ana Lúcia Dias

Departamento de Biologia Geral, CCB, Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid, PR 445, Km 380, CP 6001, CEP 86051-970, Londrina, PR, Brazil.

Resumo

Estudos citogenéticos foram realizados em 19 indivíduos de *Parodon nasus*, sendo 12 machos e 7 fêmeas coletados no Ribeirão Três Bocas, Ribeirão dos Apertados, Ribeirão Jacutinga, afluentes do rio Tibagi, município de Londrina/PR, e Ribeirão Água dos Patos município de Iêpe/SP, 7 indivíduos de *Apareiodon ibitiensis*, sendo 2 machos e 5 fêmeas coletados no Ribeirão dos Apertados, município de Londrina/PR. Todos indivíduos apresentaram 54 cromossomos meta-submetacêntricos e número fundamental igual 108. A região organizadora de nucléolos foi evidenciada em um par cromossômico submetacêntrico para as duas espécies, sendo o par 4 em *P. nasus*, na região terminal do braço longo, apresentando um heteromorfismo de tamanho entre os homólogos, coincidente com marcações CMA₃, revelando que esta região é rica em pares de bases GC e pobre em pares de base AT, pois o tratamento com DAPI mostrou-se negativo. O padrão de distribuição da heterocromatina foi evidenciado em regiões centromérica e terminal na maioria dos cromossomos, para as duas espécies, sendo que a NOR mostrou-se banda C positiva. Os dados aqui apresentados mostram um interessante conservadorismo cromossômico entre 4 populações de *Parodon nasus* e uma de *Apareiodon ibitiensis* mas, apesar disso, a comparação dos resultados obtidos com os dados encontrados na literatura, mostra que este grupo de peixes apresenta uma evolução cariotípica mais divergente do que conservativa, envolvida com rearranjos cromossômicos estruturais relacionados ou não ao sexo.

Palavras-chave: Parodontidae, Citogenética, AgNOR, CMA₃.

Introdução:

A família Parodontidae, dentro da ordem Characiformes, representa um grupo relativamente pequeno sendo composta por três gêneros: *Parodon*, *Apareiodon* e *Saccodon*, conhecidos popularmente como “canivetes” e “charutos” no Brasil e “virolítos” e “rollizos” no restante da América Latina, estes animais se encontram distribuídos desde o Canal do Panamá até a bacia do rio do Prata na Argentina, estando ausentes na costa da bacia da Patagônia e no canal Amazônico (Pavanelli 2003).

Recentemente, Pavanelli (2003) reorganizou a família em 23 espécies válidas, sendo 10 *Apareiodon*, 10 *Parodon* e 3 *Saccodon*, além de outras espécies ainda não inseridas nesta nova revisão. No gênero *Parodon*, Pavanelli (2003) considerou a espécie *Parodon tortuosus* como sinônima de *Parodon nasus*, fato este comprovado através de análises citogenéticas de uma população de *Parodon tortuosus* do rio Tietê e uma população de *Parodon nasus* do rio Cuiabá por Bellafronte *et al.* (2005), não evidenciando nenhuma diferença cariotípica considerável entre essas duas espécies.

Na família Parodontidae 12 espécies já foram descritas citogeneticamente, sendo 4 pertencentes ao gênero *Parodon* e 8 ao gênero *Apareiodon*, demonstrando um conservado número diplóide de $2n=54$ neste grupo, geralmente distribuídos em cromossomos meta-submetacêntricos e subtlocêntricos, apresentando diferenciações quanto à sua estrutura cariotípica (Bellafronte *et al.* 2005). Espécies com sistemas sexuais foram encontradas neste grupo de peixes, como populações de *Apareiodon affinis* que apresentaram cromossomos sexuais múltiplos do tipo ZZ/ZW₁W₂ (Moreira-Filho *et al.* 1980, 1985; Jesus *et al.* 1999; Jorge e Moreira-Filho, 2000; Leite e Maistro, 2004) e sistemas sexuais do tipo simples relatados em *Apareiodon vladii* (Rosa *et al.* 2006), *Apareiodon* sp (Vicari *et al.* 2006), *Parodon hilarii* (Moreira-Filho *et al.* 1993; Jesus e Moreira-Filho, 2000b) e em *Parodon* sp. (Centofante *et al.* 2002).

O objetivo do presente estudo foi caracterizar o cariótipo de *Parodon nasus* e *Apareiodon ibitiensis*, por meio de coloração convencional e diferentes técnicas de bandamento cromossômico, tais como banda C, AgNOR e fluorocromos, para análise da heterocromatina e das regiões organizadoras de nucléolos (NORs).

Material e Métodos:

Neste trabalho foram analisados 19 indivíduos (12 machos e 7 fêmeas) de *Parodon nasus*, coletados no Ribeirão Três Bocas e Ribeirão dos Apertados, município de Londrina/PR, e Ribeirão Jacutinga município de Jataizinho/PR, ambos afluentes do rio Tibagi/PR e no Córrego Água dos Patos, município de Iêpe/SP, afluente do rio Paranapanema/SP; e 7 indivíduos (2 machos e 5 fêmeas) de *Apareiodon ibitiensis*, coletados no Ribeirão dos Apertados.

Os cromossomos mitóticos foram obtidos de acordo com a técnica descrita por Bertollo et al. (1978). A estimulação de divisões celulares foi realizada através da técnica de injeção de antígeno (solução de fermento biológico), descrito por Lee e Elder (1980). Os cromossomos foram classificados como metacêntricos (m), submetacêntricos (sm) e subtelocêntricos (st), segundo Levan *et al.* (1964), com modificações. A detecção das regiões organizadoras de nucléolos (NORs) foi feita conforme a técnica descrita por Howell & Black (1980). No estudo da heterocromatina foi utilizada a técnica descrita por Sumner (1972), com algumas modificações. Os sítios ricos em GC e AT, foram determinados pela coloração com os fluorocromos CMA₃ e DAPI, respectivamente, conforme o método proposto por Schmid (1980), com algumas alterações.

Resultados:

Os resultados obtidos com a coloração convencional por Giemsa mostraram um número diplóide ($2n$) igual a 54, distribuídos em cromossomos metacêntricos e submetacêntricos, com número fundamental (NF) igual a 108 para todos os indivíduos de *Parodon nasus* (Fig. 1a) e de *Apareiodon ibitiensis* (Fig. 1b), de ambos os sexos, não sendo observado, portanto, nenhum tipo de sistema cromossômico sexual. Uma constrição secundária foi observada no braço longo em um par de cromossomos do tipo submetacêntrico, em algumas das metáfases analisadas de *P. nasus* nas 4 populações (Fig. 1a, em destaque).

A impregnação pelo nitrato de prata (AgNO_3) evidenciou as regiões organizadoras de nucléolo (NORs), no braço longo de um cromossomo submetacêntrico, para as duas espécies, sendo o 4º par em *Parodon nasus*, apresentando um heteromorfismo de tamanho entre cromossomos homólogos em ambas as espécies (Fig 1a, b - box). Em *Parodon nasus*, da população do ribeirão Três Bocas, a região organizadora de nucléolo foi observada descontínua após a impregnação pelo nitrato de prata (Fig. 1a - box).

O tratamento com o fluorocromo cromomicina A_3 (CMA_3), mostrou marcações positivas em um par de cromossomos submetacêntricos, na região terminal do braço longo, em ambas as espécies, apresentando um heteromorfismo de tamanho (Fig 1a, b - box); com o fluorocromo DAPI, esta mesma região se mostrou negativa (Fig. 1a, b - box).

Em *Parodon nasus* e *Apareiodon ibitiensis*, a heterocromatina mostrou-se distribuída em blocos terminais de alguns cromossomos e em regiões centroméricas (Fig 2a e b).

Discussão

As três populações aqui analisadas de *Parodon nasus* apresentaram número diplóide igual a $2n=54$ e $NF=108$, como encontrado em outras populações desta espécie e de outras espécies do gênero porém, com algumas variações na fórmula cariotípica: *Parodon nasus* do rio Passa Cinco, córrego Paiol Grande e do rio Cuiabá apresentaram $48m/sm$ e $6st$ (Jesus e Moreira-Filho 2000b; Centofante *et al.* 2002; Bellafronte *et al.* 2005); *Parodon pongoensis*, do rio Araguaia apresentou a fórmula cromossômica $50m/sm$ e $4st$ (Jesus e Moreira-Filho 2000); *Parodon hilarii* do córrego da Porta apresentou fêmeas com $53m/sm$ e $1st$ e machos com $54 m/sm$ (Moreira-Filho *et al.* 1993) e *Parodon sp.* do córrego Paiol Grande apresentou $54 m/sm$ (Centofante *et al.* 2002). Estas duas últimas espécies mostraram mecanismo cromossômico sexual do tipo ZZ/ZW. A diversidade cariotípica no gênero *Parodon*, como citado acima, pode ter ocorrido a partir de rearranjos nas estruturas cromossômicas como inversões paracêntricas ou pericêntricas, mas sem influenciar no número de cromossomos.

A outra espécie analisada no presente trabalho, *Apareiodon ibitiensis*, também apresentou um $2n=54$ e $NF=108$, como *Parodon nasus*, demonstrando uma similaridade cariotípica entre as duas espécies. Uma outra população analisada de *A. ibitiensis* também mostrou o mesmo $2n$ e NF , mas uma estrutura cariotípica distinta com $50m-sm$ e $4st$ (Moreira-Filho *et al.* 1985, Jesus e Moreira-Filho 2000a).

No gênero *Apareiodon* o número diplóide se conserva também em 54, característico da família Parodontidae, exceto fêmeas de *A. affinis* de algumas populações, com 55 cromossomos, revelando um sistema de cromossomos sexuais múltiplos (Jesus *et al.* 1999; Leite e Maistro 2004).

Apesar da macroestrutura cariotípica das espécies e populações analisadas no presente trabalho ter se mantido conservada, a evolução cariotípica da família

Parodontidae apresenta divergências estruturais, como já relatado por Jesus e Moreira Filho (2000a), pois além da diversidade na estrutura cariotípica entre as espécies de *Parodon*, a ocorrência de cromossomos sexuais em *A. affinis* (Jesus et al. 1999), em *Apareiodon vladii* (Rosa et al. 2006), *Apareiodon* sp (Vicari et al. 2006), *P. hilarii* (Moreira Filho et al. 1993), *Parodon* sp (Centofante et al. 2002), algumas populações de *A. affinis* da Argentina e Rio Cuiabá (Jorge e Moreira Filho 2000; Jesus et al. 1999) apresentam um polimorfismo devido a inversões pericêntricas originando cromossomos acrocêntricos.

A impregnação pelo nitrato de prata (AgNO_3) evidenciou as NORs em um par cromossômico submetacêntrico e apresentando um heteromorfismo de tamanho entre cromossomos homólogos em *Parodon nasus* e *Apareiodon ibitiensis*, confirmando também um conservadorismo em relação a esta região, em ambas as espécies. Em *Parodon nasus*, da população do ribeirão Três Bocas, a NOR foi observada descontínua após a impregnação pelo nitrato de prata e, nesta mesma população, a presença do heteromorfismo foi variável entre os indivíduos, sendo observada em alguns indivíduos e não em outros, caracterizando portanto, um polimorfismo das NORs.

A ocorrência de NOR simples também é comum neste grupo de peixes entretanto, variações foram observadas em relação ao par cromossômico como em *Parodon nasus* analisado por Vicente et al. (2001), Jesus e Moreira-Filho (2000b), Bellafronte et al. (2005) onde a NOR está localizada no par 25; no par 26 em *A. ibitiensis*, *Apareiodon* sp A, *Apareiodon* sp B e no par 27 em *A. piracicabae*, *A. vittatus* e *Apareiodon* sp C estudadas por Jesus e Moreira-Filho (2000a); no par 2 em *Parodon pongoensis* (Jesus e Moreira-Filho, 2000b); no par 15 em *Parodon hilarii* e *Parodon* sp. (Moreira-Filho et al. 1993; Jesus e Moreira-Filho 2000; Centofante et al. 2002), entre outros. Esta diversificação também aponta para a ocorrência de rearranjos cromossômicos.

O heteromorfismo relacionado ao tamanho das NORs observado em *P. nasus* e *A. ibitiensis* 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.

O tratamento com o fluorocromo cromomicina A₃ (CMA₃) mostrou-se coincidente com a NOR em ambas as espécies estudadas, revelando que esta região é rica em pares de bases G-C e, com o fluorocromo DAPI, esta mesma região se mostrou negativa, confirmando a pouca ocorrência de pares de bases A-T. Um heteromorfismo de tamanho dos sinais CMA₃ positivos entre os homólogos também foi observado, assim como verificado com o nitrato de prata. Esta correspondência encontrada entre o CMA₃ e a NOR é freqüentemente observada em vertebrados (Schmid, 1980), demonstrando que essa região está associada a um DNA rico em bases GC, sendo então evidenciadas pelo fluorocromo cromomicina A₃. Em estudos realizados com outras espécies do gênero *Parodon* e *Apareiodon* foram encontradas marcações CMA₃⁺ coincidentes com a NOR em *Parodon* sp. e *Parodon nasus* (Jesus *et al.* 1999) e em *Apareiodon affinis* (Jesus e Moreira-Filho 2000a).

Nas 4 populações de *Parodon nasus* e em *Apareiodon ibitiensis* do Ribeirão dos Apertados, a heterocromatina mostrou-se distribuída como blocos terminais de alguns cromossomos e em regiões centroméricas, sendo que alguns blocos heterocromáticos estavam associados à NOR, mostrando mais uma vez similaridade também no padrão de distribuição da heterocromatina em ambas as espécies. Nas demais populações já analisadas destas duas espécies o padrão de distribuição da heterocromatina foi similar ao observado no presente estudo (Jesus e Moreira-Filho, 2000a).

Os dados aqui apresentados mostram um interessante conservadorismo cromossômico entre 3 populações de *Parodon nasus* e uma de *Apareiodon ibitiensis*.

Apesar desta similaridade cariotípica e da conservação do número diplóide na família Parodontidae, a comparação dos resultados obtidos com outras populações das mesmas espécies analisadas neste estudo e de outras espécies da família, mostra que este grupo de peixes apresenta uma evolução cariotípica mais divergente do que conservativa, envolvida com rearranjos cromossômico estruturais relacionados ou não ao sexo.

Referências:

- Bellafronte, E.; Margarido, V.P.; Moreira-Filho, O. (2005). Cytotaxonomy of *Parodon nasus* and *Parodon tortuosus* (Pices, Characiformes). A case of synonymy confirmed by cytogenetic analyses. **Genetics and Molecular Biology** 28 (4): 710-716.
- Bertollo, L. A. C.; Takahashi, C. S.; Moreira-Filho, O. (1978). Cytotaxonomic considerations on *Hoplías lacerda* (Pices, Erythrinidae). **Brazil. J. Genet.** 1: 103-120.
- Centofante, L.; Bertollo, L. A. C.; Moreira-Filho, O. (2002). A ZZ/ZW sex chromosome system in a new species of genus *Parodon* (Pices, Parodontidae). **Caryologia**, 55 (2): 139-150.
- Howell, W. M.; Black, D. A. (1980). Controlled silver staining of Nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: One-step method. **Experientia**, 36: 1014-1015.
- Jesus, C. M.; Bertollo, L. A. C.; Moreira-Filho, O. (1999). Comparative cytogenetics in *Apareiodon affinis* (Pices, Characiformes) and considerations regarding diversification of the group. **Genetica**, 105: 63-67.
- Jesus, C. M.; Moreira-Filho, O. (2000a). Cytogenetic studies in some *Apareiodon* (Pices, Parodontidae) **Cytologia**, 64: 397-402.

- Jesus, C. M.; Moreira-Filho, O. (2000b). Karyotypes of three species of *Parodon* (Teleostei: Parodontidae). **Ichthtol. Explor. Freshwaters**, 11 (1): 75-80.
- Jorge, L. C.; Moreira-Filho, O. (2000). Cytogenetic studies on *Apareiodon affinis* (Pices, Characiformes) from Paraná river basin: sex chromosomes and polymorphism. **Genética**, 109: 267-273.
- Lee, M. R.; Elder, F. F. B. (1980). Yeast stimulation of bone marrow mitosis for cytogenetics investigation. **Cytogenet. Cell. Genect**, 26: 36-40.
- Leite, M. F.; Maistro, L. (2004). The karyotype of *Apareiodon affinis* (Pices, Teleostei, Characiformes) from Sapucaí River, Minas Gerais, Brazil. **Cytologia**, 69: 319-322.
- Levan, A.; Fredga, K.; Sandberg, A. A. (1964). Nomenclature for centromeric position on cromosome. **Hereditas**, 52: 201-204.
- Moreira-Filho, O.; Bertollo, L. A. C.; Galetti Junior, P. M. (1980). Evidences for a multiple sex chromosome system with female heterogamety in *Apareiodon affinis* (Pices, Parodontidae). **Caryologia**, 33 (1): 84-91.
- Moreira-Filho, O.; Bertollo, L. A. C.; Galetti Junior, P. M. (1984). Structure and variability of nucleolar organizer regions in Parodontidae fish. **Can. J. Genet. Cytol**, 26: 564-568.

- Moreira-Filho, O.; Bertollo, L. A. C.; Galetti Junior, P. M. (1985). Karyotypic study of some species of family Parodontidae (Pices, Cypriniformes). **Caryologia**, 38 1: 47-55.
- Moreira-Filho, O.; Bertollo, L. A. C.; Galetti Junior, P. M. (1993). Distribution of sex chromosome mechanisms in neotropical fish and description of a ZZ/ZW system in *Parodon hilarii* (Parodontidae). **Caryologia**, 46 (2-3) 115-125.
- Pavanelli, C. S. Família Parodontidae. In: Reis, R. E.; Kullander, S. O.; Ferraris Jr., C. J. (2003). Check List of the Freshwater of South and Central America. Porto Alegre: **Edipucs**, p. 46-50.
- Rosa, R.; Bellafronte, E.; Moreira-Filho, O.; Margarido V. P. (2006). Constitutive heterochromatin, 5S and 18S genes in *Apareiodon* sp (characiformes, Parodontidae) with a ZZ/ZW sex chromosome system. **Genetica**, 128: 159-166.
- Schmid, M. (1980). Chromosome banding in Amphibia IV. Differentiation of GC- and AT-rich chromosome regions in Anura. **Chromosoma**, 7: 83-103.
- Sumner, A. T. (1972). A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. **Expl. Cell. Res.** 75: 304-306.
- Vicari, M. R.; Moreira-Filho, O.; Artoni, R. F.; Bertollo, L. A. C. (2006). ZZ/ZW sex chromosome system in an undescribed species of the genus *Apareiodon* (Characiformes, Parodontidae). **Cytogenet Genome Res**, 114: 163-168.

Vicente, V. E.; Jesus, C. M.; Moreira-Filho, O. (2001). Chromosomal localization of 5S and 18S rRNA genes in three Parodon species (Pices, Parodontidae). **Caryologia**, 54: (4) 365-369.

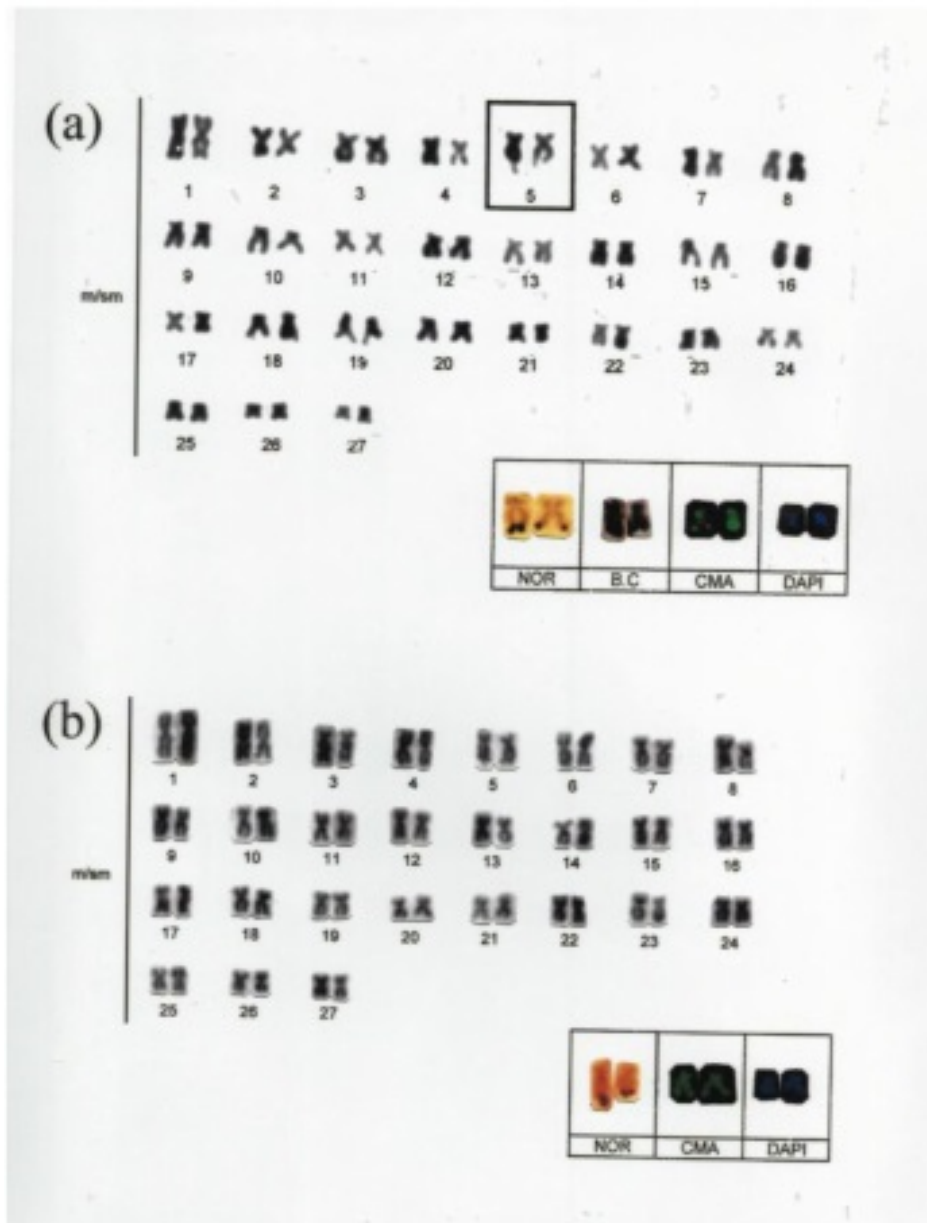


Figura 1 – Cariótipos com coloração convencional de Giemsa de: (a) *Parodon nasus*, (b) *Apareiodon ibitiensis*. Em destaque em (a) a constrição secundária. Nos boxes o par cromossômico com AgNOR, Banda C (apenas em a), CMA₃ e DAPI.

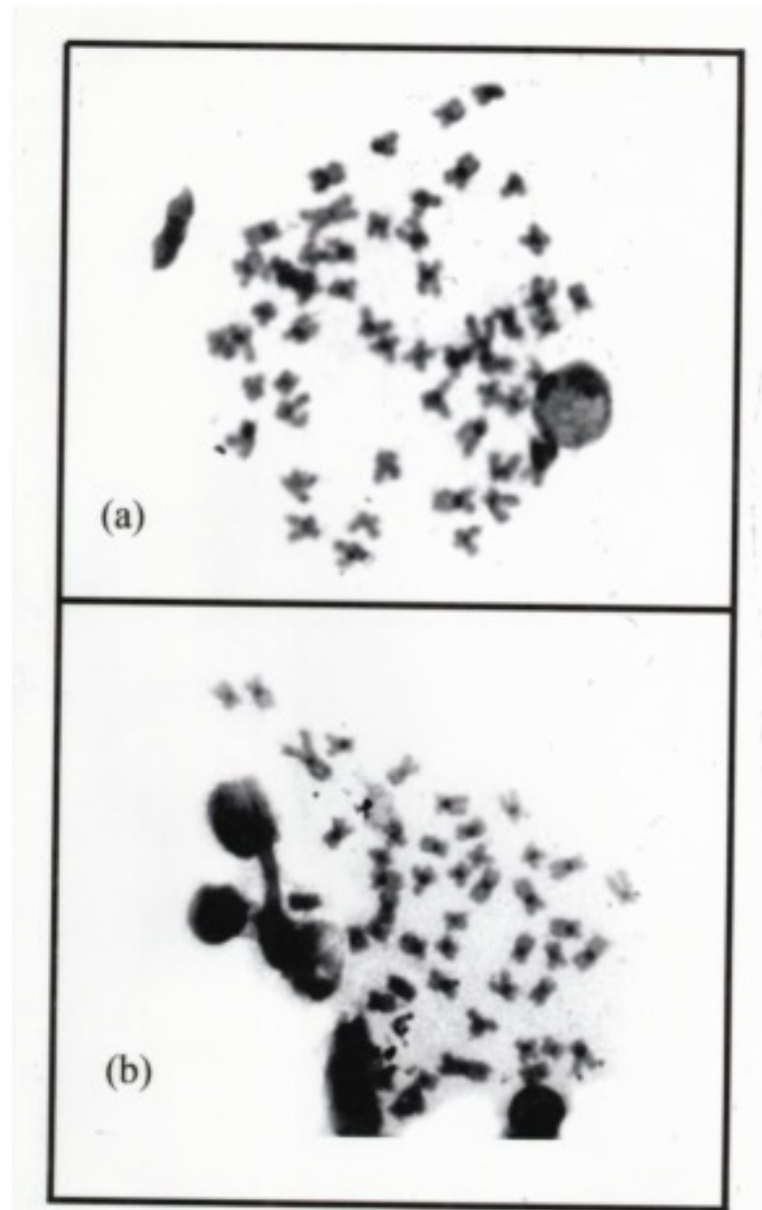


Figura 2- Metáfases somáticas com Banda C de: (a) *Parodon nasus*; (b) *Apareiodon ibitiensis*.

CAPITULO 2

DETERMINAÇÃO CROMOSSÔMICA SEXUAL DO TIPO ZZ/ZW₁W₂ EM
DIFERENTES POPULAÇÕES DE *APAREIODON AFFINIS*
(CHARACIFORMES, PARODONTIDAE)

Este artigo será submetido para a revista **Ichthyological Research**.

Determinação cromossômica sexual do tipo ZZ/ZW₁W₂ em diferentes populações de *Apareiodon affinis* (Characiformes, Parodontidae).

Vitor Antonio Delai, Helen Alves Penha e Ana Lúcia Dias
Departamento de Biologia Geral, CCB, Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid, PR 445, Km 380, CP 6001, CEP 86051-970, Londrina, PR, Brazil.

Resumo

Foram analisados 27 indivíduos de *Apareiodon affinis*, coletados nos Ribeirões Três Bocas e Jacutinga, afluentes do Rio Tibagi/PR e no Ribeirão Água dos Patos, afluente do Rio Paranapanema/SP. As três populações apresentaram 54 cromossomos meta-submetacêntricos para os machos, com NF igual 108 e, para as fêmeas, o 2n encontrado foi igual a 55 m-sm e NF igual 110, indicando a ocorrência de sistema de cromossomos sexuais múltiplos do tipo ZZ/ZW₁W₂. Entretanto, os indivíduos fêmeas coletados nos Ribeirões Água dos Patos e Jacutinga, apresentaram somente um cromossomo metacêntrico número 1, que corresponderia ao cromossomo Z e os indivíduos fêmeas de *A. affinis* do Ribeirão Três Bocas apresentaram somente um submetacêntrico de tamanho mediano, provavelmente correspondente ao cromossomo do par 7, que corresponderia ao cromossomo Z nesta população. Este fato revela uma diferença interpopulacional, em relação aos cromossomos envolvidos na determinação do sexo nesta espécie. A NOR manteve-se conservada em todas as populações, sendo evidenciada no par 27 na região terminal do braço longo, coincidente com marcações CMA₃ positivas e com um bloco heterocromático. A heterocromatina foi evidenciada nos demais cromossomos nas regiões centromérica e terminal de alguns cromossomos. Os resultados mostram mais uma ocorrência do sistema sexual ZZ/ZW₁W₂ em *A. affinis*, apresentando um padrão diferente nos indivíduos do Ribeirão Três Bocas, o que pode estar diferenciando esta população.

Palavras-chave: *Apareiodon*, cromossomos sexuais, heterocromatina, NOR, populações.

Introdução

A família Parodontidae representa um grupo relativamente pequeno sendo composta por três gêneros: *Parodon*, *Apareiodon* e *Saccodon*, conhecidos popularmente como “canivetes”, distribuídos desde o Canal do Panamá até a bacia do rio do Prata na Argentina, estando ausentes na costa da bacia da Patagônia e no canal Amazônico (Pavanelli 2003). As principais diferenças morfológicas entre os 3 gêneros estão relacionadas a presença ou ausência de dentes mandibulares associada ao padrão de coloração corporal (Pavanelli e Britski 2003).

Estudos citogenéticos já foram realizados em oito espécies de *Apareiodon* e quatro de *Parodon* (Moreira-Filho et al. 1980, 1984, 1985, 1993; Jesus et al. 1999; Jorge e Moreira-Filho 2000; Centofante et al. 2002; Leite e Maistro 2004; Rosa et al. 2006; Vicari et al. 2006). Para o gênero *Saccodon* nenhum estudo citogenético foi realizado, até o momento. A maioria das espécies desta família apresentam número diplóide igual 54 meta-submetacêntricos, sendo exceção algumas populações de *Apareiodon affinis* onde as fêmeas possuem $2n=55$ e os machos $2n=54$, revelando assim uma heterogametia feminina, isto é, um sistema de cromossomos sexuais múltiplos, do tipo ZZ/ZW_1W_2 (Moreira-Filho et al. 1980, 1985; Jesus et al. 1999; Jorge e Moreira-Filho 2000; Leite e Maistro 2004). Sistemas sexuais do tipo ZZ/ZW também já foram relatados em em *Apareiodon vladii* (Rosa et al. 2006), *Apareiodon* sp (Vicari et al. 2006), *Parodon hilarii* (Moreira-Filho et al. 1993; Jesus e Moreira-Filho 2000) e em *Parodon* sp. (Centofante et al. 2002).

Jesus et al. (1999) analisando uma população de *Apareiodon affinis* do rio Cuiabá e Jorge e Moreira-Filho (2000) em estudos de diferentes populações desta espécie no Baixo Paraná, na Argentina, revelaram um número diplóide de 54 cromossomos em ambos os sexos, não sendo evidenciados cromossomos sexuais múltiplos. Foram relatadas as duas situações

acima citadas, isto é, ausência e presença de cromossomos sexuais, em uma única população de *Apareiodon affinis* de Posadas, Província de Misiones–Argentina (Calgaro et al. 2004).

No presente trabalho foram analisadas três populações de *Apareiodon affinis*, tendo como objetivos a análise da estrutura cariótica, observação do padrão de distribuição da heterocromatina, detecção das regiões organizadoras de nucléolos e localização de regiões cromossômicas ricas em GC e AT.

Material e Métodos

No presente trabalho foram analisados 27 indivíduos (19 fêmeas e 8 machos) de *Apareiodon affinis* do ribeirão Três Bocas e ribeirão Jacutinga, ambos afluentes do rio Tibagi/PR, e do ribeirão Água dos Patos, afluente do rio Paranapanema/SP.

Os cromossomos mitóticos foram obtidos de acordo com a técnica descrita por Bertollo et al. (1978). A estimulação de divisões celulares foi realizada através da técnica de injeção de antígeno (solução de fermento biológico), descrito por Lee e Elder (1980). Os cromossomos foram classificados como metacêntricos (m), submetacêntricos (sm) e subtelocêntricos (st), segundo Levan et al. (1964), com modificações. A detecção das regiões organizadoras de nucléolos (NORs) foi feita conforme a técnica descrita por Howell & Black (1980). No estudo da heterocromatina foi utilizada a técnica descrita por Sumner (1972), com algumas modificações. Os sítios ricos em GC e AT, foram determinados pela coloração com os fluorocromos CMA₃ e DAPI, respectivamente, conforme o método proposto por Schmid (1980), com algumas alterações.

Resultados

Os resultados obtidos com a coloração convencional de Giemsa revelaram um número diplóide ($2n$) igual a 54 meta e submetacêntricos para todos os indivíduos machos de *Apareiodon affinis* e um número fundamental (NF) igual a 108, e 55 cromossomos meta e submetacêntricos para todas fêmeas de *Apareiodon affinis*, com o número fundamental (NF) igual a 110 (Figs. 1 e 2).

Os indivíduos fêmeas coletados no ribeirão Água dos Patos e Ribeirão Jacutinga, apresentaram apenas um cromossomo metacêntrico de tamanho grande, o número um, e dois cromossomos metacêntricos de tamanho pequeno sem homologia, exclusivos das fêmeas (Fig. 1a). Os machos destas duas populações apresentaram o primeiro par metacêntrico com seus homólogos (Fig 1b).

Os indivíduos fêmeas de *A. affinis* coletados no Ribeirão Três Bocas apresentaram apenas um cromossomo número 7, sendo um submetacêntrico de tamanho mediano e dois cromossomos metacêntricos de tamanho pequeno sem homologia, exclusivos das fêmeas (Fig. 2a). Os machos desta população apresentaram o sétimo par com seus homólogos (Fig. 2b).

A heterocromatina mostrou-se distribuída na região centromérica da maioria dos cromossomos e na região terminal do braço curto de alguns cromossomos (Fig. 3a). Os cromossomos W_1 e W_2 apresentaram uma diferença na distribuição da heterocromatina, sendo um deles, o W_2 , mais heterocromático (Fig 3b). O par subtelocêntrico 27 apresentou no braço longo, na região de uma constrição secundária, um evidente bloco heterocromático, com um leve heteromorfismo nas populações dos Ribeirões Jacutinga e Água dos Patos (Fig 4).

A impregnação por nitrato de prata revelou a região organizadora de nucléolo (AgNOR) na região terminal do braço longo do par 27, subtelocêntrico, nas três populações analisadas (Fig 4), sendo coincidente com a constrição secundária, apresentando um heteromorfismo de tamanho em todas as populações.

O tratamento com fluorocromo CMA₃ revelou marcações positivas no braço longo do par 27 (Fig 4), apresentando um leve heteromorfismo de tamanho e com o fluorocromo DAPI nenhuma marcação foi observada nesta região (Fig 4).

Discussão

As três populações aqui analisadas de *Apareiodon affinis* apresentaram 54 cromossomos m-sm para os machos, com NF igual 108 e, para as fêmeas, o número diplóide encontrado foi igual a 55 e NF igual 110, indicando uma heterogametia feminina com um sistema de cromossomos sexuais múltiplos do tipo ZZ/ZW₁W₂. Entretanto, diferenças cariotípicas foram observadas entre as populações, em relação ao cromossomo Z. Os indivíduos fêmeas coletados no Ribeirão Água dos Patos e Ribeirão Jacutinga, apresentaram somente um cromossomo metacêntrico número 1, que corresponderia ao cromossomo Z e 2 cromossomos meta-submetacêntricos de tamanho pequeno, sem homologia, ausentes nos machos, que corresponderiam aos W₁ e W₂. Este tipo de sistema de cromossomos sexuais também foi relatado em outras populações de *Apareiodon affinis* como relatado por Moreira-Filho et al. (1980), Jesus et al. (1999) e Leite e Maistro (2004).

Na tabela 1 estão relacionadas, além de outras espécies do gênero *Apareiodon*, todas as populações analisadas de *Apareiodon affinis*, até o momento, inclusive as do presente estudo, mostrando que nesta espécie já foram encontradas populações com a ocorrência e ausência de cromossomos sexuais múltiplos, bem como uma população apresentando as duas situações, observadas por Calgaro et al. (2004). Estes dados demonstram uma grande variabilidade cariotípica em *Apareiodon affinis*, onde

diferentes populações podem ser caracterizadas pela ausência ou presença deste sistema cromossômico sexual.

A análise cariotípica dos indivíduos fêmeas de *A. affinis* coletados no Ribeirão Três Bocas revelou que o cromossomo Z não é o primeiro metacêntrico e sim um submetacêntrico de tamanho mediano, provavelmente correspondente ao cromossomo do par 7, diferente do observado até o momento na literatura e nas duas outras populações do presente estudo. Os cromossomos W_1 e W_2 nesta população também são do tipo metacêntrico de tamanho pequeno.

Moreira-Filho et al. (1980) e Jesus et al. (1999), estudando diferentes populações de *A. affinis*, propuseram que este sistema de determinação cromossômica sexual surgiu por um processo de fissão cêntrica no par 1 seguido de uma inversão pericêntrica levando à formação dos cromossomos W_1 e W_2 . Nos indivíduos de *A. affinis* nas 3 populações aqui estudadas pode também ter ocorrido os mesmos rearranjos entretanto, nas populações dos Ribeirões Água dos Patos e Jacutinga, o primeiro cromossomo metacêntrico, pode também ter sofrido uma deleção, devido ao seu tamanho grande, para originar os cromossomos W_1 e W_2 de tamanho pequeno.

Interessante notar, que a população de *A. affinis* do Ribeirão Três Bocas revelou o cromossomo 7, provavelmente, como o cromossomo Z neste sistema de cromossomos sexuais, um padrão bem distinto do que foi observado até o momento, o que pode estar caracterizando esta população, distinguindo-a das demais, revelando uma diferença interpopulacional em relação aos cromossomos envolvidos na determinação do sexo nesta espécie. A localidade do Ribeirão Três Bocas/PR, parece favorecer o aparecimento e manutenção de alterações cromossômicas sejam elas estruturais, como observado nesta localidade por Takahashi (1995) analisando *Astyanax altiparanae*, Koguissi (1995) e Lacerda (2008) em *Astyanax fasciatus*, Giuliano-Caetano (1998) em *Rineloricaria*

latirostris, Paintner-Marques et al. (2003) e Eberhardt (2008) estudando o gênero *Bryconamericus*; ou numéricas, como a ocorrência de cromossomos supranumerários em *Steindachnerina insculpta* por Gravena et al. (2007).

Ocorrência de cromossomos sexuais também foi observada em outras espécies de *Apareiodon*, como *A. vladii* analisada por Rosa et al. (2006) e *Apareiodon* sp por Vicari et al. (2006), e no gênero *Parodon*, como *P. hilarii* e *Parodon* sp, analisadas por Moreira-Filho et al. (1993) e Centofante et al. (2002), respectivamente, todas apresentando um sistema de cromossomos sexuais simples do tipo ZZ/ZW.

De um modo geral, as regiões organizadoras de nucléolo (NORs), se apresentam em apenas um par no gênero *Apareiodon*, sendo observada, principalmente, no braço longo do primeiro cromossomo subteloentrico (tabela 1), podendo ser considerada uma característica conservada neste grupo de peixes, exceto para *A. affinis* do rio Cuiabá que apresenta a NOR em um par cromossômico acrocêntrico (Jesus et al. 1999) e para *Apareiodon piracicabae* que mostra um polimorfismo intra e interindividual relacionado ao número, posição e tamanho das NORs, sendo observados desde uma NOR simples em somente um dos homólogos até uma dupla NOR em ambos cromossomos (Jesus e Moreira-Filho, 2000. Nas 3 populações aqui analisadas de *A. affinis*, a NOR também foi observada na região terminal do braço longo de um par subteloentrico, o par 27, sendo esta região coincidente com a constrição secundária e com a heterocromatina. Em *Apareiodon affinis*, *Apareiodon ibitiensis*, *Apareiodon vladii* e *Apareiodon* sp. B a heterocromatina está localizada coincidente à região organizadora de nucléolo, (Moreira-Filho et al., 1984; Jesus et al., 1999; Jesus e Moreira-Filho, 2000; Leite e Maistro, 2004).

Um heteromorfismo de tamanho da NOR foi observado entre os cromossomos homólogos nas populações aqui analisadas de *A. affinis*, possivelmente 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.

O tratamento com o fluorocromo CMA₃ revelou marcações fluorescentes coincidentes com a NOR, confirmando que esta região é rica em pares de bases GC e pobre em pares de bases AT, pois o tratamento com o fluorocromo DAPI revelou-se negativo para esta mesma região. Essa correspondência entre CMA₃ e AgNOR também foi observada em diferentes populações de *Apareiodon affinis* por Jesus e Moreira-Filho (2000), Jorge e Moreira-Filho (2000), Leite e Maistro (2004

O padrão de distribuição da heterocromatina em *A. affinis* das três localidades mostrou blocos heterocromáticos na região centromérica da maioria dos cromossomos e blocos evidentes na região terminal do braço longo do primeiro par de cromossomos subtelocêntricos, coincidindo com a NOR. Estudos realizados por Jesus e Moreira-Filho (2000), também evidenciaram blocos heterocromáticos nas regiões centroméricas e regiões terminais de alguns cromossomos em *Apareiodon* sp B e *Apareiodon piracicabae* onde o primeiro par subtelocêntrico se mostrou heterocromático na região terminal do braço longo, assim como observado por Jesus e Moreira-Filho (1999) e Leite e Maistro (2004) em *Apareiodon affinis* e Rosa et al. (2006) em *Apareiodon vladii*, revelando um padrão de distribuição da heterocromatina conservado neste grupo de peixes.

Em relação aos cromossomos sexuais W₁ e W₂, foi observada uma diferença no padrão de distribuição da heterocromatina, onde o cromossomo W₂ mostrou-se mais heterocromático. Resultado similar foi encontrado por Jesus e Moreira-Filho (1999) em uma população de *A. affinis* da bacia do Alto Paraná.

Os resultados apresentados neste estudo demonstram um conservadorismo entre as populações em relação às NORs e ao padrão de distribuição da heterocromatina e

apresentam mais uma ocorrência do sistema cromossômico sexual múltiplo do tipo ZZ/ZW_1W_2 nas três populações analisadas de *Apareiodon affinis*. Entretanto, foi observado um padrão diferente nos indivíduos do Ribeirão Três Bocas, em relação ao tipo do cromossomo sexual Z, o que pode estar diferenciando esta população das demais, revelando este cromossomo como um marcador citogenético para esta população.

Tabela 1 – Dados citogenéticos no gênero *Apareiodon*. 2n=número diplóide; NF=número fundamental.

Espécies	Localidade	Sexo	2n	Fórmula cariotípica	NF	Sistema sexual	NOR	Referências
<i>Apareiodon ibitiensis</i>	Rio Passa-Cinco, SP	F-M	54	50 M/SM, 4 ST	108	-	Par nº26 (ST)	1
<i>Apareiodon vladii</i>	Rio Piquiri, PR	F	54	50 M/SM, 4 ST	108	ZW	Par nº26 (ST)	2
"	Rio Piquiri, PR	M	54	50 M/SM, 4 ST	108	ZZ	Par nº26 (ST)	2
<i>Apareiodon piracicabe</i>	Rios Passa Cinco/ Mogi-Guaçu, SP	F-M	54	52 M/SM, 2 ST	108	-	Par nº27 (ST)	1
"	Rio Passa-Cinco SP	F-M	55	52 M/SM, 2 ST, 1 B	110	-	-	3
<i>Apareiodon</i> sp. A	Córrego Frio, MG	F-M	54	50 M/SM, 4 ST	108	-	Par nº26 (ST)	4
<i>Apareiodon</i> sp. B	Córrego Barreiro Grande, MG	F-M	54	50 M/SM, 4 ST	108	-	Par nº26 (ST)	4
<i>Apareiodon</i> sp. C	Rio Araguaia, MT	F-M	54	52 M/SM, 2 ST	108	-	-	4
<i>Apareiodon vittatus</i>	Rio Timbó, MT	F-M	54	52 M/SM, 2 ST	108	-	Par nº27 (ST)	4
<i>Apareiodon</i> sp	Rio Verde, PR	F	54	47M/SM, 6ST	108	ZW	Par nº25 (ST)	5
"	Rio Verde, PR	M	54	48M/SM, 6ST	108	ZZ	Par nº25 (ST)	5
<i>Apareiodon affinis</i>	Passa-Cinco, Mogi-Guaçu, Piracicaba	F	55	51 M/SM, 4ST	110	ZW1W2	Par nº26 (ST)	6
"	Passa-Cinco, Mogi-Guaçu, SP	M	54	50 M/SM, 4ST	108	ZZ	Par nº26 (ST)	7
"	Ituzaingó, Itá Ibaté, Corrientes e Reconquista	F-M	54	a= 50 M/SM, 4 ST	108	-	-	8
"	"	F-M	54	b= 50 M/SM, 2 ST, 2 A	106	-	-	8
"	"	F-M	54	c= 50 M/SM, 3 ST, 1 A	107	-	-	8
"	"	F-M	54	d= 50 M/SM, 2 ST, 2 A	106	-	-	8
"	"	F-M	54	e= 50 M/SM, 1 ST, 3 A	105	-	-	8
"	"	F-M	54	f= 50 M/SM, 2 ST, 2 A	106	-	-	8
"	"	F-M	54	g= 50 M/SM, 1 ST, 3 A	105	-	-	8
"	"	F-M	54	h= 50 M/SM, 4 A	104	-	-	8
"	"	F-M	54	i= 49 M/SM, 5 A	103	-	-	8
"	"	F-M	54	j= 48 M/SM, 6 A	102	-	-	8
"	Rio Cuiabá, MT	F-M	54	42 M/SM, 12 ST/A	98	-	Par nº23 (ST)	9
"	Rio Sapucaí, MG	F	55	51M/SM, 4ST	110	ZW ₁ W ₂	Par nº26	10
"	"	M	54	50M/SM, 4ST	108	ZZ		10
"	Ribeirão Água dos Patos	F	55	53M/SM, 2ST	110	ZW ₁ W ₂	Par nº27 (ST)	11
"	"	M	54	52M/ST, 2ST	108	ZZ	Par nº27 (ST)	11
"	Ribeirão Jacutinga	F	55	53M/SM, 2ST	110	ZW ₁ W ₂	Par nº27 (ST)	11
"	"	M	54	52M/SM, 2ST	108	ZZ	Par nº27 (ST)	11
"	Ribeirão Três Bocas	F	55	53M/SM, 2ST	110	ZW ₁ W ₂	Par nº27 (ST)	11
"	"	M	54	54M/SM, 2ST	108	ZZ	Par nº27 (ST)	11

(1) Moreira-Filho et al. (1984, 1985), Jesus e Moreira-Filho (2000a), (2) Rosa et al. (2006), (3) Falcão et al. (1984), (4) Jesus e Moreira-Filho (2000a), (5) Vicari et al (2006), (6) Moreira-Filho et al (1980, 1984), Jesus et al (1999), (7) Moreira-Filho et al. (1980, 1984), Jorge e Moreira-Filho (2000), (8) Jorge e Moreira-Filho (2000), (9) Jesus et al (1999), (10) Leite e Maistro (2004), (11) Presente Estudo.

Referências:

- Almeida-Toledo, L.F., Foresti, F. and Toledo-Filho, S.A., 2000 – Karyotypic evolution in Neotropical freshwater. *Chromosomes Today*, 13: 169-182.
- Bertollo, L. A. C.; Takahashi, C. S.; Moreira-Filho, O. (1978) Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerda* (Pices, Erythinidae). **Brazil. J. Genet**, 1: 103-120.
- Calgaro, M. R.; Fenocchio, A. S.; Pastori, M. C.; Roncati, H. (2004) A. Karyology Of *Apareiodon Affinis* From Paraná River (Argentina). I. Chromosome Polymorphism. *Cytologia*. v. 69, n. 4, p. 475-479.
- Centofante, L.; Bertollo, L. A. C.; Moreira-Filho, O. (2002) A ZZ/Zw Sex Chromosome System In a New Species Of Genus *Parodon* (Pices, Parodontidae). **Caryologia**, 55 (2):139-150,
- Eberhardt, G.N. (2008). Estudos cromossômicos em *Bryconamericus* aff. *iheringii* (Characidae) do Ribeirão Três Bocas, PR. 30f. Monografia. Curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina.
- 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.

Gravena, W., Teribele, R., Giuliano-Caetano, L. and Dias, AL. 2007. Occurrence of B chromosomes in *Cyphocharax modestus* (Fernández-Yépez, 1948) and *Steindachnerina insculpta* (Fernández-Yépez, 1948)(Characiformes, Curimatidae) from the Tibagi River basin (Paraná State, Brazil). *Braz. J. Biol.*, 67(*special number*): 631-637.

Howell, W. M.; Black, D. A. (1980) Controlled Silver Staining Of Nucleolus Organizer Regions With A Protective Colloidal Developer: One-Step Method. **Experientia**, 36: 1014-1015

Jesus, C. M.; Bertollo, L. A. C.; Moreira-Filho, O. (1999) Comparative Cytogenetics In *Apareiodon Affinis* (Pices, Characiformes) And Considerations Regarding Diversification Of The Group. **Genetica**, 105: 63-67

Jesus, C. M.; Moreira-Filho, (2000) O. Cytogenetic Studies In Some *Apareiodon* Species (Pices, Parodontidae) **Cytologia**, 64: 397-402

Jorge, L. C.; Moreira-Filho, O. (2000) Cytogenetic Studies On *Apareiodon Affinis* (Pices, Characiformes) From Paraná River Basin: Sex Chromosomes And Polymorphism. **Genética**, 109: 267-273

Lacerda, L.G. de (2008). Análises citogenéticas de *Astyanax* aff. *Fasciatus* (Characidae, Tetragonopterinae) de alguns afluentes da bacia do rio Tibagi. Monografia. Curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina.

- Leite, M. F.; Maistro, L. (2004) The Karyotype Of *Apareiodon Affinis* (Pices, Teleostei, Characiformes) From Sapucaí River, Minas Gerais, Brazil. **Cytologia**, 69: 319-322
- Lee, M. R.; Elder, F. F. B. (1980) Yeast Stimulation Of Bone Marrow Mitosis For Cytogenetics Investigation. **Cytogenet. Cell. Genect.** 26: 36-40
- Levan, A.; Fredga, K.; Sandberg, A. A. (1964) Nomenclature For Centromeric Position On Chromosome. **Hereditas**, 52: 201-204
- Koguissi, N. A. (1995). Estudo citogenético da espécie *Astyanax* sp provenientes do Ribeirão Três Bocas – Londrina/PR. 61p. Monografia. Curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina.
- Moreira-Filho, O.; Bertollo, L. A. C.; Galetti Junior, P. M. (1980) Evidences For A Multiple Sex Chromosome System With Female Heterogamety In *Apareiodon Affinis* (Pices, Parodontidae). **Caryologia**, 33 (1): 84-91
- Moreira-Filho, O.; Bertollo, L. A. C.; Galetti Junior, P. M. (1984) Structure And Variability Of Nucleolar Organizer Regions In Parodontidae Fish. **Can. J. Genet. Cytol**, 26: 564-568
- Moreira-Filho, O.; Bertollo, L. A. C. (1985) Galetti Junior, P. M. Karyotypic Study Of Some Species Of Family Parodontidae (Pices, Cypriniformes). **Caryologia**, 38 (1): 47-55

- Moreira-Filho, O.; Bertollo, L. A. C.; Galetti Junior, P. M. (1993) Distribution Of Sex Chromosome Mechanisms In Neotropical Fish And Description Of A Zz/Zw System In *Parodon Hilarii* (Parodontidae). **Caryologia**, 46 (2-3) 115-125
- Paintner-Marques, T.R.P.; Giuliano-Caetano, L.; Dias, A.L. (2002). Karyotypic Diversity in a *Bryconamericus* aff. *exodon* Population (Characidae, Tetragonopterinae). *Cytologia*, 67: 397-402.
- Pavanelli, C. S. Família Parodontidae. In: Reis, R. E.; Kullander, S. O.; Ferraris Jr., C. J. (2003) Check List Of The Freshwater Of South And Central America. Porto Alegre: **Edipucs**, 46-50
- Pavanelli, C. S.; Britski, H. (2003) A. *Apareiodon* Eigenmann, 1916 (Telostei, Characiformes), From The Tocantins-Araguaia Basin, With Description Of Three New Species. **Copeia**, 2: 337-348
- Rosa, R.; Bellafronte, E.; Moreira-Filho, O. (2006) Margarido V. P. Constitutive Heterochromatin, 5s And 18s Genes In *Apareiodon* Sp (Characiformes, Parodontidae) Wit A Zz/Zw Sex Chromosome System. **Genetica**, 128: 159-166
- Schmid, M. (1980) Chromosome banding in Amphibia:IV. Differentiation of G – C and A – T rich chromosoma regions in Anura. **Chromosoma**, 58: 307-324.
- Sumner, A. T. (1972) A Simple Tecnique For Demonstrating Centromeric Heterocromatin. **Expl. Cell. Res.** 75: 304-306

Takahashi, E. K. (1995). Análise citogenética de *Astyanax bimaculatus* coletados no Ribeirão Três Bocas – Londrina. Monografia. Curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina.

Vicari, M. R.; Moreira-Filho, O.; Artoni, R. F.; Bertollo, L. A. C. (2006) Zz/Zw Sex Chromosome System In Na Undescribed Species Of The Genus *Apareiodon* (Characiformes, Parodontidae). **Cytogenet Genome Res**, 114: 163-168

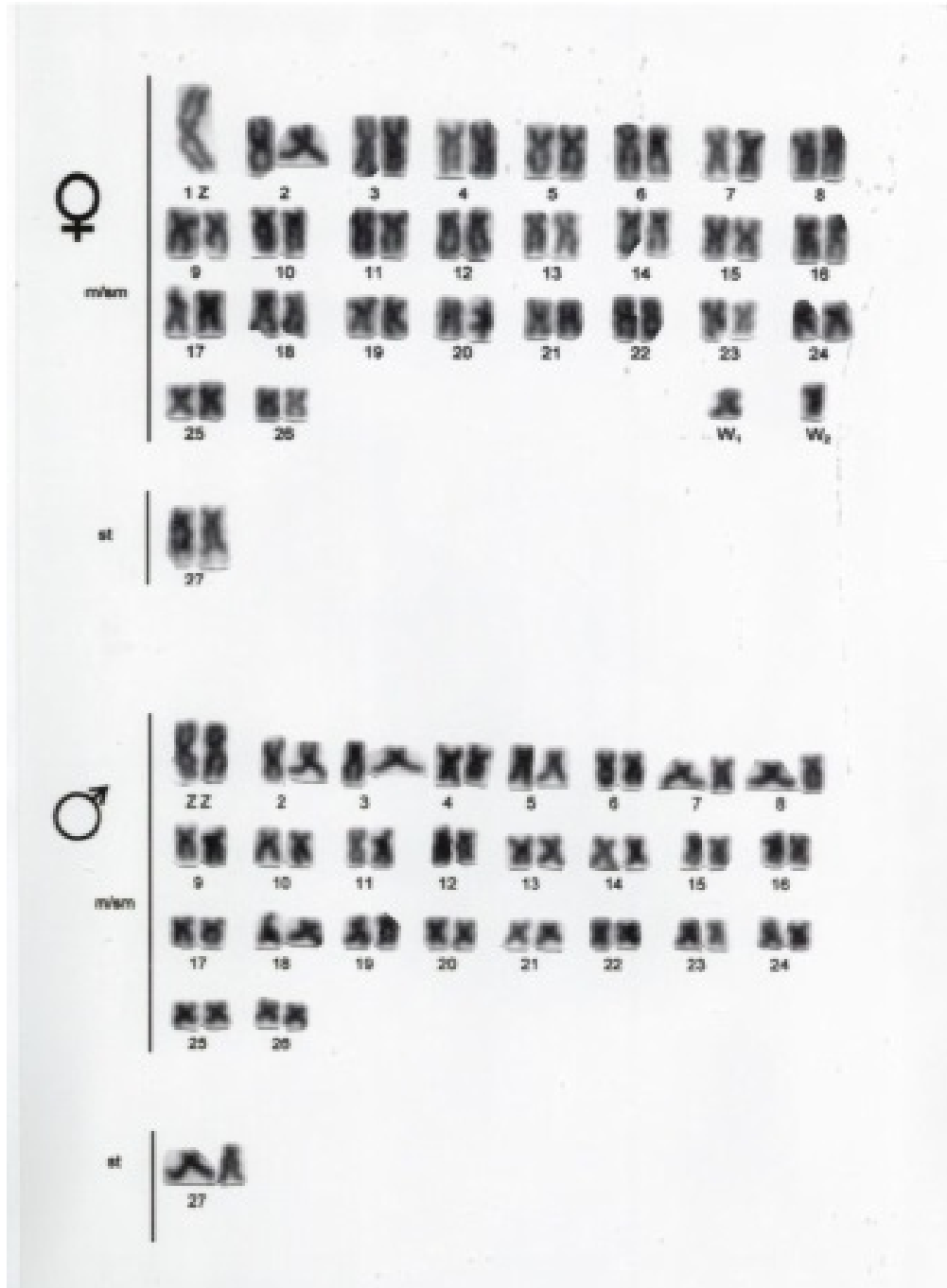


Figura 1- Cariótipos com coloração convencional de Giemsa de *Apareiodon affinis*, (fêmea e macho) dos Ribeirões Jacutinga e Água dos Patos.

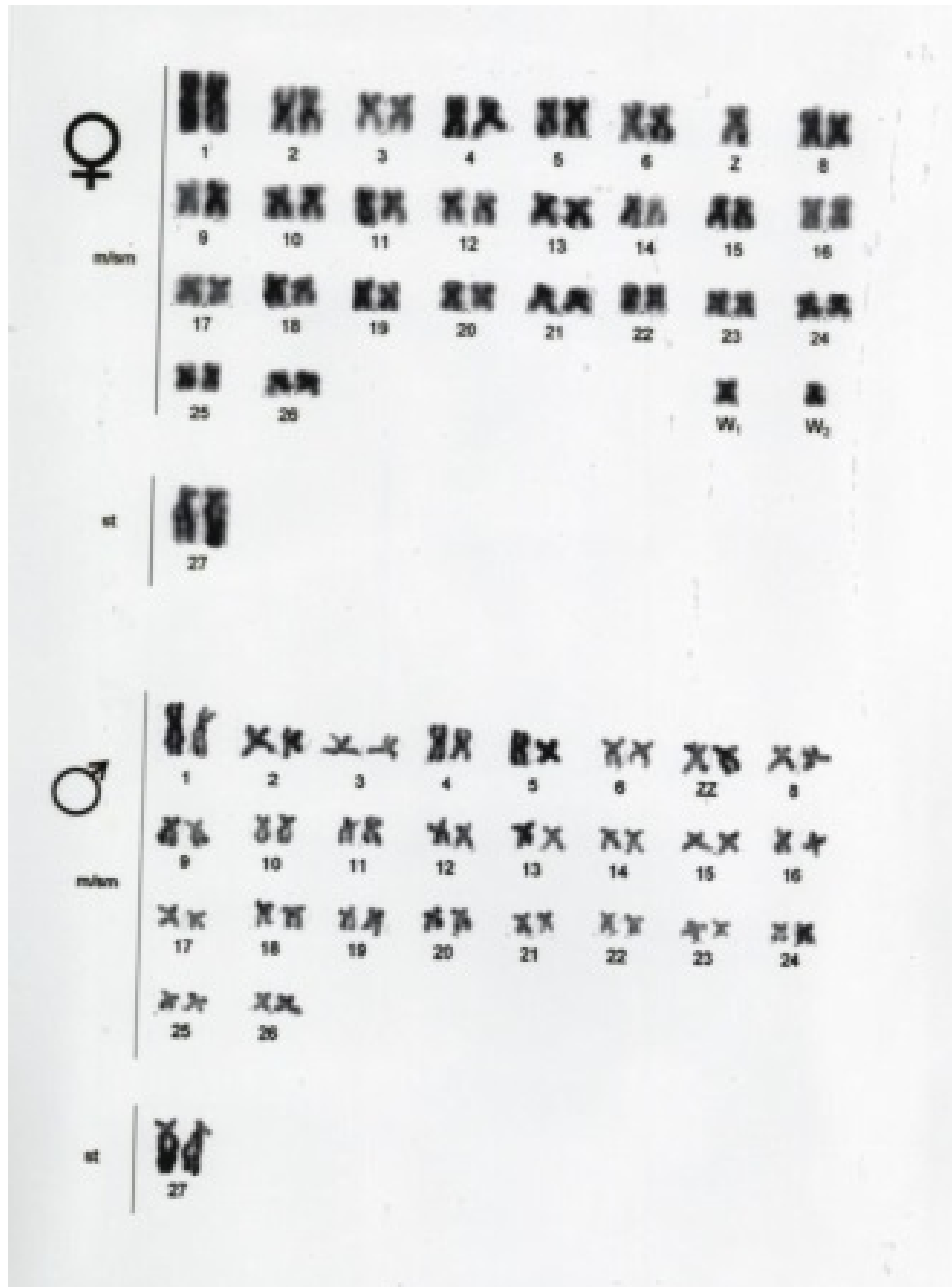


Figura 2- Cariótipos com coloração convencional de Giemsa de *Apareiodon affinis*, (fêmea e macho) do Ribeirão Três Bocas.

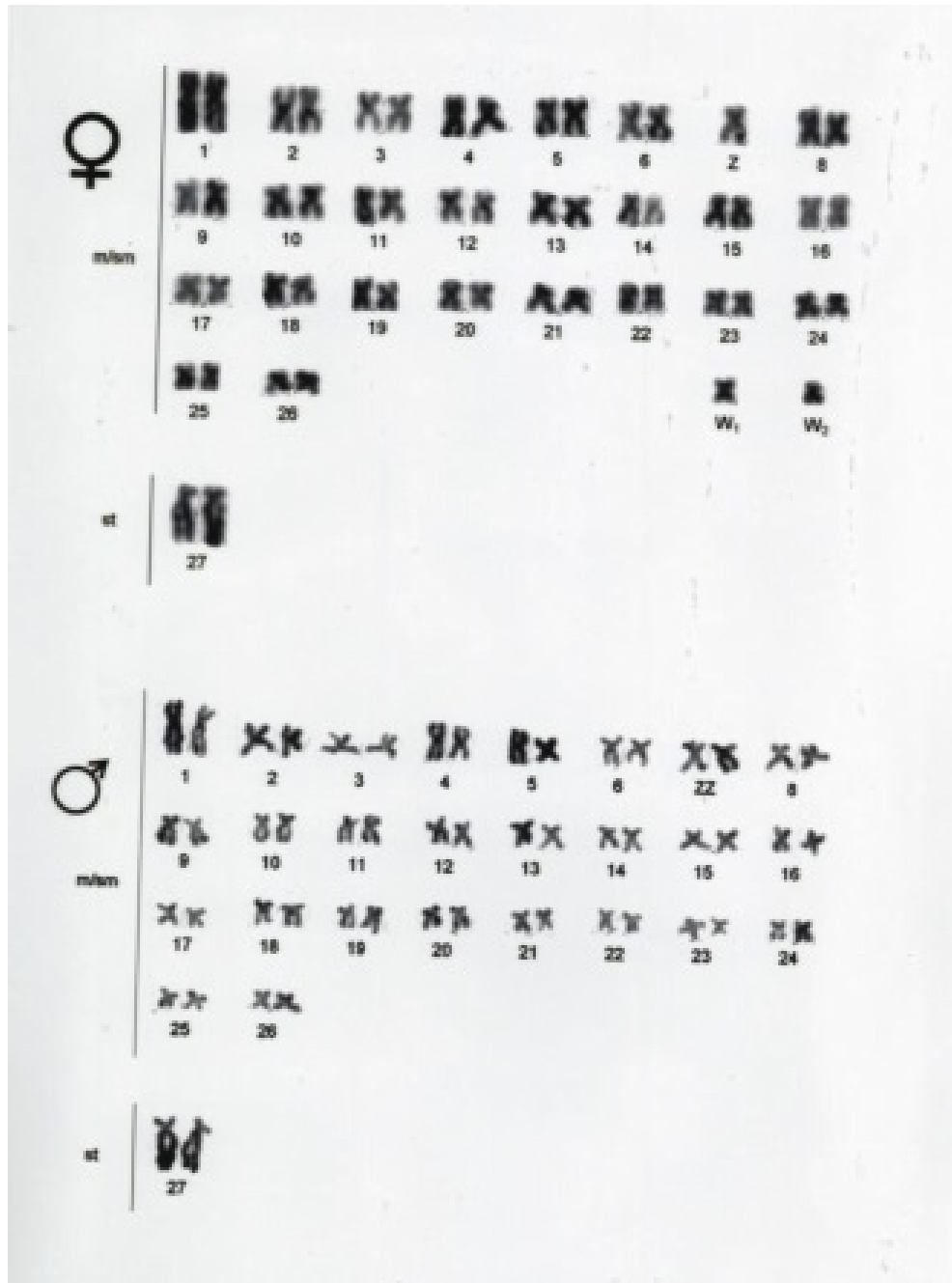


Figura 3 - Cariótipos com Banda C de *Apareiodon affinis* do Ribeirão Três Bocas (fêmea) e do Ribeirão Jacutinga (macho).

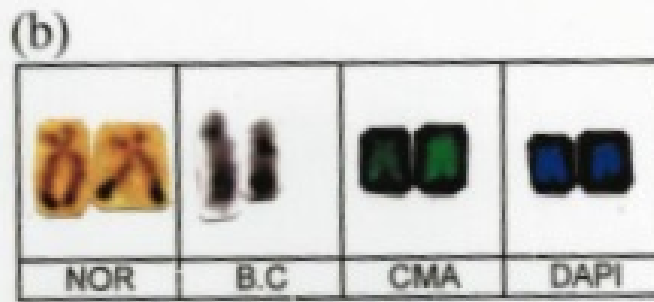
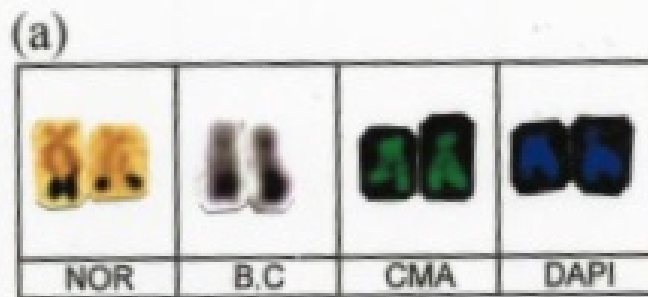


Figura 4- Par cromossômico 27 de *Apareiodon affinis* evidenciado com nitrato de Prata, Banda C, CMA₃, DAPI: (a) População do Ribeirão Três Bocas; (b) População do Ribeirão Jacutinga.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As análises citogenéticas realizadas em 3 espécies pertencentes à família Parodontidae, coletadas em afluentes dos rios Tibagi e Paranapanema permitem as seguintes conclusões:

1. Os indivíduos de *Parodon nasus* e *Apareiodon ibitiensis* apresentaram um conservadorismo relacionado ao número diploide ($2n=54m-sm$) e número fundamental (NF=108), para ambos os sexos.
2. A região organizadora de nucléolos (NORs) para *Parodon nasus* e *Apareiodon ibitiensis* foi observada na região terminal do braço longo em um único par de cromossomos submetacêntricos, sendo este o par 4 em *P. nasus*, apresentando um heteromorfismo de tamanho entre os homólogos.
3. O fluorocromo CMA₃ mostrou marcações coincidentes com a NOR em *Parodon nasus* e *Apareiodon ibitiensis*, evidenciando que esta região é rica em pares de bases GC e pobre em pares de bases AT.
4. A distribuição da heterocromatina mostrou-se similar em *Parodon nasus* e *Apareiodon ibitiensis*, sendo observada nas regiões centromérica e terminal de alguns cromossomos,
5. Os resultados similares observados entre a população de *Apareiodon ibitiensis* e as populações de *Parodon nasus*, revelaram um conservadorismo cromossômico entre elas.

6. As três populações de *Apareiodon affinis* analisadas apresentaram um $2n=54$ para os machos, com $NF=108$ e, para as fêmeas, o $2n$ encontrado foi igual a 55 e NF igual 110, indicando uma heterogametia feminina, com um sistema de cromossomos sexuais múltiplos do tipo ZZ/ZW_1W_2 .

7. Foi observada uma diferença interpopulacional em relação aos cromossomos envolvidos na determinação do sexo em *Apareiodon affinis*. As fêmeas coletadas nos Ribeirões Água dos Patos e Jacutinga, apresentaram somente um cromossomo metacêntrico número 1, que corresponderia ao cromossomo Z e os indivíduos fêmeas de *A. affinis* do Ribeirão Três Bocas apresentaram somente um submetacêntrico de tamanho mediano, provavelmente o cromossomo do par 7, que corresponderia ao cromossomo Z nesta população. Em todas as populações os cromossomos W_1 e W_2 nas fêmeas foram visualizados como metacêntricos de tamanho pequeno.

8. A região organizadora de nucléolo foi observada na região terminal do braço longo em um par de cromossomos st, par 27, em todas as populações de *A. affinis* coincidindo com uma contração secundária, e apresentando um heteromorfismo de tamanho entre os homólogos.

9. O fluorocromo CMA_3 evidenciou regiões ricas em pares de base GC na região terminal do braço longo do par 27, coincidente com a NOR, sendo esta região negativa para o DAPI.

10. A técnica de Banca C evidenciou blocos heterocromáticos na região centromérica de todos os cromossomos e blocos evidentes na região terminal do braço longo do par 27, coincidente com a contração secundária.

11. Os resultados deste estudo apresentam mais uma ocorrência do sistema cromossômico sexual múltiplo do tipo ZZ/ZW_1W_2 em três populações de *Apareiodon affinis*, sendo observado um padrão diferente nos indivíduos do Ribeirão Três Bocas, o que pode estar diferenciando esta população.

REFERÊNCIAS

- Almeida-Toledo, L.F., Foresti, F. and Toledo-Filho, S.A., 2000 – Karyotypic evolution in Neotropical freshwater. *Chromosomes Today*, 13: 169-182.
- Bellafronte, E.; Margarido, V.P.; Moreira-Filho, O. (2005). Cytotaxonomy of *Parodon nasus* and *Parodon tortuosus* (Pices, Characiformes). A case of synonymy confirmed by cytogenetic analyses. **Genetics and Molecular Biology** 28 (4): 710-716.
- Bertollo, L. A. C.; Takahashi, C. S.; Moreira-Filho, O. (1978) Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerda* (Pices, Erythinidae). **Brazil. J. Genet**, 1: 103-120.
- Calgaro, M. R.; Fenocchio, A. S.; Pastori, M. C.; Roncati, H. (2004) A. Karyology Of *Apareiodon Affinis* From Paraná River (Argentina). I. Chromosome Polymorphism. *Cytologia*. v. 69, n. 4, p. 475-479.
- Centofante, L.; Bertollo, L. A. C.; Moreira-Filho, O. (2002) A ZZ/Zw Sex Chromosome System In a New Species Of Genus *Parodon* (Pices, Parodontidae). **Caryologia**, 55 (2):139-150,
- Eberhardt, G.N. (2008). Estudos cromossômicos em *Bryconamericus* aff. *iheringii* (Characidae) do Ribeirão Três Bocas, PR. 30f. Monografia. Curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina.
- 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.

Gravena, W., Teribele, R., Giuliano-Caetano, L. and Dias, AL. 2007. Occurrence of B chromosomes in *Cyphocharax modestus* (Fernández-Yépez, 1948) and *Steindachnerina insculpta* (Fernández-Yépez, 1948)(Characiformes, Curimatidae) from the Tibagi River basin (Paraná State, Brazil).

Howell, W. M.; Black, D. A. (1980) Controlled Silver Staining Of Nucleolus Organizer Regions With A Protective Colloidal Developer: One-Step Method. **Experientia**, 36: 1014-1015.

Jesus, C. M.; Bertollo, L. A. C.; Moreira-Filho, O. (1999) Comparative Cytogenetics In *Apareiodon Affinis* (Pices, Characiformes) And Considerations Regarding Diversification Of The Group. **Genetica**, 105: 63-67

Jesus, C. M.; Moreira-Filho, (2000) O. Cytogenetic Studies In Some *Apareiodon* Species (Pices, Parodontidae) **Cytologia**, 64: 397-402

Jesus, C. M.; Moreira-Filho, O. (2000b). Karyotypes of three species of *Parodon* (Teleostei: Parodontidae). **Ichthtol. Explor. Freshwaters**, 11 (1): 75-80.

Jorge, L. C.; Moreira-Filho, O. (2000) Cytogenetic Studies On *Apareiodon Affinis* (Pices, Characiformes) From Paraná River Basin: Sex Chromosomes And Polymorphism. **Genética**, 109: 267-273

Koguissi, N. A. (1995). Estudo citogenético da espécie *Astyanax* sp provenientes do Ribeirão Três Bocas – Londrina/PR. 61p. Monografia. Curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina.

Lacerda, L.G. de (2008). Análises citogenéticas de *Astyanax* aff. *Fasciatus* (Characidae, Tetragonopterinae) de alguns afluentes da bacia do rio Tibagi. Monografia. Curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina.

Lee, M. R.; Elder, F. F. B. (1980) Yeast Stimulation Of Bone Marrow Mitosis For Cytogenetics Investigation. **Cytogenet. Cell. Genect.** 26: 36-40

Leite, M. F.; Maistro, L. (2004) The Karyotype Of *Apareiodon Affinis* (Pices, Teleostei, Characiformes) From Sapucaí River, Minas Gerais, Brazil. **Cytologia**, 69: 319-322

Levan, A.; Fredga, K.; Sandberg, A. A. (1964) Nomenclature For Centromeric Position On Chromosome. **Hereditas**, 52: 201-204.

Moreira-Filho, O.; Bertollo, L. A. C. (1985) Galetti Junior, P. M. Karyotypic Study Of Some Species Of Family Parodontidae (Pices, Cypriniformes). **Caryologia**, 38 (1): 47-55

Moreira-Filho, O.; Bertollo, L. A. C.; Galetti Junior, P. M. (1980). Evidences for a multiple sex chromosome system with female heterogamety in *Apareiodon affinis* (Pices, Parodontidae). **Caryologia**, 33 (1): 84-91.

Moreira-Filho, O.; Bertollo, L. A. C.; Galetti Junior, P. M. (1984). Structure and variability of nucleolar organizer regions in Parodontidae fish. **Can. J. Genet. Cytol**, 26: 564-568.

Moreira-Filho, O.; Bertollo, L. A. C.; Galetti Junior, P. M. (1985). Karyotypic study of some species of family Parodontidae (Pices, Cypriniformes). **Caryologia**, 38 1: 47-55.

Moreira-Filho, O.; Bertollo, L. A. C.; Galetti Junior, P. M. (1980) Evidences For A Multiple Sex Chromosome System With Female Heterogamety In *Apareiodon Affinis* (Pices, Parodontidae). **Caryologia**, 33 (1): 84-91

Moreira-Filho, O.; Bertollo, L. A. C.; Galetti Junior, P. M. (1984) Structure And Variability Of Nucleolar Organizer Regions In Parodontidae Fish. **Can. J. Genet. Cytol**, 26: 564-568

Moreira-Filho, O.; Bertollo, L. A. C.; Galetti Junior, P. M. (1993). Distribution of sex chromosome mechanisms in neotropical fish and description of a ZZ/ZW system in *Parodon hilarii* (Parodontidae). **Caryologia**, 46 (2-3) 115-125.

- Paintner-Marques, T.R.P.; Giuliano-Caetano, L.; Dias, A.L. (2002). Karyotypic Diversity in a *Bryconamericus* aff. *exodon* Population (Characidae, Tetragonopterinae). *Cytologia*, 67: 397-402.
- Pavanelli, C. S. Família Parodontidae. In: Reis, R. E.; Kullander, S. O.; Ferraris Jr., C. J. (2003). Check List of the Freshwater of South and Central America. Porto Alegre: **Edipucs**, p. 46-50.
- Pavanelli, C. S.; Britski, H. (2003) A. *Apareiodon* Eigenmann, 1916 (Telostei, Characiformes), From The Tocantins-Araguaia Basin, With Description Of Three New Species. **Copeia**, 2: 337-348
- Rosa, R.; Bellafronte, E.; Moreira-Filho, O. (2006) Margarido V. P. Constitutive Heterochromatin, 5s And 18s Genes In *Apareiodon* Sp (Characiformes, Parodontidae) Wit A Zz/Zw Sex Chromosome System. **Genetica**, 128: 159-166
- Schmid, M. (1980) Chromosome banding in Amphibia:IV. Differentiation of G – C and A – T rich chromosoma regions in Anura. **Chromosoma**, 58: 307-324.
- Sumner, A. T. (1972). A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. **Expl. Cell. Res.** 75: 304-306.
- Takahashi, E. K. (1995). Análise citogenética de *Astyanax bimaculatus* coletados no Ribeirão Três Bocas – Londrina. Monografia. Curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina.

Vicari, M. R.; Moreira-Filho, O.; Artoni, R. F.; Bertollo, L. A. C. (2006). ZZ/ZW sex chromosome system in a undescribed species of the genus *Apareiodon* (Characiformes, Parodontidae). **Cytogenet Genome Res**, 114: 163-168.

Vicente, V. E.; Jesus, C. M.; Moreira-Filho, O. (2001). Chromosomal localization of 5S and 18S rRNA genes in three Parodon species (Pices, Parodontidae). **Caryologia**, 54: (4) 365-369.