Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA Universidade Federal do Amazonas – UFAM Programa Integrado de Pós-Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais

Caracterização cromossômica de espécies de acarás da subfamília Cichlasomatinae (Perciformes: Cichlidae) da Amazônia Central

Aldaléia Carmo dos Santos

MANAUS-AMAZONAS AGOSTO, 2006

ALDALÉIA CARMO DOS SANTOS

Caracterização cromossômica de espécies de acarás da subfamília Cichlasomatinae (Perciformes: Cichlidae) da Amazônia Central

Orientadora: Dra. Eliana Feldberg Co-orientador: Dr. Jansen Alfredo Sampaio Zuanon

> Dissertação apresentada ao Programa Integrado de Pós-Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, área de concentração em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva.

MANAUS-AMAZONAS AGOSTO, 2006

FICHA CATALOGRÁFICA

S 237c Santos, Aldaléia Carmo dos

Caracterização cromossômica de espécies de acarás da subfamília Cichlasomatinae (Perciformes: Cichlidae) da Amazônia Central/ Aldaléia Carmo dos Santos – Manaus: UFAM/INPA, 2006.

72p. : il.

Dissertação (Mestrado) – UFAM/INPA, Manaus, 2006.

Orientador (a): Dra. Eliana Feldberg Co-Orientador: Dr. Jansen Alfredo Sampaio Zuanon Área de concentração: Genética, Conservação e Biologia Evolutiva.

1 Peixes – Citogenética. 2 Cichlidae.

3 Cichlasomatinae – Citogenética. I. Título.

CDD19. 597.58

Sinopse:

São apresentados dados cromossômicos (número diplóide, NOR e banda C) de 13 espécies de ciclídeos pertencentes à subfamília Cichlasomatinae, coletadas em diferentes locais da Amazônia Central. Quatro números diplóides foram encontrados, ou seja, 2n=48 cromossomos (oito espécies), 2n=50 (duas espécies), 2n=42 (uma espécie) e 2n=46 (duas espécies). O número de braços (NF) variou de 50 a 62. Nove espécies mostraram NORs simples, sendo três no primeiro par do complemento. Duas espécies apresentaram NORs múltiplas, mas nunca mais que dois pares. Quanto à localização, as NORs estiveram presentes tanto terminais como intersticiais, tanto no braço curto como no longo. A heterocromatina constitutiva foi evidenciada na região centromérica de todos os cromossomos de todas as espécies, entretanto algumas apresentaram blocos bem evidentes e outros mais pálidos. Além disso, blocos espécie-específicos foram verificados. Esta diversidade pode ser considerada, sem dúvida, como decorrente dos rearranjos cromossômicos.

Palavras-chave: Peixes, Cichlidae, rearranjos cromossômicos, Amazônia.

Dra. Eliana Feldberg Orientadora

Dr. Jansen Alfredo Sampaio Zuanon

Co-orientador

"Aprender é a única coisa que nunca se cansa, nunca se tem medo e nunca se arrepende."

Leonardo da Vinci

Dedico esta dissertação aos meus pais Altair e Dorvalina, In memoriam ao meu avô Taumaturgo, In memoriam ao meu padrinho Joaquim, pelos exemplos de dignidade e caráter.

A realização deste projeto foi possível devido:

Ao Programa de Pós-Graduação em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva do convênio Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade Federal do Amazonas.

À Coordenação de Pesquisas em Biologia Aquática (CPBA/INPA), Laboratório de Genética de Peixes, onde este trabalho foi desenvolvido, com financiamento pelos Projetos de Pesquisas Institucionais: PPIs: 2-2250 e 2-3750; CNPq/PNOPG; FAPEAM/PIPT (Processo N° 876/2003).

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM/POSGRAD) que auxiliou na compra de algum material de consumo, através da taxa de bancada e concedeu a bolsa de estudo (processo Nº 000946-6-A) durante o período da realização deste trabalho.

Ao IBAMA pela concessão da licença de coleta e manipulação de material genético.

vii

AGRADECIMENTOS

Quero aqui deixar os meus sinceros agradecimentos a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho. Acima de tudo, preciso aqui registrar que, mais do que me ensinar a pesquisar e a fazer-me crescer como profissional, e tornaram-se meus amigos. Por isso, minha gratidão e a certeza de que a participação de cada um de vocês foi fundamental para que eu chegasse até aqui.

Quero agradecer de modo especial:

A Deus, que me deu meus pais, meus irmãos, minhas sobrinhas, meu namorado e sua família, meus amigos, e principalmente, o dom de viver e o desejo de aprender.

À Dra. Eliana Feldberg, que me recebeu em seu laboratório, ensinou, corrigiu, incentivou, compreendeu, enfim: que me orientou e teve uma paciência maior do que uma mãe.

Ao Dr. Jorge Porto pela amizade e contribuição a este trabalho.

Ao Dr. Jansen Zuanon, por sua atenção e disponibilidade em me ajudar, por sua orientação, apoio e incentivo.

Ao meu pai e minha mãe que são para mim motivo de orgulho, exemplos de simplicidade e amor. À minha madrinha Edna Loureiro pela educação e orientação na vida. À minha avó Filomena pelo exemplo de vida. Obrigada por tudo. A eles minha eterna gratidão e amor.

Às minhas sobrinhas Danielly, Yasmim e Anne, por alegrar minha vida.

Aos meus irmãos: Alderson e Aldeilson; cunhadas: Neide, Nara e minha sogra Maria, pelo apoio incondicional.

Ao meu namorado Stanley, que muitas vezes, soube compreender a minha ausência, com o seu carinho, atenção e paciência.

À Celeste Nakayama, por tudo que aprendi e principalmente pela amizade.

Aos amigos Eleny, Sheyla, Aldenira, Daniel Dutra, pelo exemplo de dedicação aos estudos e incentivo para ingressar na pós-graduação.

Aos amigos do laboratório: Eliana, Jorge, Celeste, Breno, Elmira, Cebolinha, Nifa, Débora, Fabiana, Jota, Germano, Denise, por todos os momentos que passamos juntos, pelo carinho, apoio e companhia.

viii

Aos meus amigos de sala Claudia, Carlos, Leandra, Renildo, Daniel Barros e Eduardo pela troca de conhecimentos e amizade.

Aos meus amigos de curso Taciana, Adília, Joana, Daniel Raid, Daniel Barros, Daniel Toffoli por todas as vezes que, juntos, trocamos o sono pela Genética.

Aos meus amigos de graduação: Eleny, Daniel, Lílian, Thieme, Célia, Mina, Ana Paula e Emanoel, pela alegria compartilhada na graduação e amizade que perdurou.

Ao quarteto fantástico, do qual faço parte com muito orgulho e carinho: Adriana, Sheyla e Eleci, irmãs de coração, obrigada pela amizade, compreensão e críticas.

Ao Dr. Jansen Zuanon pela identificação dos espécimes analisados.

À Dra. Maria de Fátima Vieira que abriu as portas da pesquisa, por todo conhecimento adquirido e por sua amizade.

À Dra. Neusa Hamada, Dra. Beatriz Ronchi Telles, Dra. Ruth Leila, pelo conhecimento adquirido em suas companhias.

Ao Fernando Gouveia, pelos ensinamentos e amizade.

Ao Arlindo Nascimento, pela companhia e ajuda nas coletas de campo, nas tarefas do laboratório e principalmente por sua amizade.

Aos meus amigos do Colégio Roderick de Castello Branco que compreenderam vários períodos de ausência para a finalização desta.

Obrigada, Eliana, Jorge Porto, Celeste, Jansen, por tudo. Consegui.

I. INTRODUÇÃO	1
I.1 Considerações gerais	1
I.2 A família Cichlidae	1
I.3 Classificação dos ciclasomíneos e heroíneos	2
I.4 A importância da citogenética no estudo dos peixes	3
I.5 A citogenética da família Cichlidae com enfoque em Cichlasomatinae	5
I.6 Objetivos	6
II. MATERIAL E MÉTODOS	9
II.1 Material	9
II.2 Métodos	14
II.2.1 Indução de mitoses	14
II.2.2 Obtenção de cromossomos mitóticos	14
II.2.3 Preparação das lâminas	15
II.2.4 Caracterização das regiões organizadoras de nucléolos – NORs	16
II.2.5 Caracterização da heterocromatina constitutiva (banda C)	17
II.2.6 Análise cariotípica	17
III. RESULTADOS	20
III.1 Tribo Acaroniini	20
III.1.1 Acaronia nassa	20
III.2 Tribo Heroini	22
III.2.1 Hoplarchus psittacus	22

SUMÁRIO

III.2.2 Hypselecara temporalis	24
III.2.3 Hypselecara coryphaenoides	27
III.2.4 Heros efasciatus	29
III.2.5 Heros severus	31
III.2.6 Uaru amphiacanthoides	33
III.2.7 Mesonauta insignis	35
III.2.8 Mesonauta festivus	37
III.2.9 Pterophyllum scalare	39
III.2.10 <i>Pterophyllum altum</i>	41
III.2.11 Pterophyllum leopoldi	43
III.3 Tribo Cichlasomatini	45
III.3.1 Bujurquina peregrinabunda	45
IV. DISCUSSÃO	48
IV.1 Diversidade cariotípica em Cichlasomatinae	48
IV.2 Regiões Organizadoras Nucleolares e Heterocromatina	51
IV.3 Macroestrutura cromossômica na história evolutiva dos ciclídeos	
neotropicais V. CONCLUSÕES	55 59
VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Mapa da Amazônia brasileira, em destaque os locais de	
	coleta.	11
Figura 2	Exemplares correspondentes às espécies estudadas	12
Figura 3	Exemplares correspondentes às espécies estudadas	13
Figura 4	Características cariotípicas de Acaronia nassa	21
Figura 5	Características cariotípicas de Hoplarchus psittacus	23
Figura 6	Características cariotípicas de Hypselecara temporalis (fêmea)	26
Figura 7.	Características cariotípicas de <i>H. temporalis</i> (macho)	27
Figura 8	Características cariotípicas de Hypselecara coryphaenoides	29
Figura 9	Características cariotípicas de Heros efasciatus	31
Figura 10	Características cariotípicas de Heros severus	33
Figura 11	Características cariotípicas de Uaru amphiacanthoides	35
Figura 12	Características cariotípicas de Mesonauta insignis	37
Figura 13	Características cariotípicas de Mesonauta festivus	39
Figura 14	Características cariotípicas de Pterophyllum scalare	41
Figura 15	Características cariotípicas de Pterophyllum altum	43
Figura 16	Características cariotípicas de Pterophyllum leopoldi	45
Figura 17	Características cariotípicas de Bujurquina peregrinabunda	47
Figura 18	Dados cariotípicos sobrepostos à árvore filogenética da subfamília Cichlasomatinae proposta por Kullander (1998).	58
Figura 19	Dados cariotípicos sobrepostos à árvore filogenética da subfamília Cichlasomatinae proposta por Farias <i>et al.</i> (2000b)	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Lista das espécies da subfamília Cichlasomatinae que ocorrem na	7
	Amazonia, ja analisadas citogeneticamente	1
Tabela 2	Lista das espécies da subfamília Cichlasomatinae analisadas no presente trabalho	10
Tabela 3	Números diplóides, suas freqüências relativas (%) e locais de coleta, para macho e fêmea de <i>Acaronia nassa</i>	20
Tabela 4	Números diplóides, suas freqüências relativas (%) e locais de coleta, para macho e fêmea de <i>Hoplarchus psittacus</i>	22
Tabela 5	Números diplóides, suas freqüências relativas (%) e locais de coleta, para macho e fêmea de <i>Hypselecara temporalis</i>	25
Tabela 6	Números diplóides, suas freqüências relativas (%) e locais de coleta, para macho e fêmea de <i>Hypselecara coryphaenoides</i>	28
Tabela 7	Números diplóides, suas freqüências relativas (%) e locais de coleta, para macho e fêmea de <i>Heros efasciatus</i>	30
Tabela 8	Números diplóides, suas freqüências relativas (%) e locais de coleta, para macho e fêmea de <i>Heros severus</i>	32
Tabela 9	Números diplóides, suas freqüências relativas (%) e locais de coleta, para macho e fêmea de <i>Uaru amphiacanthoides</i>	34
Tabela 10	Números diplóides, suas freqüências relativas (%) e locais de coleta, para macho e fêmea de <i>Mesonauta insignis</i>	36
Tabela 11	Números diplóides, suas freqüências relativas (%) e locais de coleta, para macho e fêmea de <i>Mesonauta festivus</i>	38
Tabela 12	Números diplóides, suas freqüências relativas (%) e locais de coleta, para macho e fêmea de <i>Pterophyllum scalare</i>	40
Tabela 13	Números diplóides, suas freqüências relativas (%) e locais de coleta, para macho e fêmea de <i>Pterophyllum altum</i>	42

Tabela 14	Números diplóides, suas freqüências relativas (%) e locais de coleta,	
	para macho e fêmea de Pterophyllum leopoldi	44
Tabela 15	Números diplóides, suas freqüências relativas (%) e locais de coleta,	
	para macho e fêmea de Bujurquina peregrinabunda	46
Tabela 16	Características cariotípicas das espécies estudadas	48

RESUMO

Foram realizados estudos citogenéticos em 13 espécies de acarás pertencentes à subfamília Cichlasomatinae, família Cichlidae, coletadas em diferentes locais da bacia amazônica. Destas, duas apresentaram 2n=50, uma 2n=42, duas 2n=46 e oito 2n=48 cromossomos. O número de braços variou de 50 a 60, ou seja, diferentes fórmulas cariotípicas foram evidenciadas nesta subfamília. Esta variação tanto no número diplóide como no número de braços das espécies, sugere a presença de rearranjos tanto Robertsonianos (fissão e fusão), que aumentam e diminuem o número diplóide, como não Robertsonianos (inversões e translocações), que modificam a fórmula cariotípica. As regiões organizadoras de nucléolo, um excelente marcador cromossômico entre os peixes, também apresentaram variação em relação à sua localização no cromossomo, bem como em relação à sua posição no cariótipo. Nove espécies mostraram NORs simples, sendo três no primeiro par do complemento. Duas espécies apresentaram NORs múltiplas, mas nunca em mais que dois pares. A heterocromatina constitutiva foi evidenciada na região centromérica de todos os cromossomos de todas as espécies, entretanto algumas apresentaram blocos bem evidentes e outros mais pálidos. Os dados citogenéticos obtidos no presente trabalho para a subfamília Cichlasomatinae corroboram sua posição derivada na família Cichlidae, devido à diversidade de números diplóides, fórmulas cariotípicas, localização e posição da NOR e blocos heterocromáticos espécie-específicos. Esta diversidade pode ser considerada, sem dúvida, como consegüência dos rearranjos cromossômicos ocorridos nesse grupo.

XV

ABSTRACT

Cytogenetic studies were performed on 13 species of acarás in the family Cichlidae, subfamily Cichlasomatinae, collected from different locations in the Amazon basin. Of these, two exhibited 2n=50, one 2n=42, two 2n=46, and eight 2n=48 chromosomes. Different karyotypic formulae were found in this subfamily, with the number of arms varying from 50 to 60. This degree of variation in diploid number and karyotypic formulae within the family suggests the presence of both Robertsonian (fission and fusion) and non-Robertsonian (inversions and translocations) rearrangements. Robertsonian rearrangements increase or decrease the diploid number, while non-Robertsonian rearrangements modify the karyotypic formula. The nucleolar organizing regions, an excellent chromosomal marker among fish, varied in their chromosomal locations, as well as in their karyotypic positions. Nine species had simple NORs, with three on the first pair of the complement. Two species had multiple NORs, but never in more than two chromosome pairs. Constitutive heterochromatin was present in the centromeric region of all chromosomes in all species; however some exhibited guite evident blocks, while others were paler. The cytogenetic data obtained for the subfamily Cichlasomatinae during this study corroborates its derived position in the Cichlidae family, most notably the diversity of diploid numbers and karyotypic formulae and the species-specific location and position of the NOR and heterochromatin blocks. This diversity may be considered, without a doubt, as consequence of the chromosome rearrangements.

xvi

I. Introdução

I.1 Considerações gerais

A bacia amazônica abriga uma das maiores e menos conhecida ictiofauna de água doce do mundo, reunindo um grande número de espécies que pode chegar a 5.000 (revisto em Santos & Ferreira, 1999).

Na Amazônia, a pesca é uma das atividades mais tradicionais e pode ser tanto comercial como de subsistência, desempenhando um destacado papel na economia e no processo de ocupação humana (Santos *et al.,* 1991). A pesca destaca-se também pela riqueza de espécies exploradas, pela quantidade de pescado capturado e pela sua importância cultural para a população ribeirinha, que depende desta atividade como principal fonte de proteína animal (Barthem & Fabré, 2004).

Nesta atividade estão também os peixes ornamentais destinados quase que totalmente à exportação, com destaque para os Characiformes, Perciformes (Cichlidae) e Siluriformes que compõem uma lista de 180 espécies brasileiras que podem ser capturadas e comercializadas para este fim (IBAMA, 2005).

I.2 A família Cichlidae

A família Cichlidae pertence à ordem Perciformes e representa um dos mais diversificado grupo de peixes de água doce do mundo, ocupando o quarto lugar em número de espécies (Kullander, 1998).

Na América do Sul são conhecidas cerca de 291 espécies válidas em 39 gêneros sendo que mais da metade delas ocorrem na bacia amazônica (Kullander, 1998; 2003). Estes peixes distribuem-se pelos mais diferentes habitats, como margens dos rios,

igarapés, florestas alagadas, lagos e corredeiras, preferindo em sua maioria ambientes lênticos (Lowe-McConnell, 1991).

Devido à diversidade de espécies desta família na bacia amazônica, a importância econômica dos ciclídeos é muito grande, tanto como fonte de proteína animal como peixes ornamentais (Chao, 1995). Os gêneros mais explorados pela pesca comercial, como fonte de proteína, são: *Cichla*, *Geophagus, Astronotus* e *Chaetobranchus*, popularmente conhecidos como tucunaré e acarás, sendo que as espécies do gênero *Cichla* também são exploradas na pesca esportiva (Nascimento *et al.,* 2001; Chao, 2001). Já as espécies mais exploradas para fins ornamentais são os apistogramas (*Apistogramma* spp.), os jacundás (*Crenicichla* spp.), o acará-bandeira (*Pterophyllum* spp.) e os acarás-disco (*Symphysodon* spp.) (Chao, 2001).

A família Cichlidae é subdividida em oito subfamílias, sendo três do velho mundo (Etroplinae, Pseudocrenilabrinae e Heterochromidinae) e cinco do novo mundo (Retroculinae, Cichlinae, Astronotinae, Geophaginae e Cichlasomatinae). As duas últimas são consideradas as mais derivadas (Kullander, 1998; 2003; Farias *et al.*, 1998).

A subfamília Cichlasomatinae está subdividida, com base em características morfológicas, em três tribos: Acaroniini, Heroini e Cichlasomatini. Compreende 18 gêneros e cerca de 120 espécies, sendo uma grande parte delas de importância no comércio de peixes ornamentais (Kullander, 1998).

I. 3 Classificação dos ciclasomíneos e heroíneos

Em uma tentativa de simplificar a terminologia aplicada para o grande grupo dos ciclasomíneos, Kullander (1996) sugeriu que o grupo dos "ciclasomíneos de escamas pequenas", ou ciclasomíneos grupo A (Cichocki, 1976; Kullander, 1983; 1986; Kullander

& Nijssen, 1989) fossem classificados como heroíneos, e os "ciclasomíneos de escamas grandes" ou ciclasomíneos grupo B (Cichocki, 1976; Kullander, 1983; 1986; Kullander & Nijssen, 1989; Stiassny, 1991) como ciclasomíneos. Seguindo esta classificação informal, os heroíneos incluem os gêneros *Heros* Heckel, 1840 (4 espécies), *Heroina* Kullander,1996 (1 espécie), *Acaronia* Myers, 1940 (2 espécies), *Caquetaia* Fowler, 1945 (4 espécies), *Hoplarchus* Kaup, 1860 (1 espécie), *Hypselecara* Kullander, 1986 (2 espécies), *Mesonauta* Günther,1862 (6 espécies), *Pterophyllum* Heckel, 1840 (3 espécies), *Symphysodon* Heckel, 1840 (2 espécies), *Uaru* Heckel, 1840 (2 espécies).

Cichocki (1976) demonstrou a monofilia dos heroíneos pela morfologia e ligamentos do palatino, número de espinhos da nadadeira anal e pelos padrões dos dentes. Tal hipótese foi corroborada por Kullander (1996).

O grupo dos ciclasomíneos é caracterizado por apresentar um padrão típico de escamação pré-dorsal e por colocar os ovos em uma compacta placa circular. Inclui os gêneros *Cichlasoma sensu stricto* Swainson, 1839 (41 espécies), *Aequidens sensu stricto* Eigenmann & Bray, 1894 (23 espécies), *Bujurquina* Kullander, 1986 (17 espécies), *Laetacara* Kullander, 1986 (4 espécies), *Tahuantinsuyoa* Kullander, 1986 (2 espécies) e *Nannacara* Regan, 1905 (5 espécies) (Kullander, 1983; Stiassny, 1991).

I.4 A importância da citogenética no estudo dos peixes

A citogenética de peixes é aplicada em estudos evolutivos e citotaxonômicos, sendo uma excelente ferramenta, quando em associação com dados de morfologia, biogeografia, comportamento e genética molecular, para poder criar hipóteses mais realistas sobre a história evolutiva dos organismos (Almeida-Toledo, 1998; Artoni *et al.,* 2000).

O número diplóide varia de 20 cromossomos em algumas espécies de peixes antárticos (Ozouf-Costaz *et al.*, 1997) a mais de 372 em esturjões (Ascipenceridae) (Kim *et al.*, 2005), sendo que a maioria das espécies apresenta número cromossômico entre 44 e 60 (Oliveira *et al.*, 1988). Quanto ao tamanho dos cromossomos, estes variam desde microcromossomos com 1 micrômetro (μm) de comprimento, nos Chondrichthyes até aqueles com cerca de 30μm nos peixes pulmonados (Dipnoi). A quantidade de DNA por núcleo diplóide, característica muito utilizada em citogenética para estimar similaridades ou diferenças entre grupos, também é muito variável entre os peixes, de 0,78 picogramas (pg.) a 248 pg. (Ohno & Atkin, 1966; Hinegardner & Rosen, 1972; Denton, 1973).

Protocolos para diferentes tipos de bandeamentos cromossômicos vêm sendo aperfeiçoados para os peixes. Entretanto, a maioria dos estudos citogenéticos nesse grupo está restrita à identificação das regiões organizadoras nucleolares (NORs) e da heterocromatina constitutiva (Banda C) (Almeida-Toledo, 1996; 1998). Estes marcadores têm sido de grande importância na caracterização de espécies, de populações e de híbridos interespecíficos (Almeida-Toledo *et al.*, 1987; Feldberg *et al.*, 1992; 1999; Nakayama *et al.*, 2001; Alves-Brinn *et al.*, 2004).

Em relação à ictiofauna Amazônica, a aplicação dos estudos citogenéticos tem ocorrido em vários grupos, como os Characiformes (Porto *et al.*, 1993; Feldberg *et al.*, 1992; 1993; Nakayama *et al.*, 2000, 2001, 2002; Centofante *et al.*, 2002), Siluriformes (Porto & Feldberg, 1993; Souza, 2003; De Oliveira, 2006), Perciformes (Feldberg *et al.*, 1999; 2003; 2004; Alves-Brinn *et al.*, 2004; Gross, 2006) e Myliobatiformes (Valentim *et al.*, 2006). Por meio da caracterização cariotípica foram detectados, em espécies destas

ordens, polimorfismos cromossômicos, espécies crípticas, presença de cromossomos sexuais e supernumerários, sendo estas informações importantes no estudo evolutivo dos diferentes grupos.

I.5 A citogenética da família Cichlidae, com enfoque em Cichlasomatinae

Entre os Perciformes, a família Cichlidae é uma das mais estudadas citogeneticamente, com 135 espécies analisadas. Este grupo de peixes, que se destaca por uma enorme diversidade, apresenta uma macroestrutura cromossômica conservada, em cerca de 60% das espécies, que apresentam 2n=48 cromossomos, em sua maioria acrocêntricos (Feldberg *et al.*, 2003). Porém, o número diplóide pode variar de 32 a 60 cromossomos, com duas modas bem definidas: uma com 44 cromossomos para os ciclídeos do Velho Mundo e outra com 48 para os do Novo Mundo (Kornfield, 1979; 1984; Kornfield *et al.*, 1979; Thompson, 1979; Feldberg & Bertollo, 1985a; Feldberg *et al.*, 2003).

O número diplóide nos ciclídeos do Novo Mundo varia de 38 a 60 cromossomos, sendo que esta variação ocorre principalmente nas subfamílias Cichlasomatinae (38-60) e Geophaginae (38-48), sugerindo que estes clados são os mais derivados dentro da família (Feldberg *et al.*, 2003). Segundo Feldberg & Bertollo (1985b) e Feldberg *et al.* (2003), a família Cichlidae é caracterizada por apresentar um sistema de NOR simples, localizada nos maiores pares cromossômicos. O estado derivado dos Cichlasomatinae e Geophaginae também pode ser verificado quanto às regiões organizadoras de nucléolo (NORs), uma vez que, algumas de suas espécies apresentam NORs múltiplas e não localizadas nos primeiros pares do cariótipo.

Da subfamília Cichlasomatinae foram analisadas citogeneticamente, até o momento, 49 espécies, distribuídas nas Américas Central e do Sul, sendo 12 da Amazônia (Tabela 1) (Feldberg *et al.,* 2003). Destas, apenas as duas espécies do gênero Symphysodon tiveram seu cariótipo descrito sob uma perspectiva evolutiva (Mesquita, 2002; Gross, 2006). Estas espécies apresentam o número diplóide (2n=60), o mais alto já descrito para Cichlidae e Perciformes, e apresentam uma grande variabilidade quanto à estrutura cariotípica.

Assim, visando compreender quais mecanismos levaram à diversificação cariotípica dos ciclasomíneos, o presente trabalho ampliou o estudo citogenético em espécies pertencentes a este clado e que ocorrem na bacia amazônica.

I.6 Objetivos

Caracterizar citogeneticamente, espécies da subfamília Cichlasomatinae, que ocorrem na Amazônia central.

Inferir sobre os possíveis mecanismos de evolução cromossômica entre as espécies desta subfamília.

Tabela 1. Lista das espécies da subfamília Cichlasomatinae, já analisadas citogeneticamente. 2n=número diplóide; FC=fórmula cariotípica; NF=número fundamental; NOR=região organizadora nucleolar; m,sm=metacêntrico,submetacêntrico; st,a=subtelocêntrico,acrocêntrico; mi= microcromossomos; (*) indica que o primeiro cromossomo do complemento é significativamente maior que o seu homólogo; (**) indica que um cromossomo não tem homólogo; dados retirados de Feldberg *et al.* (2003), atualizados.

Espécies	Localidade	2n	FC	NF	NOR	Referência
Acaronia nassa	Baixo rio Negro	50	50st,a	50	2 cr.	Salgado et al., 1994
Aequidens sp.	Amazônia	48	48st,a	48	2 cr.	Salgado <i>et al.</i> , 1995
A. tetramerus	Rio Peixe-boi, PA	48			2 cr.	Farias <i>et al</i> ., 2000a
A. tetramerus	Aquarista	48	2m,sm+46st,a	50	2 cr.	Marescalchi, 2005
A. metae	Aquarista	48	6m,sm+42st,a	54	2 cr.	Marescalchi, 2005
'A. pulcher'	Aquarista	48	4m,sm+44st,a	52		Marescalchi, 2005
'A. rivulatus'	Aquarista	48	8m,sm+40st,a	56		Marescalchi, 2005
<i>Bujurquina</i> sp.	I. Mindú, AM	48	8m,sm+40st,a	56		Mendonça (com.pessoal)
B. vittata	Aquarista	44	26m,sm+18st,a	70		Marescalchi, 2005
Caquetaia spectabilis	Amazonas, Brasil	50	50st,a	50	5 cr.	Salgado <i>et al</i> ., 1995
Cichlasoma amazonarum	I. Mindú, AM	48	2m,sm+46st,a	50	3 cr.	Salgado <i>et al.</i> , 1995
C. istlanum	Amacuzac, México	48	8m,sm+40st,a	56		Uribe-Alcocer et al., 1999
Cleithracara maronii	Aquarista	50	12m,sm+38st,a	64		Marescalchi, 2005
<i>Heros</i> sp.	Baixo rio Negro	48	6m,sm+42st,a	54	2 cr.	Salgado <i>et al</i> ., 1994
Laetacara dorsigera	Aquarista	44	22m,sm+22st,a	66		Marescalchi, 2005
Mesonauta festivus	Médio R. Negro	48	12m,sm+36st,a	60	4 cr.	Santos <i>et al.</i> , 2001
M. insignis	Baixo e Médio R. Negro	48	12m,sm+36st,a	60	4 cr.	Santos <i>et al.,</i> 2001
Pterophyllum scalare	Amazônia	48	4m,sm+44st,a	52	2 cr.	Krychanã <i>et al</i> ., 1996
Symphysodon aequifasciatus	Rio Tefé	48	44m,sm+16mi	104	2-5cr.	Salgado <i>et al.</i> , 1995
S. aequifasciatus	Amazônia, Brasil	60	42m,sm+18 mi	102	2-5 cr.	Salgado <i>et al</i> ., 1996b
			citótipos: A e B			
S. aequifasciatus	Manacapuru, AM	60	52m,sm+4st,a+4mi	112	2-4 cr.	Mesquita, 2002
S. aequifasciatus	Rio Tefé, AM	60	48m,sm+8st,a+4mi	108	2-3 cr.	Mesquita, 2002; Rocha-Oliveira et al., 2004
S. aequifasciatus	Rio Tefé, AM	60	50m,sm*+6st,a+4mi	110	2-3 cr.	Mesquita, 2002; Rocha-Oliveira et al., 2004
S. aequifasciatus	Rio Tefé, AM	60	49m,sm**+7st,a**+4mi	109	2-4 cr.	Rocha-Oliveira <i>et al.,</i> 2004
S. aequifasciatus	Rio Tefé, AM	60	50m,sm+6st,a+4mi	110	2-4 cr.	Rocha-Oliveira <i>et al.,</i> 2004
S. aequifasciatus	Igarapé Croata-PA	60	56m,sm+4st,a	116	2 cr.	Nascimento, 2005
S. aequifasciatus	Manacapuru, AM	60	46m,sm+14mi	106	4 cr.	Gross, 2006
S. discus	Amazônia, Brasil	60	42m,sm+18mi	102	2 cr.	Salgado <i>et al.</i> , 1994
S. discus	Amazônia, Brasil	60	48m,sm+12mi	108	2 cr.	Salgado <i>et al</i> ., 1996a
			46m,sm+14mi	106		
S. discus	Igarapé Boi-Boi-AM	60	50m,sm+10st,a	110	2 cr.	Mesquita, 2002

Cont. tabela 1						
S. discus	Igarapé Boi-Boi-AM	60	54m,sm+6st,a	114	2 cr.	Mesquita, 2002
S. discus	Rio Madeira-AM	60	50m,sm+6st,a+4mi	110	2-4 cr.	Rocha-Oliveira et al., 2004
S. discus	Rio Madeira-AM	60	56m,sm+4st,a	116	2-4 cr.	Rocha-Oliveira et al., 2004
S. discus	Novo Airão-AM	60	50m,sm+10st,a	110	2 cr.	Gross, 2006
Uaru amphiacanthoides	Aquarista	46	8m,sm+38st,a	54		Thompson, 1979

II. Material e métodos

II.1 Material

A Tabela 2 mostra o número de exemplares, locais de coleta e as espécies da subfamília Cichlasomatinae analisadas no presente trabalho (Figuras 1, 2 e 3).

Os peixes foram capturados com uso de tarrafas, rapichés ou caniço e transportados vivos em caixas térmicas tipo "isopor", para o Laboratório de Genética de Peixes do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Coordenação de Pesquisas em Biologia Aquática (CPBA), sob autorização do IBAMA (Processo Nº 02005.001766/01-11). Os peixes foram mantidos em aquários aerados, à temperatura ambiente, até serem sacrificados e submetidos às análises cromossômicas.

Todos os espécimes foram identificados pelo pesquisador Dr. Jansen Zuanon (CPBA/INPA) por meio de referências bibliográficas e por comparação com material depositado na coleção de peixes do INPA/CPBA. Os exemplares analisados foram numerados, registrados, fixados em formol 10% durante 24h e acondicionados, posteriormente, em recipientes contendo álcool 70%. Espécimes testemunho foram depositados na Coleção de Peixes do INPA (Tabela 2).

Tabela 2. Lista das espécies da subfamília Cichlasomatinae analisadas no presente
trabalho e os locais de coleta com seu respectivo número de machos e
fêmeas (♂= macho; ♀= fêmea; ?= sexo indeterminado).

Espécies	Local	3	9	?	Total	Nº da
Acaronia nassa	Barcelos	2			02	
Acaionia nassa	Jaú	3	2	_	02	INPA 26449
	Catalão	3	1	-	04	INPA 26450
Hoplarchus psittacus	Anavilhanas	4	4	-	08	INPA 26451
Hypselecara temporalis	Catalão	7	7	-	14	INPA 26452
H. coryphaenoides	Barcelos	2	3	-	05	INPA 26453
	Jaú	-	1	-	01	INPA 26454
	Anavilhanas	1	-	-	01	INPA 26455
Heros efasciatus	Jaú	2	2	-	04	INPA 26457
H. severus	Catalão	1	2	-	03	INPA 26458
Uaru amphiacanthoides	Anavilhanas	3	4	-	07	INPA 26459
Mesonauta insignis	Barcelos	2	5	1	08	INPA 26460
M. festivus	Catalão	1	5	1	07	INPA 26461
Pterophyllum scalare	Rio Madeira	1	-	-	01	INPA 26462
	Rio Manacapuru	1	1	-	02	INPA 26463
	Catalão	1	2	-	03	INPA 26464
P. altum	Anavilhanas	1	-	-	01	INPA 26465
P. leopoldi	Careiro	3	1	-	04	INPA 26466
Bujurquina peregrinabunda	Rio Branco	1	-	-	01	INPA 26467
			Total		83	



Figura 1. Mapa da Amazônia brasileira, em destaque os locais de coleta. 1= Lago do Catalão; 2= rio Manacapuru; 3= Arquipélago de Anavilhanas/rio Negro; 4= Rio Jaú/Parque Nacional do Jaú; 5= Barcelos/rio Negro; 6= Careiro/rio Solimões; 7=rio Madeira; 8= Igarapé Macoari/rio Branco/RR.



Figura 2. Exemplares correspondentes às espécies estudadas (Nome, local de coleta e valores de comprimento total). A) *Pterophyllum scalare,* rio Manacapuru (8,5 cm); B) *P. altum,* Anavilhanas/rio Negro (5,5 cm); C) *P. leopoldi,* Careiro/rio Solimões (3,5 cm); D) *Mesonauta festivus,* lago Catalão (7,5 cm); E) *M. insignis* Barcelos/rio Negro (10,5 cm); F) *Hypselecara temporalis,* lago Catalão (7,5 cm); G) *H. coryphaenoides,* Anavilhanas/rio Negro (12,5 cm).



Figura 3. Exemplares correspondentes às espécies estudadas (Nome, local de coleta e valores de comprimento total). H) Heros efasciatus, rio Negro (10 cm); I) H.severus, lago Catalão (6 cm); J) Uaru amphiacanthoides, Anavilhanas/rio Negro (10 cm); L) Hoplarchus psittacus Foto: Artigas Azas, J.M., M) Acaronia nassa, Parque Nacional do Jaú/rio Negro (3,5 cm); N) Bujurquina peregrinabunda, rio Branco (3,5 cm).

II.2. Métodos II.2.1 Indução de mitoses

Para se obter um maior número de células em divisão, foi utilizada a técnica de indução de mitoses segundo Lozano *et al.* (1988), com algumas modificações já estabelecidas no laboratório de Genética de Peixes, INPA/CPBA, que consiste em:

- preparar uma solução de fermento biológico na seguinte proporção: 0,5 g de fermento, 0,5 g de açúcar e 20 mL de água destilada;
- incubar esta solução em banho-maria ou estufa a 40 °C por cerca de 15-20 minutos;
- injetar a solução intraperitonealmente, na região dorso-lateral do peixe, na proporção de 1 mL para cada 100 g de peso do animal;
- 4. deixar os peixes em aquários aerados por um período de 24 horas.

II.2.2 Obtenção de cromossomos mitóticos

Para o estudo dos cromossomos mitóticos foi utilizada, preferencialmente, a porção anterior do rim, que é o órgão hematopoiético dos peixes. O material foi preparado segundo a técnica de "air drying" descrita por Bertollo *et al.* (1978), com algumas modificações, que consiste em:

- após 24 horas da injeção de fermento, injetar intraperitonealmente uma solução aquosa de colchicina 0,0125 % na proporção de 1 mL para cada 100 g de peso do animal;
- manter o peixe em aquário com sistema de aeração, por 45 minutos. Após este período, sacrificar o animal e retirar o rim anterior e/(ou posterior);
- 3. lavar o material retirado em solução hipotônica de KCl a 0,075 M;

- 4. transferir o material para um recipiente de vidro, contendo cerca de 10 mL da solução hipotônica e dissociar o material nesta solução com pinças de dissecção. Para melhor separação dos blocos celulares, será utilizada uma seringa desprovida de agulha, aspirando e expirando suavemente o material;
- 5. colocar a suspensão obtida em estufa a 37 °C por 20 minutos;
- ressuspender, cuidadosamente, o material com o auxílio de uma seringa desprovida de agulha e em seguida transferi-lo para um tubo de centrífuga, utilizando-se uma pipeta Pasteur;
- adicionar 6 gotas de fixador Carnoy 3:1 (metanol:ácido acético), recém preparado e gelado;
- 8. centrifugar durante 10 minutos a 900 rpm, descartando o sobrenadante;
- ressuspender o material, cuidadosamente, em 8 mL de fixador Carnoy, com o auxílio de uma pipeta Pasteur;
- 10. repetir os itens 8 e 9 por mais duas vezes. Após a última centrifugação e eliminação do sobrenadante, adicionar cerca de 1,5 mL de fixador e ressuspender o material com cuidado. Essa suspensão celular será então estocada em tubos "eppendorff" e mantida em *freezer* (-10 °C) para posterior observação.

II.2.3 Preparação das lâminas

- colocar as lâminas em solução sulfocrômica por 24 horas;
- 2. retirar e lavar em água corrente e destilada, armazenar em álcool 100%;
- 3. aquecer o banho-maria a 60 °C;

- colocar as lâminas, limpas e secas, em suporte sobre o banho-maria e gotejar a suspensão celular sobre três pontos diferentes desta lâmina;
- 5. secar diretamente ao ar;
- corar com Giemsa 5%, diluído em tampão fosfato 0,06M e pH 6,8, por 15 minutos;
- 7. lavar a lâmina em água destilada e secar ao ar;
- 8. analisar as lâminas sob microscópio óptico.

II.2.4 Caracterização das Regiões Organizadoras de Nucléolos – NORs

A caracterização das regiões organizadoras de nucléolo (NORs) foi feita utilizando-se a técnica descrita por Howell & Black (1980), que consiste em:

- 1. preparar as lâminas conforme o item II.2.3, mas não corar com Giemsa;
- 2. deixar envelhecendo por três dias em temperatura ambiente;
- colocar sobre a lâmina uma gota da solução de gelatina (2 g de gelatina comercial sem sabor, dissolvida em 100 mL de água destilada, acrescentando 1mL de ácido fórmico) e duas gotas de solução aquosa de nitrato de prata (AgNO₃) a 50 %, agitando levemente e cobrindo com lamínula;
- colocar em câmara úmida e levar ao banho-maria a 60°C, durante 4-5 minutos;
- 5. quando a lâmina adquirir uma coloração marrom dourada, retirar do banho-maria e lavar com água destilada, retirando a lamínula;
- 6. lavar com água destilada e secar ao ar;
- 7. analisar as lâminas sob microscópio óptico.

II.2.5 Caracterização da Heterocromatina Constitutiva (Banda C)

Para o estudo da heterocromatina constitutiva (banda C) foi utilizada a técnica descrita por Sumner (1972), com modificações, que consiste em:

- tratar a lâmina preparada segundo a técnica descrita para cromossomos mitóticos, com HCI 0,2 N a 42 °C, por 2 minutos;
- lavar rapidamente em água destilada e incubar a lâmina por um período de aproximadamente 2 minutos, em solução filtrada de Hidróxido de bário, (BaOH₂8H₂O) a 5% em banho-maria a 42 °C;
- interromper a ação do hidróxido de bário, imergindo rapidamente a lâmina em solução de HCI 0,2 N a 42 °C;
- 4. lavar em água destilada e secar ao ar;
- incubar em solução 2XSSC (Cloreto de sódio 0,3M e Citrato trisódico 0,03M, pH 6,8) a 60 °C, por 15 minutos em banho-maria;
- 6. lavar em água destilada e secar ao ar;
- 7. corar com solução de Giemsa a 5 %, em tampão fosfato pH 6,8, 0,06M, durante 8 minutos;
- 8. lavar em água destilada e secar ao ar;
- 9. analisar as lâminas sob microscópio óptico.

II.2.6 Análise cariotípica

Após a análise das metáfases foi estabelecido o número diplóide modal para cada espécie, sendo que para cada indivíduo foram contadas cerca de 30 metáfases.

As melhores metáfases, aquelas que apresentaram um bom espalhamento e morfologia mais nítida dos cromossomos, foram fotografadas em objetiva de imersão em microscópio Olympus BH-2, adaptado ao sistema PM-6 para fotografia.

Os negativos foram obtidos em filme IMAGELINK (Kodak) e AGFA regulado para asa 12. Os negativos foram selecionados e copiados em papel Kodabrome Print RC F3.

Os cromossomos foram recortados, emparelhados, montados e medidos com o auxílio de um paquímetro digital (Mitutoyo Sul Americana Ltda) e compasso de ponta seca. Para a classificação dos cromossomos foram medidas ambas as cromátides, determinando-se o comprimento médio do braço maior (BM), do braço menor (Bm) e o comprimento médio total (Ct).

A relação de braços (RB) foi calculada dividindo-se o comprimento médio do braço maior pelo comprimento médio do braço menor (RB=BM/Bm). O comprimento relativo (CR %) de cada par cromossômico foi obtido em relação ao comprimento médio total do lote haplóide.

Os cromossomos homólogos foram emparelhados em ordem decrescente de tamanho e separados em grupos, de acordo com a nomenclatura proposta por Levan *et al.* (1964) e classificados em metacêntricos (RB de 1,0 a 1,70), submetacêntricos (RB de 1,71 a 3,0), subtelocêntricos (RB de 3,01 a 7,00) e acrocêntricos (RB>7,0), onde RB=BM/Bm. Entretanto, para os peixes da família Cichlidae, os cromossomos têm sido agrupados em duas categorias: M/SM (RB= 1,0-3,0) e ST/A= (RB>3,0)

(Thompson, 1979). Para se determinar o número fundamental (NF), que é o número de braços cromossômicos do cariótipo, foram considerados os cromossomos do grupo M-SM como tendo dois braços e os do grupo ST-A como tendo um só braço.

Após a montagem do cariótipo de todos os exemplares verificou-se a existência de variabilidade intra-específica, avaliando a morfologia dos cromossomos, posição das NORs e o padrão da Banda C. Em seguida, comparou-se o cariótipo entre as espécies, de modo a verificar quais os principais rearranjos cromossômicos que ocorreram na subfamília Cichlasomatinae.

III. Resultados

III.1 Tribo Acaroniini

III.1.1 Acaronia nassa

A Tabela 3 mostra o número e sexo dos exemplares, local de coleta, número diplóide e total de células analisadas para *A. nassa*. O número diplóide modal para esta espécie foi 50 cromossomos, sendo todos do tipo subtelocêntrico-acrocêntrico (ST/A), perfazendo um número de braços (NF) igual a 50 (Figura 4a). Heteromorfismo cromossômico sexual e diferenças cromossômicas entre os locais de coleta não foram verificados.

O padrão da NOR foi do tipo simples e está presente em posição intersticial, nos braços longos do 25° par cromossômico (Figura 4b). Quanto à hetecromatina constitutiva, esta se apresentou na região pericentromérica de todos os cromossomos (Figura 4c).

Número e sexo dos	Local de coleta	Número diplóide				Nº de células
peixes	-	47	48	49	50	
2138 ♀	Catalão	0	2	6	20	28
2140 🔿	Catalão	0	9	2	24	35
2285 ♂	Catalão	0	5	4	28	37
3614 🖒	Catalão	0	1	1	11	13
7075 🖒	Barcelos	3	4	1	20	28
7079 🔿	Barcelos	3	0	2	21	26
7166 🔿	Jaú	2	2	2	19	25
7204 ♂	Jaú	1	2	1	18	22
7205 ♀	Jaú	3	0	1	20	24
7206 🍳	Jaú	2	1	1	26	30
7207 👌	Jaú	1	0	1	16	18
	TOTAL	15	26	22	223	286
	%	5,2	9,1	7,0	78,0	100

Tabela 3. Número diplóide, freqüência relativa (%) e locais de coleta, para machos e fêmeas de *Acaronia nassa.*


Figura 4. Características cariotípicas de Acaronia nassa: a) cariótipo em coloração convencional; b) em destaque o par nucleolar corado por AgNO₃; c) seqüencial do cariótipo em Giemsa, corado para banda C. ST/A= Subtelocêntrico/Acrocêntrico. Barra=5µm.

III.2. Tribo Heroini

III.2.1. Hoplarchus psittacus

A Tabela 4 mostra o número e sexo dos exemplares, local de coleta, número diplóide e total de células analisadas para *H. psittacus*. O número diplóide modal para esta espécie foi 48 cromossomos, sendo 14M/SM + 34ST/A (Figura 5a) e NF= 62. Heteromorfismo cromossômico sexual não foi verificado.

O padrão da NOR foi do tipo simples e esteve presente em posição terminal, nos braços curtos do 1º par cromossômico (Figura 5b). Quanto à heterocromatina constitutiva, esta se apresentou na região pericentromérica de todos os cromossomos, sendo que em alguns invadiu os braços curtos (Figura 5c).

Número e sexo dos	Local de coleta	Nu	úmero	diplói	de	Nº de células
peixes		46	47	48	49	
7320 ♀	Anavilhanas	0	0	45	0	45
7321 Å	Anavilhanas	2	0	21	0	23
7322 ♀	Anavilhanas	1	4	31	0	36
7323 🍳	Anavilhanas	2	1	75	0	78
7328 👌	Anavilhanas	3	0	29	0	32
7335 ♀	Anavilhanas	1	0	42	0	43
7342 🖒	Anavilhanas	0	0	43	0	43
7345 🖒	Anavilhanas	2	2	49	0	53
	TOTAL	11	7	335	0	353
	%	3,1	2,0	94,9	-	100

Tabela 4. Número diplóide, freqüência relativa (%) e locais de coleta, para machos e fêmeas de *Hoplarchus psittacus.*



Figura 5. Características cariotípicas de Hoplarchus psittacus: a) cariótipo em coloração convencional; b) em destaque o par nucleolar corado por AgNO₃; c) metáfase corada para banda C, as seta indicam o par nucleolar. M/SM= Metacêntrico/Submetacêntrico, ST/A= Subtelocêntrico/Acrocêntrico. Barra=5µm.

III.2.2. Hypselecara temporalis

A Tabela 5 mostra o número e sexo dos exemplares, local de coleta, número diplóide e total de células analisadas para *H. temporalis*. O número diplóide modal para esta espécie foi 48 cromossomos, sendo 12M/SM + 36ST/A, para machos e fêmeas, NF= 58 (Figura 6a e 7a).

O padrão da NOR foi do tipo simples nos machos, enquanto nas fêmeas dois pares de cromossomos estiveram envolvidos. As NORs estiveram presentes em posição terminal, nos braços curtos do 5º par, para ambos os sexos, sendo que as marcações apresentaram um heteromorfismos acentuado quanto ao tamanho. Nas fêmeas foram observadas marcações terminais também nos braços curtos do 6º par (Figura 6b e 7b). Muitas vezes, nos machos, a marcação pelo nitrato de prata foi observada em apenas um dos homólogos. Quanto à heterocromatina constitutiva, esta se apresentou na região pericentromérica de todos os cromossomos, sendo que em alguns foram visualizados blocos heterocromáticos se extendendo para as regiões proximais. (Figura 6c e 7c).

Tabela 5. Número diplóide, freqüência relativa (%) e locais de coleta, para machos e

Número e sexo	Local de coleta		Núm		Total de		
dos peixes		44	45	46	47	48	células
5595 ♂	Catalão	1	0	0	0	50	51
6056 ♂	Catalão	1	0	1	0	50	52
6057 ♀	Catalão	0	0	0	0	50	50
6110 <i></i> ∂	Catalão	0	0	0	0	30	30
6111 <i></i> ∂	Catalão	0	2	4	8	50	64
6112 ♀	Catalão	1	0	2	0	30	33
6114 ♀	Catalão	1	0	1	0	29	31
6129 ♀	Catalão	0	0	3	0	35	38
6130	Catalão	0	0	0	1	45	46
6161 ♂	Catalão	0	0	0	0	68	68
6482 ♀	Catalão	0	0	1	1	42	44
6483 ♀	Catalão	0	0	12	10	57	79
6780 ♀	Catalão	0	0	0	0	41	41
6791	Catalão	0	0	1	1	28	30
	Total	4	2	25	21	605	657
	%	0,6	0,3	3,8	3,2	92,1	100

fêmeas de Hypselecara temporalis.



Figura 6. Características cariotípicas de *H. temporalis:* a) cariótipo da fêmea em coloração convencional; b) em destaque os pares nucleolares corados por AgNO₃; c) caríotipo da fêmea corado para banda C. M/SM= Meta/submetacêntrico; ST/A= Subtelocêntrico/ acrocêntrico. Barra=5µm.



Figura 7. Características cariotípicas do macho de *H. temporalis:* a) cariótipo em coloração convencional; b) em destaque o par nucleolar corado por AgNO₃; c) cariótipo corado para banda C. M/SM= Meta/submetacêntrico; ST/A= Subtelocêntrico/ acrocêntrico. Barra=5µm.

III.2.3 Hypselecara coryphaenoides

A Tabela 6 mostra o número e sexo dos exemplares, local de coleta, número diplóide e total de células analisadas para *H. coryphaenoides*. O número diplóide modal para esta espécie foi 42 cromossomos, sendo 16M/SM + 26ST/A, NF=58 (Figura 8a). Heteromorfismo cromossômico sexual não foi verificado.

O padrão da NOR foi do tipo simples e esteve presente em posição terminal, nos braços curtos do 5° par cromossômico (Figura 8b). Quanto à heterocromatina constitutiva, esta se apresentou na região pericentromérica de todos os cromossomos; um par ST/A (10°) apresentou um bloco proximal no braço longo; o par nucleolar apresentou os braços curtos heterocromáticos, que pode ser coincidente ou adjacente à NOR (Figura 8c).

Tabela 6.	Número diplóide,	freqüências	relativas	(%) e	locais	de	coleta,	para	machos
	e fêmeas de Hyp	selecara cor	yphaenoid	des.					

Número e sexo	Local de coleta		Números diplóides						
dos peixes		38	39	40	41	42	células		
5990 ♀	Barcelos	0	1	2	1	72	76		
5994 🕈	Barcelos	0	0	2	0	59	61		
7032 ♀	Barcelos	0	0	0	0	39	39		
7076 🍳	Barcelos	0	0	0	0	85	85		
7080 🕈	Barcelos	0	0	1	0	45	46		
7175 ♀	Jaú	0	0	1	0	30	31		
7344 👌	Anavilhanas	0	0	0	0	27	27		
	Total	0	1	6	1	357	365		
	%	-	0,3	1,6	0,3	97,8	100		



Figura 8. Características cariotípicas de *Hypselecara coryphaenoides*: a) cariótipo em coloração convencional; b) em destaque o par nucleolar corado por AgNO₃; c) cariótipo corado para banda C. M/SM=Metacêntrico-submetacêntrico, ST/A= Subtelocêntrico-acrocêntrico. Barra=5µm.

III.2.4 Heros efasciatus

A Tabela 7 mostra o número e sexo dos exemplares, local de coleta, número diplóide e total de células analisadas para *Heros efasciatus*. O número diplóide modal para esta espécie foi 48 cromossomos, sendo 6M/SM + 42ST/A, NF= 54 (Figura 9a). Heteromorfismo cromossômico sexual e diferenças cromossômicas entre os locais de coleta não foram verificados.

O padrão da NOR foi do tipo simples e esteve presente em posição terminal, nos braços curtos do 9º par (Figura 9b). Quanto à heterocromatina constitutiva, esta se apresentou na região pericentromérica de todos os cromossomos, sendo que alguns blocos foram mais conspícuos. Um par ST/A (provavelmente o nucleolar) apresentou um bloco proximal no braço longo (Figura 9c).

Número e sexo dos	Local de coleta	Número diplóide				Nº de células
peixes		46	47	48	49	
7173 🖒	Jaú	0	1	10	0	11
7180 ♀	Jaú	4	2	36	0	42
7181 🕈	Jaú	2	7	31	0	40
7182 ♀	Jaú	5	4	24	0	33
TOTAL		15	17	170	0	202
%		7,4	8,4	84,2	0	100

Tabela 7. Número dipló	bide, freqüência	relativa (%) e	e locais de	coleta, para	a machos e
fêmeas de H	leros efasciatus	S.			



Figura 9. Características cariotípicas de *Heros efasciatus*: a) cariótipo em coloração convencional; b) em destaque o par nucleolar corado por AgNo₃; c) cariótipo em coloração para banda C. M/SM= Metacêntrico-submetacêntrico, ST/A= Subtelocêntrico-acrocêntrico. Barra=5µm.

III.2.5 Heros severus

A Tabela 8 mostra o número e sexo dos exemplares, local de coleta, número diplóide e total de células analisadas para *Heros severus*. O número diplóide modal para esta espécie foi 48 cromossomos, sendo 6M/SM + 42ST/A, NF=54 (Figura 10a). Heteromorfismo cromossômico sexual não foi verificado.

O padrão da NOR foi do tipo simples e esteve presente em posição terminal, nos braços curtos do 6º par cromossômico (Figura 10b). Quanto à heterocromatina constitutiva, esta se apresentou na região pericentromérica de todos os cromossomos (Figura 10c).

Número e sexo dos	Local de coleta	Número diplóide			Nº de células	
peixes		46	47	48	49	
6113 🖒	Catalão	4	4	55	0	63
6115 ♀	Catalão	4	3	20	0	27
6486 ♀	Catalão	2	1	33	0	36
6586 ♂	Catalão	1	3	34	0	38
6782 ♀	Catalão	3	0	35	0	38
TOTAL		10	8	108	0	126
%		7,9	6,3	85,8	0	100

Tabela 8. Número diplóide, freqüência relativa (%) e locais de coleta, para machos e fêmeas de *Heros severus.*



Figura 10. Características cariotípicas de *Heros severus*: a) cariótipo em coloração convencional; b) em destaque o par nucleolar corado por AgNo₃; c) cariótipo em coloração para banda C. M/SM= Metacêntrico-submetacêntrico, ST/A= Subtelocêntrico-acrocêntrico. Barra=5µm.

III.2.6 Uaru amphiacanthoides

A Tabela 9 mostra o número e sexo dos exemplares, local de coleta, número diplóide e total de células analisadas para *U. amphiacanthoides*. O número diplóide modal para esta espécie foi 46 cromossomos, sendo 8M/SM+38ST/A, NF=54 (Figura 11a). Heteromorfismo cromossômico sexual não foi verificado.

O padrão da NOR foi do tipo simples e esteve presente em posição terminal, nos braços curtos do 2º par cromossômico (Figura 11b). Quanto à heterocromatina constitutiva, esta se apresentou na região pericentromérica de todos os cromossomos. O par nucleolar (2º) apresentou os braços curtos totalmente heterocromáticos. Esta heterocromatina pode ser adjacente e/ou coincidente com a NOR (Figura 11c).

Tabela 9	Número	diplóide,	freqüência	relativa	(%) e	locais	de	coleta,	para	machos	; e
	fêmeas	de Uaru	amphiacan	thoides.							

Número e sexo dos	Local de coleta	Νί	ímero	diplói	Nº de células	
peixes		44	45	46	47	
7334 🖒	Anavilhanas	2	0	31	0	33
7359 ♂	Anavilhanas	4	2	31	0	37
7367 🖒	Anavilhanas	0	0	35	0	35
7385 ♀	Anavilhanas	1	1	11	0	13
7386 🍳	Anavilhanas	2	0	28	0	30
7389 ♀	Anavilhanas	3	1	15	0	19
7391 ♀	Anavilhanas	2	1	16	0	19
TOTAL		14	5	167	0	186
%		7,5	2,7	89,8	0	100



Figura 11. Características cariotípicas de *Uaru amphiacanthoides:* a) cariótipo em coloração convencional; b) em destaque o par nucleolar corado por AgNO₃; c) cariótipo corado para banda C. M/SM= Metacêntrico/submetacêntrico, ST/A= Subtelocêntrico/acrocêntrico. Barra=5µm.

III.2.7 Mesonauta insignis

A Tabela 10 mostra o número e sexo dos exemplares, local de coleta, número diplóide e total de células analisadas para *M. insignis*. O número diplóide modal para esta espécie foi 48 cromossomos sendo 12 M/SM+36 ST/A, e NF=60 (Figura 12a). Heteromorfismo cromossômico sexual não foi verificado.

O padrão da NOR foi do tipo múltiplo e esteve presente em posição terminal, nos braços curtos de dois pares do grupo ST-A, que por coloração seqüencial (Giemsa-AgNO₃;) pode-se sugerir que sejam 16° e 20° (Figura 12b). Quanto à heterocromatina constitutiva, esta se apresentou na região pericentromérica de cerca da metade dos cromossomos, sendo que nos demais não foram visualizadas marcações (Figura 12c).

Tabela 10. Número diplóide, freqüência relativa (%) e locais de coleta, para machos e fêmeas de *Mesonauta insignis.*

Número e sexo dos	Local de coleta	Ni	úmero	dipló	ide	Nº de células
peixes		45	46	47	48	
5315 ?	Barcelos	0	7	2	64	73
5441 ♀	Barcelos	0	4	0	39	43
5443 ♀	Barcelos	0	1	0	70	71
5445 💍	Barcelos	0	5	2	27	34
5446 ♀	Barcelos	0	4	0	34	38
5452 ♀	Barcelos	0	2	0	41	43
5970 💍	Barcelos	0	0	0	63	63
5996 ♀	Barcelos	0	0	0	29	29
TOTAL		0	23	4	367	394
%		-	5,8	1,0	93,2	100



Figura 12. Características cariotípicas de *Mesonauta insignis*: a) cariótipo em coloração convencional; b) em destaque os pares nucleolares corados por AgNo₃; c) metáfase somática corada para banda C. As setas indicam os pares nucleolares. M/SM= Metacêntrico-submetacêntrico, ST/A= Subtelocêntrico-acrocêntrico. Barra=5µm.

III.2.8 Mesonauta festivus

A Tabela 11 mostra o número e sexo dos exemplares, local de coleta, número diplóide e total de células analisadas para *M. festivus*. O número diplóide modal para esta espécie foi 48 cromossomos, sendo 12M/SM + 36ST/A, NF=60 (Figura 13a). Heteromorfismo cromossômico sexual não foi verificado.

O padrão da NOR foi do tipo múltiplo e esteve presente em posição terminal, nos braços curtos dos pares 16° e 20° (Figura 13b). Quanto à heterocromatina constitutiva, esta se apresentou na região pericentromérica da maioria dos cromossomos, sendo que alguns foram mais conspícuos (Figura 13c).

Número e sexo dos	Local de coleta	Ν	úmero	diplói	de	Nº de células
peixes		45	46	47	48	
5275 ♀	Catalão	0	7	2	64	73
5276 🍳	Catalão	0	4	0	39	43
5277 🍳	Catalão	0	1	0	70	71
5282 <i>ੋ</i>	Catalão	0	4	0	34	38
6641 ♀	Catalão	0	0	0	30	30
6642 ♀	Catalão	0	0	0	22	22
5601 ?	Catalão	0	2	0	25	27
	Total	0	18	2	284	304
	%	-	5,9	0,7	93,4	100

Tabela 11. Número diplóide, freqüência relativa (%) e locais de coleta, para machos e fêmeas de *Mesonauta festivus.*



Figura 13. Características cariotípicas de *Mesonauta festivus*: a) cariótipo em coloração convencional; b) em destaque os pares nucleolares corados por AgNo₃; c) metáfase somática corada para banda C. M/SM= Metacêntrico-submetacêntrico, ST/A= Subtelocêntrico-acrocêntrico. Barra=5µm.

III.2.9 Pterophyllum scalare

A Tabela 12 mostra o número e sexo dos exemplares, local de coleta, número diplóide e total de células analisadas para *P. scalare.* O número diplóide modal para esta espécie foi 48 cromossomos sendo 10 M/SM+38 ST/A e NF=58 (Figura 14a). Heteromorfismo cromossômico sexual e diferenças quanto ao local de coleta não foram verificados.

O padrão da NOR foi do tipo simples e esteve presente em posição terminal, nos braços curtos do primeiro par (Figura 14b). Quanto à heterocromatina constitutiva, esta se apresentou na região pericentromérica de todos os cromossomos, sendo alguns blocos mais conspícuos; o par nucleolar apresentou os braços curtos totalmente heterocromáticos. Esta heterocromatina pode ser adjacente e/ou coincidente com a NOR (Fig. 14c).

Número e sexo dos	Local de coleta	Número diplóide			Nº de células	
peixes		46	47	48	49	
6019 ♀	Catalão	2	6	31	0	39
6474 ♀	Catalão	4	7	34	0	45
6786 ♀	Manacapuru	0	5	28	0	33
6789 👌	Manacapuru	1	7	31	0	39
6920 ♂	Catalão	5	4	26	0	35
7072 💍	Barcelos	0	3	11	0	14
7208 ♂	R. Madeira	1	5	28	0	34
TOTAL		13	37	189	0	239
%		5,4	15,5	79,1	0	100

Tabela 12. Número diplóide, freqüência relativa (%) e locais de coleta, para machos e fêmeas de *Pterophyllum scalare.*



Figura 14. Características cariotípicas de *Pterophyllum scalare*: a) cariótipo em coloração convencional; b) em destaque o par nucleolar corado por AgNo₃; c) metáfase somática corada para banda C. As setas indicam o par nucleolar. M/SM=Metacêntrico/Submetacêntrico, ST/A= Subtelocêntrico/Acrocêntrico. Barra=5µm.

III.2.10 Pterophyllum altum

A Tabela 13 mostra o número e sexo do exemplar, local de coleta, número diplóide e total de células analisadas para *P. altum*. O número diplóide modal para esta espécie foi 46 cromossomos, sendo 10M/SM + 36ST/A, NF=56 (Figura 15a).

O padrão da região organizadora do nucléolo (NOR) foi do tipo simples e esteve presente em posição terminal, nos braços curtos do segundo par cromossômico (Figura 15b). Quanto à heterocromatina constitutiva, esta se apresentou na região pericentromérica de todos os cromossomos em blocos bastante conspícuos. O par nucleolar apresentou os braços curtos totalmente heterocromáticos. Esta heterocromatina pode ser adjacente e/ou coincidente com a NOR (Figura 15c).

Tabela 13. Número	diplóide,	freqüência	relativa	(%) e	e locais	de	coleta,	para	macho
de Pterc	phyllum	altum.							

Número e sexo do	Local de coleta	Número diplóide				Nº de células
peixe		43	44	45	46	
7372 🖒	Barcelos	0	5	2	63	70
	TOTAL	0	5	2	63	70
	%	-	7,1	2,9	90,0	100



Figura 15. Características cariotípicas de *P. altum*: a) cariótipo em coloração convencional; b) em destaque o par nucleolar corado por AgNo₃; c) cariótipo corado para banda C. M/SM= Metacêntrico/Submetacêntrico, ST/A= Subtelocêntrico/Acrocêntrico. Barra=5µm.

III.2.11 Pterophyllum leopoldi

A Tabela 14 mostra o número e sexo dos exemplares, local de coleta, número diplóide e total de células analisadas para *P. leopoldi*. O número diplóide modal para esta espécie foi 48 cromossomos, sendo 6M/SM + 42ST/A, NF=58 (Figura 16a). Heteromorfismo cromossômico sexual não foi verificado.

O padrão da NOR foi do tipo múltiplo e esteve presente em posição terminal, nos braços curtos do 4º e 5º pares cromossômicos, porém na maioria das metáfases apenas duas marcações foram visualizadas (Figura 16b). Quanto à heterocromatina constitutiva, esta se apresentou na região pericentromérica de todos os cromossomos, mas muito pálida (Figura 16c).

Número e sexo dos	Local de coleta	Número diplóide				Nº de Células
peixes		45	46	47	48	
6335 🖒	Careiro	0	0	0	20	20
6336 🖒	Careiro	1	1	0	16	18
6337 ♀	Careiro	0	0	0	51	51
6338 🗷	Careiro	0	0	0	26	26
	TOTAL	1	1	0	113	115
	%	0,9	0,9	-	98,2	100

Tabela 14. Número diplóide, freqüência relativa (%) e locais de coleta, para machos e fêmeas de *Pterophyllum leopoldi.*



Figura 16. Características cariotípicas de *P. leopoldi*: a) cariótipo em coloração convencional; b) em destaque os pares nucleolares corados por AgNO₃; c) metáfase somática corada para banda C. As setas indicam um dos pares nucleolares. M/SM=Metacêntrico/Submetacêntrico, ST/A= Subtelocêntrico/Acrocêntrico. Barra=5µm.

III.3. Tribo Cichlasomatini

III.3.1. Bujurquina peregrinabunda

A Tabela 15 mostra o número e sexo do indivíduo, local de coleta, número diplóide e total de células analisadas para *B. peregrinabunda*. O número diplóide modal para esta espécie foi 50 cromossomos, sendo 10 M/SM + 40 ST/A, NF=60. (Figura 17a).

O padrão da NOR foi do tipo simples e esteve presente em posição terminal, nos braços curtos do 1º par cromossômico, entretanto foi observado um acentuado heteromorfismo quanto ao tamanho das marcações (Figura 17b). Quanto à heterocromatina constitutiva, esta se apresentou na região pericentromérica de todos os cromossomos, sendo que alguns blocos foram mais conspícuos. A NOR apresentou-se negativa para banda C, mas com blocos heterocromáticos adjacentes (Figura 17c).

Tabela	15. Número	diplóide,	freqüência	relativa	(%) e	local	de	coleta,	de um	macho
	de <i>Buju</i>	rquina pe	eregrinabun	nda .						

Número e sexo dos	Local de coleta	Nu	úmero	dipló	Nº de Células	
peixes		47	48	49	50	
6980 ්	rio Branco	0	2	1	92	95
	TOTAL	0	2	1	92	95
	%	-	2,1	1,1	96,8	100



Figura 17. Características cariotípicas de *B. peregrinabunda*: a) cariótipo em coloração convencional; b) em destaque o par nucleolar corado por AgNO₃; c) cariótipo corado para banda C, em destaque o par nucleolar. M/SM= Metacêntrico/Submetacêntrico, ST/A= Subtelocêntrico/Acrocêntrico. Barra=5µm.

Tabela 16. Características cariotípicas das espécies estudadas (2n= número diplóide modal, M/SM= metasubmetacêntrico, ST/A= subtelo-acrocêntrico, NF= número fundamental ou número de braços; NOR= região organizadora do nucléolo; i=intersticial; t=terminal; p=braço curto; q=braço longo).

Tribo	Espécie	2n	FC	NF	NOR
Acaroniini	Acaronia nassa	50	50 ST/A	50	25°, i, q
Heroini	Hoplarchus psittacus	48	14.M/SM + 34 ST/A	62	1°, t, p
	Hypselecara temporalis	48	12 M/SM + 36 ST/A	60	5°, t, p
	H. coryphaenoides	42	16 M/SM + 26 ST/A	58	5°, t, p
	Heros efasciatus	48	6 M/SM + 42 ST/A	54	9°, t, p
	H. severus	48	6 M/SM + 42 ST/A	54	6°, t, p
	Uaru amphiacanthoides	46	8 M/SM + 38 ST/A	54	2°, t, p
	Mesonauta festivus	48	12 M/SM + 36 ST/A	60	16°, 20°, t, p
	M. insignis	48	12 M/SM + 36 ST/A	60	16°, 20°, t, p
	Pterophyllum scalare	48	10 M/SM + 38 ST/A	58	1°, t, p
	P. altum	46	10 M/SM + 36 ST/A	56	2°, t, p
	P. leopoldi	48	6 M/SM + 42 ST/A	54	4°, 5°, t, p
Cichlasomatini	Bujurquina peregrinabunda	50	10 M/SM + 40 ST/A	60	1°, t, p

IV. Discussão

IV. 1. Diversidade cariotípica em Cichlasomatinae

Thompson (1979), ao analisar citogeneticamente 41 espécies de ciclídeos neotropicais, inferiu que a evolução cromossômica destes peixes seria mais conservada que divergente, onde 2n=48 cromossomos do tipo ST/A representaria um caráter plesiomórfico. Qualquer variação a partir deste número representaria um caráter derivado para a família Cichlidae e também para a ordem Perciformes (Brum & Galetti, 1997). Baseado nisto, e visto que a maioria dos ciclídeos analisados tem apresentado 2n=48 cromossomos, existe uma tendência entre os autores em considerar a macroestrutura cromossômica da família como relativamente conservada (Thompson, 1979; Kornfield, 1984; Feldberg & Bertollo, 1985a; Martins *et al.,* 1995).

Porém, numa ampla revisão do ponto de vista cariotípico, Feldberg *et al.* (2003) sugeriram que a evolução cromossômica dos ciclídeos neotropicais não seria tão conservada, embora o número diplóide igual a 48 cromossomos, em sua maioria do tipo ST/A, fosse realmente a condição mais freqüente. Esta afirmação foi corroborada no presente trabalho, onde quatro números diplóides e seis números fundamentais foram verificados na análise de apenas treze espécies (Tabela 16). Além disso, há que se considerar a dificuldade em se estabelecer o emparelhamento dos cromossomos homólogos nos ciclídeos analisados, como já havia sido sugerido por Thompson (1979), e dos cromossomos serem agrupados em ordem decrescente de tamanho, em apenas duas categorias: metacêntrico/submetacêntrico (M/SM) e subtelocêntrico/acrocêntrico (ST/A).

Feldberg *et al.* (2003) ainda propôs que a evolução cromossômica dos ciclídeos neotropicais teria ocorrido em três direções evolutivas, considerando que 2n=48 cromossomos do tipo ST/A fosse o número diplóide ancestral, sendo elas:

1°) manutenção do número diplóide igual a 48 cromossomos, com poucos do tipo M/SM;

2º) diminuição do número diplóide (2n<48), com possível aumento de cromossomos de dois braços (M/SM);

3°) aumento do número diplóide (2n>48), que ocorreria por meio de fissões cêntricas, sendo este um evento mais recente, onde o ancestral teria passado por inversões pericêntricas anteriores, podendo assim aumentar o número de cromossomos com dois braços.

A primeira tendência, que considera a manutenção do 2n=48, foi observada em oito espécies da tribo Heroini: *Hoplarchus psittacus* (NF=62), *Hypselecara temporalis* (NF=60), *Heros efasciatus* (NF=54), *H. severus* (NF=54), *Mesonauta festivus* (NF=60), *M. insignis* (NF=60), *Pterophyllum scalare* (NF=58) e *P. leopoldi* (NF=54). Entretanto, o número de cromossomos com dois braços variou de 6 a 16 (NF=54 a 62), indicando que rearranjos do tipo inversão pericêntrica devem ter ocorrido nesta tribo.

A diminuição do número diplóide (2n<48) foi verificada em três espécies: *Hypselecara coryphaenoides (*2n=42, NF=58), *Uaru amphiacanthoides (*2n=46, NF=54) e *Pterophyllum altum* (2n=46, NF=56).

O aumento do número diplóide (2n>48) foi evidenciado em *Acaronia nassa (*2n=50, NF=50) e *Bujurquina peregrinabunda* (2n=50, NF=60).

Considerando essas três tendências, foi possível verificar que o número cromossômico e a fórmula cariotípica são suficientes para separar algumas espécies

dentro de seus gêneros, como *Hypselecara coryphaenoides* (2n=42, NF=58) e *H. temporalis* (2n=48, NF=60) (Figuras 6 e 7), bem como *Pterophyllum scalare* (2n=48, NF=58), *P. altum* (2n=46, NF=56) e *P. leopoldi* (2n=48, NF=54) (Figuras 13, 14 e 15). Ainda com relação a esse aspecto, comparando as três espécies de *Pterophyllum* estudadas, os dados cromossômicos sugerem que a espécie *P. altum* pode ser considerada a mais derivada e a diminuição do número diplóide teria ocorrido pela fusão envolvendo quatro cromossomos. Além disso, inversões pericêntricas teriam modificado o número de braços (NF).

Da mesma forma, uma análise comparativa entre os cariótipos das espécies *H. temporalis* (2n=48; 12 M/SM + 36 ST/A) e *H. coryphaenoides* (2n=42; 16 M/SM + 26 ST/A) permite inferir sobre a possível diferenciação cariotípica dessas espécies.

Novamente, admitindo que 2n=42 cromossomos represente um cariótipo mais derivado, pelo menos seis (6) fusões cêntricas estariam, provavelmente, implicadas na redução numérica de 2n=48 para 2n=42 cromossomos, com um conseqüente aumento do número de cromossomos M/SM e redução do número de cromossomos ST/A.

Uma boa evidência de que fusões cêntricas estariam de fato participando desse processo pode ser encontrada no tamanho relativo dos três primeiros pares de cromossomos do cariótipo de *H. coryphaenoides*, que se apresentam nitidamente bem maiores que os demais, não estando presentes em *H. temporalis*. Por outro lado, os demais cromossomos M/SM são morfologicamente similares entre as duas espécies, inclusive o cromossomo portador da NOR. Além das fusões cêntricas, rearranjos cromossômicos não Robertsonianos estariam também implicados na evolução cariotípica dessas espécies, explicando as diferenças adicionais quanto às suas fórmulas cariotípicas.

Muitos exemplos deste tipo de rearranjo podem ser encontrados na literatura. Em *Oncorhynchus* (Salmonidae/Salmoniformes) por exemplo, onde o número diplóide varia de 52 a 74 cromossomos e o número de braços permanece constante, a fusão cêntrica foi sugerida como principal evento evolutivo (Kirpichnikov, 1981). Na família Gobiidae (Perciformes), a fusão atua como uma tendência evolutiva na redução do número cromossômico para as espécies do gênero *Gobius* (Giles *et al.,* 1985). Na ordem Siluriformes, eventos de fusão cêntrica não são comuns, porém nas subfamílias Loricariidae e Ancistrinae, já foram descritos como um importante mecanismo evolutivo (Alves *et al.,* 2003).

Em Acaronia nassa (2n=50, NF=50) e Bujurquina peregrinabunda (2n=50, NF=60), (Figuras 4 e 16) o aumento do número dos cromossomos indica que, contrariamente, em alguma etapa de sua evolução ocorreram fissões cromossômicas. Um exemplo de fissão cêntrica em peixes da Amazônia foi reportado para duas espécies do gênero *Potamorhina* (Curimatidae/Characiformes), onde o número diplóide considerado ancestral para o gênero seria 54 cromossomos, todos com dois braços, com *Potamorhina latior* apresentando 2n=56 cromossomos e *P. altamazonica* 2n=102 cromossomos (Feldberg *et al.,* 1993), evidenciando o aumento no número cromossômico.

Complementando os eventos evolutivos de fissão e fusão, inversões como as encontradas nas espécies de ciclídeos, que apresentam a tendência em manter 2n=48, também são encontradas em outros grupos de peixes. Em Perciformes da família Labridae, a variação no número fundamental ancestral reflete principalmente ocorrência de inversões pericêntricas (Alvarez *et al.*, 1986). Em Characidae (Characiformes), Arefjev (1990) propõe que uma variação na estrutura cariotípica, com manutenção do

número diplóide pode ser sustentada por rearranjos do tipo inversões pericêntricas. O mesmo ocorre com a família Pomacanthidae (Perciformes) (Affonso *et al.*, 2002). Nos ciclídeos neotropicais a inversão pericêntrica também é um dos rearranjos mais freqüentes nas espécies analisadas (Feldberg *et al.*, 2003; Benzaquen *et al.*, submetido).

Para as espécies dos gêneros *Heros* e *Mesonauta,* apenas o número diplóide e fórmula cariotípica não são suficientes para separá-las citogeneticamente, sendo as técnicas de NOR e banda C, extremamente importantes nesta diferenciação.

IV. 2. Regiões Organizadoras Nucleolares e Heterocromatina

A presença de um único par de cromossomos nucleolares, com marcações localizadas em posição intersticial, tem sido uma característica freqüente para os Perciformes, especialmente naquelas espécies ditas conservadas do ponto de vista cromossômico, sugerindo que este seja o padrão básico para alguns grupos como os Notothenioidei (Ozouf-Costaz *et al.*, 1997), Sciaenidae (Feldberg *et al*, 1999) e Serranidae (Aguilar & Galetti,1997). O sistema de NORs simples, localizadas no(s) primeiro(s) par(es) do complemento cromossômico pode ser considerado um caráter plesiomórfico para os ciclídeos. Da mesma forma, a heterocromatina constitutiva, com marcações centroméricas em todos os cromossomos do complemento também pode ser considerado um caráter ancestral (Feldberg & Bertollo, 1985b; Feldberg *et al.*, 2003).

No presente trabalho, tais condições plesiomórficas foram observadas em: Hoplarchus psittacus (2n=48), Pterophyllum scalare (2n=48) e Bujurquina peregrinabunda (2n=50). H. psittacus, gênero monotípico, guarda as características plesiomórficas da família, porém apresenta 14 M/SM, que é um caráter considerado derivado para os ciclídeos. Para o gênero Bujurquina, apenas duas espécies têm o

número diplóide e fórmula cromossômica descritos: *B. vittata* (=*Aequidens paraguayensis*) (2n=44, 26M/SM+18ST/A) (Thompson, 1979; Marescalchi, 2005) e *B. peregrinabunda* (2n=50, 50 ST/A), do presente trabalho. Apesar de apenas duas espécies dentre 17 terem sido descritas, duas tendências evolutivas (2n<48 e 2n>48) foram visualizadas, no entanto pelo menos uma espécie (*B. peregrinabunda*) mantém alguns dos caracteres considerados plesiomórficos para a família.

NOR simples, mas não no 1º par e blocos heterocromáticos mais evidentes expandindo-se pelas regiões proximais podem ser considerados caracteres derivados (Feldberg *et al.*, 2003). Estes foram observados nas espécies: *Acaronia nassa, Hypselecara temporalis, H. coryphaenoides, Heros efasciatus, H. severus, Uaru amphiacanthoides e Pterophyllum altum.*

Em *A. nassa,* a NOR intersticial no 25° par, sugere uma possível fissão cêntrica no par nucleolar ancestral, M-SM, possivelmente um dos primeiros pares do complemento cariotípico.

Em *Hypselecara,* a NOR mostrou-se presente no 5º par, em ambas as espécies e nenhuma mostrou qualquer diferenciação cariotípica entre machos e fêmeas. Entretanto, nas fêmeas de *H. temporalis* sempre foi evidenciado um par a mais marcado pelo nitrato de prata (6º), que nos machos.

Casos de NOR associada a cromossomos sexuais já foram descritos para vários peixes. Fêmeas das espécies de *Triportheus* (Characiformes) sempre apresentaram um sinal positivo na hibridização *in situ* com sonda 18S, no braço longo do cromossomo W, nem sempre detectado por AgNO₃ (Artoni & Bertollo, 2001). Os autores sugerem que pode tratar-se de uma heterocromatina argentofílica ou de uma inativação de genes, mas neste gênero todas as espécies apresentam heteromorfismo cromossômico sexual

do tipo ZZ/ZW. No caso de *H. temporalis* pode ser apenas uma inativação de NORs, que é comum em peixes, e a hipótese de uma heterocromatina argentofílica também não pode ser descartada.

H. coryphaenoides apresentou um grande acúmulo de heterocromatina na região pericentromérica de todos os cromossomos, expandindo-se para os braços curtos e longos, além dos pares submetacêntricos apresentarem os braços curtos quase totalmente heterocromáticos. Evolutivamente, a heterocromatina constitutiva também pode desempenhar um papel significativo alterando a morfologia cromossômica por um processo de heterocromatinização ou de acúmulo, normalmente detectado nos braços curtos de cromossomos acrocêntricos (Sumner, 1990; Pieczarka & Mattevi, 1998). Galetti *et al.* (1991) postularam para espécies de anostomídeos (Characiformes) que a heterocromatina associada às NORs teria favorecido quebras e conseqüentes rearranjos durante a diferenciação específica deste grupo de peixes.

No caso de *Heros*, as duas espécies (*H. severus* e *H. efasciatus*) apresentaram a NOR na mesma localização do cromossomo (terminal, braço curto). Porém em *H. efasciatus* este sinal está localizado no 9º par e em *H. severus* está no 6º par.

As duas espécies analisadas do gênero *Mesonauta* apresentaram número e fórmula cromossômica idênticas, ficando evidente apenas um marcador, onde em *M. insignis* o maior par ST/A (7°) é bem maior do que o mesmo par em *M. festivus*. Em relação ao padrão de banda C, *M. insignis* apresentou heterocromatina constitutiva apenas em parte dos cromossomos e em blocos pálidos, enquanto *M. festivus* apresentou blocos pericentroméricos em todos os cromossomos e bem evidentes.

Os dados de NOR e banda C das espécies analisadas permitem considerá-los bons marcadores também para os ciclídeos. A heterocromatina associada às NORs

pode ter contribuído para a ocorrência dos rearranjos que levaram à mudança deste marcador de local/posição, ao longo da evolução cariotípica desse grupo.

IV. 3 Macroestrutura cromossômica na história Evolutiva dos ciclídeos neotropicais

Os citogeneticistas de peixes, com o intuito de agrupar informações evolutivas de um determinado grupo, usualmente sobrepõem dados cromossômicos sobre filogenias existentes (Oliveira *et al.,* 1988; Brum, 1995; Brum *et al.,* 1997; Affonso *et al.,* 2002). Isto, porque características do cariótipo de um organismo tais como número diplóide, fórmula cromossômica, localização e posição da região organizadora do nucléolo, blocos heterocromáticos específicos, entre outras, podem auxiliar na determinação dos padrões evolutivos de um determinado grupo (Oliveira *et al.,* 1988; Almeida-Toledo, 1998; Artoni *et al.,* 2000).

Para a família Cichlidae, atualmente, duas árvores filogenéticas são apresentadas: uma baseada apenas em dados morfológicos (Kullander, 1998) e a outra baseada nestes dados somados a dados moleculares (Farias *et al.,* 2000b). Ambas apontam para o monofiletismo dos ciclídeos neotropicais. Ainda, os dados moleculares sugerem uma maior variabilidade genética nos ciclídeos neotropicais quando comparados aos africanos.

A subfamília Cichlasomatinae, juntamente com o seu clado irmão Geophaginae são consideradas as subfamílias mais derivadas dentro da família Cichlidae (Kullander, 1998; Farias *et al.*, 2000b). Os dados citogenéticos existentes para estas subfamílias corroboram esta posição, principalmente da subfamília Cichlasomatinae, devido à
diversidade de números diplóides e fórmulas cariotípicas descritas para este clado (Tabela 1 e 16).

Nas Figuras 18 e 19 são apresentadas sobreposições dos dados cromossômicos obtidos no presente trabalho com as árvores filogenéticas mais recentes. Na filogenia proposta por Farias *et al.* (2000 b) (Figura 19) os dados não possuem tanta robustez quanto à análise para os gêneros, pois poucas espécies foram analisadas para cada um deles. Contudo, observando-se a árvore filogenética proposta por Kullander (1998), os dados citogenéticos do presente trabalho mostram uma melhor disposição para os gêneros dentro da filogenia de cada tribo. Por exemplo, o gênero *Acaronia* está na tribo basal para a subfamília e mesmo aumentando o número diplóide (2n=50), *A. nassa* manteve a condição plesiomórfica para o caráter "cromossomos acrocêntricos".

O gênero *Hoplarchus*, que é basal para a tribo Heroini, apresentou vários caracteres derivados, tais como fórmula cariotípica, posição da NOR e de blocos heterocromáticos. No presente estudo, *H. psittacus* manteve caracteres plesiomórficos que corroboram esta posição.

Pterophyllum leopoldi, Mesonauta insignis e *M. festivus,* analisadas no presente trabalho, apresentaram NORs múltiplas e dentro da tribo Heroini são considerados grupos irmãos por Kullander (1998).

Portanto, os dados citogenéticos obtidos para as trezes espécies de ciclasomíneos, em uma comparação preliminar, corroboram a posição derivada deste clado, aproximando-se mais da filogenia proposta por Kullander (1998).

57



Figura 18. Dados cariotípicos sobrepostos à árvore filogenética da subfamília Cichlasomatinae proposta por Kullander (1998). 2n=número diplóide, fórmula cariotípica, NF=número fundamental, p=braço curto, q=braço longo, t=terminal, i=intersticial, M/SM=metacêntrico/submetacêntrico, ST/A=submetacêntrico/acrocêntrico).



Figura 19. Dados cariotípicos sobrepostos à árvore filogenética da subfamília Cichlasomatinae proposta por Farias *et al.* (2000b). 2n=número diplóide, fórmula cariotípica, NF=número fundamental, p=braço curto, q=braço longo, t=terminal, i=intersticial, M/SM=metacêntrico/submetacêntrico, ST/A=submetacêntrico/acrocêntrico).

V. Conclusões

- A subfamília Cichlasomatinae apresentou três tendências quanto à evolução cariotípica: 2n<48 (três espécies), 2n=48 (oito espécies), 2n>48 (duas espécies), evidenciando a ocorrência de rearranjos Robertsonianos (fissão e fusão cêntrica) e não Robertsonianos (inversão pericêntrica) na sua evolução cariotípica.
- 2. Três espécies apresentaram NOR simples localizada no primeiro par do complemento (caráter plesiomórfico); nove apresentaram NOR simples, mas não no primeiro par; ao lado de outras quatro apresentando NORs múltiplas (caráter derivado), evidenciando rearranjos associados aos cromossomos portadores das NORs.
- Todas as espécies analisadas apresentaram heterocromatina na região pericentromérica de todos os cromossomos, sendo que algumas apresentaram blocos mais conspícuos.
- 4. Os dados citogenéticos obtidos para as trezes espécies de ciclasomíneos corroboram a posição derivada deste clado nas árvores filogenéticas mais atuais propostas para a família Cichlidae.

V. Referências bibliográficas

- Affonso, P.R.M.; Guedes, W.; Pauls, E.; Galetti, P.M. 2002. Close karyotypical relationship between two species of marine angelfishes from South Atlantic: *Pomacanthus arcuatus* and *P. paru* (Perciformes, Pomacanthidae). *Caryologia*, 55 (4): 323-329.
- Aguilar, C.T.; Galetti, P.M. 1997. Chromosomal studies in South Atlantic serranids (Pisces, Perciformes). *Cytobios*, 89: 105-114.
- Almeida-Toledo, L.F.; Toledo-Filho, S.A.; Foresti, F.; Bernadino, G.; Ferrari, W.; Alcântara, R.C.G. 1987. Cytogenetic studies in *Colossoma mitrei, C. macropomum* and their interspecific hybrids. *In*: K.Tiews (ed).*Selection hybridization and genetic engineering in aquaculture*, 1: 190-195.
- Almeida-Toledo, L.F. 1996. Molecular and immunocytogenetics of Brazilian fishes. *Ciência e Cultura*, 48 (5-6): 377-382.
- Almeida-Toledo, L.F. 1998. Cytogenetic markers in neotropical freshwater fishes. *In:*Malabarba, L.R.; Reis, R.E.; Vari, R.P.; Lucena, Z.M.S.; Lucena, C.A.S. (eds). *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes*. Edipucrs, Porto Alegre, Brasil.
 p. 583-588.
- Alvarez, M.C.; Garcia, E.: Thode, G. 1986. Contribution to the karyoevolutive study of the Labridae (Perciformes). The karyotypes of *Ctenolabrus rupestris* and *Symphodus ocellatus*. *Caryologia*, 39 (3-4): 353-357.

- Alves, A.L.; Oliveira, O.; Foresti, F. 2003. Karyotype variability in eight species of the subfamilies Loricariinae and Ancistrinae (Teleostei, Siluriformes, Loricariidae). *Caryologia*, 56 (1): 57-63.
- Alves-Brinn, M.N.; Porto, J.I.R.; Feldberg, E. 2004. Karyological evidence for interspecific hybridization between *Cichla monoculus* and *C. temensis* (Perciformes, Cichlidae) in the Amazon. *Hereditas*, 141 (1): 1-6.
- Arefjev, V.A. 1990. Problems of karyotypic variability in the family Characidae (Pisces, Characiformes) with the description of somatic karyotypes for six species of tetras. *Caryologia*, 43 (3-4): 305-319.
- Artoni, R.F.; Vicari, M.R.; Bertollo, L.A.C. 2000. Citogenética de peixes neotropicais: métodos e perspectivas. *Publicatio UEPG*, 6 (1): 43-60.
- Artoni, R.F.; Bertollo, L.A.C. 2001. Trends in the karyotype evolution of Loricariidae fish (Siluriformes). *Hereditas*, 134: 201-210.
- Barthem, R.B.; Fabré, N.N. 2004. Biologia e diversidade dos recursos pesqueiros da Amazônia. In: Ruffino, M. L. (ed.). A pesca e os recursos pesqueiros na Amazônia brasileira. ProVárzea/IBAMA, p. 17-58.
- Benzaquem, D.C.; Porto, J.I.R.; Zuanon, J.A.S.; Gross, M.C.; Feldberg, E. (Submetido).Cytotaxonomy and karyoevolution of genus *Crenicichla* (Perciformes, Cichlidae). *Genetics and Molecular Biology*.
- Bertollo, L.A.C.; Takahashi, C.S.; Moreira Filho, O. 1978. Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). *Brazilian Journal of Genetic* 7: 103-120.

- Brum, M.J.I. 1995. Correlações entre a Filogenia e a Citogenética dos Peixes Teleósteos. *Série Monografias* (Sociedade Brasileira de Genética), Nº 2: 5-42.
- Brum, M.J.I.; Galetti, P.M. 1997. Teleostei ground plan karyotype. *Journal Comparative Biology*, 2 (2): 91-102.
- Centofante, L.; Porto, J.I.R.; Feldberg, E. 2002. Chromosomal polymorphism in *Serrasalmus spilopleura* Kner, 1858 (Characidae, Serrasalminae) from Central Amazon Basin. *Caryologia*, 55: 37-45.
- Chao, N. L. 1995. Ornamental fish resource of Amazonia and aquatic conservation. *OFI Journal,* Part 1. Species diversity, 12: 241-260.
- Chao, N. L. 2001. The fishery, diversity, and conservation of ornamental fishes in the rio Negro Basin, Brazil - A review of Project Piaba (1989-99). *In*: Chao, N.L; Prang, G.; Sonneschein, L.; Tlusty, M. (Eds). *Conservation and management of ornamental fish resources of the rio Negro Basin, Amazonia, Brazil - Project Piaba*. Editora da Universidade do Amazonas, Manaus-AM, Brasil. p. 161-204.
- Cichocki, F.P. 1976. Cladistic history of cichlid fishes and reproductive strategies of the American genera *Acarichthys, Biotodoma* and *Geophagus*. Unpublished PhD dissertation, University Michigan, Ann Arbor, USA.
- Denton, T.E. 1973. *Fish chromosome methodology*. Charles C. Thomas Publ. Illinois, 166 p.
- Farias, I. P.; Schneider, H.; Sampaio, I. 1998. Molecular phylogeny of neotropical cichlids: The relationships of Cichlasomines and Heroines. *In*: Malabarba, L. R.; Reis, R.E.;

Vari, R.P.; Lucena, Z.M.; Lucena, C.A.S. (Eds.) *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes*. Porto Alegre, Edipucrs. p. 409-508.

- Farias, L.N.; Nagamachi, C.Y.; Barros, R.M.; Rodrigues, L.R.R. Pieczarka, J.C. 2000a.
 Estudos citogenéticos em *Aequidens tetramerus* e *Satanoperca acuticeps* (Perciformes, Cichlidae) do rio Peixe-boi, (Amazônia-PA). *Anais do VIII Simpósio de Citogenética e Genética de Peixes:* 31.
- Farias, I.P.; Ortí, G.; Meyer, A. 2000b. Total evidence: molecules, morphology, and the phylogenetics of cichlid fishes. *Journal Experimental Zoology (Mol. Dev. Evol.)*, 288: 76-92.
- Feldberg, E; Bertollo, L.A.C. 1985a. Karyotypes of 10 species of neotropical cichlids (Pisces, Perciformes). *Caryologia*, 38 (3-4): 257-268.
- Feldberg, E; Bertollo, L.A.C. 1985b. Nucleolar organizer regions in some species of Neotropical cichlid fish (Pisces, Perciformes). *Caryologia*, 38 (3-4): 319-324.
- Feldberg, E.; Porto, J.I.R.; Bertollo, L.A.C. 1992. Karyotype evolution in Curimatidae (Teleostei, Characiformes) of the Amazon region. I. Studies on the genera *Curimata, Psectrogaster, Steindachnerina* and *Curimatella. Brazilian Journal of Genetics,* 15 (2): 369-383.
- Feldberg, E.; Porto, J.I.R.; Bertollo, L.A.C.; Nakayama, C.M. 1993. Karyotype evolution in Curimatidae (Teleostei, Characiformes) from the Amazon region. II. Centric fissions in the genus *Potamorhina. Genome*, 36: 372-376.

- Feldberg, E.; Porto, J.I.R.; Santos, E.B.P.; Valentim, F.C.S. 1999. Cytogenetic studies of two freshwater scianids of the genus *Plagioscion* (Perciformes, Sciaenidae) from the central Amazon. *Genetic and Molecular Biology*, 22 (3): 351-356.
- Feldberg, E.; Porto, J.I.R.; Bertollo, L.A.C. 2003. Chromosomal changes and adaptation of cichlid fishes during evolution. *In*: Val, A.L.; Kapoor, B.G. *Fish Adaptation*. IBH & Oxford, New Dehli & New York. p. 287-310.
- Feldberg, E.; Porto, J.I.R.; Alves-Brinn, M.N.; Mendonça, M.N.C.; Benzaquem, D.C. 2004.
 B chromosomes in Amazonian cichlid species. *Cytogenetic and Genome Research*, 106: 195-198.
- Foresti, F.; Oliveira, O.;Galetti, P.M.; Almeida-Toledo, L.F. 1993. Synaptonemal complex analysis in spermatocytes of tilapia, *Oreochromis niloticus* (Pisces, Cichlidae). *Genome*, 36: 1124-1128.
- Galetti, P.M.; Mestriner C.A.; Venere, P.C.; Foresti, F, 1991. Heterocromatin and karyotype reorganization in fish of the family Anostomidae (Characiformes). *Cytogenetic Cell Genetic*, 56:116-121.
- Giles, V.; Thode, G.; Alvarez, M.C. 1985. A new Robertsonian fusion in the multiple chromosome polymorphism of a mediterranean population of *Gobius paganellus* (Gobiidae, Perciformes). *Heredity*, 55: 255-260.
- Gross, M.C. 2006. Comportamento cromossômico meiótico e mitótico de acarás-disco (Symphysodon aequifasciatus e Symphysodon discus, Cichlidae, Perciformes)

da Amazônia Central. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Amazonas/Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Manaus, Brasil. 67pp.

- Harvey, S.C.; Masabanda, J.; Carrasco, L.A.P.; Bromage, N.R.; Penman, D.J.; Griffin, D.K.
 2002. Molecular-cytogenetic analysis reveals sequence differences between the sex chromosomes of *Oreochromis niloticus*: evidence for an early stage of sex-chromosome differentiation. *Cytogenetic and Genome Research*, 79: 76-80.
- Hinegardner, R.; Rosen, D.E. 1972. Cellular DNA content and the evolution of teleostean fishes. *The American Naturalist*, 106 (951): 621-644.
- Howell, W.M.; Black, D.A. 1980. Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia*, 3: 1014-1015.
- IBAMA, 2005. Instrução normativa N° 13, de 9 de junho de 2005. Legislação para espécies de peixes ornamentais.
- Kim, D.S.; Nam, Y.K.; Noh, J.K.; Park, C.H.; Chapman, F.A. 2005. Karyotype of North American shortnose sturgeon *Acipenser brevirostrum* with the highest chromosome number in the Acipenseriformes. *Ichthyological Research*, 52: 94-97.
- Kirpichnikov, V.S. 1981. The evolution of karyotypes among cyclostomes and fishes. *In*.. *Genetic bases of fish selection*. Springer-Verlag, New York. p. 1-44.
- Kornfield, I.L. 1979. Evidence for rapid speciation in African cichlid fishes. *Experientia*, 34: 335-336.

- Kornfield, I.L.; Ritte, U.; Richler, C.; Wahrman, J. 1979. Biochemical and cytological differentiation among cichlid fishes of the sea of Galilee. *Evolution*, 33 (1): 1-14.
- Kornfield, I.L. 1984. Descriptive genetics of cichlid fishes. *In*: Turner, B.J. (ed.) *Evolutionary Genetics of fishes*. Plenum press, New York and London. p. 591-610.
- Krychanã, S.R.L.; Falcão, J.N.; Feldberg, E.; Porto, J.I.R. 1996. Caracterização citogenética de três espécies de peixes ornamentais da bacia Amazônica. Anais do *VI Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais*: 91.
- Kullander, S.O. 1983. A revision of the South American cichlid genus Cichlasoma (Teleostei: Cichlidae). Naturhistoriska Riksmuseet, Stockholm, 296pp.
- Kullander, S.O. 1986. *Cichlid fishes of the Amazon River drainage of Peru.* Swedish Museum of Natural History. Stockholm, 431 pp.
- Kullander, S.O.; H. Nijssen. 1989. *The cichlids of Surinam (Teleostei: Labroidei)*. E.J. Brill Publication, Leiden, 256p.
- Kullander, S. O. 1996. Heroina isonycteina, a new genus and species of cichlid fish from western Amazonas, with comments on cichlasomine systematics. Ichtyological Explorer Freshwater, 7: 149-172.
- Kullander, S.O. 1998. A phylogeny and classification of the South American Cichlidae (Teleostei: Perciformes). *In*: Malabarba, L. R.; Reis, R.E.; Vari, R.P.; Lucena, Z.M.; Lucena, C.A.S. (Eds.). *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes*. Edipucrs, Porto Alegre, Brasil. p. 461-498.

- Kullander, S.O. 2003. Family Cichlidae. In: Reis, R.R.; Kullander, S.O.; Ferraris. C.J. (Eds). Check list of the freshwater of South and Central America. Edipucrs, Porto Alegre, Brasil. p. 605-654.
- Levan, A.; Fredga, K.; Sandberg, A.A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52: 201-220.
- Lowe-McConnell, R.H. 1991. Ecology of cichlids in South American and African waters excluding the African Great Lakes. *In*: M.H.A. Keenleyside, (Ed.) *Cichlid fishes: behavior, ecology and evolution.* Croom Helm, London. p. 61-85.
- Lozano, R.; Rejon, C.R.; Rejon, M.R. 1988. Method for increasing the number of mitose available for cytogenetic analysis in rainbow trout. *Stain Tecnology*, 63 (6): 335-338.
- Marescalchi, O. 2005. Karyotype and mitochondrial 16S gene characterizations in seven South American Cichlasomatini species (Perciformes, Cichlidae). *Journal of Zoological Systematics & Evolutionary Research*, 43 (1): 22-28.
- Martins, I.C.; Portella-Castro, A.L.B.; Julio-Jr., H.F. 1995. Chromosome analysis of five species of the Cichlidae family (Pisces, Perciformes) from the Parana River. *Cytologia*, 60: 223-231.
- Mesquita, D. R. 2002. Análise da variabilidade cromossômica do peixe ornamental "acará disco" (Symphysodon discus Heckel, 1840, S. aequifaciatus Pellegrin, 1904, Cichlidae) do Amazonas. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos/Universidade Federal do Amazonas. Manaus, AM. 75pp.

- Nakayama, C.M.; Porto, J.I.R.; Feldberg, E. 2000. Ocorrência de dois citótipos em *Serrasalmus spilopleura* Kner, 1858 (Characiformes, Serralmidae) da região de confluência dos rios Negro e Solimões. *Acta Amazonica*, 30 (1): 149-154.
- Nakayama, C.M.; Jégu, M.; Porto, J.I.R.; Feldberg, E. 2001. Karyological evidence for a cryptic species of Piranha within *Serrasalmus rhombeus* (Characidae, Serrasalminae) in the Amazon. *Copeia*, 2001 (3): 866-869.
- Nakayama, C.M.; Porto J.I.R.; Feldberg E. 2002. A comparative cytogenetic study of five piranha species (*Serrasalmus*, Serrasalminae) from the Amazon basin. *Genetica*, 114: 231-236.
- Nascimento, F.L.; Catella, A.C.; Moraes, A.S. 2001. Distribuição espacial do tucunaré, *Cichla* sp. (Pisces, Cichlidae), peixe amazônico introduzido no Pantanal, Brasil. – *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento*, 24: 1-15. EMBRAPA Pantanal, Corumbá, MS.
- Nascimento, A.L. 2005. Estudos citogenéticos em peixes das subfamílias Astronotinae, Geophaginae e Cichlasomatinae (Perciformes, Cichlidae) do Pará. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Pará. Belém, Brasil. 75pp.
- Ohno, S.; Atkin, N.B. 1966. Comparative DNA values and chromosome complements of eight species of fishes. *Chromosoma*,18: 455-466.
- Oliveira, C.; Almeida-Toledo, L.F.; Foresti, F.; Britski, H.A.; Toledo-Filho, S.A. 1988. Chromosome formulae of Neotropical freshwater fishes. *Brazilian Journal of Genetics*, 11: 577-624.

- de Oliveira, R.R. 2006. Diversidade cariotípica entre dez espécies do gênero Ancistrus (Siluriformes, Loricariidae) da bacia Amazônica: estrutura e mecanismos de evolução cromossômica. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Amazonas/Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas. 81pp.
- Ozouf-Costaz, C.; Pisano, E.; Thaeron, C. ; Hureau, J. 1997. Antarctic fish chromosome banding: significance for evolutionary studies. *Cybium*, 21 (4): 399-409.
- Pieczarka, J.C.; Mattevi, M.S. 1998. Heterocromatina constitutiva. *Série Monografias* (Sociedade Brasileira de Genética), Nº 7: 185-225.
- Porto, J.I.R.; Feldberg, E.; Falcão, J.N.; Nakayama, C.M. 1993. Cytogenetics studies in Hemiodidae (Ostariophysi: Characiformes) fishes from the Central Amazon. *Cytologia*, 58: 397-402.
- Porto, J.I.R.; Feldberg, E. 1993. Is *Callichthys* Linné (Siluriformes, Callichthyidae) a monotypic genus? *Acta Amazonica*, 24 (2): 311-314.
- Reis, R.E.; Kullander, S.O.; Ferraris. C.J. 2003. *Check list of the freshwater fish of South and Central America*. Edipucrs, Porto Alegre. 729pp.
- Rocha-Oliveira, F.; Porto, J.I.R.; Feldberg, E. 2004. Análise cromossômica do acarádisco (*Symphysodon* spp., Cichlidae, Perciformes) dos lagos Bouana (rio Tefé) e acari (rio Madeira), Amazonas. *Anais da XIII Jornada de Iniciação Científica do PIBIC/CNPq/FAPEAM/INPA*, Manaus, Brasil. p. 76-77.

- Salgado, S.M.; Feldberg, E.; Porto, J.I.R. 1994. Estudos citogenéticos na família Cichlidae (Perciformes, Labroidei) da bacia Amazônia central. *Anais do V Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais:* 47.
- Salgado, S.M.; Feldberg, E.; Porto, J.I.R. 1995. Estudos citogenéticos em cinco espécies da família Cichlidae (Perciformes-Labroidei), da bacia Amazônica central. *Revista Brasileira de Genética* (Suplemento) 18: 463.
- Salgado, S.M.; Feldberg, E.; Porto, J.I.R. 1996a. Ocorrência de microcromossomos em *Symphysodon discus* (Perciformes, Cichlidae) da bacia Amazônica. *Anais do VI Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais:* 88.
- Salgado, S.M.; Feldberg, E.; Porto, J.I.R. 1996b. Ocorrência de citótipos diferentes em *Symphysodon aequifasciatus* (Perciformes, Cichlidae) da bacia Amazônica. *Anais do VI Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais:* 89.
- Santos, G.M.; Ferreira, E.J.G.; Zuanon, J.A.S. 1991. Ecologia de peixes da Amazônia. *In*: Val, A.L.; Figliuolo, R.; Feldberg, E. (Eds). *Bases científicas para estratégias de preservação e Desenvolvimento da Amazônia: fatores e perspectivas.* INPA, Manaus, Amazonas. V. 1, p. 263-280.
- Santos, G.M.; Ferreira, E.J.G. 1999. Peixes da bacia amazônica. In Lowe-McConnell, R.H. *Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais.* EDUSP, p. 345-373.
- Santos, A.C.; Nakayama, C.M.; Feldberg, E. 2001. Estudos citogenéticos no gênero *Mesonauta* (Perciformes: Cichlidae) da bacia Amazônica. *Anais da X Jornada de Iniciação Científica do INPA:* 123-125.

- Souza, A.C.P. 2003. Descrição cariotípica de peixes dos gêneros Baryancistrus, Parancistrus, Peckoltia e Ancistrus (Ancistrinae, Loricariidae) da bacia Amazônica. Dissertação de Mestrado (Zoologia), Universidade Federal do Pará/Museu Paraense Emílio Goeldi. 130pp.
- Stiassny, M.L.J. 1991. Phylogenetic intrarelationships of the family Cichlidae: an overview. *In*: Keenleyside, M.H.A. (Ed.) *Cichlid fishes. Behaviour, ecology and evolution,* Chapman & Hall, London, p. 1-35.
- Sumner, A.T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental Cell Research,* 74: 304-306.
- Sumner, A.T. 1990. *Chromosome banding*. 1° Ed. Vol. 1. Unwin Hyman Inc., Londres, UK. 434 p.
- Thompson, K.W. 1979. Cytotaxonomy of 41 species of Neotropical Cichlidae. *Copeia*, 1979 (4): 679-691.
- Uribe-Alcocer, M.; Tellez-Vargas, C.; Diaz-Jaimes, P. 1999. Chromosomes of *Cichlasoma istlanum* (Perciformes: Cichlidae) and karyotype comparison of two presumed subspecies. *Revista de Biología Tropical*, 47 (4): 1051-1059.
- Valentim, F.C.S.; Falcão, J.N.; Porto, J.I.R.; Feldberg, E. 2006. Chromosomes of three freshwater stingrays (Rajiformes, Potamotrygonidae) from the Rio Negro Basin, Amazon, Brazil. *Genetica*, 128: 33-39.