

ROGER RAUPP CIPRIANO

**ESTUDOS CITOGENÉTICOS EM TELEÓSTEOS MARINHOS PERTENCENTES
A BAÍA DE PARANAGUÁ – PARANÁ, BRASIL.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Genética do Setor de Ciências Biológicas, Departamento de Genética da Universidade Federal do Paraná, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Genética.

Orientadora: Prof^a. Dra. Marta Margarete Cestari

CURITIBA

2005

**Universidade Federal do Paraná
Sistema de Bibliotecas**

Cipriano, Roger Raupp

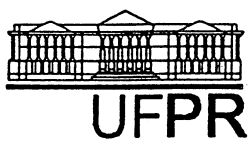
**Estudos citogenéticos em teleósteos marinhos
pertencentes a Baía de Paranaguá-Paraná-Brasil./ Roger
Raupp Cipriano. – Curitiba, 2005.
x, 102f. : il. ; 30cm.**

Orientadora: Marta Margarete Cestari

**Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná,
Setor de Ciências Biológicas.**

**1. Genética 2. Citogenética 3. Peixe marinho 4. Teleósteos
I. Título II. Cestari, Maria Margarete III. Universidade Federal
do Paraná. Setor de Ciências Biológicas.**

CDD(20.ed.) 575



Ministério da Educação e Desporto
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA
Programa de Pós-Graduação em Genética

P A R E C E R

Os abaixo-assinados, membros da Banca Examinadora da defesa de dissertação de Mestrado, a que se submeteu **ROGER RAUPP CIPRIANO**, para fins de adquirir o título de Mestre em Ciências Biológicas na área de Genética da Universidade Federal do Paraná, no Curso de Pós-Graduação em Genética, são de parecer que se confira ao candidato o conceito "A".

Secretaria da Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Genética do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

Curitiba, 24 de fevereiro de 2005.

Banca Examinadora:

Prof. Dra. Marta Margarete Cestari
Orientadora e Presidente

Prof. Dr. Roberto Ferreira Artoni
Membro

Prof. Dr. Alberto Sérgio Fenocchio
Membro (1)

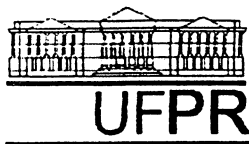
Prof. Dr. Wagner Fráncio Molina
Membro (1)

Visto:

Prof. Dra. Chirléi Glienke de Blanco

Vice-Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Genética
(1) Membro "ad hoc".





Ministério da Educação e Desporto
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA
Curso de Pós-Graduação em Genética

FORMULÁRIO DE JULGAMENTO DE DISSERTAÇÃO – MESTRADO

Título da dissertação: *“Estudos Citogenéticos em Teleosteos Marinhos Pertencentes à Baía de Paranaguá – Paraná, Brasil”.*

Autor (a): Roger Raupp Cipriano

Orientador (a): Doutora Marta Margarete Cestari

Análise de Dissertação: outorgar os conceitos parciais e o global segundo a seguinte escala:

A (Excelente = 9,0 a 10,0);

B (Bom = 8,0 a 8,9);

C (Regular = 7,0 a 7,9) e

D (Insuficiente = 0,0 a 6,9).

Somente será aprovada a dissertação que atingir conceito global C ou superior.

Conceitos

1. Execução da parte experimental, aplicação correta de métodos adequadas à solução do problema proposto.
2. Análise e aproveitamento dos resultados
3. Revisão da bibliografia especializada
4. Relacionamento dos resultados obtidos com os conhecimentos atuais
5. Apresentação geral, consistência e adequação da linguagem, uso de Figuras, tabelas e gráficos

A

A

A

APRECIACÃO FINAL GLOBAL

Assinatura: _____

Examinador: Prof. Dr. ALBERTO SÉRGIO FENOCCHIO

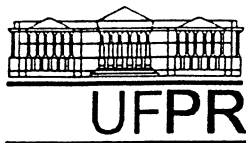
Universidade: UNIVERSIDAD NACIONAL DE MISIONES.(AR)

Data do envio do julgamento: 21 / 02 / 2005 Obs.: (Data de defesa = 24/02/2005).

OBSERVAÇÕES:

a) Favor apresentar, em folha anexa, suas críticas e sugestões sobre os itens acima e outros aspectos que julgar convenientes.

b) A escolha do problema, seu equacionamento, o plano de pesquisa e sua adequação ao nível de Mestrado são responsabilidades do Prof. Orientador, que agradecerá se V. S^a. quiser enviar sugestões e críticas.



FORMULÁRIO DE JULGAMENTO DE DISSERTAÇÃO – MESTRADO

Título da dissertação: *“Estudos Citogenéticos em Teleosteos Marinhos Pertencentes à Baía de Paranaguá – Paraná, Brasil”.*

Autor (a): Roger Raupp Cipriano

Orientador (a): Doutora Marta Margarete Cestari

Análise de Dissertação: outorgar os conceitos parciais e o global segundo a seguinte escala:

A (Excelente = 9,0 a 10,0);

B (Bom = 8,0 a 8,9);

C (Regular = 7,0 a 7,9) e

D (Insuficiente = 0,0 a 6,9).

Somente será aprovada a dissertação que atingir conceito global C ou superior.

	Conceitos
1. Execução da parte experimental, aplicação correta de métodos adequadas à solução do problema proposto.	10
2. Análise e aproveitamento dos resultados	10
3. Revisão da bibliografia especializada	10
4. Relacionamento dos resultados obtidos com os conhecimentos atuais	10
5. Apresentação geral, consistência e adequação da linguagem, uso de Figuras, tabelas e gráficos	10
APRECIÇÃO FINAL GLOBAL	10 (A)

Assinatura:

Examinador: Prof. Dr. WAGNER FRANCO MOLINA

Universidade: UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE

Data do envio do julgamento: 10 / 02 / 2005 Obs.: (Data de defesa = 24/02/2005).

OBSERVAÇÕES:

a) Favor apresentar, em folha anexa, suas críticas e sugestões sobre os itens acima e outros aspectos que julgar convenientes.

b) A escolha do problema, seu equacionamento, o plano de pesquisa e sua adequação ao nível de Mestrado são responsabilidades do Prof. Orientador, que agradecerá se V. S^a. quiser enviar sugestões e críticas.

Às pessoas que amo e estimo

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos ao Programa de Pós-Graduação em Genética pela oportunidade e auxílio na realização deste estudo.

A profa. Dra. Marta Margarete Cestari, amiga e orientadora, a quem devo meu ingresso no campo da genética e citogenética de peixes, oportunidade oferecida no começo de meu caminho acadêmico, como estagiário. Agradeço a ela pelos ensinamentos, pois sem estes não seria possível a realização deste trabalho.

Ao prof. Dr. Alberto Sergio Fenocchio pela amizade, apoio, aprendizado e sugestões que foram de grande valia na minha formação acadêmica.

Ao prof. Dr. Roberto Artoni pelas sugestões para que este trabalho de dissertação fosse possível de ser realizado e concluído.

Aos meus pais, Antonio Carlos Cipriano e Arlete Raupp Cipriano, pelo incentivo, apoio, confiança e presença.

Agradeço a todos os amigos que durante toda a minha vida acadêmica estiveram presentes. Um especial agradecimento a Odete Maria Mendonça e Adilar Antonio Cigolini. Pessoas especiais que surgiram em minha vida e que são excelentes companheiros.

Aos amigos do laboratório e departamento, prof. Dr. Ives Sbalqueiro, Daniel, Cristina, Wanessa, Rafael, Polly, Thaís, Taynah, Roxane, Maria Claudia, Adriano, Cristiane, Manoela, Guaracira, Márcia Regina, Anilda, Valéria, Dona Izolde, Íris, e Elizabete. Obrigado pela sua amizade.

Agradeço também a Marcelo Ricardo Vicari pelo auxílio e sugestões na realização deste trabalho de dissertação.

Também agradeço pelo apoio técnico oferecido pelo laboratório de Citogenética e Genética de Peixes do departamento de Genética e Evolução da Universidade Federal de São Carlos.

A CAPES pela bolsa concedida e apoio financeiro.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE TABELAS.....	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. <i>Ictiofauna: Diversidade, Biologia e Distribuição.....</i>	1
1.2. <i>O Litoral Paranaense e sua Ictiofauna.....</i>	4
1.3. <i>Superordem Acanthopterygii.....</i>	8
1.4. <i>Citogenética de Peixes.....</i>	12
1.5. <i>Arranjos Cromossômicos e Especiação.....</i>	20
2. OBJETIVOS	23
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1. <i>Material.....</i>	24
3.2. <i>Métodos.....</i>	24
3.2.1. <i>Coleta.....</i>	24
3.2.2. <i>Obtenção de Metáfases Mitóticas.....</i>	26
3.2.2.1. <i>Método indireto – Cultura de curto tempo.....</i>	26
3.2.3. <i>Análise do Material e Montagem dos Cariótipos.....</i>	28
3.2.4. <i>Caracterização das Regiões Organizadoras de Nucléolo (RONs).....</i>	30
3.2.5. <i>Deteção das Regiões de Heterocromatina (Banda C).....</i>	31
3.2.6. <i>Clivagem com Endonucleases de Restrição.....</i>	32
3.2.7. <i>Técnica de Coloração com Cromomicina A.....</i>	33
3.2.8. <i>Hibridação fluorescente in situ (FISH) com sondas DNAr 18S e 5S.....</i>	34
4. RESULTADOS	37
4.1. <i>GERREIDAE.....</i>	37
4.2. <i>BELONIDAE.....</i>	45
4.3. <i>MUGILIDAE.....</i>	52
5. DISCUSSÃO.....	56
6. CONCLUSÕES	68
REFERÊNCIAS.....	70

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1.** LOCALIZAÇÃO DOS PONTOS DE COLETA NA BAÍA DE PARANAGUÁ. IMAGEM DE SATÉLITE DO LOCAL DE COLETA. PONTO AMARELO: BAÍA DE LARANJEIRAS; PONTO VERMELHO: PONTAL DO SUL – GAMBOA DO BAGUAÇU.....26
- FIGURA 2.** COLETA DE EXEMPLARES NA SAÍDA DA GAMBOA DO BAGUAÇU - BAÍA DE PARANAGUÁ – PR.....27
- FIGURA 3.** CARIÓTIPOS DE *Eucinostomus argenteus* (a) E *Diapterus rhombeus* (b); $2n = 48$; $NF = 48$41
- FIGURA 4.** METÁFASES SOMÁTICAS DE *Eucinostomus argenteus* EVIDENCIANDO ASSOCIAÇÃO PELO CENTRÔMERO DE ALGUNS CROMOSSOMOS FORMANDO CONFORMAÇÕES RADIAIS.....42
- FIGURA 5.** METÁFASES SOMÁTICAS DE *Eucinostomus argenteus* E *Diapterus rhombeus* APÓS O BANDEAMENTO C COM A PRESENÇA DE HETEROCROMATINA CONSTITUTIVA RESTRITA ÀS REGIÕES CENTROMÉRICAS.42
- FIGURA 6.** METÁFASES SUBMETIDAS AO TRATAMENTO COM A ENDONUCLEASE DE RESTRIÇÃO *AluI*: a) *Eucinostomus argenteus*; b) *Diapterus rhombeus*.....43
- FIGURA 7.** METÁFASES SOMÁTICAS APÓS TRATAMENTO COM $AgNO_3$: (A) *Eucinostomus argenteus*; (B) *Diapterus rhombeus*.....43
- FIGURA 8.** METÁFASES APÓS A COLORAÇÃO COM CROMOMICINA A_3 E LOCALIZAÇÃO DOS GENES RIBOSSÔMAIS 18S: *Eucinostomus argenteus* (A, B); *Diapterus rhombeus* (C,D).....44
- FIGURA 9.** LOCALIZAÇÃO DOS GENES RIBOSSÔMAIS 5S EM: a) *Eucinostomus argenteus* E b) *Diapterus rhombeus*. METÁFASES PARCIAIS.....49

- FIGURA 10.** CARIÓTIPO DE *Strongylura timucu* COM $2n = 48$ CROMOSSOMOS (10M+2SM+36A; NF = 60). EM DESTAQUE O PAR PORTADOR DA REGIÃO ORGANIZADORA DE NUCLÉOLO APÓS A IMPREGNAÇÃO DE NITRATO DE PRATA.....49
- FIGURA 11.** CARIÓTIPO DE *Strongylura timucu* APÓS BANDAMENTO C.49
- FIGURA 12.** CARIÓTIPO DE *Strongylura marina* COM $2n = 48$ (4M+ 44A; NF = 52). EM DESTAQUE O PAR PORTADOR DA REGIÃO ORGANIZADORA DE NUCLÉOLO APÓS A IMPREGNAÇÃO POR NITRATO DE PRATA.....50
- FIGURA 13.** CARIÓTIPO DE *Strongylura marina* APÓS O BANDEAMENTO C. DESTAQUE PARA O CROMOSSOMO 1 DO COMPLEMENTO, O QUAL APRESENTA UM GRANDE BLOCO DE HETEROCROMATINA CONSTITUTIVA.....50
- FIGURA 14.** METÁFASES SOMÁTICAS APÓS TRATAMENTO COM $AgNO_3$, CMA_3 e FISH (18S): *Strongylura timucu* (A, C e E); *Strongylura marina* (B, D e F). AS SETAS INDICAM OS CROMOSSOMOS NUCLEOLARES.....51
- FIGURA 15.** METÁFASES MITÓTICAS APÓS O TRATAMENTO COM A ENZIMA DE RESTRIÇÃO *AluI*: *Strongylura timucu* (a); *Strongylura marina* (b).....52
- FIGURA 16.** AS SETAS INDICAM A LOCALIZAÇÃO DE GENES RIBOSSÔMAIS 5S EM *Strongylura timucu*, EM METÁFASE PARCIAL.....52
- FIGURA 17.** CARIÓTIPO DE *Mugil curema* COM $2n = 28$ CROMOSSOMOS (20M + 4ST + 4A; NF = 52). EM DESTAQUE OS PARES PORTADORES DAS REGIÕES ORGANIZADORAS DE NUCLÉOLO APÓS A IMPREGNAÇÃO DE NITRATO DE PRATA.....54
- FIGURA 18.** METÁFASES DE *Mugil curema* APÓS COLORAÇÃO COM $AgNO_3$ (A), CROMOMICINA A_3 (B) E FISH COM SONDA DNAr 18S (C) COM PRESENÇA DE SINAIS POSITIVOS NO PAR 11, PORTADOR DE RONS.55

FIGURA 19. CARIÓTIPOS DE <i>Mugil curema</i> APÓS BANDAMENTO C COM PRESENÇA DE HETEROCROMATINA PREFERENCIAL AS REGIÕES CENTROMÉRICAS (a), APÓS O TRATAMENTO COM A ENZIMA DE RESTRIÇÃO <i>AluI</i> (b).....	56
---	----

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. DADOS CITOGENÉTICOS DE PEIXES MARINHOS E ESTUARINOS DA COSTA BRASILEIRA.....	16
TABELA 2. DADOS DAS ANÁLISES EM COLORAÇÃO CONVENCIONAL EM <i>Eucinostomus argenteus</i> , NÚMERO DE METÁFASES ANÁLISADAS E NÚMERO MODAL.....	39
TABELA 3. DADOS DAS ANÁLISES EM COLORAÇÃO CONVENCIONAL EM <i>Diapterus rhombeus</i> , NÚMERO DE METÁFASES ANÁLISADAS E NÚMERO MODAL.....	40
TABELA 4. DADOS DAS ANÁLISES EM COLORAÇÃO CONVENCIONAL EM <i>Strongylura timucu</i> , NÚMERO DE METÁFASES ANÁLISADAS E NÚMERO MODAL.....	48
TABELA 5. DADOS DAS ANÁLISES EM COLORAÇÃO CONVENCIONAL EM <i>Strongylura marina</i> , NÚMERO DE METÁFASES ANÁLISADAS E NÚMERO MODAL.....	48
TABELA 6. DADOS DAS ANÁLISES EM COLORAÇÃO CONVENCIONAL EM <i>Mugil curema</i> , NÚMERO DE METÁFASES ANÁLISADAS E NÚMERO MODAL.....	54

RESUMO

A citogenética dos Actinopterygii é bem estudada quando comparada a outras classes de peixes. A favor deste conhecimento está a grande abundância destes animais em ambientes dulciaquícolas e marinhos, com cerca de 23.681 espécies. No auxílio da ampliação de dados citotaxonomico e evolutivo foram estudadas cinco espécies de três ordens diferentes deste grupo de animais. Entre os Perciformes foram analisados *Eucinostomus argenteus* e *Diapterus rhombeus*, os Mugiliformes foram representados por *Mugil curema*, e os Beloniformes com as espécies *Strongylura timucu* e *S. marina*. Com exceção de *M. curema*, que apresentou um número diplóide com 28 cromossomos (20M + 4ST + 4A; NF = 52) as outras espécies apresentaram um número diplóide igual a 48. *E. argenteus* e *D. rhombeus* apresentaram $2n = 48$ e $NF = 48$. Estas duas espécies, mais *M. curema*, apresentaram um padrão de distribuição de heterocromatina a região pericentromérica de todos os cromossomos, igual padrão foi obtido quando submetidos ao tratamento com a *Alul*. Os Beloniformes estudados apresentaram uma maior diversidade cariotípica. *S. timucu* mostrou um complemento com $2n = 48$ (10M + 2SM + 36A; NF = 60). A distribuição da heterocromatina se mostrou em blocos pericentroméricos de cromossomos M e A, e proximais em cromossomos SM. *S. marina* apresentou 4M e 44A (NF = 52), sendo o primeiro par de cromossomos metacêntricos heterocromático em três terços do seu comprimento. Em ambas as espécies a *Alul* produziu marcações semelhantes as bandas C em quase todos os cromossomos, demonstrando a existência de diferentes heterocromatinas. As marcações de regiões organizadoras de nucléolos apresentaram-se simples em todas as espécies, com um heteromorfismo de tamanho em *S. timucu* e *S. marina*. Em todas as espécies foram visualizados blocos fluorescentes coincidentes com as marcações obtidas pela Ag-RON quando tratados com CMA₃ e FISH com sonda 18S. Numa visão evolutiva, as espécies *S. timucu*, *S. marina* e *M. curema* apresentam cariótipos derivados, provavelmente originados por fusões cêntricas e inversões pericentricas e *E. argenteus* e *D. rhombeus* apresentam cariótipos basais, com $2n = 48$, características que podem estar relacionadas com suas estruturas populacionais e formas de dispersão.

ABSTRACT

The cytogenetic of the Actinopterygii is well developed when compared to other classes of fishes. One thing that contributed to this knowledge is the great number of these animals in fresh and salt water environments, adding approximately 23.681 species. To help the growth of the cytotoxic and evolution data we studied five species of three different orders of this group of animals. In the Perciformes, we analyzed the *Eucinostomus argenteus* and the *Diapterus rhombeus*, the Mugiliformes were represented by the *Mugil curema*, and the Beloniformes by the *Strongylura timucu* and the *S. marina* species. With the exception of the *M. curema*, that presented the diploid number with 28 chromosomes (20M + 4ST + 4A; NF = 52) the other species presented a diploid number of 48. The *E. argenteus* and the *D. rhombeus* presented $2n = 48$ and NF = 48. These two species, and the *M. curema*, presented a pattern of distribution of heterochromatin in the region pericentromeric of all chromosomes, the same pattern being obtained when submitted to treatment with *AluI*. The Beloniformes studied presented a bigger karyotypic diversity. *S. timucu* showed a complement with $2n = 48$ (10M + 2SM + 36A; NF = 60). The distribution of the heterochromatin showed itself in pericentromeric blocs of M and A chromosomes, and proximals in chromosomes SM. *S. marina* presented 4M and 44A (NF = 52), being the first pair of metacentrics heterochromatic chromosomes in three thirds of its . In both species the *AluI* produced that looked like the C bands in almost all chromosomes, showing the existence of different heterochromatins. The marks of nucleolar organizer regions were simple in every specie, with a size heteromorphism in the *S. timucu* and the *S. marina*. In every specie were visualized fluorescent blocs that matched the marks obtained by the Ag-RON when treated with CMA_3 and FISH with probe 18S. In an evolutive vision, the species *S. timucu*, *S. marina* and *M. curema* presented derived karyotypes, probably originated by *centric fusions and pericentrics inversions* and *E. argenteus* and *D. rhombeus* presented basal karyotypes, with $2n = 48$, characteristics that can be related with their populational structures and forms of dispersion.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Ictiofauna: Diversidade, Biologia e Distribuição.

Os oceanos e mares cobrem cerca de dois terços da Terra, 71%, sendo que no hemisfério sul essa porcentagem corresponde a 81%, e no hemisfério norte a 51%. Eles são os grandes responsáveis pelo equilíbrio térmico do globo, em consequência da elevada evaporação e da grande circulação de suas águas (CONTI ; FURLAN, 2000).

Esta grande extensão que ocupam reflete na diversidade de formas de vida, decorrência de igualmente grande diversidade de cadeias e relações tróficas, oferta e demanda de alimentos e necessidade de nutrientes. Também tem influência sobre a diversidade de espécies, em oceanos e mares, a notável série de ambientes que exibem (RAY, 1997). Neste tão vasto ambiente marinho se destacam os peixes, que ultrapassam cinquenta por cento de todos as espécies de vertebrados conhecidos e exibem enorme diversidade em sua morfologia, biologia e habitats que ocupam (NELSON, 1994).

Podemos admirar espécies de peixes de 8 a 10 milímetros a até grandes tubarões de 12 metros, com cores variadas ou transparentes como também a enorme variedade na biologia destes animais. Algumas espécies vivem em grandes grupos enquanto outras são altamente territoriais. Estes animais são adaptados a uma grande variedade de alimentos, sendo alguns especializados em zooplâncton, moluscos, corais e algumas plantas. Alguns produzem venenos, eletricidade, sons ou luz. A maioria deles é ectotérmico, porém existem alguns endotérmicos, como os atuns. Quanto à reprodução, inúmeras estratégias são vistas entre estes animais. Em certas espécies a fertilização é interna, as fêmeas providenciam nutrientes para o desenvolvimento do embrião. Outras apresentam um cuidado parental em relação a sua prole, ou liberam milhões de ovos (NELSON, 1994). Muitas espécies marinhas são caracterizadas como hermafroditas seqüenciais, iniciando sua primeira maturação sexual com um sexo e então revertem para o sexo oposto. Alguns peixes são protóginos, ou seja,

primeiramente são fêmeas como no caso dos peixes-anjo (BAUER; BAUER, 1981). A reversão do sexo pode ser estimulada pela ausência de machos no local (POLUNIN; ROBERTS, 1996; LUTNESKY, 1996).

Os peixes ocorrem em lagos, rios, estuários e oceanos em todo o mundo. A maioria das espécies vivem inteiramente em água doce ou em mares e oceanos, apenas 200 são diádromas, vivem regularmente parte de sua vida em ambientes dulciaquícolas e parte em ambientes marinhos - Destes, muitos são anádromos, desovando em água doce e passando a maioria de seu tempo no mar. Por outro lado, poucos são catádromos, desovando nos oceanos e passando a maioria de seu tempo de vida em rios. Segundo NELSON (1994), esta classificação de peixes marinhos, diádromos, estuarinos ou dulciaquícolas é uma generalização, uma vez que muitas famílias marinhas podem ter espécies vivendo grande parte de sua vida em ambientes de água doce, e vice-versa. Em estuários, dependendo da estação do ano, podem predominar espécies de peixes marinhos ou peixes dulciaquícolas.

BERRA (1981) diz que cerca de 9.966 espécies, normalmente vivem em lagos e rios e cerca de 60% de todas as espécies conhecidas vivem em oceanos. Nos oceanos a vasta maioria dos peixes, 11.300 espécies, estão concentradas em regiões costeiras, com profundidades máximas de 200 metros de profundidade. Uma pequena minoria vive em profundidades inferiores a duzentos metros.

Segundo NELSON (1994), muitos gêneros de peixes marinhos são representados tanto no oceano Atlântico como no Pacífico, porém espécies diferentes são envolvidas. Isto ocorre provavelmente pelo contato que estes dois oceanos mantiveram antes da formação do Istmo do Panamá (LOWE-McCONNELL, 1999).

As espécies marinhas se concentram em águas tropicais e subtropicais do planeta, o que também é válido para peixes dulciaquícolas. Em zonas tropicais encontramos muitas espécies em uma grande variedade taxonômica, comunidades marinhas temperadas tem um número menor de espécies, mas geralmente uma produtividade mais alta. Apesar da fauna de peixes de águas temperadas ser menos rica, em número de espécies e em diversidade, estas

regiões apresentam a grande maioria dos peixes utilizados na dieta humana como, bacalhaus e hadoques. A grande produtividade deste ambiente é mantida pelas correntes frias convergentes que os suportam com grande quantidade de microorganismos (fitoplancton e zooplancton) que servem de alimento para os peixes. Outra característica importante dos oceanos temperados, e que influencia bastante na sua composição faunística, é a grande variação sazonal da temperatura. Em conseqüência, a quantidade de fitoplancton e zooplancton também varia bastante afetando muito a ictiofauna local (BONE; MARSHALL; BLAXTER, 1995)

Os oceanos tropicais apresentam o maior número de espécies de peixes. Cerca de oitenta por cento das espécies de peixes marinhos conhecidas ocorrem na região Tropical do planeta. Esta grande diversidade é facilitada pela profundidade e conseqüentemente pela temperatura de suas águas. Muitas destas características estão associadas a atóis, recifes e estuários, onde a temperatura média, de suas águas, durante a parte mais fria do ano não é inferior a 18°C.

Os oceanos tropicais estão divididos por massas continentais no Indo-Pacífico e no Atlântico. O Pacífico Indo-oeste é o mais rico, com a maioria das espécies ocorrendo entre Nova Guiné e Queensland. Em termos de diversidade, o Sudoeste da África e Queensland apresentam o maior número de famílias de espécies costeiras (SPRINGER, 1982). De forma geral, o maior número de espécies de peixes no mundo habita a região do sudeste asiático. O Atlântico pode ser considerado um oceano jovem, se comparado com partes do Pacífico, e possui uma fauna muito menos variada. O Atlântico ocidental apresenta uma riqueza faunística muito maior que o oriental, pelo contato que manteve com o Pacífico, como mencionado anteriormente, e pela influência das correntes quentes que rumam ao Norte ao longo da costa da América do Norte e ao sul ao longo da costa brasileira (LOWE-McCONNELL, 1999).

1.2. O Litoral Paranaense e sua Ictiofauna.

O litoral brasileiro apresenta cerca de 8.000 Km de extensão. Nesta costa está inserido o litoral Paranaense, um dos menores do Brasil, com 98 Km e uma plataforma continental variando entre 175 e 190 Km de extensão (BIGARELLA, 1978). Geográfica e economicamente, é considerado apenas como uma porta ou uma zona de passagem para o oceano, devido ao seu reduzido tamanho (MAACK, 1981).

A zona litorânea Paranaense se estabeleceu devido a movimentos tectônicos que se relacionam às formações da Cordilheira dos Andes e da Bacia do Rio Paraná. Segundo MAACK (1981), estes fenômenos originaram abaixamento na borda leste do continente sul-americano inundando antigos vales, formando então as atuais enseadas de Paranaguá e Guaratuba. Essas duas baías dividem o litoral do Paraná em três setores naturais: ao norte a “Praia Deserta”, no centro a “Praia de Leste” e ao Sul a “Praia do Sul”. O estuário da Baía de Paranaguá situa-se ao norte e possui 550 Km². Apresenta dois eixos principais de orientação. O eixo leste-oeste é formado pelas Baías de Paranaguá e Antonina, e o norte-sul, compreendendo as Baías de Guaraqueçaba e Laranjeiras (KNOPPERS; OPITZ, 1984). A Baía de Guaratuba esta situada mais ao sul do Estado e é o segundo maior sistema estuarino do litoral do Paraná. Apresenta uma extensão de aproximadamente 15 Km, e uma profundidade máxima de 6 metros (CHAVES; VENDEL, 1997).

As baías recebem um grande número de desembocaduras de rios provenientes da Serra do Mar, entre eles os Rios Morato, Guaraqueçaba, Cachoeira, Curitibaíba e Cubatão (MAACK, 1981). A mistura de águas doce e salgada propicia a existência de ecossistemas costeiros, os manguezais (SCHAEFFER-NOVELLI, 1991). Este ecossistema estuarino é típico de regiões tropicais e sub-tropicais, que se desenvolvem na zona entremarés em regiões de baixa energia na linha da costa. Constituem ecossistemas de transição entre o ambiente terrestre e marinho (PEREIRA; CHAVES; RODRIGUES, 1999). A

formação mangrove predomina nas orlas das baías, ocupando uma área de 557 Km² (MAACK, *op.cit.*).

Além do manguezal, o sistema constituído pelas baías de Paranaguá e Guaratuba apresenta marismas, gamboas (canais no manguezal) e planícies de maré. Este mosaico de habitats se constituem essenciais para inúmeras espécies de peixes (SAENGER; McIVOR, 1975). Oferecem vários e abundantes recursos alimentares, proteção contra predação e outras condições que favorecem o crescimento e sobrevivência dos estágios iniciais do ciclo de vida de peixes (THAYLER; COLBY; HETTLER Jr., 1987; SASEKUMAR *et al.*, 1992). Muitas das etapas reprodutivas, incluindo dispersão de ovos e larvas, distribuição de juvenis e migrações, estão sincronizadas com o funcionamento dos ambientes estuarinos (BOCHLERT; MUNDY, 1988; SHAW *et al.* 1988; WEISTEM, 1988).

A abundância e a diversidade de peixes em regiões estuarinas e lagunares está relacionada diretamente à salinidade, que é um fator sazonal, e com o tipo de substrato. Em estações chuvosas ocorre a penetração nestas regiões de algumas espécies dulciaquícolas e em estações secas a maior abundância é de peixes marinhos. Outros fatores bastante expressivos são a temperatura, oxigênio dissolvido na água, ventos e profundidade (VAZOLLER; SOARES; CUNNINGHAM, 1999). Análises demonstram que um maior número de indivíduos e uma maior diversidade específica ocorrem nas águas rasas estuarinas – entre os 30 cm e 1,5 m de profundidade (HAMILTON; SNEDACKER, 1984). Todos esses fatores em conjunto proporcionam uma grande variação do número de espécies, do número de indivíduos, da abundância das espécies e da diversidade. Nos meses entre outubro a março, no litoral paulista, são encontrados tanto um maior número de espécies quanto um maior número de indivíduos, comprovando a influência destes aspectos físico-químicos na fauna íctica (PAIVA FILHO; TOSCANO, 1987; GIANNINI, 1989 *apud* VAZOLLER; SOARES; CUNNINGHAM, *op. cit.*; RIBEIRO NETO, 1989 *apud* VAZOLLER; SOARES; CUNNINGHAM, *op. cit.*). Porém, a competição interespecífica e a predação também afetam a fauna local (KENISH, 1990).

A ictiofauna brasileira é constituída por peixes exclusivamente tropicais, entre o extremo norte e a região de Cabo Frio (RJ) e por uma fauna mista, tropical e temperada, entre Cabo Frio e a península de Valdez, na Argentina (VAZOLLER; SOARES; CUNNINGHAM, 1999). Nesta segunda região a fauna é influenciada pelas correntes de superfície. Ao chegar próximo ao litoral nordeste a corrente sul-equatorial (corrente tropical – água quente) se bifurca, o ramo sul origina a Corrente do Brasil a qual flui para o sul, chegando até o litoral Paranaense (SILVEIRA, 1990 *apud* VAZOLLER; SOARES; CUNNINGHAM *op. cit.*). Ainda no litoral sul brasileiro, flui, para o norte, a corrente das Malvinas (corrente temperada – águas frias), que pode atingir no inverno até a região norte de Santa Catarina (EMÍLSON, 1961). Segundo FIGUEIREDO (1981) a segunda é considerada uma região de transição faunística, onde está incluída a costa Paranaense.

Levantamentos sobre a composição faunística dos estuários constataram que no norte e nordeste do Brasil são registradas 94 famílias, 244 gêneros e 427 espécies. Na região de Cabo Frio apenas 37 espécies e entre São Paulo e Rio Grande do Sul são registradas 70 famílias, 145 gêneros e 211 espécies (CORRÊA, 2001).

A ictiofauna do litoral Paranaense apresenta uma grande diversidade de espécies de peixes. Estudos realizados nos estuário da Baía de Paranaguá e áreas adjacentes (CORRÊA, 1987), Baía de Guaratuba (CHAVES, 1994; CHAVES, 1995; CHAVES; VENDEL, 1997; CHAVES; CORRÊA, 1998), da zona de arrebentação e infralitoral raso entre Pontal do Sul e Praia de Leste (MAEHAMA; CORRÊA, 1987), de três localidades da Ilha do Mel (PINHEIRO, 1999), litoral sul, entre a Baía de Guaratuba e a barra do Rio Saí-Guaçu (GOMES; CHAVES, 2004) e em outros locais do litoral do Paraná, comprovam a grande diversidade ictiofaunística deste litoral.

Na costa Paranaense são registradas 92 famílias, 191 gêneros e 313 espécies, das quais 289 são Actinopterygii. A maior diversidade foi descrita para o sistema da Baía de Paranaguá com cerca de 201 espécies de peixes, sendo 28 Chondrichthyes e 173 Actinopterygii. Em geral, peixes das famílias Ariidae, Gerreidae, Carangidae, Serranidae, Sciaenidae, Engraulidae, Atherinidae,

Mugilidae, Clupeidae, Bothidae e Pleuronectidae são as mais abundantes. Todas apresentam seu ciclo de vida, ou parte dele, essencialmente associado com as águas costeiras e estuarinas (CORRÊA, 2001) e nenhuma das espécies é considerada endêmica da região.

Apesar de todo esforço, estes números para o litoral Paranaense ainda não são definitivos, pois a amplitude geográfica e o difícil acesso a rios e gamboas estuarinas, não permitem uma visão clara do número real de espécie dessa fauna ictíica. Dados de CORRÊA (1987, 1988) demonstram esta dificuldade, em levantamentos realizados entre 1981 e 1985 na ictiofauna do estuário da Baía de Paranaguá, onde foram identificados 56 famílias, 106 gêneros e 142 espécies. Em 12 anos foram acrescentadas a esta lista 59 espécies.

1.3. Superordem Acanthopterygii.

O filo Chordata ocorre em todos os habitats – marinho, dulciaquícola e terrestre – inclui todos os grandes animais presentes atualmente na Terra. Devido a este último fato e ao de que o homem também se inclui neste filo, ele foi alvo e atenção, por muito tempo, de várias pesquisas, provavelmente é o grupo mais bem conhecido. Há quatro subfilos no filo Chordata: Hemichordata, Urochordata (os tunicados ou ascídias), Cephalochordata (os anfioxos) e Vertebrata. Os três primeiros são comumente chamados de protocordados. Os Vertebrados apresentam um encéfalo verdadeiro dividido em várias vesículas e um crânio (estrutura esquelética que sustenta e protege o encéfalo) que os tornam únicos. O subfilo Vertebrata compreende as superclasses Agnatha e Gnathostomata. O primeiro grupo engloba os mais antigos peixes conhecidos parentes das atuais lampreias. Surgiram há 450 milhões de anos e suas primeiras formas eram marinhas, porém no Devoniano algumas espécies já haviam invadido ambientes dulciaquícolas. Apresentavam um pequeno tamanho, atingindo em média 20 cm de comprimento. Os gnatostomados evoluíram divergentemente dos agnatas, os seus primeiros exemplares são achados no Siluriano (BRUM, 1995). Este último grupo é assim denominado pela presença das mandíbulas. Esta estrutura permitiu a estes animais obter alimentos mais duros e, portanto, adaptar-se a muitos e diversos modos de vida (HILDEBRAND, 1995).

Os peixes ósseos verdadeiros, os Osteichthyes, surgiram no Siluriano Superior (430 milhões de anos). Juntamente com os Acanatódeos constituem o grupo dos Teleostomi, de onde divergiram os Elasmobranchimorphi, representados atualmente pelos Chondrichthyes (MOY-THOMAS; MILES, 1971 *apud* BRUM, 1995). Os Osteichthyes dividem-se em quatro subclasses Dipnoi, Crossopterygii, Brachyopterygii e Actinopterygii. A última está composta pelos Chondrostei, Holostei e Teleostei. A infraclasse Teleostei corresponde a cerca de 96% de todos os peixes existentes, 23.637 espécies em 38 ordens, 426 famílias e 4.064 gêneros (NELSON, 1994) e são conhecidos como “peixes ósseos modernos”.

PATTERSON (1968), propôs que os teleósteos formam um grupo natural e monofilético. Todos os grupos incluídos nesta Infraclasse possuem esqueleto

caudal, importante na evolução dos padrões de locomoção do grupo, e modificações na musculatura da mandíbula que os distinguem dos outros Actinoptérígios.

Os representantes marinhos do grupo Teleostei ocupam todos os mares do mundo e são representados segundo PATTERSON e ROSEN (1977) e NELSON (1994), em quatro linhagens: Osteoglossomorpha, Elopomorpha, Clupeomorpha e Euteleostei. Animais exclusivamente dulciaquícolas se restringem apenas a subdivisão Osteoglossomorpha, os três grupos restantes apresentam exemplares em ambos ambientes (NELSON, *op cit*).

Os Euteleostei destacam-se entre os outros grupos da divisão Teleostei, pois possuem cerca de 17000 espécies em 25 Ordens e 375 Famílias (NELSON, 1994) e constituem o maior grupo dentro deste taxa, representando aproximadamente 90% de toda a fauna de peixes neotropicais e 25% de todas as espécies de teleósteos (BRUM; GALETTI Jr, 1997). Três características corroboram a monofilia deste grupo: nadadeira adiposa dorsal, tubérculos nupciais na cabeça e corpo e componente membranoso anterior no primeiro uroneural. Os Euteleósteos compreendem os Protacanthopterygii, os Ostariophysi e os Neoteleostei.

Os Neoteleostei, representam um grupo monofilético, pois possuem uma mandíbula superior especializada. Constituem a maioria dos Teleósteos marinhos atuais, e muitas espécies dulciaquícolas. Os Neoteleosteos subdividem-se em quatro grupos que são os Stenopterygii, os Scopelomorpha, os Paracanthopterygii e os Acanthopterygii. Os dois primeiros são considerados os neoteleósteos mais primitivos, enquanto os dois últimos mais derivados. De todos os grupos de neoteleósteos destacam-se os Acantoptérígios. Estes peixes representam um grupo monofilético caracterizado por várias estruturas e especializações funcionais, como o aparelho mandibular faríngeo e o mecanismo mandibular oral. Os acanthoptérígios contém mais da metade de todas as famílias de peixes, 13 Ordens, divididas em 3 séries, os Atherinomorpha, os Mugilomorpha e os Percomorpha (NELSON, 1994).

Os Atherinomorpha são conhecidos desde o Eoceno e apresentam uma larga distribuição geográfica, ocupando tanto ambientes marinhos como dulciaquícolas.

Apresentam evidências de constituírem um grupo monofilético (BRUM, 1995). Entre os seus representantes estão os Beloniformes, Cyprinodontiformes e os Atheriniformes. Os Beloniformes são divididos em 5 famílias com 38 gêneros e 191 espécies (NELSON, 1994). Cerca de 51 espécies são restritas a ambientes de água doce, e as restantes são exclusivamente marinhas. Os Atheriniformes constituem um grupo monofilético, diagnosticado por dez caracteres, e irmão da superordem Cyprinodonta, um clade composto pelos Cyprinodontiformes e Beloniformes. A ordem Atheriniformes é composta por 6 famílias, 49 gêneros e aproximadamente 320 espécies (DYER, 1998; NELSON *op. cit.*). A ordem Cyprinodontiformes é o maior grupo entre os Atherinomorpha, apresentando 850 espécies e 110 gêneros. A maioria dos seus representantes é exclusivamente dulciaquícolas, ocorrendo em todo o mundo. Ocupam vários ambientes, desde rios tropicais a rios de desertos, ao nível do mar e a alturas superiores a 4000 m. Segundo COSTA; MOLINA e GALETTI Jr (1998) , os peixes cyprinodontiformes são mais abundantes e predominam sobre outros grupos em áreas tropicais, mas são particularmente diversos na América Central, onde totalizam um terço de todas as espécies de peixes conhecidas.

Os Mugilomorpha são peixes que apresentam apenas uma espécie dulciaquícola e possuem uma única ordem, Mugiliformes. Popularmente conhecidos como “tainhas” e “paratis”, apresentam uma ampla distribuição, ocorrendo em águas tropicais e subtropicais de todo o mundo, principalmente na região costeira estuarina. São explorados comercialmente em todas as regiões onde ocorrem, constituindo assim uma parte importante da alimentação humana (MENEZES, 1983).

Os Percomorpha, que compõe vários grupos polifiléticos e portanto não-naturais, subdividem-se em 9 ordens: Beryciformes, Lampridiformes, Zeiformes, Gasterosteiformes, Indostomiformes, Syngnathiformes, Dactylopteriformes, Sinbranchiformes, Scorpaeniformes, Perciformes, Pleuronectiformes e Tetraodontiformes (NELSON, 1994). Neste grupo destacam-se os Perciformes e Tetraodontiformes, os mais especializados tipos de peixes atuais (BRUM, 1995). Os Perciformes apresentam a maior diversidade entre as ordens de peixes e é a

maior ordem entre os vertebrados, compreendendo 150 famílias e pelo menos 9.000 espécies, cerca de 75% das quais marinhas e costeiras. Segundo NELSON (*op. cit.*), os Perciformes parecem constituir um grupo polifilético não devendo, portanto, ser tratado como um agrupamento natural. Os Tetraodontiformes, baiacus e peixe-lua, apresentam cerca de 330 espécies, quase todas marinhas, a maioria ocorrendo em águas rasas. É considerado um grupo monofilético por suas espécies apresentarem em comum uma abertura branquial muito reduzida e ausência de espinhos da nadadeira anal (TYLER, 1980).

1.4. Citogenética de Peixes.

A citogenética em peixes torna-se especialmente interessante porque estes animais constituem um grupo particular dentre os vertebrados pelo número de espécies, diversidade de formas, comportamento e habitats e pela posição central que ocupam na evolução animal (OHNO, 1970). Os primeiros estudos citogenéticos de peixes foram publicados por RETZIUS e KASTSCHENKO em 1890 (DENTON, 1973) e posteriormente os trabalhos de WICKBOM, sobre o cariótipo de espécies de Cyprinodontiformes, em 1943. Na década de 50 começaram os estudos em peixes neotropicais e somente mais tarde, no início da década de 70 é que pesquisadores brasileiros ingressaram nesta área. Foi também nesta época que a citogenética teve um maior desenvolvimento, devido ao melhoramento e descoberta de outras técnicas e novos métodos, inibidores mitóticos, tratamentos hipotonizantes para estudo das células em divisão, técnica de suspensão de células, métodos diretos de obtenção de metáfases (BERTOLLO; TAKAHASHI; MOREIRA-FILHO, 1978), métodos de cultura de linfócitos (FENOCCHIO; BERTOLLO, 1988) e métodos de cultura de curto tempo de tecidos sólidos (FENOCCHIO *et al.*, 1991), permitindo atualmente o conhecimento dos cariótipos de um número bem maior de espécies.

De modo geral, os estudos citogenéticos em peixes tem crescido de forma expansiva. As primeiras revisões realizadas por ALMEIDA-TOLEDO (1978) sobre a estrutura cariotípica de peixes neotropicais de águas continentais listaram o número cromossômico de 252 espécies. OLIVEIRA, ALMEIDA-TOLEDO e FORESTI (2000), relataram o número de peixes cariotipados com coloração convencional de 921 espécies, de 252 gêneros e 44 famílias. Embora informações de diferentes espécies estejam cada vez mais disponíveis devido ao incremento das atividades neste campo, o conhecimento de cariótipos de peixes quando comparados aos de mamíferos e outros grupos de seres vivos, se tornam muito reduzidos, cobrindo apenas 14% das espécies conhecidas. Segundo DOUCETTE e FITZSIMONS (1988), há pelo menos duas razões para o fato: primeiramente, os cromossomos da maioria dos peixes são bem menores, sendo que o comprimento

médio total de todos os cromossomos de um cariótipo de peixe perfaz somente cerca de 20% do de mamíferos; segundo, as técnicas de bandamento, que são altamente desenvolvidas em mamíferos, não são tão resolutivas no estudo de cromossomos de peixes (BRUM, 1995).

A citogenética em peixes marinhos tem recebido maior atenção nas últimas décadas. Atualmente são conhecidos os cariótipos de cerca 600 espécies (BRUM, 1996). No Brasil, a descrição cariotípica destes peixes, iniciou-se na década de 80 com a descrição dos cariótipos de *Micropogonias furnieri* e *Menticirrhus americanus* (GOMES, 1981). Dentro da ictiofauna brasileira constituída por numerosas espécies, poucos peixes marinhos tem sido cariotipados, quando comparados às espécies de água doce. Até o momento, foram estudadas 120 espécies distribuídas em 43 famílias e 80 gêneros (tabela 1). Em sua maioria estas espécies estão dentro da Classe Osteichthyes, da Infraclasse Teleostei e da Ordem Perciformes, contribuindo com 69 espécies (DA SILVA CORTINHAS, 2002), coletadas principalmente no litoral do Rio de Janeiro e São Paulo (BRUM, *op. cit.*).

Estudos citogenéticos em teleósteos revelam uma grande variação no número cromossômico (de 14 a 140) concentrando a maioria das espécies num número diplóide modal com $2n = 48$ cromossomos acrocêntricos (NF = 48). OHNO; WOLF; ATKIN (1968) e OHNO (1970) propuseram o cariótipo $2n = 48$ e NF = 48, primitivo para peixes, considerado o original dos vertebrados, devido a sua alta freqüência. BRUM (1995) discorda desta hipótese, partindo da proposta de DOUCETTE; FITZSIMONS (1988), que acham muito difícil prosseguir aceitando esta condição como primitiva para os peixes teleósteos, uma vez que os estudos de grupos externos aos teleósteos não mostram este cariótipo. A hipótese alternativa propõe um cariótipo primitivo constituído por 60 cromossomos, com alguns metacêntricos, ocorrendo posterior redução para 48 cromossomos acrocêntricos, através de rearranjos robertsonianos (fusões) e deleções. O cariótipo de 48 cromossomos acrocêntricos, em Clupeiformes e Euteleostei, é considerado uma característica sinapomórfica, compartilhada principalmente em suas formas marinhas, conservada após a redução do número cromossômico (BRUM *op. cit.*), o que

explicaria sua alta frequência e ampla distribuição entre as espécies destes grupos.

Os teleósteos marinhos apresentam pouca variabilidade no número cromossômico e maior uniformidade cariotípica, quando comparados aos de água doce, que apresentam maior diversidade. Esta diferença é decorrente, provavelmente, de características populacionais dos peixes marinhos, onde o fluxo gênico é menos restrito, e a formação de barreiras geográficas é bem inferior a detectada em águas continentais (BRUM, 1995; AFFONSO, 2000), tendo-se, assim grandes populações com uma tendência a homogeneização gênica entre elas.

Entre os Euteleostei as superordens Ostariophysii, Protacanthopterygii e Acanthopterygii são as mais representativas. Os Ostariophysii são em sua maioria peixes dulcícolas e apresentam grande variabilidade de número diplóide e composição cromossômica, incluindo a presença de cromossomos metacêntricos, submetacêntricos e acrocêntricos nos seus cariótipos (BRUM; GALETTI, 1997), prevalecendo um complemento diplóide de $2n = 50$.

A superordem Protacanthopterygii também apresenta muitas espécies dulciaquícolas, portanto apresentam uma grande variação de número diplóide. Os salmoniformes são os melhor estudados mostrando complementos contendo entre 60 e 96 cromossomos, muitos bibráquiais (BRUM; GALETTI, 1997).

Os Acanthopterygii estão divididos em três séries e suas espécies apresentam cariótipos variando em seu número diplóide. Os Mugilomorpha apresentam preferencialmente cariótipos de 48 cromossomos e $NF = 48$ (LeGRANDE; FITZSIMONS, 1976; RISHI e SINGH, 1982; PAULS; COUTINHO, 1990). Entre os Percomorpha, a maioria das espécies apresenta 48 cromossomos (AGUILAR; GALETTI Jr, 1997; BRUM; GALETTI Jr, 1997; CORRÊA; GALETTI Jr, 1997). Cinquenta e três espécies da ordem Tetraodontiformes foram avaliadas citogeneticamente e apresentam cariótipos variando entre 28 e 52 cromossomos, que BRUM e GALETTI Jr (*op. cit.*) consideram variações do cariótipo base dos Percomorpha. A ocorrência de cromossomos de dois braços neste grupo, confirma a sua posição filogenética, pois este fato é considerado derivado em cariótipos de

peixes (BRUM; GALETTI Jr, *op. cit.*). Diferentemente dos Tetraodontiformes, os Perciformes cariotipados, cerca de 600 espécies, correspondente a 7% do número de espécies descritas para essa ordem (AFONSO, 2000), demonstram uma grande conservação no número diplóide (48) e fundamental (48), chegando a cerca de 63,7% das espécies com cariótipos descritos (BRUM, 1995). Geralmente as divergências ocorrem em Perciformes de água doce, o que constata a importância do isolamento geográfico e tamanho populacional na formação e fixação de rearranjos cromossômicos contribuindo para o maior grau de divergência cariotípica entre as populações (BRUM; GALETTI Jr, 1997). Um terço das espécies dos Atherinomorpha, cariotipados apresentam $2n = 48$, mas também são observados cariótipos com 46 e 50 cromossomos (RISHI, 1973; RISHI; SINGH, 1982; BRUGGER; BORN; LEVY, 1990; DA SILVA CORTINHAS *et al.*, 2003; entre outros). Em Beloniformes os cariótipos com 48 cromossomos acrocêntricos são comuns, porém, ocorrem algumas variações, como nas espécies dulciaquícolas *Strongylura microps* e *Potamorrhaphis cf. eigenmanni* (PASTORI *et al.*, 1998) que apresentam 50 e 54 cromossomos, respectivamente. Por outro lado os Cyprinodontiformes apresentam uma grande variação, semelhante a outros grupos com exemplares que habitam ambientes de água doce.

Em peixes, muitas vezes, os cromossomos sexuais não são identificáveis. De todos os peixes cariotipados da costa brasileira apenas três espécies tiveram um sistema sexual determinado: *Brevortia aurea* e *Stephanolepis hispidus* apresentam um sistema múltiplo tipo $X_1X_1X_2X_2 / X_1X_2Y$ (BRUM, 1996), o qual seria derivado de translocações entre cromossomos sexuais e autossomos (CLARK; WALL, 1996) determinando uma variação numérica entre machos e fêmeas; *Netuma barba* apresenta uma determinação sexual simples (XX/ XY) (BRUM, *op. cit.*). Além destes sistemas sexuais, em peixes de água doce, são descritos também os tipos ZW/ ZZ, ZW_1W_2 / ZZ , entre outros (SCAVONE; BERTOLLO; CAVALLINI, 1994; CLARK; WALL, *op. cit.*; BERTOLLO *et al.*, 1997; CARVALHO; OLIVEIRA; FORESTI, 2002; LEMOS *et al.*, 2002; entre outros).

Tabela 1 – Dados citogenéticos de peixes marinhos e estuarinos da costa brasileira

ESPÉCIE	LOCALIZAÇÃO	2n	NF	CARIÓTIPO				SISTEMA SEXUAL	REFERÊNCIA
				M	SM	ST	A		
<i>Gymnothorax ocellatus</i>	Ubatuba – SP	42	76		34	-	8	Porto-Foresti <i>et al.</i> , 1997	
<i>Brevortia áurea</i>	L. R. de Freitas – RJ	46 (□)	50	2	2	-	42	X ₁ X ₁ X ₂ X ₂	
		45 (□)	50	3	2	-	40	X ₁ X ₂ Y	
<i>Brevortia pectinata</i>	L. R. de Freitas – RJ	46	50	2	2	-	42	---	
<i>Bagre bagre</i>	Cananéia – SP	56	106	24	26	6	-	---	
<i>Cathorops sp</i>	Cananéia – SP	54	80	13	13	28	-	---	
<i>Genidens genidens</i>	Cananéia – SP	56	88	12	20	20	4	---	
<i>Netuma barba</i>	Cananéia – SP	56	92	18	18	18	2	XX/XY	
<i>Arius parkeri</i>	Cananéia – SP	56	88	16	16	22	2	---	
<i>Porichthys porosissimus</i>	Baía da Guanabara – RJ	44	56		12		32	---	
	Niterói – RJ	44	52		8		36	---	
<i>Holocentrus ascensionis</i>	Rio Grande do Norte	50	152		12		38	---	
<i>Myripristis jacobus</i>	Rio Grande do Norte	48	48	-	-		48	---	
<i>Phrynelox scaber</i>	Litoral do Brasil	48	62 a 64	2	12-14		32-34	---	
<i>Strongylura timucu</i>	Baía de Paranaguá – PR	48	60		12		36	---	
<i>Strongylura marina</i>	Baía de Paranaguá – PR	48	52	4	-	-	44	---	
<i>Mugil incilis</i>	Baía da Ilha Grande – RJ	28	48		20		8	---	
<i>Mugil curema</i>	Baía de Paranaguá – PR	28	48		20		8	---	
<i>Mugil liza</i>	48°W; 23°S – RJ	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Mugil platanus</i>	Cananéia, SP	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Atherinella brasiliensis</i>	Baía de Paranaguá – PR	48	66	4	14		30	---	
<i>Odosmesthes sp</i>	Rio Grande – RS	48	50-52		2-4		46-44	---	
<i>Xenomelaris brasiliensis</i>	Litoral do RJ	48	58		10		38	---	
<i>Poecilia vivipara</i>	Pontal do Sul – PR	46	46	-	-	-	46	---	
<i>Dactylopterus volitans</i>	Baía da Guanabara – RJ	48	78	16	14	6	12	---	
<i>Scorpaena brasiliensis</i>	Baía da Guanabara – RJ	46	60	4	10	14	18	---	
<i>Scorpaena isthmensis</i>	Baía da Guanabara – RJ	40	54	6	8	2	24	---	
<i>Prionotus punctatus</i>	Baía da Guanabara – RJ	100-102	100-102	-	-	-	100-102	---	
<i>Centropomus parallelus</i>	Litoral do RJ	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Centropomus mexicanus</i>	Costas NE e SE	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Centropomus undecimalis</i>	Costas NE e SE	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Centropomus parallelus</i>	Guaratuba – PR	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Diplectrum formosum</i>	Baía da Guanabara – RJ	48	50	-	2	-	46	---	
<i>Diplectrum radiale</i>	Baía da Guanabara – RJ	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Epinephelus adscensionis</i>	Recifes do litoral do RN	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Epinephelus marginatus</i>	Baía da Guanabara – RJ	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Alfestes afer</i>	Litoral do RN	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Mycteroperca acutirostris</i>	Baía da Guanabara – RJ	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Serranus flaviventris</i>	Baía da Guanabara – RJ	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Diplodus argenteus</i>	48°W; 23°S – RJ	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Priacanthus arenaeus</i>	48°W; 23°S – RJ	50	50	-	-	-	50	---	
<i>Pomatomus saltatrix</i>	Litoral do RJ	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Caranx latus</i>	48°W; 23°S – RJ	46	46	-	-	-	46	---	
<i>Chloroscombrus chysurus</i>	48°W; 23°S – RJ	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Oligoplites saliens</i>	Baía de Sepetiba – RJ	48	52	4	-	44	---		
<i>Selene setapinnis</i>	48°W; 23°S – RJ	46	48	-	2	-	44	---	
<i>Selene vomer</i>		48	50	-	2	-	46	---	
<i>Trachinotus carolinus</i>	São Sebastião – SP	48	56		8		40	---	
<i>Trachinotus falcatus</i>	São Sebastião – SP	48	58		10		38	---	
<i>Trachinotus goodiei</i>	Niterói, Angra do Reis/RJ	48	50		2		46	---	
<i>Eucinostomus gula</i>	48°W; 23°S – RJ	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Eucinostomus argenteus</i>	Baía de Paranaguá – PR	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Diapterus rhombeus</i>	Baía de Paranaguá – PR	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Anisotremus virginicus</i>	Baía da Ilha Grande – RJ	48	48	-	-	-	48	---	
	Litoral do NE	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Anisotremus moricandi</i>	Litoral do NE	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Anisotremus surinamensis</i>	Litoral do NE	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Conodon nobilis</i>	Litoral do NE	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Haemulon aurolineatum</i>	Baía da Ilha Grande – RJ	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Haemulon parra</i>	Litoral do NE	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Haemulon plumieri</i>	Litoral do NE	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Orthopristis ruber</i>	Baía da Guanabara – RJ	48	50	-	2	36	10	---	
	Litoral do RJ	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Orthopristis sp1</i>	Búzios, Ponta Negra/RN	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Orthopristis sp2</i>	Búzios, Ponta Negra/RN	48	48	-	-	-	48	---	
<i>Pomadasys corvinaeformis</i>	Litoral do NE	48	48	-	-	-	48	---	

<i>Pagrus pagrus</i>	Arraial do Cabo – RJ	48	50	-	2	-	46	---	Netto <i>et al.</i> , 1998b
<i>Cynoscion acoupa</i>	48°W; 23°S – RJ	48	48	-	-	-	48	---	Pauls e Coutinho, 1990
<i>Menticirrhus americanus</i>	Cananéia – SP	48	48	-	-	-	48	---	Gomes <i>et al.</i> , 1983b
<i>Menticirrhus littoralis</i>	Costa do RS	48	48	-	-	-	48	---	Reggi <i>et al.</i> , 1986
<i>Micropogonias furnieri</i>	Cananéia – SP	48	48	-	-	-	48	---	Gomes <i>et al.</i> , 1983 a
	48°W; 23°S – RJ	46	46	-	-	-	46	---	Pauls e Coutinho, 1990
	Litoral do RJ	48	48	-	-	-	48	---	Brum <i>et al.</i> , 1996
<i>Umbrina coroides</i>	48°W; 23°S – RJ	46	50	-	4	-	42	---	Pauls e Coutinho, 1990
<i>Mullus argentinae</i>	Litoral do RJ	44	46	-	2	-	42	---	Pauls <i>et al.</i> , 1991
<i>Centropomus aurantonotus</i>	Recifes do NE e SE	48	62	-	14	28	6	---	Affonso <i>et al.</i> , 1999
<i>Holacanthus ciliaris</i>	Recifes do NE e SE	48	48	-	-	-	48	---	Affonso <i>et al.</i> , 1999
<i>Holacanthus tricolor</i>	Recifes do NE e SE	48	48	-	-	-	48	---	Affonso <i>et al.</i> , 1999
<i>Pomacanthus arcuatus</i>	Recifes do NE e SE	48	48	-	-	2	46	---	Affonso <i>et al.</i> , 1999
<i>Pomacanthus paru</i>	Recifes do NE e SE	48	48	-	-	2	46	---	Affonso <i>et al.</i> , 1999
<i>Abudefduf saxatilis</i>	Baía da Guanabara – RJ	48	52	2	2	-	44	---	Corrêa <i>et al.</i> , 1994
	Litoral do NE do Brasil	48	52	2	2	-	44	---	Molina e Galetti jr, 1999
<i>Stegastes fuscus</i>	S. Pedro e S. Paulo/RN	48	90	24	18	-	6	---	Molina e Galetti jr, 2004
<i>Stegastes pictus</i>	S. Pedro e S. Paulo/RN	48	90	18	22	2	6	---	Molina e Galetti jr, 2004
<i>Stegastes variabilis</i>	S. Pedro e S. Paulo/RN	48	88	-	40	-	8	---	Molina e Galetti jr, 2004
<i>Stegastes leucostictus</i>	S. Pedro e S. Paulo/RN	48	88	-	40	-	8	---	Molina e Galetti jr, 2004
<i>Stegastes sanctipauli</i>	S. Pedro e S. Paulo/RN	48	90	-	44	-	4	---	Molina <i>et al.</i> , 2002
<i>Microspathodon chrysurus</i>	Bahia	48	64	6	-	10	32	---	Molina e Galetti jr, 2004
Chromis multilineata	Bahia	48	48	-	-	-	48	---	Molina e Galetti jr, 2002
Chromis insolata	Espírito Santo	46-47	56	3-4	6	-	36-38	---	Molina e Galetti jr, 2002
<i>Chromis flavicauda</i>	Espírito Santo	39	54	9	6	-	24	---	Molina e Galetti jr, 2002
<i>Bodianus rufus</i>	Litoral do RJ	48	48	-	-	-	48	---	Pauls <i>et al.</i> , 1991
	S. Pedro e S. Paulo/RN	48	70	8	14	10	16	---	Sena e Molina, 2001
<i>Bodianus insularis</i>	Rio Grande do Norte	48	68	-	20	-	28	---	Sena e Molina, 2003
<i>Bodianus pulchellus</i>	Litoral do ES	48	78	8	12	10	18	---	Sena e Molina, 2004
<i>Sparisoma rubripinne</i>	Recifes do litoral do RN	46	66	6	14	4	22	---	Sena e Molina, 2001
<i>Halichoeres poeyi</i>	Litoral do RN e BA	48	50	-	2	-	46	---	Sena <i>et al.</i> , 2002
<i>Halichoeres brasiliensis</i>	Litoral do RN	48	48	-	-	-	48	---	Sena <i>et al.</i> , 2002
<i>Halichoeres radiatus</i>	Litoral do NE	48	48	-	-	-	48	---	Sena <i>et al.</i> , 2002
<i>Labrisomus nuchipinnis</i>	Baía da Guanabara – RJ	48	50	-	2	-	46	---	Affonso <i>et al.</i> , 1999
	Litoral do NE	48	48	-	-	-	48	---	Galvão e Molina, 2003
<i>Parablennius pilicornis</i>	Baía da Guanabara – RJ	48	48	-	-	-	48	---	Brum <i>et al.</i> , 1992b
<i>Scartella cristata</i>	Baía da Guanabara – RJ	48	50	-	2	26	20	---	Brum <i>et al.</i> , 1994a
<i>Bathygobius soporator</i>	Litoral do RJ	48	50	2	-	-	46	---	Brum <i>et al.</i> , 1996a
	Baía de Paranagua – PR	48	50	-	2	-	46	---	Cipriano <i>et al.</i> , 2002
<i>Sphyaena tome</i>	48°W; 23°S – RJ	48	48	-	-	-	48	---	Pauls e Coutinho, 1990
<i>Sparisoma rubripinne</i>	Litoral de NE	46	70	-	20	-	26	---	Sena <i>et al.</i> , 2002
<i>Scarus coelestinus</i>	Litoral do NE	48	88	-	16	-	32	---	Sena <i>et al.</i> , 2002
<i>Apogon americanus</i>	Litoral do RN	36	62	12	8	6	10	---	Vasconcelos <i>et al.</i> , 2004
<i>Ocyurus chrysurus</i>	Litoral do NE	48	48	-	-	-	48	---	Rocha e Molina, 2004
<i>Bothus ocellatus</i>	Ubatuba – SP	32	50	-	18	-	14	---	Azevedo <i>et al.</i> , 2001
<i>Paralichthys orbignyanus</i>	Florianópolis - SC	46	48	2	-	44	---	Azevedo <i>et al.</i> , 2000	
<i>Paralichthys patagonicus</i>		46	46	-	-	-	46	---	Azevedo <i>et al.</i> , 2004b
<i>Citarichthys spilopterus</i>		26	44	-	18	-	8	---	Azevedo <i>et al.</i> , 2004b
<i>Etopus crossotus</i>		38	64	-	26	-	12	---	Azevedo <i>et al.</i> , 2004b
<i>Trinectes paulistanus</i>	Ubatuba - SP	42	52	-	10	-	32	---	Azevedo <i>et al.</i> , 2000
	Bragança - PA	38	54	-	16	-	22	---	Azevedo <i>et al.</i> , 2004a
<i>Achirus lineatus</i>	Ubatuba – SP	40	48	-	8	-	32	---	Azevedo <i>et al.</i> , 2000
		40	64	-	24	-	16	---	Azevedo <i>et al.</i> , 2004a
<i>Achirus declivis</i>		34	52	-	18	-	16	---	Azevedo <i>et al.</i> , 2004a
<i>Gymnachirus nudus</i>		36	50	-	14	-	22	---	Azevedo <i>et al.</i> , 2004a
<i>Symphurus tessellatus</i>	Ubatuba – SP	46	62	-	16	-	30	---	Azevedo <i>et al.</i> , 2001
<i>Balistes vetula</i>	Bahia	44	44	-	-	-	44	---	Sá Gabriel e Molina, 2003
<i>Cantherhines macrocerus</i>	Litoral do RJ	40	40	-	-	-	40	---	Pauls <i>et al.</i> , 1995 a
<i>Melichthys niger</i>	Litoral do NE	40	40	-	-	-	40	---	Sá Gabriel e Molina, 2003
<i>Stephanolepis hispidus</i>	48°W; 23°S – RJ	34 (♀)	34	-	-	-	34	X ₁ X ₁ X ₂ X ₂	Pauls, 1993
		33 (♂)	34	-	1	-	32	X ₁ X ₂ Y	
<i>Sphoeroides greeleyi</i>	Baía da Guanabara – RJ	46	70	-	24	-	22	---	Brum <i>et al.</i> , 1994b
	Pontal do Sul – PR	46	66	-	20	-	26	---	Franciosi e Cestari, 2000
	Ubatuba – SP	46	66	-	20	-	26	---	Alves <i>et al.</i> , 2002
	Baía de Paranagua – PR	46	72	6	-	-	12	---	Noletto <i>et al.</i> , 2004
<i>Sphoeroides spengleri</i>	Baía da Guanabara – RJ	46	66	-	20	-	26	---	Brum <i>et al.</i> , 1994b
<i>Sphoeroides testudineus</i>	Ponta Negra – RN	46	51	-	-	-	---	---	Sena <i>et al.</i> , 1999
	Pontal do Sul – PR	46	78	-	32	-	14	---	Franciosi e Cestari, 2000
	Baía de Paranagua – PR	46	80	6	28	-	12	---	Noletto <i>et al.</i> , 2004
<i>Sphoeroides tyleri</i>	Baía da Guanabara – RJ	46	58	-	12	-	34	---	Brum <i>et al.</i> , 1996b
<i>Chilomycterus spinosus</i>	Baía da Guanabara – RJ	52	68	-	16	-	36	---	Brum <i>et al.</i> , 1996b
<i>Chilomycterus antennatus</i>	Litoral do NE	52	58	6	-	-	46	---	Sá-Gabriel e Molina, 2004
<i>Cyclichthys spinosus</i>	Baía de Paranagua – PR	50	84	-	22	-	28	---	Noletto <i>et al.</i> , 2004

Fonte: Tabela extraída de Da Silva Cortinhas (2002), modificada pelo autor; 2n: número diplóide; NF: número fundamental

Com o desenvolvimento na aplicação das técnicas de bandamento C e detecção de regiões organizadoras de nucléolos (RONs) a maioria dos peixes cariotipados da costa brasileira vem sendo caracterizados utilizando estas metodologias (42 espécies para banda C e 49 para RON). O estudo de heterocromatina constitutiva é importante na citotaxonomia e na citogenética populacional (AFFONSO, 2000). Em peixes são comuns blocos heterocromáticos em regiões centroméricas e pericentroméricas, seguindo padrão freqüente em vertebrados. A técnica de impregnação por nitrato de prata (HOWELL; BLACK, 1980), para a caracterização do número e posição das RONs ativas tem sido muito utilizada em peixes. A utilização de corantes fluorescentes com afinidades por certos segmentos cromossômicos, como cromomicina A₃ (CMA₃) e mitramicina (MM), também podem constituir uma ferramenta útil no estudo destas regiões (CORRÊA e GALETTI Jr., 1997; AFFONSO, *op. cit.*; DA SILVA CORTINHAS, 2003, entre outros), apesar da afinidade destes fluorocromos ser por regiões ricas em bases GC (ARTONI *et al.*, 1999). A localização das RONs, independente de atividade, tem sido confirmadas por hibridização com sondas DNAr ou RNAr (DA SILVA CORTINHAS *et al.*, *op.cit.*). Estas regiões em eucariotos são organizadas em duas famílias de genes altamente repetitivas que ocorrem em tandem, a 48S, observada na coloração com nitrato de prata (AgNO₃), e 5S, visualizadas por meios de técnicas mais específicas (FISH). Esta técnica além de auxiliar na localização de regiões específicas, principalmente com a sonda 18S, é informativa para confirmar se os heteromorfismos das RONs são estruturais e não apenas reflexos da atividade gênica (ROSSI *et al.*, 1996). Em vertebrados, um único par portando as RONs é tido como caráter basal, incluindo os teleósteos.

Quanto a utilização da técnica de bandamento G em peixes, os resultados tem-se mostrado insatisfatórios possivelmente devido a peculiaridades de estrutura e compactação do DNA desses animais (MEDRANO *et al.*, 1988; VENERE, 1991). Devido às dificuldades em se obter bons padrões de bandamento G e C em algumas espécies de peixes, uma alternativa é a utilização de enzimas de restrição (ER). Estas enzimas caracterizam-se pela habilidade de reconhecer seqüências específicas no DNA e orientar seu corte. Elas produzem bandamentos devido a

extração diferencial de DNA (PIECZARKA; MATTEVI, 1998). Normalmente a banda obtida é do tipo C (*Alu* I), mas em alguns casos o bandamento assemelha-se a G (*Bam* III). Os diferentes padrões de bandamento dependem da espécie e enzima utilizadas (PIECZARKA; MATEVI, *op. cit.*).

1.5. Arranjos Cromossômicos e Especiação

Dois aspectos dos processos de especiação são de interesse no contexto da citogenética. O primeiro deles são as mudanças no número de cromossomos, que podem causar efeitos genéticos e/ou fenotípicos, mudanças na fertilidade e podem estar ligados à produção de novos cultivares, principalmente em plantas, tornando-as poliplóides. O outro aspecto, refere-se as mudanças estruturais no cariótipo, podendo alterar o conteúdo de DNA – relacionados muitas vezes a proliferação de elementos genéticos móveis (SANMIGUEL, *et al.*, 1996), duplicações de genes e segmentos de cromossomos (TAYLOR; VAN de PEER; MEYER; 2001; MAZET; SHIMELD, 2002;) ou deleções destes últimos (VENKATSH, 2003) – ou na estrutura cromossômica (CLARK; WALL, 1996).

Evolução e especiação podem estar relacionadas a mudanças observáveis nos cromossomos dos organismos, porém, segundo WHITE (1978), LIVINGSTONE e RIESEBERG (2003), deve-se deixar bem claro, que estas não são essenciais para que a especiação ocorra. Muitas espécies diferem em seus cariótipos, mas existem aquelas que certamente não se distinguem, seus cariótipos são muito similares. O tremendo número de análises citogenéticas publicadas desde a descoberta de cromossomos tem revelado uma grande diversidade cariotípica em números, tamanho e organização de regiões homólogas entre táxons relacionados (LEVIN, 2002; EICHLER; SANKOFF, 2003).

A função dos rearranjos em especiação é particularmente bem suportada por várias linhas de evidências, onde nos indivíduos heterozigotos, parcialmente estéreis, as mudanças cromossômicas fixadas por diferentes rearranjos agem como barreiras genéticas para o fluxo gênico entre populações, facilitando o isolamento reprodutivo. Para MAYR (1977) o que é essencial para a especiação, é o isolamento geográfico, impedindo fluxo gênico entre populações. Outros mecanismos são secundários podendo ser importantes numa provável reaproximação das duas populações. Esses mecanismos podem agir tanto pré, intra e pós-especiação, evitando a hibridação entre diferentes proto-espécies e cada qual conservando seu pool genético. Ainda segundo MAYR (*op. cit.*),

mudanças ocorridas após o isolamento geográfico são importantes para se completar a especiação.

Muitos desses rearranjos, principalmente entre diferentes espécies que aparentemente apresentam o mesmo cariótipo, são crípticos. Nestes casos técnicas citogenéticas de bandamento são de grande valia para melhor se visualizar as diferenças e desvendar algumas informações sobre os mecanismos de evolução e especiação, em espécies muito próximas. Muitas técnicas podem demonstrar algumas diferenças estruturais entre cariótipos que formalmente foram considerados indistinguíveis (CANO; THODE; SÁNCHEZ, 1982; MARTINEZ *et al.*, 1989; VITTURI; COLOMBERA; CATALANO, 1993; SOLA *et al.*, 1993; BRUM *et al.*, 1995; CENTOFANTE; BERTOLLO; MOREIRA-FILHO, 2002; entre outros). Tratamentos com ácido e solução alcalina, revelam a extensão e localização de blocos de heterocromatina (bandamento C), preparações com tripsina e uma variedade de outros agentes, mostram um elaborado conjunto de bandas longitudinais (bandamento G), a impregnação com nitrato de prata, evidencia as regiões organizadoras de nucléolo ativas na intérfase (quantidade e localização), e assim por diante. Estas técnicas ajudam a identificar, interpretar e entender as diferenças, crípticas ou não, existentes em cariótipos de espécies relacionadas.

As mudanças achadas nos cariótipos não necessariamente causam grandes efeitos no fenótipo e para que elas sejam propagadas na população, devem permitir a reprodução, senão estas mutações cromossômicas serão eliminadas em uma única geração. A reprodução é a única via pela qual as alterações podem ser fixadas na população, e então a especiação ser completada (CLARK; WALL, 1996).

Os rearranjos cromossômicos podem ser divididos em três classes (MAYR, 1977). A primeira e mais comum delas é aquela suficientemente deletéria para ser eliminada de imediato. A segunda classe pode dar origem a um sistema de polimorfismo balanceado, e mantidas na população, como adição e deleção de heterocromatina, inversões paracêntricas e mudanças na posição de centrômeros (KING, 1993). A terceira delas, e que aparentemente apresenta um papel importante no processo de especiação, é aquela onde os rearranjos reduzem a

fertilidade do híbrido. Os heterozigotos para estas mutações encontram dificuldades durante a meiose, dificuldades estas que poderão levar a produção de gametas com deficiências ou duplicações cromossômicas, cromossomos fragmentados, ou ainda cromossomos acêntricos. Segundo KING (op. cit.), nesta última classe podemos incluir inversões pericentricas, fusões em tandem, fusões robertsonianas, translocações recíprocas, entre outras.

Nos últimos anos com o aumento dos estudos citogenéticos em peixes, alguns processos, provavelmente envolvidos na diversificação deste grupo, começaram a ser discutidos. O envolvimento de mutações cromossômicas pertencentes a terceira classe, acima mencionada, foram relatadas. Entre elas são mais mencionados os rearranjos robertsonianos (OLIVEIRA *et al.*, 1988; CORRÊA; GALETTI Jr., 1997; NIRCHIO *et al.*, 2003; entre outros) e as inversões pericentricas (BRUM *et al.*, 1995; AGUILAR; GALETTI Jr., 1997; DA SILVA CORTINHAS *et al.*, 2003; MOLINA; GALETTI Jr, 2004; entre outros). Por outro lado, em alguns grupos de peixes pode-se observar o efeito/causa de arranjos cromossômicos de diferentes naturezas como em alguns salmonídeos (FROLOU, 2000) e em loricariídeos (ARTONI; BERTOLLO, 2001).

2 . OBJETIVOS

- Caracterizar cromossomicamente espécies dos gêneros *Strongylura*, *Mugil*, *Eucinostomus* e *Diapterus* do litoral paranaense, com a utilização de coloração convencional (Giemsa);
- Caracterizar as regiões organizadoras de nucléolo (RONS), através de impregnação por nitrato de prata e localizar regiões heterocromáticas pelo bandamento C;
- Aplicar técnicas de bandamento cromossômico e coloração diferencial como a enzima de restrição *AluI* e o fluorocromo Cromomicina A₃, para detectar possíveis marcadores no cariótipo das espécies estudadas;
- Localizar os genes ribossômicos 18S e 5S no complemento cariotípico por meio de hibridação *in situ* com sondas fluorescentes (FISH);
- Discutir os resultados obtidos comparando-os com os da literatura de forma a ampliar o conhecimento quanto a citotaxonomia e história evolutiva dos peixes estudados.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material

O presente estudo refere-se a análise cariotípica de exemplares de peixes das espécies *Strongylura timucu* (Belonidae, Beloniformes), *Strogylura marina* (Belonidae, Beloniformes), *Eucinostomus argenteus* (Gerreidae, Perciformes), *Diapterus rhombeus* (Gerreidae, Perciformes) e *Mugil curema* (Mugilidae, Mugiliformes) do litoral Paranaense. A figura 1 apresenta as localidades de coleta na Baía de Paranaguá das seis espécies. As tabelas 2, 3, 4, 5, e 6 mostram dados de coleta dos exemplares submetidos as análises citogenéticas.

3.2. Métodos

3.2.1. Coleta

Exemplares foram coletados com rede de arrasto com malhas de 0,8 cm entre nós (figura 2). Após a coleta foram mantidos em recipientes com água, devidamente aerados, para transporte. Os peixes foram levados ao Laboratório de Citogenética Animal, no Departamento de Genética, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, onde foram anestesiados e posteriormente sacrificados. Os rins (região anterior e/ou posterior) foram retirados e colocados em meio RPMI com 20% de soro bovino fetal. O sexo dos animais foi determinado através da análise microscópica das gônadas, identificando as células gonadais, e posteriormente cada peixe foi catalogado em livro de protocolos. O processamento do material seguiu-se posteriormente de acordo com as técnicas descritas a seguir.

FIGURA 1. LOCALIZAÇÃO DOS PONTOS DE COLETA NA BAÍA DE PARANAGUÁ. IMAGEM DE SATÉLITE DO LOCAL DE COLETA. PONTO AMARELO: BAÍA DE LARANJEIRAS; PONTO VERMELHO: PONTAL DO SUL – GAMBOA DO BAGUAÇU.

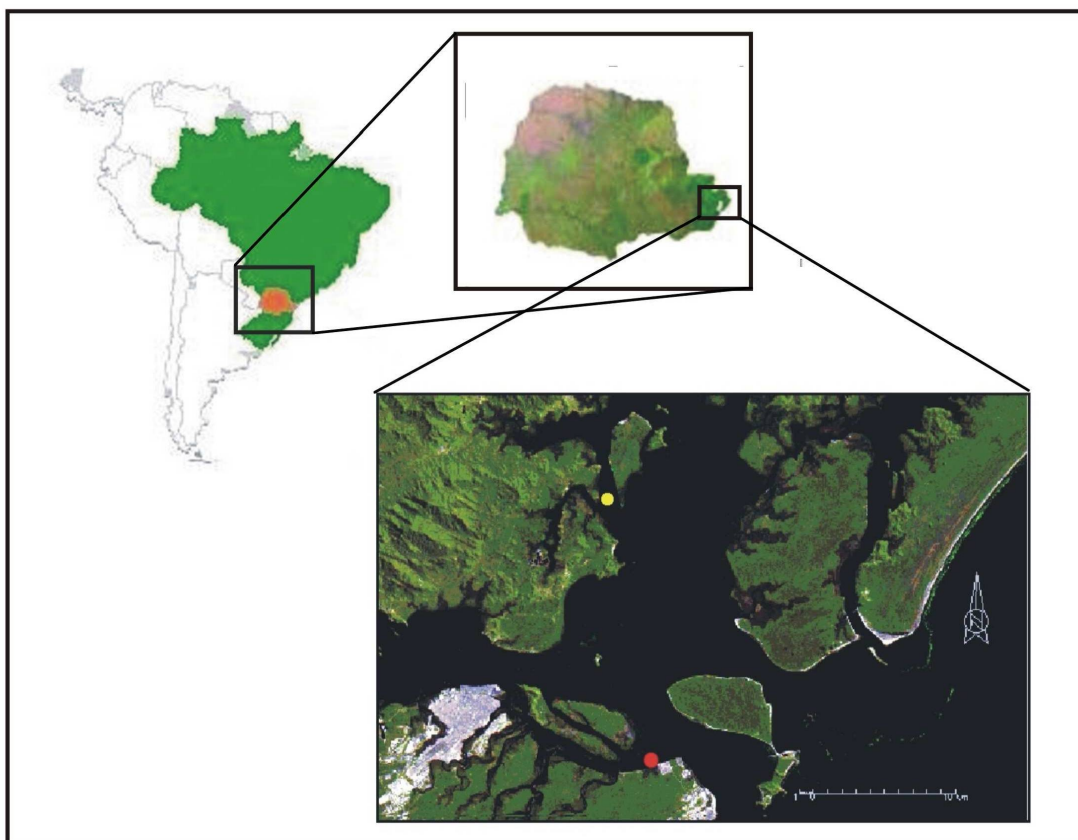


FIGURA 2. - COLETA DE EXEMPLARES NA SAÍDA DA GAMBOA DO BAGUAÇU
- BAÍA DE PARANAGUÁ – PR.



FOTO: Marta Margarete Cestari

3.2.2. Obtenção de Metáfases Mitóticas

3.2.2.1. Método indireto – Cultura de curto tempo

Foi empregada a técnica de cultura de tecidos sólidos a curto tempo (FENOCCHIO *et al.*, 1991), que consiste das etapas seguintes.

- a) Retirar a porção anterior do rim cefálico com aproximadamente 3 mm³ (mantida até então na solução salina de Hank's) e transferir para uma placa de Petri contendo 10 ml de meio de cultura RPMI mais 20% de soro bovino fetal.
- b) Desagregar o material com pinças de ponta fina com posterior asperção e expiração da solução com uma seringa de vidro sem agulha. Após a obtenção da suspensão celular, esta é incubada em estufa a 29°C por 6-7 horas em média.

- c) Sacrificar o meio vinte e cinco minutos antes de se completar 6-7 horas, pingar 3 gotas de colchicina (0,025%), aproximadamente 100µl, em cada recipiente. Agitar gentilmente o frasco para homogeneizar o material. O frasco é mantido na estufa 29°C neste período.
- d) Sacrificar o meio decorridos 25 minutos, transferindo-o para um tubo de ensaio e centrifugando-o por 10 minutos a 800-900 rpm.
- e) Descartar o sobrenadante e completar o tubo (8 ml) com solução hipotônica (KCl aq. 0,075M). O material é ressuspendido até ficar homogêneo, em seguida colocar o tubo em banho maria por 45 minutos a 37°C.
- f) Preparar o fixador usando 3 partes de metanol para uma parte de ácido acético; mantê-lo sob refrigeração. Dado o tempo de hipotonização, pingar algumas gotas do fixador em cada tubo; ressuspende o material até ficar homogêneo, e centrifugar por 10 minutos a 800-900 rpm.
- g) Descartar o sobrenadante e adicionar 2 ml de fixador. Ressuspende muito bem o material de forma que a solução se torne homogênea; completar o volume do tubo com fixador, até completar 8 ml; ressuspende novamente o material e centrifugar por 10 minutos a 800-900 rpm.
- h) Repetir uma vez mais a etapa anterior. Após o tubo ter sido preenchido com o fixador pela segunda vez, este é guardado no freezer à temperatura de -20°C negativos, por 24 horas.
- i) Retirar os tubos do freezer, transcorrido o tempo, e ressuspende o material e o centrifugar. Retirar o sobrenadante e ao material restante no fundo do tubo (células) adicionar uma quantidade de fixador suficiente para se obter uma suspensão celular que não esteja diluída nem concentrada (\pm 1,5ml de fixador). Ressuspende o material com suavidade até ficar bem homogêneo e em seguida guardar em tubos de micropipeta tipo Eppendorf, que são guardados no freezer à temperatura de -20°C.

3.2.3. Análise do Material e Montagem dos Cariótipos

O material, após retirado do freezer (-20°C) foi gotejado (2 a 3 gotas) sobre uma lâmina (previamente limpa e conservada em álcool na geladeira) colocada no vapor de um banho maria à 60°C. Após gotejamento, as lâminas foram secas ao ar.

A coloração seguiu a técnica tradicional, com uso de uma solução de Giemsa a 5% em tampão fosfato (pH 6,8) por 15 minutos. Em seguida, as lâminas foram lavadas em água corrente e secas ao ar. Esta coloração convencional permitiu a análise do número, morfologia e fórmula cromossômica.

As metáfases foram localizadas em microscópio binocular primeiramente sob aumento de 100x e, analisadas com objetiva de imersão. Foram escolhidas as metáfases com cromossomos bem diferenciados a ponto de serem contados. Foram analisadas em média de 20 a 30 metáfases por animal para se obter uma tabela de frequências referente ao número de cromossomos por metáfases. A partir destes dados foi obtido o número diplóide modal para a espécie analisada.

As metáfases que apresentaram boa dispersão, condensação e morfologia cromossômica, foram fotografadas em microscópio Leica, em campo claro com objetiva de imersão, e/ou foi utilizado o sistema de captura de imagens, com microscópio Carl Zeiss Axiophot acoplado ao sistema Applied Spectral Imagem. As análises cromossômicas foram realizadas no computador através do software Case Data Manager Expo 2.0; para a montagem do cariótipo dos indivíduos, foram feitas pranchas de machos e fêmeas.

Os cariótipos foram montados organizando-se os cromossomos segundo o tamanho e a localização do centrômero. A determinação do comprimento dos braços (maior ou menor), foi feita com um auxílio de um paquímetro. Os valores médios de cada par foram calculados para poder determinar a relação de braços (RB).

Para o cálculo de NF os cromossomos metacêntricos (M), submetacêntricos (SM) e subtlocêntricos (ST) foram considerados com dois braços, enquanto que os acrocêntricos (A) constituídos por um único braço.

A identificação cromossômica foi feita seguindo a nomenclatura proposta por LEVAN, FREDGA e SANDBERG (1964), onde os tipos cromossômicos são:

METACÊNTRICOS (M).....	RB = 1,00 - 1,70
SUBMETACÊNTRICOS (SM).....	RB = 1,71 - 3,00
SUBTELOCÊNTRICOS (ST).....	RB = 3,01 - 7,00
ACROCÊNTRICOS (A).....	RB = maior que 7,0

3.2.4. Caracterização das Regiões Organizadoras de Nucléolo (RONs)

A técnica utilizada foi a descrita por HOWELL e BLACK (1980), a qual cora as regiões organizadoras de nucléolos (RONs) através da utilização de uma solução aquosa de nitrato de prata (AgNO_3). As regiões marcadas revelam sítios ativos na interface precedente.

A técnica de HOWELL e BLACK (1980) com algumas modificações segue as etapas:

- a) Utilizar lâminas pingadas conforme a técnica anterior. Em alguns casos envelhecer a lâmina por até 2 dias em uma estufa de aproximadamente 45 °C.
- b) Utilizar uma solução aquosa de nitrato de prata a 50% e uma solução aquosa de gelatina a 2%, esta última acondicionar em frasco âmbar e manter em geladeira.
- c) Pingar sobre a lâmina uma gota da solução de gelatina e uma de água, sobre estas duas gotas da solução aquosa de nitrato de prata.
- d) Misturar as gotas e cobrir a lâmina com uma lamínula grande.
- e) Levar a lâmina assim preparada para estufa de 60°C, por cerca de 5 a 10 minutos, o tempo ideal é aquele na qual as RONs apresentem coloração preta ou marrom escura e, os cromossomos, uma tonalidade amarelada.
- f) Remover a lamínula com um jato de água destilada e colocar a lâmina em uma solução de Giemsa muito diluída (2%) por 30 segundos, apenas para retirar o brilho da coloração pela prata.
- g) Secar a lâmina ao ar.

3.2.5. Detecção das Regiões de Heterocromatina (Banda C)

Para a detecção de heterocromatina foi utilizada a técnica descrita por SUMNER (1972), modificada por AFONSO (2000):

- a) Pingar sobre uma lâmina a solução de suspensão celular anteriormente fixada (duas gotas), em banho maria a 60°C.
- b) Colocar a lâmina em solução de HCl 0,2N, a temperatura de 42°C durante 10 minutos.
- c) Lavar a lâmina em água destilada, deixar secar ao ar.
- d) Colocar num tubete contendo uma solução aquosa de hidróxido de bário a 5%, recém preparada e filtrada, a uma temperatura de 25°C por até um minuto e trinta segundos.
- e) Lavar a lâmina rapidamente em solução de HCl 1N a 60°C, para interromper a ação da solução de hidróxido de bário e retirar o excesso deste.
- f) Lavar, em seguida, com jatos de água destilada e deixar secar ao ar.
- g) Incubar a lâmina numa solução salina 2xSSC, por 1 hora a 60°C.
- h) Lavar após este período novamente e deixar secar ao ar.
- i) Corar com solução Giemsa a 2% em tampão fosfato pH 6,8 durante 30 minutos.
Lavar em água deionizada e secar ao ar.

As preparações de banda C, foram analisadas da mesma forma que a coloração convencional e fotografadas de forma a caracterizar as regiões que contém a heterocromatina.

3.2.6. Clivagem com Endonucleases de Restrição

A técnica utilizada foi a descrita por MEZZANOTTE *et al.* (1983), com algumas adaptações feitas por MAISTRO (1996) para as preparações com cromossomos de peixes.

- a) Pingar uma lâmina em banho maria a 60° C e levar à estufa a 45° C para envelhecer por um dia.
- b) Pingar uma gota de solução de enzima para cada gota de suspensão celular e cobrir com lamínula;
- c) Colocar a lâmina em câmara úmida muito bem fechada e incubada à 37°C por 5 horas.
- d) Transcorrido o tempo necessário, remover a lamínula com um jato de água destilada e deixar secar ao ar.
- e) Corar a lâmina com solução de Giemsa (5%) em tampão fosfato pH 6,8 durante 10 minutos.
- f) Lavar a lâmina novamente em água destilada e deixar secar ao ar.
- g) Analisar as preparações com enzima de restrição e fotomicrografar (fotomicroscópio Leica) e posteriormente ampliar em papel Kodabromide F₃ (Kodak).

3.2.7. Técnica de Coloração com Cromomicina A₃

A técnica utilizada foi a descrita por SCHWEIZER (1976) citado em VERMA e BABU (1995), a qual marca as regiões do DNA ricas em bases CG, com modificações.

- a) Pingar lâminas conforme descrito nas técnicas anteriores e deixar envelhecer por um dia na estufa a 45 °C.
- b) Colocar 50 µl da solução de cromomicina A₃ com o auxílio de uma micropipeta sobre a lâmina, cobrir com uma lamínula e deixar corar por 90 minutos no escuro.
- c) Retirar a lamínula com jatos de água e em seguida lavar a lâmina, em água corrente por aproximadamente 1 minuto.
- d) Deixar a lâmina secar ao ar e montar com uma nova lamínula, utilizar como meio de montagem solução de glicerol e cloreto de magnésio.
- e) Deixar a lâmina guardada à temperatura ambiente, no escuro, por no mínimo 15 dias antes de analisar (para aumentar a estabilidade do fluorocromo) em fotomicroscópio de epifluorescência, com filtro 450-490 nm (zona de excitação do azul).

3. 2. 8. Hibridação fluorescente in situ (FISH) com sonda de DNAr 18S e 5S

A. Preparação e marcação da sonda de rDNA

A sonda de DNA ribossômico do fragmento 18S, com aproximadamente 1.800 pb, para a localização desses cístrons nos cromossomos, obtida a partir da amplificação por polimerização em cadeia (PCR) dessa seqüência de DNA nuclear da espécie de peixe *Prochilodus affinis* (HATANAKA, 2000), usando os “primers” NS1 (5'- GTAGTCATATGCTTGTCTC - 3') e NS8 (5'- TCCGCAGGTTTACCTACGGA - 3') conforme WHITE *et al.* (1990).

A sonda 5S (cerca de 120pb) utilizada foi o plasmídeo recombinante p-BS//KS contendo o gene RNAr 5S obtido de *Leporinus elongatus* (Anostomidae) (MARTINS e GALETTI, 1999; MARTINS e GALETTI, 2001).

- a) Para a amplificação, utilizar 100 ng de DNA molde + 10 ng do “primer”, juntamente com KCl 50mM + Tris pH 8,3 10mM + MgCl₂ 1,5mM + dNTPs (200 mM cada) + 2,5 U de Taq polimerase e água MilliQ q.s.p. 50 µl;
- b) Para marcação da sonda, utilizar o kit “Nick Translation” da Gibco.BRL, segundo as especificações do fabricante, empregando-se a uridina biotinizada (BdUTP);
- c) Adicionar solução de formamida 50%, sulfato dextrano 10%, 20xSSC e DNA de placenta humana, perfazendo um volume total de 400 µl, após a marcação;
- d) Transferir esta solução de hibridação para um banho fervente, durante 10 minutos, para denaturação do DNA e, imediatamente após, para um recipiente com gelo, impedindo a renaturação por choque térmico.

B. Preparação das lâminas

- a) Lavar as lâminas, contendo as preparações cromossômicas, em PBS, por 5 minutos, em temperatura ambiente;
- b) Desidratá-las em uma série de etanol a 70%, 85% e 100%, 5 minutos em cada banho;
- c) Incubar as lâminas com solução de RNase (100 µg/ml) durante 1 hora, em câmara úmida a 37°C;

- d) Lavar as lâminas duas vezes em solução de 2xSSC, por 10 minutos, sob agitação;
- e) Lavar em PBS, por 5 minutos, sob agitação;
- f) Tratar as lâminas com pepsina 0,005% em 10 mM de HCl, por 10 minutos a 37°C;
- g) Lavar em PBS à temperatura ambiente, por 5 minutos, sob agitação;
- h) Fixar com formaldeído 1% / PBS 1x / MgCl₂ 50mM, por 10 minutos, à temperatura ambiente;
- i) Lavar em PBS 1x por 5 minutos, sob agitação;
- j) Desidratar em série de etanol a 70%, 85% e 100%, 5 minutos cada banho, à temperatura ambiente;
- l) Tratar as lâminas com 90 µl de formamida 70% dissolvida em 2xSSC, a 70°C, por 5 minutos;
- m) Desidratar em série de etanol a 70%, 85% e 100%, 5 minutos cada banho.

C. Hibridação e detecção dos sinais correspondentes

- a) Aplicar, sobre as lâminas, cerca de 50 µl da solução de hibridação;
- b) Arrumar as lâminas em câmara úmida e incubá-las a 37°C “overnight” contendo solução de formamida 60% em 2xSSC pH 7,0;
- c) Lavar as lâminas com solução de formamida 50% em 2xSSC pH 7,0 por 20 minutos, a 42°C e, sob agitação;
- d) Lavar com 0,1xSSC a 60°C, por 15 minutos, sob agitação;
- e) Lavar em Tween 20, por 5 minutos, sob agitação;
- f) Incubar em 90 µl de tampão NFDM a 5%, por 15 minutos em câmara úmida;
- g) Lavar duas vezes com Tween 20, cinco minutos cada, sob agitação;
- h) Colocar sobre as lâminas 90 µl de avidina-FITC (Fluoresceína Isotil Cianato-avidina conjugada) a 0,25 µg/µl, e incubar por 30 minutos a 37°C, em câmara úmida;
- i) Lavar as lâminas 3 vezes em Tween 20, cinco minutos cada, sob agitação;
- j) Colocar anti-avidina biotina-conjugada sobre as lâminas, seguindo as mesmas quantidades e tempo de incubação recomendadas para o tratamento com avidina;

- l) Lavar três vezes com solução de Tween 20, cinco minutos cada, sob agitação.
- m) Repetir os passos h, i, j e l por mais uma vez e completando novamente com o tratamento com avidina-FITC e posterior lavagem com Tween 20, sob agitação;
- n) Desidratar em série de etanol a 70%, 85% e 100% à temperatura ambiente, 5 minutos em cada banho;
- o) Montar as lâminas com 25µl para cada solução de iodeto de propídeo;
- p) Analisar em fotomicroscópio de epifluorescência sob filtro azul (450 – 490 nm de comprimento de onda).

4. RESULTADOS

4.1. GERREIDAE

Os indivíduos das espécies *Eucinostomus argenteus* e *Diapterus rhombeus* apresentaram a mesma constituição cromossômica, independente do local de coleta (tabela 2 e 3). Também não foram detectadas diferenças significativas entre cariótipos de machos e fêmeas analisados, não se constatando, portanto, nenhum tipo de heteromorfismo cromossômico relacionado ao sexo. Os cariótipos (figura 3) são compostos de $2n = 48$ cromossomos, todos acrocêntricos. O pareamento é discutível, pelo decréscimo sutil do tamanho dos cromossomos.

A ocorrência de associações pelo centrômero entre os cromossomos também foi detectada em muitas metáfases, dando origem a formações de buquês ou cromossomos aparentemente fusionados (figura 4).

Todos os cromossomos do complemento cariotípico das duas espécies apresentaram heterocromatina constitutiva, detectada pelo bandamento C, distribuída nas regiões centroméricas e teloméricas (figura 5). Em *Eucinostomus argenteus* os blocos foram bem discretos (figura 5a). Em *Diapterus rhombeus* estes blocos estão mais evidentes (figura 5b).

O tratamento com a endonuclease de restrição *AluI* produziu marcações conspícuas e centroméricas, semelhantes às bandas C, em praticamente todos os cromossomos (figura 6).

As regiões organizadoras de nucléolos (Ag-RONs), foram observadas em ambas as espécies em posição terminal no braço curto de um par de cromossomos (figura 7). O fluorocromo cromomicina A_3 (CMA₃) evidenciou regiões de DNA ricas em bases GC coincidentes com as regiões organizadoras de nucléolo (figura 8A e 8C).

A hibridização fluorescente (FISH) com sondas DNAr 18S também foi coincidente com os resultados obtidos para a marcação das RONS por impregnação de nitrato de prata, assim como com a aplicação do fluorocromo base específico CMA₃ (figura 8B e 8D), em *E. argenteus* e *D. rhombeus*. A sonda

5S evidenciou regiões intersticiais em um único par de cromossomos de forma pouco conspícua (figura 9A e 9B).

TABELA 2 – DADOS DAS ANÁLISES EM COLORAÇÃO CONVENCIONAL EM *Eucinostomus argenteus*, NÚMERO DE METÁFASES ANÁLISADAS E NÚMERO MODAL.

	50	49	48	47	46	≤45	Total	Local de Coleta
722M	0	0	1	2	0	3	6	Pontal do Sul
727M	0	0	23	0	0	0	23	Pontal do Sul
729M	0	0	53	0	0	0	53	Pontal do Sul
1046F	0	0	0	0	0	0	0	Pontal do Sul
1047F	0	0	3	0	0	0	3	Pontal do Sul
1048M	0	0	0	0	0	0	0	Pontal do Sul
1049F	0	0	0	0	0	0	0	Pontal do Sul
1062M	0	0	14	2	1	3	20	Pontal do Sul
1063F	0	0	18	0	1	6	25	Pontal do Sul
1064F	0	0	51	2	3	11	67	Pontal do Sul
1108F	0	0	25	0	0	0	25	Pontal do Sul
1109M	0	0	13	0	0	0	13	Pontal do Sul
1110F	0	0	21	0	0	0	21	Pontal do Sul
1111M	0	0	24	0	0	0	24	Pontal do Sul
1211F	0	0	16	0	0	3	19	Pontal do Sul
1212M	0	2	28	0	0	2	32	Pontal do Sul
1213M	0	0	11	2	0	0	13	Pontal do Sul
1214F	0	0	37	0	3	6	46	Pontal do Sul
1215F	0	0	17	3	1	2	23	Pontal do Sul
1334M	0	0	1	0	0	0	1	Pontal do Sul
1335F	0	0	0	0	0	0	0	Pontal do Sul
1336?	0	0	0	0	0	0	0	Pontal do Sul
1363F	0	1	6	1	0	3	11	Pontal do Sul
1364F	0	0	0	0	0	0	0	Pontal do Sul
Total	0	3	362	12	9	39	425	

TABELA 3 – DADOS DAS ANÁLISES EM COLORAÇÃO CONVENCIONAL EM *Diapterus rhombeus*, NÚMERO DE METÁFASES ANÁLISADAS E NÚMERO MODAL.

	50	49	48	47	46	≤45	Local de Coleta
1612F	0	0	2	0	0	3	Laranjeiras
1613M	0	0	0	0	0	0	Laranjeiras
1614M	0	0	4	0	1	3	Laranjeiras
1615M	0	0	9	1	1	6	Laranjeiras
1616M	0	0	7	0	0	3	Laranjeiras
1617M	0	0	2	0	0	2	Laranjeiras
1619M	0	0	7	0	0	3	Laranjeiras
1620M	0	0	1	0	0	1	Laranjeiras
1621M	0	0	0	0	0	0	Laranjeiras
1629F	0	0	15	1	1	4	Laranjeiras
1630M	0	0	20	2	1	0	Laranjeiras
1631M	0	0	35	6	5	9	Laranjeiras
1632?	0	0	3	1	0	1	Laranjeiras
1634M	0	0	5	0	1	0	Laranjeiras
Total	0	0	110	11	10	35	

FIGURA 3 – CARIÓTIPOS DE *Eucinostomus argenteus* (a) E *Diapterus rhombeus* (b); $2n = 48$; $NF = 48$.

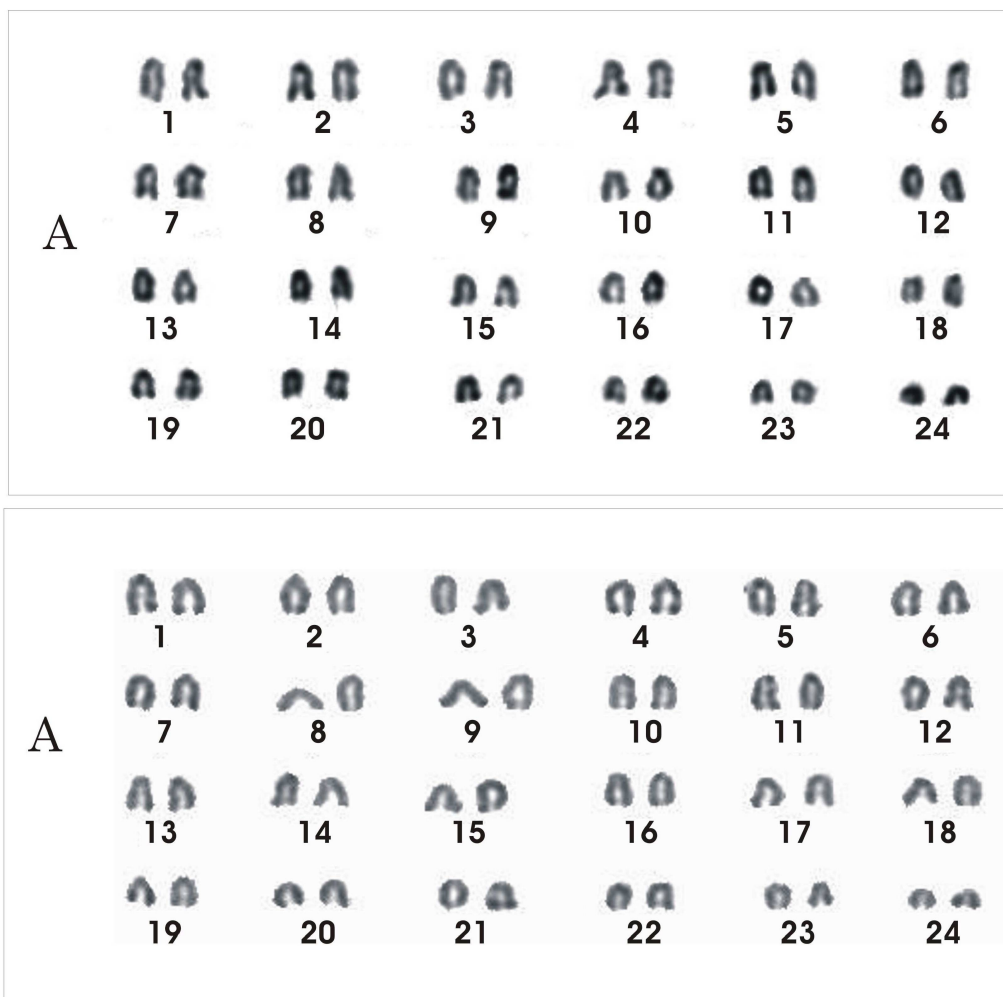


FIGURA 4 – METÁFASES SOMÁTICAS DE *Eucinostomus argenteus* EVIDENCIANDO ASSOCIAÇÃO PELO CENTRÔMERO DE ALGUNS CROMOSSOMOS FORMANDO CONFORMAÇÕES RADIAIS.

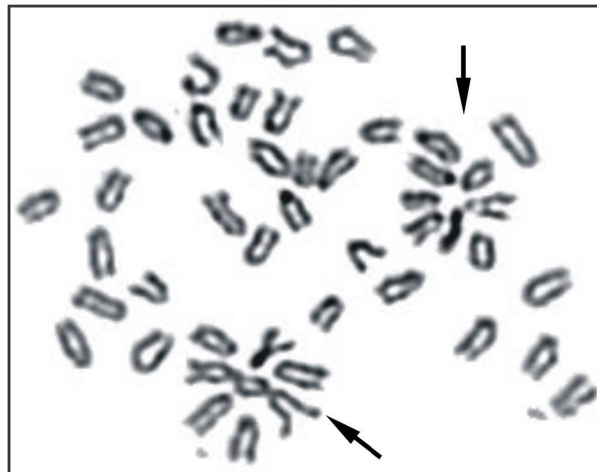


FIGURA 5 – METÁFASES SOMÁTICAS DE *Eucinostomus argenteus* (a) E *Diapterus rhombeus* (b) APÓS O BANDAMENTO C COM A PRESENÇA DE HETEROCROMATINA CONSTITUTIVA RESTRITA ÀS REGIÕES CENTROMÉRICAS.

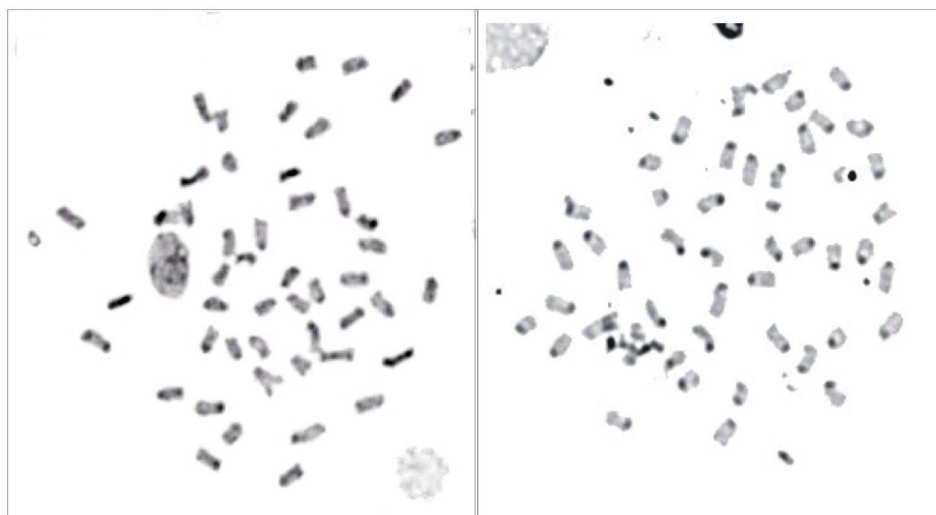


FIGURA 6 – METÁFASES SUBMETIDAS AO TRATAMENTO COM A ENDONUCLEASE DE RESTRIÇÃO *AluI*: a) *Eucinostomus argenteus*; b) *Diapterus rhombeus*.

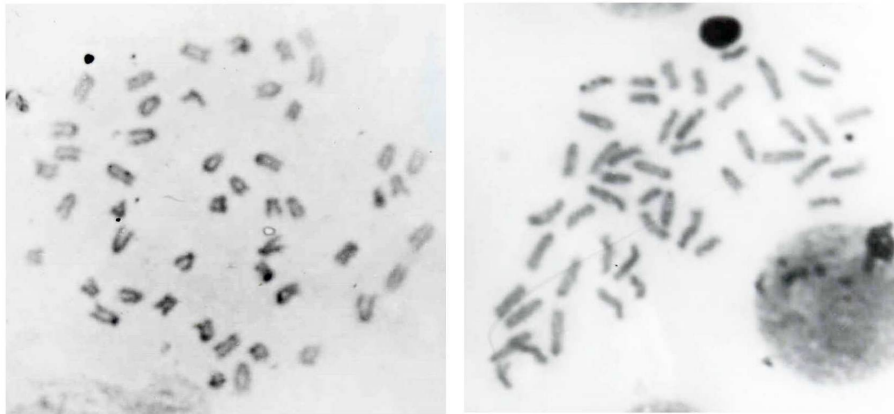


FIGURA 7 – METÁFASES SOMÁTICAS APÓS TRATAMENTO COM AgNO_3 : (a) *Eucinostomus argenteus*; (b) *Diapterus rhombeus*.

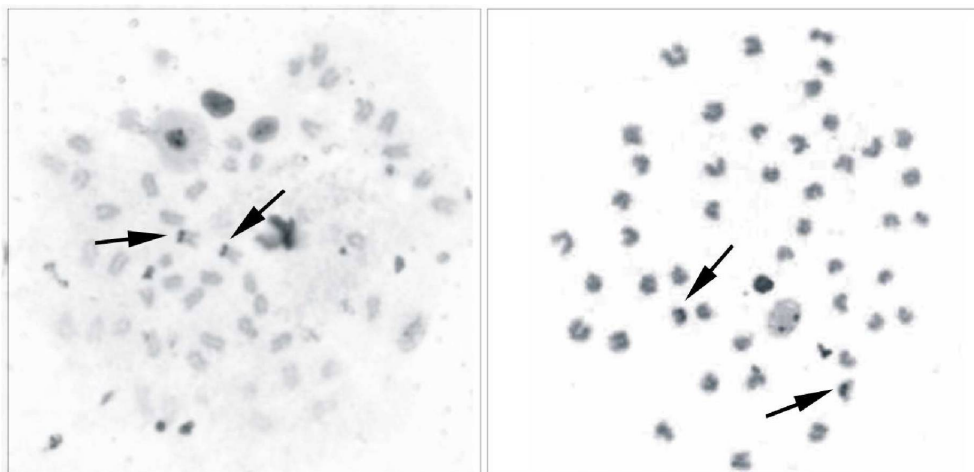


FIGURA 8 – METÁFASES APÓS A COLORAÇÃO COM CROMOMICINA A₃ E LOCALIZAÇÃO DOS GENES RIBOSSÔMAIS 18S: *Eucinostomus argenteus* (a, b); *Diapterus rhombeus* (c,d).

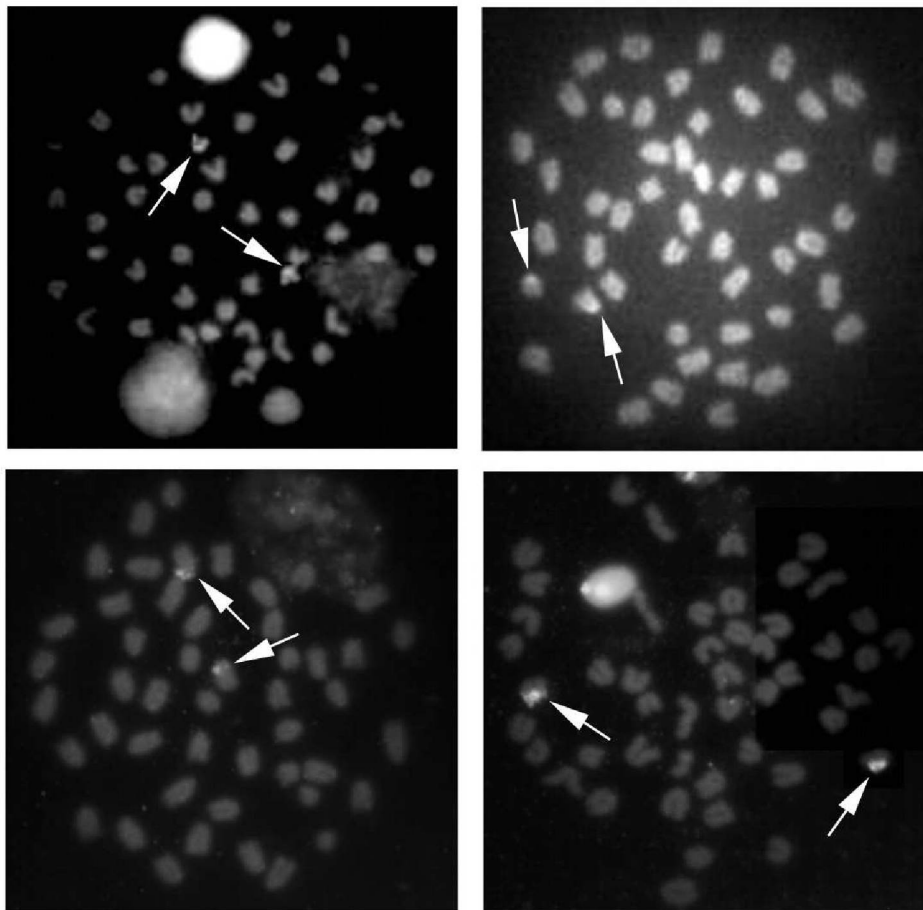
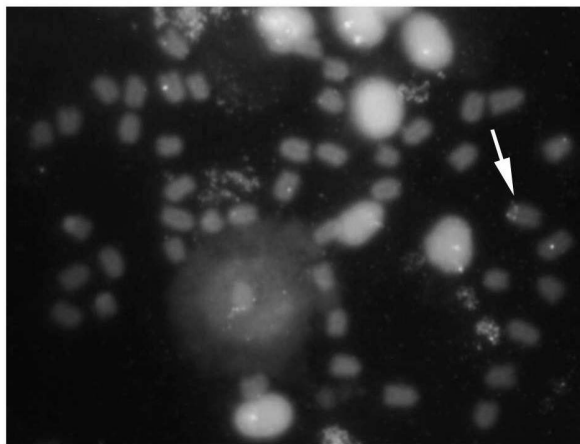
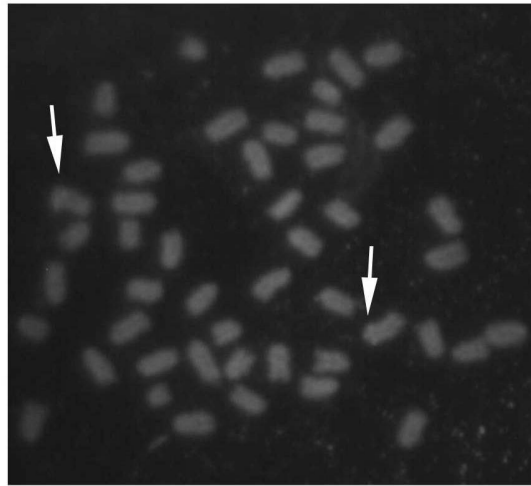


FIGURA 9 – LOCALIZAÇÃO DOS GENES RIBOSSÔMAIS 5S EM: a) *Eucinostomus argenteus* E b) *Diapterus rhombeus*. METÁFASES PARCIAIS.



4.2. BELONIDAE

As duas espécies do gênero *Strongylura* analisadas apresentaram $2n = 48$ cromossomos (tabela 4 e 5). *Strongylura timucu* apresentou 10 cromossomos metacêntricos (M), dois submetacêntricos (SM) e 36 cromossomos acrocêntricos (A) ($10M + 2SM + 36A$), perfazendo um número fundamental de 60 ($NF = 60$) (figura 10). A outra espécie analisada, *Strongylura marina*, apresentou uma constituição cariotípica de 2 pares de cromossomos Metacêntricos e 22 pares de Acrocêntricos ($4M + 44A$; $NF = 52$) (figura 12). Ambas as espécies não apresentaram heteromorfismo cromossômico relacionado ao sexo.

Em *Strongylura timucu* as constrições secundárias estão presentes no braço curto do par de cromossomos submetacêntrico, par 6, e um heteromorfismo da constrição secundária entre os homólogos é detectado. Pela coloração com nitrato de prata são visualizadas, nesta espécie, RONS correspondentes as constrições secundárias (figuras 10). Quando submetido ao fluorocromo cromomicina A_3 o local da constrição secundária apresentou-se fluorescente, sendo evidenciado o heteromorfismo de tamanho, assim como vista em coloração convencional e Ag-RON (figura 14C).

Em *Strongylura marina* as regiões organizadoras de nucléolo, através da coloração Ag-RON, mostraram-se localizadas em um único par de cromossomos acrocêntricos, arranjados como o sexto do complemento (figuras 12 e 14B), e coincidentes com as marcações evidenciadas pela submissão ao fluorocromo, base específico GC, cromomicina A_3 (figura 14D). Em ambas as técnicas acima mencionadas foi detectado um heteromorfismo de tamanho.

Quando submetidos ao bandamento C, os cromossomos Acrocêntricos de ambas as espécies apresentaram blocos pericentroméricos de heterocromatina constitutiva. Em *Strongylura timucu*, os cromossomos Acrocêntricos e os Metacêntricos apresentaram blocos C+ na região pericentromérica, enquanto que os Submetacêntricos apresentaram heterocromatina proximal em ambos os braços (figura 11). Em *Strongylura marina* o primeiro par de Metacêntricos apresentou-se praticamente inteiro heterocromático, livrando apenas uma

pequena porção terminal, próxima a região telomérica do braço curto. O segundo cromossomo Metacêntrico, assim como os outros cromossomos do complemento, apresentaram blocos positivos na região pericentromérica. Também foram visualizados blocos heterocromáticos intersticiais (par 7) e teloméricos em outros cromossomos do complemento (pares 4, 10 e 14). Os blocos heterocromáticos observados no cromossomo 6 (figura 13) foram coincidentes com as RONS e marcações CMA₃⁺ (figura 13 e 14D).

O tratamento com a endonuclease de restrição *A/ul* produziu marcações semelhantes às bandas C em quase todos os cromossomos, em ambas as espécies (figura 15).

A localização dos genes ribossômicos 18S, foi coincidente com a coloração com AgNO₃ e com a técnica utilizando o fluorocromo base específico CMA₃, inclusive quanto ao heteromorfismo de tamanho visualizado em ambas as espécies (figura 14E e 14F). Em *Strongylura timucu* os genes ribossômicos 5S ocuparam a região intersticial de um par de cromossomos metacêntrico (figura 16).

TABELA 4 – DADOS DAS ANÁLISES EM COLORAÇÃO CONVENCIONAL EM *Strongylura timucu*, NÚMERO DE METÁFASES ANÁLISADAS E NÚMERO MODAL.

	50	49	48	47	46	≤45	Total	Local de coleta
463M	2	6	94	7	1	2	112	Pontal do Sul
464M	0	2	103	5	4	5	119	Pontal do Sul
540?	3	3	66	3	5	8	88	Pontal do Sul
1034M	0	1	19	1	0	0	21	Pontal do Sul
1035F	0	0	15	0	1	4	20	Pontal do Sul
1036F	0	0	20	2	2	1	25	Pontal do Sul
1037F	0	0	11	0	1	1	13	Pontal do Sul
1038M	0	0	16	0	1	1	18	Pontal do Sul
1039F	0	0	40	1	4	4	49	Pontal do Sul
1040F	0	0	42	1	1	5	49	Pontal do Sul
1199F	2	0	28	1	0	2	33	Laranjeiras
1200M	0	0	27	2	0	5	34	Laranjeiras
1371?	0	0	0	0	0	0	0	Laranjeiras
1662F	0	0	19	2	0	7	28	Pontal do Sul
Total	7	12	500	25	20	45	609	

TABELA 5 – DADOS DAS ANÁLISES EM COLORAÇÃO CONVENCIONAL EM *Strongylura marina*, NÚMERO DE METÁFASES ANÁLISADAS E NÚMERO MODAL.

	50	49	48	47	46	≤45	Total	Local de Coleta
1618M	0	0	22	1	1	3	27	Laranjeiras
1628F	0	0	7	1	0	2	10	Laranjeiras
Total	0	0	29	2	1	5	37	

FIGURA 10 – CARIÓTIPO DE *Strongylura timucu* COM $2n = 48$ CROMOSSOMOS (10M + 2SM + 36A; NF = 60). EM DESTAQUE O PAR PORTADOR DA REGIÃO ORGANIZADORA DE NUCLEÓLO APÓS A IMPREGNAÇÃO POR NITRATO DE PRATA.

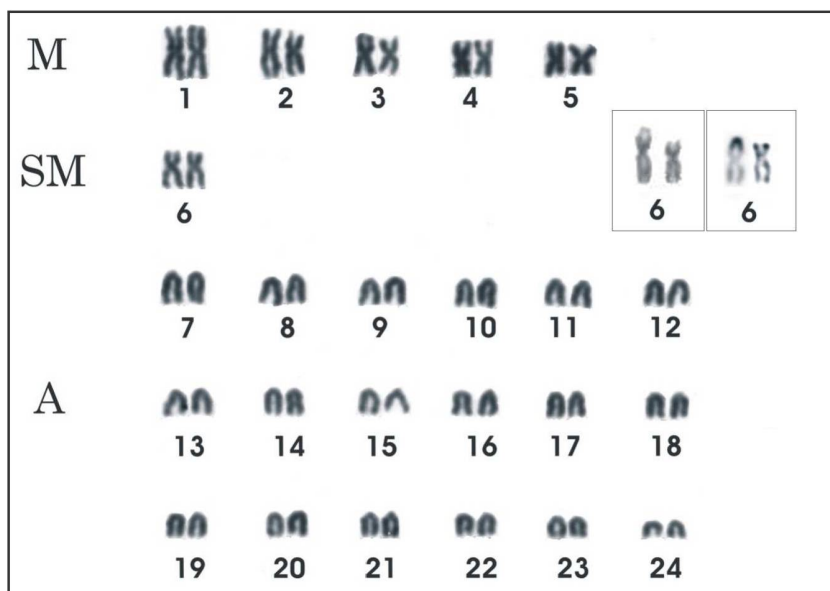


FIGURA 11 – CARIÓTIPO DE *Strongylura timucu* APÓS BANDAMENTO C.

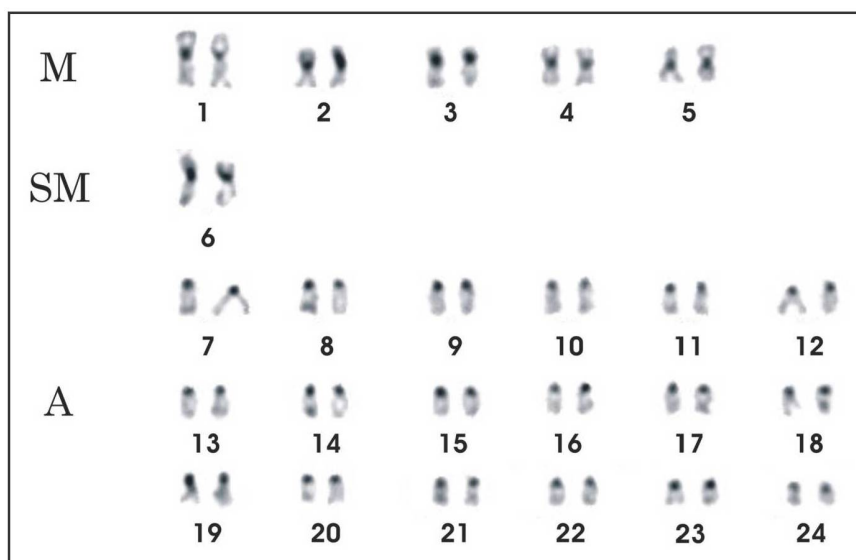


FIGURA 12 – CARIÓTIPO DE *Strongylura marina* COM $2n = 48$ (4M + 44A; NF = 52). EM DESTAQUE O PAR PORTADOR DA REGIÃO ORGANIZADORA DE NUCLÉOLO APÓS A IMPREGNAÇÃO POR NITRATO DE PRATA.

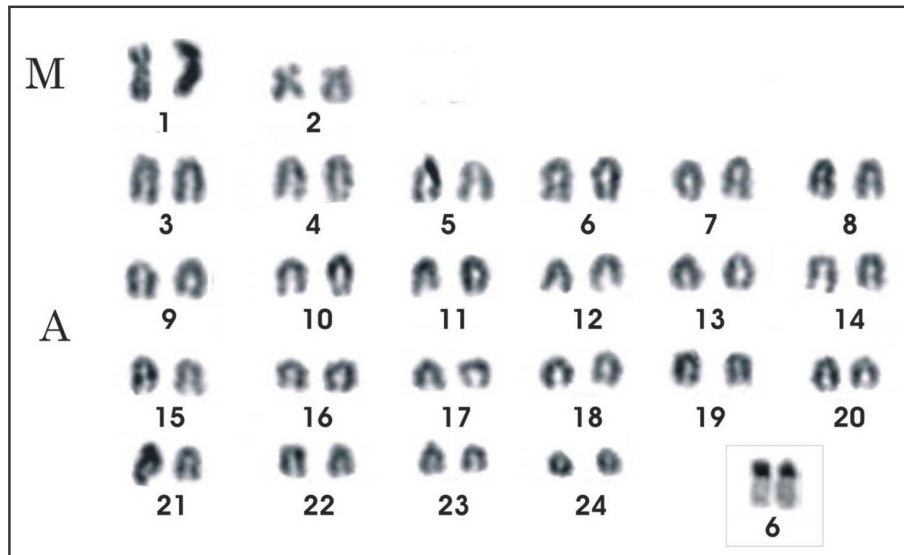


FIGURA 13 – CARIÓTIPO DE *Strongylura marina* APÓS O BANDAMENTO C. DESTAQUE PARA O CROMOSSOMO 1 DO COMPLEMENTO, APRESENTANDO UM GRANDE BLOCO DE HETEROCROMATINA CONSTITUTIVA.

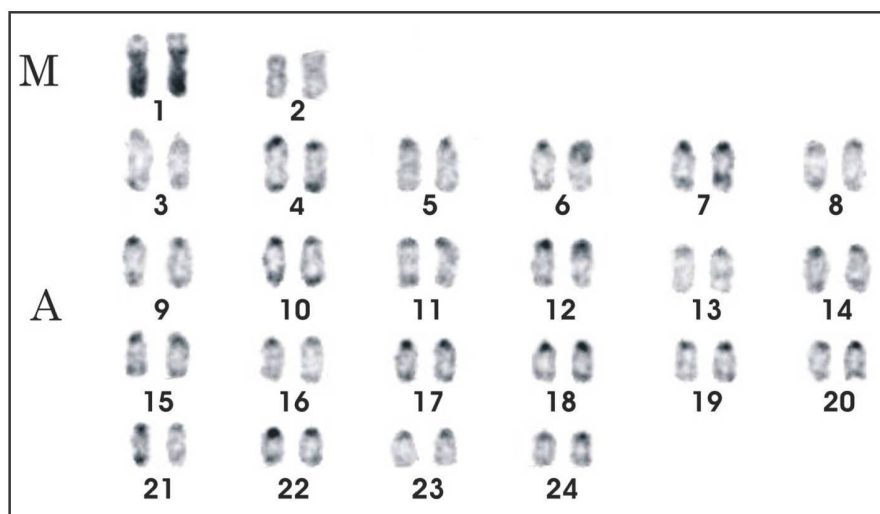


FIGURA 14 – METÁFASES SOMÁTICAS APÓS TRATAMENTO COM AgNO_3 , CMA_3 e FISH (18S): *Strongylura timucu* (A, C e E); *Strongylura marina* (B, D e F). AS SETAS INDICAM OS CROMOSSOMOS NUCLEOLARES.

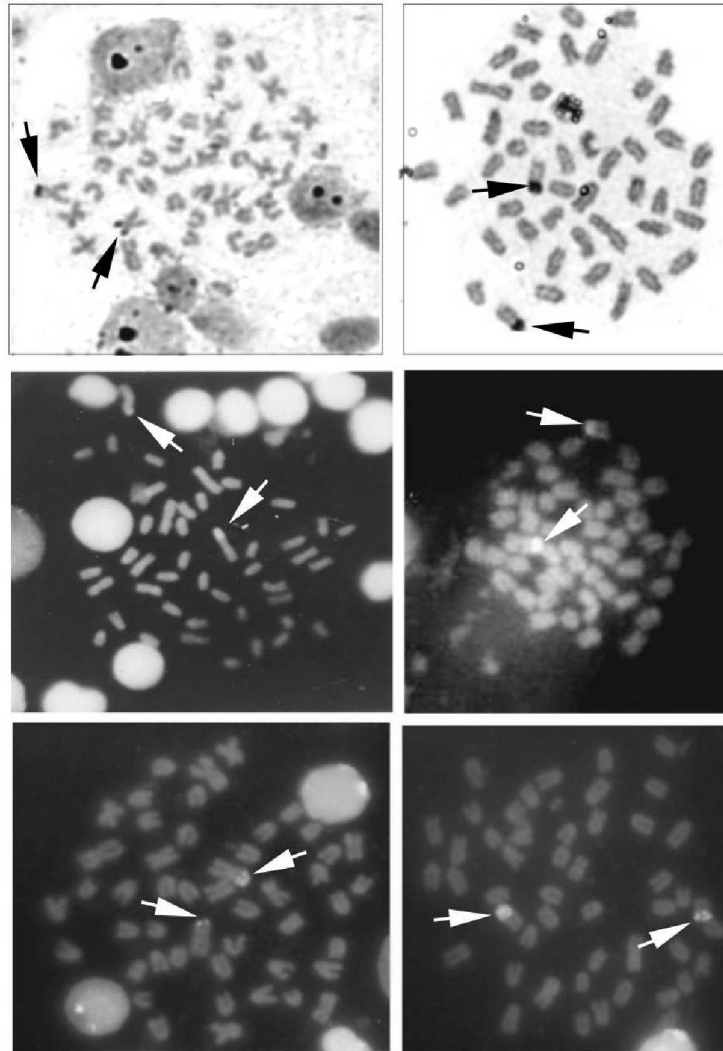


FIGURA 15 – METÁFASES MITÓTICAS APÓS O TRATAMENTO COM A ENZIMA DE RESTRIÇÃO *AluI*: *Strongylura timucu* (A); *Strongylura marina* (B).

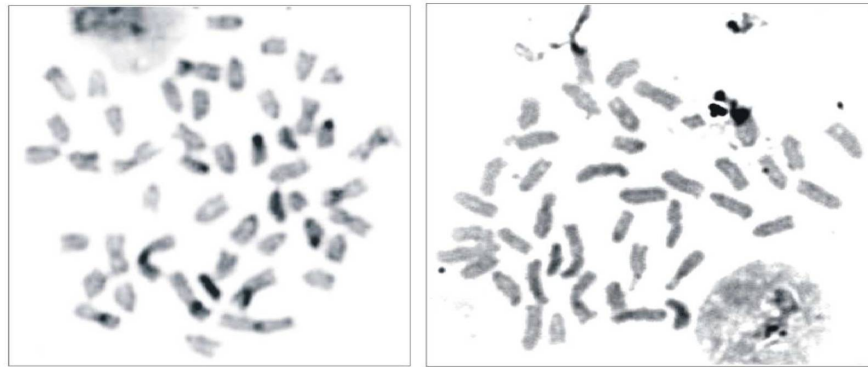
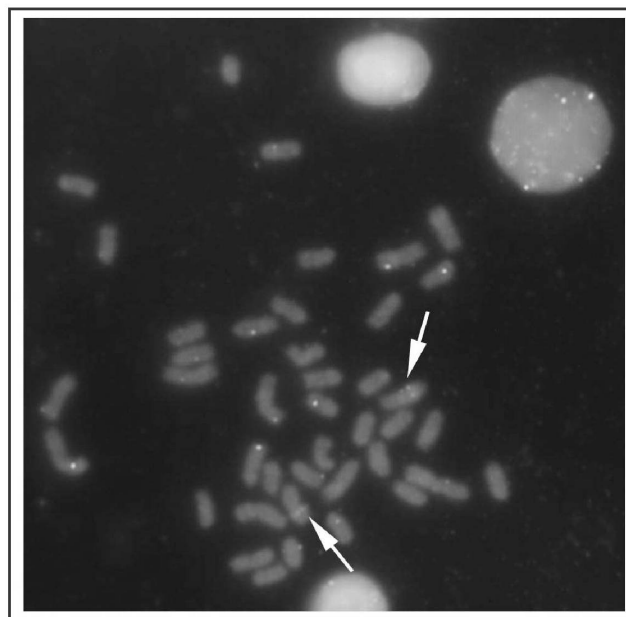


FIGURA 16 – AS SETAS INDICAM A LOCALIZAÇÃO DE GENES RIBOSSÔMAIS 5S EM *Strongylura timucu*, EM METÁFASE PARCIAL.



4.3. MUGILIDAE

A espécie *Mugil curema*, apresentou um cariótipo com $2n = 28$ cromossomos, sendo 20 metacêntricos, 4 subtelocêntricos e 4 acrocêntricos (20M + 4ST + 4A), perfazendo um NF = 52 (figura 17).

Um único par de cromossomos portador de RONS pôde ser identificado após a impregnação por nitrato de prata. Os sítios de DNAr estavam localizados por toda a extensão do braço curto do par 11 de cromossomos subtelocêntricos (figuras 17 e 18). Com a aplicação de fluorocromos GC-específicos (cromomicina A₃) também detectou-se um único par marcado, correspondente ao portador da RON (figura 18B). A hibridização fluorescente *in situ* (FISH) com a sonda DNAr 18S confirmou a marcação obtida pela Ag-RON, com sinais fluorescentes no braço curto do par de cromossomos subtelocêntricos (figura 18C).

O bandamento C revelou blocos heterocromáticos preferenciais sobre às regiões centroméricas em quase todos os cromossomos do complemento cariotípico (figura 19A). Os resultados obtidos com o tratamento com a endonuclease de restrição *A/ul* mostraram padrões que se assemelham a bandas C (figura 19B).

TABELA 5 – DADOS DAS ANÁLISES EM COLORAÇÃO CONVENCIONAL EM *Mugil curema*, NÚMERO DE METÁFASES ANÁLISADAS E NÚMERO MODAL.

	29	28	27	26	≤25	Total	Local de Coleta
567?	1	58	19	7	7	92	Pontal do Sul
568M	0	60	15	3	7	85	Pontal do Sul
580M	0	1	1	0	0	2	Pontal do Sul
1042F	0	19	0	1	2	22	Pontal do Sul
1043F	0	11	1	0	1	13	Pontal do Sul
1044M	0	4	1	0	2	7	Pontal do Sul
Total	1	153	37	11	19	221	

FIGURA 17 – CARIÓTIPO DE *Mugil curema* COM $2n = 28$ CROMOSSOMOS (20M + 4ST + 4A; NF = 52). EM DESTAQUE OS PARES PORTADORES DAS REGIÕES ORGANIZADORAS DE NUCLÉOLO APÓS A IMPREGNAÇÃO POR NITRATO DE PRATA.

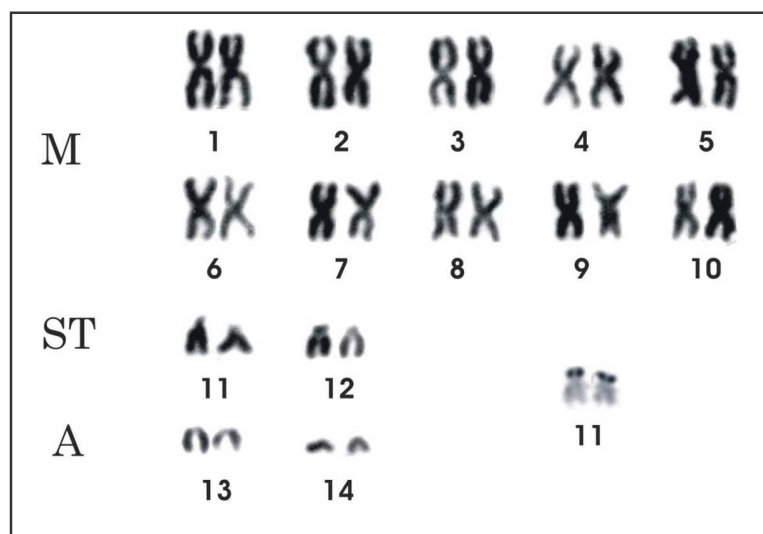


FIGURA 18 – METÁFASES DE *Mugil curema* APÓS COLORAÇÃO COM AgNO_3 (A), CROMOMICINA A_3 (B) E FISH COM SONDA DNAr 18S (C) COM PRESENÇA DE SINAIS POSITIVOS NO PAR 11, PORTADOR DE RONS.

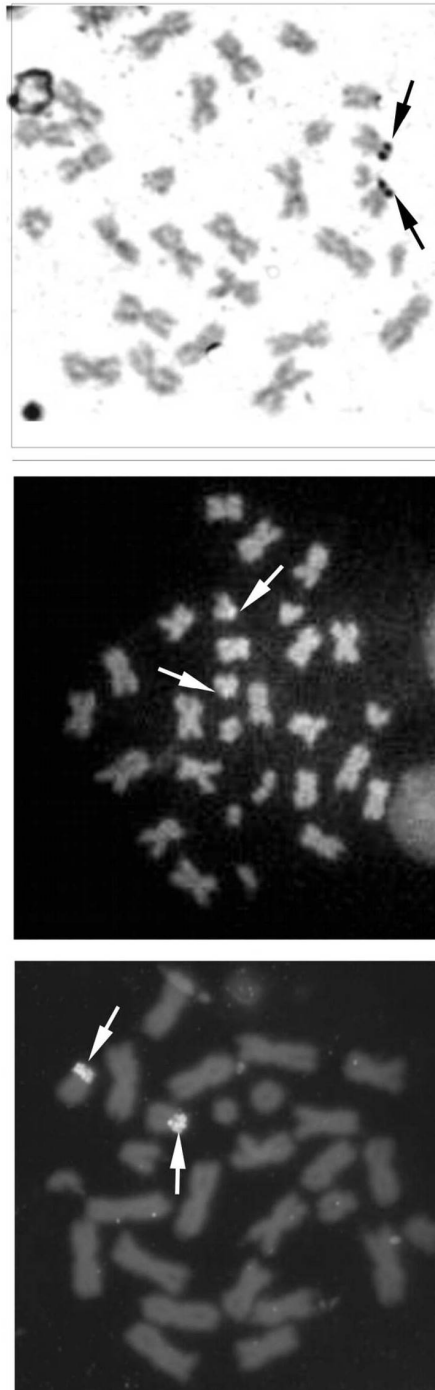
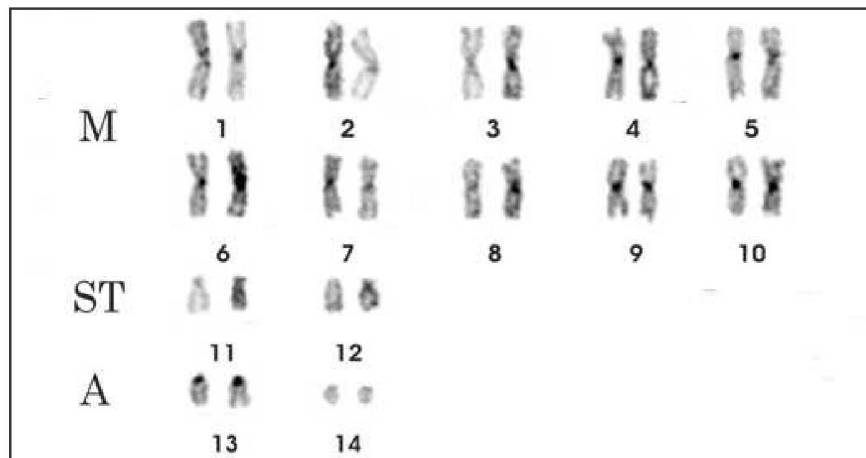
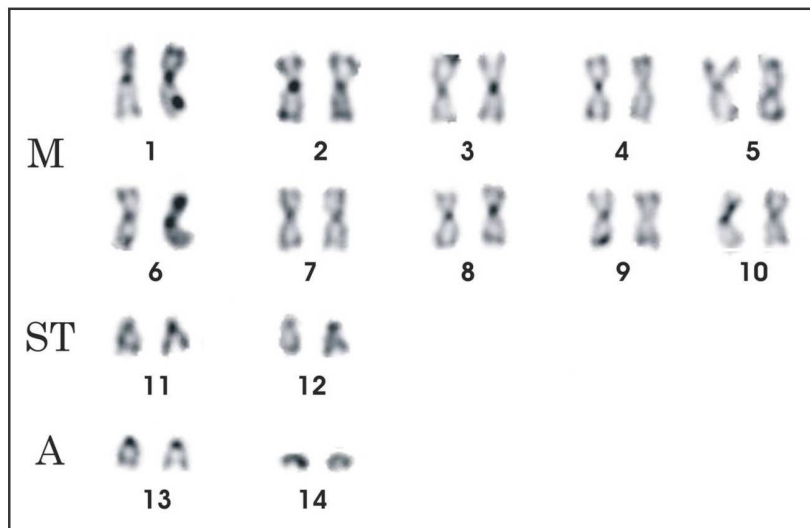


FIGURA 19 – CARIÓTIPOS DE *Mugil curema* APÓS BANDAMENTO C COM PRESENÇA DE HETEROCROMATINA AS REGIÕES CENTROMÉRICAS (A), APÓS O TRATAMENTO COM A ENZIMA DE RESTRIÇÃO *AluI* (B).



5. DISCUSSÃO

O táxon Actinopterygii, que inclui os peixes de nadadeiras raiadas, é considerado por muitos pesquisadores como um grupo monofilético, apresentando um único grupo ancestral. O gênero *Cheirolepis* é conhecido como o mais primitivo actinopterygeo (NELSON, 1994), e este grupo extinto, bastante abundante no Devoniano, pode ser o grupo irmão dos actinopterigeos atuais. A citogenética destes animais é bem conhecida, quando comparada a outras classes de peixes. A favor desta grande corrida sobre o conhecimento genético da classe está a grande abundância destes animais sobre a superfície terrestre, ocupando todos os ambientes, marinhos e dulciaquícolas, representando cerca de 23.681 espécies (NELSON, *op. cit.*).

A maioria das informações cromossômicas sobre a nossa ictiofauna está concentrada nas ordens Characiformes e Siluriformes. Os Perciformes figuram em terceiro lugar e parecem ser caracterizados por uma maior estabilidade citogenética entre as espécies analisadas (OLIVEIRA; ALMEIDA-TOLEDO; FORESTI, 2000), com 48 cromossomos acrocêntricos em aproximadamente 138 espécies de um total de 600 cariotipadas (AFFONSO, 2000). Esta característica marcante também é bastante difundida entre outros grupos de peixes marinhos.

O cariótipo com $2n = 48$ cromossomos acrocêntricos é considerado por alguns autores uma herança dos primeiros vertebrados (OHNO; ATKIN, 1966; ATKIN; OHNO, 1967; MURAMOTO; OHNO; ATKIN, 1968; OHNO, 1970; OHNO, 1974;). Apesar disso, BRUM (1996) e BRUM; GALETTI Jr (1997), propõe que este cariótipo seja uma sinapomorfia dos grupos Euteleostei e Clupeiformes, conservada principalmente em suas espécies marinhas, onde o provável ancestral dos vertebrados inicialmente apresentava 60 cromossomos, incluindo cromossomos metacêntricos, sofrendo uma redução no seu número diplóide devido a rearranjos cromossômicos.

Os resultados obtidos no presente trabalho mostram cariótipos com $2n = 48$, em Belonidae e Gerreidae, tendo a primeira família apresentado uma maior diversificação de formas cromossômicas entre as espécies estudadas (*S. timucu* e

S. marina), e $2n = 28$ na família Mugilidae. O número diplóide de 48 cromossomos de *Strongylura timucu*, *S. marina*, *Eucinostomus argenteus* e *Diapterus rhombeus* é similar ao da maioria das 117 espécies de peixes marinhos já cariotipados da costa brasileira (ver tabela 1), com cerca de 81 espécies apresentando um complemento cromossômico com esse número, das quais 48 com todos os cromossomos acrocêntricos.

Belonidae

Estudos visando entender relações filogenéticas entre os gêneros e espécies dos Beloniformes demonstram a grande diversidade deste grupo, tanto em termos ecológicos, morfológicos como genéticos (GOULDING; CARVALHO, 1984; LOVEJOY, 2000; LOVEJOY; ARAUJO, 2000; LOVEJOY; COLLETTE, 2001).

Em relação a citogenética também não é diferente. Estudos, dentro da família Belonidae, evidenciaram cariótipos com 48 cromossomos todos acrocêntricos em *Tylosurus leirus* e *T. strongylurus* (RISHI, 1973; SRIVASTAVA; KAURA, 1964). RISHI e SINGH (1982) apresentaram o cariótipo de uma espécie do gênero *Strongylura*, *S. strongylura*, com complemento cromossômico diplóide com 50 cromossomos e com complexidade cariotípica maior do que a observada em *Strongylura microps*, outra espécie do gênero estudada por PASTORI *et al.* (1998). Nesta última foi determinado um $2n = 50$ cromossomos, todos acrocêntricos (NF = 50). Estes dados junto com os do presente trabalho comprovam a diversidade cariotípica característica deste grupo, que pode ser atribuída ao processo evolutivo sofrido por estes peixes, que ocupam ambientes bem diversos. Fórmulas cariotípicas não concordantes, nos Belonidae, provavelmente sejam devidas à ocorrência de fusões, fissões e inversões, que seriam responsáveis pelas variações estruturais e numéricas. Exatamente a mesma hipótese poderia ser utilizada em relação ao cariótipo de *Mugil curema*.

O papel dos rearranjos cromossômicos na especiação não é nenhuma novidade, porém está bem evidente em *Strongylura timucu* e *S. marina*, pois os

cariótipos de ambas as espécies são bastante diferenciados. *S. timucu* apresenta cinco pares de cromossomos de dois braços, enquanto que a outra apresenta apenas dois pares. O mesmo número cromossômico nas duas espécies sugere a ocorrência de inversões pericêntricas no processo evolutivo do grupo, alterando apenas o número de braços (NF).

Mugilidae

Os Mugiliformes apresentam grande similaridade morfológica e merística, com grandes dificuldades para identificação das espécies. Este grupo constituído por uma única família, Mugilidae, apresenta 281 espécies nominais, mas apenas entre 64 e 80 tem sido aceitas como válidas (NELSON, 1994; THOMSON, 1997). Em termos citogenéticos o gênero *Mugil*, apresenta também pequena diversificação. A maioria das espécies até o momento cariotipadas, apresenta um complemento diplóide de 48 cromossomos acrocêntricos (NAYYAR, 1966; CATAUDELA; CAPANNA, 1973; CHATTERJEE; MAJHI, 1973; CATAUDELLA; CIVITELLI, CAPANNA, 1974; LEGRANDE; FITZSIMONS, 1976; PAULS; COUTINHO, 1990; JORDÃO *et al.*, 1992; NIRCHIO *et al.* 2003). *Mugil curema* representa uma exceção para o grupo. LEGRANDE e FITZSIMONS (op. cit.) também relataram $2n = 28$ cromossomos em *Mugil curema* do Golfo do México, o que reforça o estado apomórfico do número diplóide para essa espécie no contexto dos Mugilidae. Nesta espécie ocorreram outros relatos onde o cariótipo era constituído de 24 cromossomos (22M + 2SM) (NIRCHIO; CEQUEA, 1998; NIRCHIO *et al.*, 2003), de espécimens coletados na costa da Venezuela. Em primeira vista esta variação sugere a presença de uma variabilidade cromossômica interpopulacional. Contudo, NIRCHIO *et al.* (2004), propõem que esta variabilidade pode demonstrar a existência de duas espécies distintas, pois além do número diplóide, ambos os citótipos se diferenciam ainda quanto a distribuição de heterocromatina e localização das RONS. Com relação a possibilidade de se tratar de duas espécies distintas, foram mensuradas as características merísticas e morfométricas de ambas as populações (Brasil – presente trabalho – e Venezuela), as quais

revelaram grandes diferenças. Portanto, NIRCHIO *et al.* (*op. cit.*) acreditam que ambos os citótipos não sejam apenas uma variação geográfica politípica, mas sim correspondem a duas diferentes espécies.

Essa diversificação cariotípica entre as espécies do grupo pode ser atribuída a fusões cêntricas de elementos acrocêntricos de uma espécie que primeiramente apresentaria um complemento cariotípico com $2n = 48$ cromossomos preferencialmente acrocêntricos (NIRCHIO; CEQUEA, 1998; NIRCHIO; GONZÁLES; PÉREZ, 2001). Este ponto de vista é suportado pelo fato de que um complemento diplóide constituído por $2n = 48$ cromossomos é uma condição compartilhada pelas espécies do gênero *Mugil*, e também pela opinião de que um cariótipo ancestral ($2n = 48A$) tende a diminuir o número de cromossomos devido a fusão de elementos acrocêntricos (OHNO, 1974; GOLD, 1979).

Porém, a falta de dados sobre técnicas de bandamento, inclusive aquelas para diferenciação longitudinal dos cromossomos, nas outras espécies já cariotipadas, limitam a comparação entre elas, e portanto a identificação dos mecanismos de especiação deste grupo e das suas séries de transformações no contexto filogenético.

Gerreidae

A ordem Perciformes, é a maior entre os Teleósteos e possui maior número de espécies cariotipadas, sendo que 48 famílias, de um total de 148, já possuem no mínimo uma espécie com cariótipo descrito (OHNO; WOLF; ATKIN, 1968; CATAUDELLA; CAPANNA, 1973; CANO; THODE; ALVAREZ, 1981; ALVAREZ; GARCIA; THODE, 1986; entre outros). Entre as espécies marinhas somente 118 espécies, de 440, foram cariotipadas, perfazendo 26,8% do total (BRUM; GALETTI Jr., 1997).

Em Perciformes, principalmente marinhos, pode-se observar uma grande diversidade morfológica específica não acompanhada pela diversificação cariotípica. Eles poderiam então ser incluídos nos casos de especiação com

ausência de mudanças na macroestrutura cariotípica (IMAI, 1983). Segundo MOLINA *et al.* (2002) e MOLINA e GALETTI (2004), a ausência de diferenciações por grandes rearranjos é substituída por mudanças internas nos grupos de ligação, aparentemente como forma efetiva de barreira pós-zigótica que caracteriza o processo de especiação. As espécies de Perciformes cariotipadas neste trabalho provavelmente demonstram esta situação onde morfologicamente elas podem ser distinguidas, porém a diferença na morfologia cromossômica ($2n = 48A$) é muito pequena.

Para BRUM (1995) e BRUM *et al.* (1995) cariótipos derivados deste complemento basal, 48 cromossomos acrocêntricos, contendo cromossomos de dois braços e resultando em $NF > 48$ têm sido achados em grupos de Perciformes de água doce, onde existe um grande número de partições do ambiente, e em Perciformes marinhos com baixa vagilidade, ocorrendo em áreas restritas (BERTOLLO; TAKAHASHI; MOREIRA-FILHO, 1979; GALETTI; AGUILAR; MOLINA, 1999; CIPRIANO; CESTARI; FENOCCHIO, 2002). No ambiente marinho a conservação cariotípica é relacionada com base na menor existência de barreiras físicas, alta mobilidade, elevado tamanho populacional e na maior homogeneidade de condições ambientais (BRUM, *op. cit.*).

A família Gerreidae apresenta 40 espécies no total, porém somente duas tiveram o seu cariótipo analisado por PAULS; COUTINHO (1990), apresentando cariótipo com $2n$ e NF iguais a 48. A ausência de diferenças aparentes na macroestrutura cariotípica entre as espécies de Perciformes marinhos, reforça a hipótese do alto grau de conservação do cariótipo deste grupo de peixes ($2n = 48$; $NF = 48$) (GOMES; VAZZOLER; NGAN, 1983; PAULS; COUTINHO; PROCÓPIO, 1991; BRUM *et al.*, 1992; PAULS *et al.*, 1995; AFONSO *et al.*, 1998; AFONSO *et al.*, 1999; MOLINA; LIMA, AFFONSO, 2001; entre outros). Este número também é bastante conservado em outras ordens deste grupo. Segundo BRUM e GALETTI Jr. (1997), este fato deve-se a suas grandes populações e ausência de barreiras neste ambiente, como mencionado anteriormente. RUIZ-CARUS e URIBE-ALCOCER (2004) também atribuem esta conservação cariotípica em teleósteos a vários parâmetros biológicos. Espécies generalistas, ou seja, que colonizam

diversos habitats durante o seu ciclo de vida ou ambientes que apresentam uma grande flutuação de fatores abióticos, apresentam uma menor variabilidade genética do que aquelas que são especialistas. Os gerreideos por ocuparem ambientes como estuários e apresentarem seus primeiros estágios de vida pelágicos, dispersando-se a grandes distâncias podem manter o fluxo gênico entre as suas populações e contribuir para a homogeneização cariotípica. MOLINA e GALETTI (2004) comprovaram que em peixes, estudando diferentes espécies de Perciformes da família Pomacentridae, existe correlação entre a capacidade dispersiva de suas larvas e as mudanças evolutivas no cariótipo. Menores escores de tempo em relação ao estágio de vida larval apresentaram maiores mudanças no complemento cariotípico destes animais.

Evolução cariotípica

Numa visão evolutiva, os cariótipos de *Strongylura timucu* e *S. marina* podem ser considerados derivados, apresentando cariótipos mais complexos e número fundamental diferente de 48. Por outro lado, *Eucinostomus argenteus* e *Diapterus rhombeus* apresentam cariótipo basal, onde o número diplóide e o fundamental são iguais a 48, considerados primitivos entre os peixes por alguns autores (OHNO e ATKIN, 1966; ATKIN e OHNO, 1967; MURAMOTO; OHNO; ATKIN, 1968; OHNO, 1970; OHNO, 1974). A validação desta hipótese só poderia ser aceita, uma vez que tenham ocorrido inversões pericentroméricas, principalmente nas duas primeiras espécies, aumentando o NF sem alterar o $2n$ (DOUCETTE; FITZSIMONS, 1988). Porém, o grande tamanho dos cromossomos metacêntricos e submetacêntricos, nestas espécies (*S. timucu* e *S. marina*), indica que pode ter havido uma fusão cêntrica entre cromossomos acrocêntricos para a formação de elementos de dois braços, como ocorrido, provavelmente em *M. curema*. A condição, $2n = 48$ e $NF = 48$, presente de forma predominante nas espécies analisadas neste trabalho e os prováveis rearranjos ocorridos durante a sua história evolutiva, a sustenta como sinapomorfia compartilhada entre Clupeomorpha e Euteleostei, segundo BRUM (1996).

Heterocromatina e Enzima de restrição AluI

Quanto à microestrutura cariotípica, nas espécies estudadas, as bandas C mostram um padrão bem resolutivo. Em *Strongylura timucu* são destacadas bandas heterocromáticas na região pericentromérica de cromossomos metacêntricos e acrocêntricos e proximal no par submetacêntrico. *S. marina* apresentou blocos pericentroméricos em todos os cromossomos exceto no primeiro do complemento que mostrou-se praticamente todo heterocromático. Estes dados diferem daqueles da literatura, uma vez que a maioria das espécies de peixes marinhos estudados apresenta marcações banda C geralmente fracas e somente em regiões pericentroméricas dos cromossomos do complemento (SOLA *et al.*, 1992; AGUILAR; GALETTI Jr., 1997; CORRÊA; GALETTI Jr, 1997; CAPUTO *et al.*, 2001; DA SILVA CORTINHAS *et al.*, 2003; MOLINA; GALETTI, 2004; entre outros), como ocorre em *Mugil curema*, *Eucinostomus argenteus* e *Diapterus rhombeus*, no presente estudo.

O padrão de heterocromatina encontrada em gerreideos e mugilideos após o bandamento C pode ser correlacionado a ancestralidade do grupo de peixes. Pequenos blocos de heterocromatina restritos as regiões pericentroméricas é um padrão de distribuição extremamente difundido entre os peixes, mamíferos e insetos (IMAI, 1991). No primeiro grupo, tem-se achado em várias espécies entre os Teleostei (VITTURI; CATALANO; LAFARGUE, 1991; MORESCALCHI *et al.*, 1992; CAPUTO; MARCHEGANI; OLMO, 1996; CAPUTO *et al.*, 1997; entre outros). Segundo MOLINA e GALETTI (2004) o pequeno conteúdo de heterocromatina encontrado em muitos grupos, principalmente em Perciformes tem uma pequena influência no processo de diferenciação cariotípica. Por outro lado, o acúmulo de heterocromatina ou heterocromatização desempenharia um papel importante e modificador da constituição cariotípica das espécies. Para CAPUTO *et al.* (2001) a tendência de amplificação de DNA satélite contido em heterocromatina pode representar um pré-requisito importante para ocorrer mudanças funcionais e estruturais no complemento cromossômico.

MARGARIDO e GALETTI Jr (1999) demonstraram em espécies dos gêneros *Brycon* e *Salminus*, a importância da heterocromatina no processo de diferenciação cariotípica, ocorrida entre os Characidae. A heterocromatina aparece neste processo como facilitador de fusões entre elementos translocados (CAPUTO *et al.*, 2001).

Em peixes neotropicais, principalmente em espécies de água doce, onde se tem visualizado mais freqüentemente a presença de sistemas cromossômicos sexuais, é observada a função da heterocromatina na diversificação cariotípica. Uma das hipóteses prováveis de como se tem dado a origem e desenvolvimento de cromossomos sexuais, coloca a heterocromatização como um processo inicial (SING; PURDOM; JONES, 1980; MOREIRA-FILHO; BERTOLLO; GALETTI Jr, 1993). Ao final deste processo, a heterocromatina pode representar uma forma efetiva de isolamento meiótico entre cromossomos, primeiramente homólogos, por supressão de recombinação.

No presente estudo podemos observar uma maior diversificação cariotípica entre os Belonidae. Nas duas espécies do grupo foi visualizada uma grande quantidade de heterocromatina distribuída em regiões centroméricas, pericentroméricas e intersticiais, ocupando, em *S. Marina*, no primeiro par de cromossomos cerca de $\frac{3}{4}$ banda C+. As espécies dulciaquícolas, *Strongylura microps* e *Potamorrhaphis cf. eigenmanni* (PASTORI *et al.*, 1998), também verifica-se um padrão de heterocromatina bem rico, com blocos pericentroméricos e centroméricos e um par cromossômico inteiramente heterocromático. Presença de grandes blocos de heterocromatina presentes em ambos os braços de grandes cromossomos, reforça a hipótese que a origem destes cromossomos pode ser um resultado de fusão cêntrica entre acrocêntricos. Este rearranjo pode ser favorecido pela presença de grandes quantidades de heterocromatina centromérica e pericentromérica, e parece contribuir para determinar modificações sobre a estrutura cariotípica (BRUM *et al.*, 2001).

As observações demonstram também a grande diversidade neste grupo frente a distribuição de heterocromatina, que apresenta uma importante função na

diversificação cariotípica se mostrando, assim, coerente com a grande variabilidade do cariótipo encontrada entre as espécies deste grupo de peixes.

O tratamento com a endonuclease de restrição *AluI* produziu marcações semelhantes às bandas C em quase todos os cromossomos do complemento, das espécies analisadas. Marcações mais fracas foram observadas nas espécies *Eucinostomus argenteus* e *Diapterus rhombeus*. A ausência ou o padrão de coloração mais fraco em alguns cromossomos, refere-se a extração diferencial do DNA promovida pela *AluI*. A não acessibilidade da enzima em certas regiões onde se situavam blocos C+ e a sua acessibilidade em outras regiões C+, demonstra a heterogeneidade apresentada pela heterocromatina das espécies estudadas. Portanto é possível afirmar que espécies como *Strongylura timucu* e *S. marina* apresentem pelo menos duas classes de heterocromatina distintas.

Regiões organizadoras de nucléolo

Entre 231 espécies descritas em relação ao número e localização das Regiões Organizadoras de Nucléolos cerca de 146, ou seja, 71% apresentam RONS simples (OLIVEIRA; ALMEIDA-TOLEDO; FORESTI, 2000). Segundo BRUM (1996), entre peixes marinhos esta freqüência aumenta, com exceção da espécie *Diplectrum formosum* que apresentou RONS em até quatro cromossomos (AGUILAR, 1993; AGUILAR; GALETTI Jr., 1997). A maior freqüência de RONS simples em peixes, está de acordo com a posição basal dos mesmos dentro do grupo dos vertebrados, visto que para mamíferos considera-se este caráter primitivo (HSU *et al.*, 1975 apud WASKO, 1996).

As marcações evidenciando as RONS apresentaram-se simples com apenas um par de cromossomos marcados pela prata em todas as espécies aqui analisadas. *Strongylura timucu* apresentou as RONS na região distal do braço curto do par 6, sendo coincidentes com as constrições secundárias e apresentando grande heteromorfismo de tamanho (figura 10 e 14A, C e E). *Strongylura marina* apresentou as RONS na região proximal do braço curto do par de cromossomos número 6, acrocêntrico. As regiões organizadoras de nucléolo

nesta espécie também mostraram-se heteromórficas. *Mugil curema*, assim como *Eucinostomus argenteus* e *Diapterus rhombeus*, apresentaram as RONS ocupando por inteiro os braços curtos de um de par de cromossomos. Em *E. argenteus* e *D. rhombeus* não foram identificados os pares cromossômicos, pois, nestas duas espécies o pareamento é discutível, pelo decréscimo sutil do tamanho entre os cromossomos.

A associação e a adjacência ocorrida entre os blocos heterocromáticos e RONS em *S. marina* e *S. timucu* é freqüentemente observada em peixes (SOLA; NATILI; CATAUDELLA, 1988; PÉNDAS *et al.*, 1993; PÉNDAS *et al.*, 1994; AFONSO *et al.*, 1999, entre outros), assim como o complemento cariotípico apresentando um único par de cromossomos portador das regiões organizadoras de nucléolo (FORESTI *et al.*, 1981) Quanto à posição, as marcações de RONS, nas espécies marinhas já estudadas, variam desde próximas ao centrômero a teloméricas (BRUM, 1996).

As espécies *Strongylura timucu* e *S. marina* apresentaram as regiões organizadoras de nucléolo adjacentes a grandes blocos heterocromáticos e coincidentes com blocos de heterocromatina, respectivamente. Ambas as situações tem sido bastante mostradas, e parecem ser uma característica bem comum entre os peixes (FORESTI; ALMEIDA TOLEDO; TOLEDO, 1981; GALETTI Jr; CESAR; VENERE, 1991; WASKO; GALETTI Jr, 2000; FERRO *et al.*, 2001; VICARI; ARTONI; BERTOLLO, 2004; entre outros). A utilização de ambas as técnicas, bandamento C e impregnação por nitrato de prata, mostram a íntima associação ocorrida entre blocos C+ e RONS. Portanto, em *S. marina* a associação indica a presença de heterocromatina adjacente a cístrons ribossomais.

Fluorocromo CG base específico (CMA₃) e FISH (18S e 5S)

A cromomicina A₃ é um fluorocromo base específico com grande afinidade a regiões ricas em bases GC e pode trazer informações importantes sobre a composição da heterocromatina (SOUZA; MOREIRA-FILHO; GALETTI Jr, 1996) e localizar RONS ativas ou inativas, principalmente, em peixes e anfíbios (PHILLIPS; HARTLEY, 1988; SCHMID; GUTTENBACH, 1988). Em todas as espécies

analisadas, no presente trabalho, foram visualizadas marcações fluorescentes, coincidentes com as RONS, ou seja, somente dois sítios ricos em bases GC foram detectados pela CMA₃ no complemento de *Strongylura timucu*, *S. marina*, *Eucinostomus argenteus*, *Diapterus rhombeus* e *Mugil curema*. Estes resultados são similares com o encontrado em muitas outras espécies de peixes submetidas a esta técnica (SCHIMD; GUTTENBACH, *op. cit.*; PHILLIPS; PLEYTE; IHSEN, 1989; SOLA *et al.*, 1992; GALETTI Jr *et al.*, 1995; FERRO *et al.*, 2001; DA SILVA CORTINHAS *et al.*, 2003; entre outras). A cromomicina A₃, em peixes tem revelado uma afinidade com as regiões organizadoras de nucléolo, uma vez que a associação de heterocromatina rica em bases GC e genes ribossomais é considerada comum em teleósteos (AMEMIYA; GOLD, 1986). Em *S. marina* é bem evidente esta associação, as marcações Ag-RONS foram coincidentes com blocos C+. Porém a análise do número e localização das RONS, com esta técnica não é muito confiável, uma vez que a CMA₃ pode revelar outras regiões ricas em GC não coincidentes com elas (ARTONI *et al.*, 1999).

A localização das RONS tem sido confirmadas por hibridações *in situ* isotópicas e não-isotópicas de sondas de RNAr e DNAr em vários vertebrados e mais recentemente em peixes neotropicais (MARTINS; GALETTI Jr., 1998; WASKO; GALETTI Jr, 2000; FERRO *et al.*, 2001; DA SILVA CORTINHAS *et al.*, 2003; entre outros).

Em organismos eucarióticos os cístrons ribossomais são organizados em duas famílias de genes altamente repetitivos e que ocorrem em clusters repetidos em tandem. A maior delas compreende o DNAr 45S que codifica os RNAr 28S, 5,8S e 18S e é facilmente identificado nos cromossomos por meio da coloração de nitrato de prata (AgNO₃). A segunda e menor família contem o DNAr 5S, somente visualizado por técnicas mais específicas, como hibridização *in situ* (DEIANA *et al.*, 2000; WASKO; GALETTI Jr, 2000; FERRO *et al.*, 2001)

Em *Strongylura timucu*, *S. marina*, *Eucinostomus argenteus*, *Diapterus rhombeus* e *Mugil curema* foram visualizados blocos fluorescentes, quando aplicado o FISH com sondas 18S, coincidentes as com marcações obtidas pela impregnação por nitrato de prata e pelo tratamento com CMA₃, como tem sido

relatado nos peixes em geral. Como é conhecido, a impregnação por AgNO_3 , evidencia somente RONS ativas na interfase anterior (HSU *et al.*, 1975). Portanto, a associação de marcações em cromossomos submetidos a técnica de coloração pela prata com os dados obtidos com a hibridização com sondas 18S sugere que nas espécies analisadas neste trabalho, apesar da pequena quantidade todos sítios ribossomais se encontram sempre ativos.

Além das informações sobre a composição da heterocromatina e regiões espaçadoras de cístrons ribossomais, localização e número de RONS, o tratamento com CMA_3 e a técnica de FISH com sondas de DNAr 18S, foi possível confirmar um heteromorfismo de tamanho visualizado mediante outras técnicas em *S. timucu* e em *S. marina*. Variações no tamanho das RONS entre cromossomos homólogos são comuns em muitos vertebrados (FORESTI; ALMEIDA-TOLEDO; TOLEDO, 1981; SOLA *et al.*, 1992; DA SILVA CORTINHAS *et al.*, 2003). Segundo WASKO; GALETTI Jr (2000) e CAPUTO *et al.* (2001), o polimorfismo de tamanho das RONS pode ser devido a amplificação em tandem ou permuta desigual, promovendo duplicações e deleções regionais.

A hibridização *in situ* com sonda DNAr 5S mostrou resultados em três espécies aqui estudadas, *Strongylura timucu*, *Eucinostomus argenteus* e *Diapterus rhombeus*. Nestas espécies foram visualizados blocos em um único par de cromossomos em região intersticial, não coincidentes com os inais de DNAr 18S. Segundo FERRO *et al.* (2001), sítios de DNAr 5S tem sido identificado em vários organismos, porém existe pouco conhecimento sobre sua organização no cariótipo de peixes, especialmente Neotropicais. A conformação encontrada no presente trabalho é semelhante ao da maioria das espécies já submetidas a hibridização de sondas de DNAr 5S.

A falta de sinais de hibridação nas outras duas espécies não se trata da ausência destes sítios de DNAr em seu genoma. São conhecidos casos de regiões de DNAr 5S extremamente reduzidas que dificilmente são localizadas. Portanto, estudos subseqüentes seriam apropriados para confirmar a presença desses loci do DNAr menor nessas espécies.

6. CONCLUSÕES

1. Todas as espécies estudadas no presente trabalho, com exceção de *Mugil curema* ($2n = 28$), apresentaram um número diplóide de 48 cromossomos e ausência de cromossomos sexuais;
2. A maior parte das alterações cariotípicas estão restritas a modificações do número fundamental, indicando uma forte tendência à manutenção do número diplóide ($2n = 48$);
3. A heterocromatina apresentou-se distribuída principalmente nas regiões pericentroméricas e teloméricas em todas as espécies estudadas com destaque *Strongylura timucu* o par SM apresentou um grande bloco heterocromático proximal e *Strongylura marina* apresentou o primeiro par do complemento quase inteiramente heterocromático;
4. A aplicação da enzima de restrição *AluI* reproduziu marcações similares às bandas C em quase todos os cromossomos das espécies aqui estudadas. Em *Strongylura timucu* e *S. marina* foi possível a identificação de heterogeneidade de heterocromatina, em relação a resposta ao tratamento com endonuclease;
5. As RONS se mostraram conservadas em número em todas as espécies com apenas um único par portador. Em *Strongylura marina* e *S. timucu* foi detectado um hetemorfismo de tamanho nestas regiões no par de cromossomos homólogos. Ainda em *Strongylura marina* as RONS, presentes no par cromossômico número seis, acrocêntrico, foram coincidentes com blocos heterocromáticos;

6. A utilização do fluorocromo cromomicina A₃ (base específico GC) mostrou a associação de regiões ricas em GC com cistrons ribossomais. Em *Strongylura marina* a associação de heterocromatina, Ag-RONs e blocos CMA₃+, evidencia a constituição de blocos heterocromáticos ricos em bases GC;
7. Em todas as espécies, a análise com hibridização *in situ* com sondas de DNAr 18S evidenciaram sempre um par de cromossomos coincidentes com os revelados pelas técnicas de impregnação por nitrato de prata e CMA₃. Em *Strongylura timucu* e *Strongylura marina* foi confirmado o heteromorfismo de tamanho dessas regiões indicando sua natureza estrutural;
8. A localização de genes RNAr 5S, foi possível apenas em *Eucinostomus argenteus*, *Diapterus rhombeus* e *Strongylura timucu*, apresentando um único par de cromossomos marcados, não correspondentes aos cromossomos portadores dos genes 18S;
9. Numa visão evolutiva, os cariótipos de *Strongylura timucu*, *S. marina* e *Mugil curema* podem ser considerados derivados, apresentando cariótipos mais complexos, devido a fusões cêntricas e inversões pericêntricas ocorridas na evolução do grupo. *Eucinostomus argenteus* e *Diapterus rhombeus* apresentam cariótipo basal, onde o número diplóide e o fundamental são iguais a 48, conservados na maioria dos Perciformes, provavelmente, favorecidos pelas suas estruturas populacionais e formas de dispersão.

REFERÊNCIAS

ACCIOLY, I. V.; MOLINA, W. F. Contribuição à citogenética dos gêneros *Pomadasys* e *Anisotremus* (Haemulidae, Perciformes). In: SIMPÓSIO DE IOGENÉTICA E GENÉTICA DE PEIXES, X, 2004, Natal – RN. **Resumos...** Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2004. p.113.

AFFONSO, P. R. A. M.; NETTO, M. R. C. B.; PAULS, E.; VIESTEL, M. A. D.; PACHECO, M. L. Estudos citogenéticos em *Phrynelox scaber* (fam. Antennariidae, ordem Lophiiformes). In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 42º, 1996, Caxambu – MG. **Resumos...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1996. p.109.

AFFONSO, P. R. A. M.; NETTO, M. R. C. B.; OLIVEIRA, A. S. S.; PAULS, E.; GUEDES, W. Estudos citogenéticos em *Porychtys porosissimus* (Teleostei; Batrachoididae). In: VII SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA EVOLUTIVA E APLICADA DE PEIXES NEOTROPICAIS, 1998, Londrina – PR. **Resumos...** Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 1998a. p. 2.

AFFONSO, P. R. A. M.; NETTO, M. R. C. B.; OLIVEIRA, A. S. S.; GUEDES, W.; PAULS, E. Estudos em duas espécies de peixes marinhos da família Haemulidae da Baía de Ilha Grande. In: SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA EVOLUTIVA E APLICADA DE PEIXES NEOTROPICAIS, VII, 1998, Londrina – PR. **Resumos...** Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 1998b. p.10.

AFFONSO, P. R. A. M.; GUEDES, W.; PAULS, E.; GALETTI, P. M. Análise citogenética de peixes de recifes de corais da família Pomacanthidae (Perciformes). In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 45º, 1999, Gramado – RS. **Resumos...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1999. p.123.

AFFONSO, P. R. A. M. **Caracterização citogenética de peixes de corais da Família Pomacanthidae (Perciformes)**. São Carlos. Dissertação (Mestrado em Genética e Evolução). Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. Universidade Federal de São Carlos. 146 pp. 2000.

AGUILAR, C. T. **Estudos citogenéticos em Serranidae (Pisces, Perciformes)**. Master's thesis, Departamento de Genética, UFRJ, Rio de Janeiro, RJ. 1993.

AGUILAR, C. T.; GALETTI Jr, P. M. Chromosomal studies in South Atlantic serranids (Pisces, Perciformes). **Cytobios**, 89: 105-114. 1997.

ALMEIDA-TOLEDO, L. F. **Contribuição à citogenética dos Gymnotoidei (Pisces, Ostariophysii)**. São Paulo, 1978. Tese de doutorado. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo.

ALVAREZ, M. C.; GARCIA, E.; THODE, G. Contribution to the karyoevolutive study of Labridae (Perciformes). The karyotypes of *Ctenolabrus rupestris* and *Symphodus ocellatus*. **Caryologia**, 39: 353-357. 1986.

ALVES, L. A.; PORTO-FORESTI, F.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Ocorrência de cromossomos B no baiacu marinho *Sphoeroides greeley* (Tetraodontiformes, Tetraodontidae). In: SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA E GENÉTICA DE PEIXES, IX, 2002, Maringá – PR. **Resumos...** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2002. p.113.

AMEMYA, C. T.; GOLD, J. R. Chromomycin A₃ stains nucleolus organizer regions of fish chromosomes. **Copeia**. 1: 226-231. 1986.

ARTONI, R. F. A.; MOLINA, W. F.; BERTOLLO, L. A. C.; GALETTI, P. M. Heterochromatin analysis in the fish species *Liposarcus anisitsi* (Siluriformes) and *Leporinus elongates* (Characiformes). **Genet. Mol. Biol.** 22: 1-6. 1999.

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

ATKIN, N. B.; OHNO, S. DNA values of four primitive chordates. **Chromosoma** (Berl.) 23: 10-13. 1967.

AZEVEDO, M. F. C.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Estudo citogenético em *Achirus lineatus*, *Trinectes paulistanus* e *Paralichthys orbignyanus* (Pisces, Pleuronectiformes). In: SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA E GENÉTICA DE PEIXES, VII, 2000, Manaus – AM. **Resumos...** Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 2000. p.41.

AZEVEDO, M. F. C.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Estudos citogenéticos em *Symphuru tessellatus* e *Bothus ocellatus* (Pisces, Pleuronectiformes). In: ENCONTRO BRASILEIRO DE ICTIOLOGIA, XIV, 2001, São Leopoldo – RS. **Resumos...**São Leopoldo: UNISINOS. p

AZEVEDO, M. F. C.; OLIVEIRA, C.; PARDO, B. G.; MARTINEZ, P.; FORESTI, F. Considerações filogenéticas sobre a família Achiridae (Pleuronectiformes, Teleostei), com base na análise citogenética. In: SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA E GENÉTICA DE PEIXES, X, 2004, Natal – RN. **Resumos...** Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2004a. p.118.

AZEVEDO, M. F. C.; OLIVEIRA, C.; PARDO, B. G.; MARTINEZ, P.; FORESTI, F. Caracterização cariotípica de seis espécies de Pleuronectiformes (Teleostei) com discussão sobre a evolução cromossômica ocorrida na ordem. In: SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA E GENÉTICA DE PEIXES, X, 2004, Natal – RN. **Resumos...** Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2004b. p.119.

BACURAU, T. O. F.; MAIA-LIMA, F. A.; AFFONSO, P. R. M. A., MOLINA, W. F. Análises citogenéticas e de marcadores RAPD em peixes recifais da família Holocentridae (Beryciformes). In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 48º, 2002, Águas de Lindóia – SP. **Resumos...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2002. p.9.

BAUER, J. A.; BAUER, S. E. Reproduction biology of pygmy angelfishes of the genus *Centropyge* (Pomacanthidae). **Bulletin of Marine Science**, 31, 495 – 513. 1981.

BERRA, T. M. **An Atlas of distribution of the freshwater fish of the world.** Lincoln: University of Nebraska Press. 197pp. 1981.

BERTOLLO, L. A. C.; TAKAHASHI, C. S.; MOREIRA-FILHO, O. Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). **Braz. J. Genet.**, 1 (2): 103-120, 1978.

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

BERTOLLO, L. A. C.; FONTES, M. S.; FENOCCHIO, A. S.; CANO, J. The X_1X_2Y Sex chromosome system in the fish *Hoplias malabaricus*. I. G-C and chromosome replication banding. **Chromosome Res.**, 5: 493 –499, 1997.

BIGARELLA, J. J. **A Serra do Mar e a porção oriental do Estado do Paraná.** Curitiba: SEPLAN/ADEA. 249pp. 1978.

BOCHLERT, G. W.; MUNDY, B. C. Roles of behavioral and physical factor in larval and juvenile fish recruitment to estuarine nursery areas. **Am. Fish. Soc. Symp.** 3: 51-67, 1988.

BONE, Q.; MARSHALL, N. B.; BLAXTER, J. B. S. **Biology of fishes**. 2 ed. London; Glasgow: Chapman & Hall. 332pp. 1995.

BRUGGER, A. M.; BORN, G. G.; LEVY, S. A. Estudos preliminares cariotípicos e bioquímicos do peixe-rei (Atherinidae) na costa oceânica e região esturina do Rio Grande, RS. In: III Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais, 1990, Botucatu, SP. **Resumo...** 1990. pp38.

BRUM, M. J. I.; AGUILAR, C. T. CORRÊA, M. M. O.; GALETTI Jr, P. M. Estudos citogenéticos em Serranidae: Análise cromossômica preliminar em *Diplectrum radiale*. In: IX Encontro Brasileiro de Ictiologia, Maringá – PR. **Resumo...** Maringá: Sociedade brasileira de ictiologia. 1991. p. 179.

BRUM, M. J. I.; AGUILAR, C. T.; CORRÊA, M. M. O.; GALETTI Jr, P. M. Multiple sex chromosomes in South Atlantic Clupeidae fish *Brevortia aurea*. **Bras. J. Genet.** 15: 547 –553. 1992a.

BRUM, M. J. I.; AGUILAR, C. T.; CORRÊA, M. M. O.; OLIVEIRA, C. C.; GALETTI Jr, P. M. Estudos citogenéticos em peixes marinhos: Análises cromossômicas nas famílias Clupeidae (Clupeiformes), Serranidae, Pomadasyidae e Blenniidae (Perciformes). In: IV SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA EVOLUTIVA E APLICADA DE PEIXES NEOTROPICAIS, Rio de Janeiro – RJ. **Resumo...** 1992b. p. 43.

BRUM, M. J. I. **Evolução cariotípica dos teleósteos marinhos e suas correlações com a filogenia deste grupo (com especial ênfase aos Clupeiformes, Perciformes e Tetraodontiformes)**. Doctoral Thesis, Universidade Federal de São Carlos, SP. 1994.

BRUM, M. J. I.; OLIVEIRA, C. C.; CORRÊA, M. M. O.; GALETTI Jr, P. M. Estudos citogenéticos em *Scartella cristata* (Perciformes, Blenniidae) do Litoral do Estado do Rio de Janeiro. In: V Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais, Botucatu – SP. **Resumo...** Botucatu: Unesp. 1994a. p. 24.

BRUM, M. J. I.; OLIVEIRA, C. C.; CORRÊA, M. M. O.; GALETTI Jr, P. M. Contribuição ao conhecimento citogenético da ordem Tetraodontiformes – cariótipo de *Sphoeroides* do litoral do Estado do Rio de Janeiro. In: V Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais, Botucatu – SP. **Resumo...** Botucatu: Unesp. 1994b. p. 49.

BRUM, M. J. I. Correlações entre a filogenia e a citogenética de peixes teleósteos. **Res. Bras. Genet.** – Série Monografias 2: 5-42. 1995.

BRUM, M. J. I.; CORRÊA, M. M. O.; OLIVEIRA, C. C.; GALETTI Jr, P. M. Cytogenetics studies on thr Perciformes *Orthopristis ruber* (Haemulidae) and *Scartella cristata* (Blenniidae). **Caryologia**, 48 (3-4): 309-318, 1995.

BRUM, M. J. I. Cytogenetic studies of Brazilian marine fish. **Braz. J. Genet.** 19 (3): 421-427. 1996.

BRUM, M. J. I.; GALETTI Jr., P. M. Teleostei Ground Plan Karyotype. **J. Comp. Biol.** 2(2): 91-102. 1997.

BRUM, M. J. I.; MOTA, L. C. G.; MATOS, F. J. P. Cariótipo de *Porichthys porosissimus* (Valenciennes, 1857) (Batrachoididae, Batrachoidiformes) da Baía de Guanabara, Estado do Rio de Janeiro – Resultados Preliminares. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE ICTIOLOGIA, XIII, 1999, São Carlos – SP. **Resumos...**São Carlos: Sociedade Brasileira de Ictilogia, 1999. p. 160.

BRUM, M. J. I.; AFFONSO, P. R. A. M.; MOTA, L. C. G.; PAULS, E.; NETTO, M. R. C. B. Cytogenetic characterization of *Porichtys porosissimus* (Valenciennes, 1857) (Batrachoididae, Batrachoidiformes) from the Rio de Janeiro coast, Brazil. **Chromosome Science**. 5: 15-18. 2001.

CANO, J.; THODE, G.; ALVAREZ, M. C. Analisis cariologico de seis especies de Esparidos del Mediterráneo. **Genét. Ibér.**, 35: 181-187. 1981.

CANO J.; THODE, G.; SÁNCHEZ, M. L. Estudio ceriológico en dos especies de Serránidos del Mediterráneo (Pescos: Perciformes). **Doñana Acta Vert.**, 9: 5-12, 1982.

CAPUTO, V.; MARCHEGANI, F.; OLMO, E. Karyotype differentiation between two species of carangid fishes, genus *Trachurus* (Perciformes: Carangidae). **Mar. Biol.** 127: 193-199. 1996.

CAPUTO, V.; MARCHEGANI, F.; SORICE, M.; OLMO, E. Heterochromatin heterogeneity and chromosome variability in four species of gobiid fishes (Perciformes: Gobiidae). **Cytogenet. Cell Genet.** 79: 266-271. 1997.

CAPUTO, V.; MACHELLA, N.; NISI-CERIONI, P.; OLMO, E. Cytogenetics of nine species of Mediterranean blennies and additional evidence for an unusual multiple sex-chromosome system in *Parablennius tentacularis* (Perciformes, Blenniidae). **Chromosome Research** 9: 3-12. 2001.

CARVALHO, M. L.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Description of a ZZ/ZW Sex chromosome system in *Thoracocharax cf. stellatus* (Teleostei, Characiformes, Gasteropelecidae). **Genet. Mol. Biol.**, 25 (3): 299-303, 2002.

CASTRO-LEAL, M. E.; BRUM, M. J. I.; CORRÊA, M. M. O. Estudos citogenéticos em *Oligoplites saliens* (Perciformes, Carangidae) da Baía de Sepetiba, RJ – Resultados Preliminares. In: SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA EVOLUTIVA E APLICADA DE PEIXES NEOTROPICAIS, VII, 1998, Londrina – PR. **Resumos...** Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 1998. p.14.

CATAUDELLA, S.; CAPANNA, E. Chromosome complements of three species of Mugilidae (Pisces, Perciformes). **Experientia**, 29: 489-491. 1973.

CATAUDELLA, S.; CIVITELLI, M. V.; CAPANNA, E. Chromosome complements of the mediterranean Mulletts (Pisces, Perciformes). **Caryologia**, 27(1): 93-105. 1974.

CENTOFANTE, L.; BERTOLLO, L. A. C.; MOREIRA-FILHO, O. A ZZ/ZW sex chromosome system in a new species of the genus *Parodon* (Pisces, Parodontidae). **Caryologia**, 55(2): 139-150, 2002.

CHATTERJEE, K.; MAJHI, A. Chromosomes of *Mugil parsia* Hamilton (Teleostei, Mugiliformes: Mugilidae). **Genen Phaenen**, 16(2): 51-54. 1973.

CHAVES, P. T. C. A incubação de ovos e larvas em *Genidens genidens* (Valenciennes) (Siluriformes, Ariidae) da Baía de Guaratuba, Paraná, Brasil. **Revta. Bras. Zool.** 11(4): 641 –648. 1994.

CHAVES, P. T. C. Atividade reprodutiva de *Bairdiella ronchus* (Cuvier) (Pisces, Sciaenidae) na Baía de Guaratuba, Paraná, Brasil. **Revta brasil. Zool.**, 12 (4): 759 – 766. 1995.

CHAVES, P. T. C.; VENDEL, A. L. Reprodução de *Stellifer rastrifer* (Jordan) (Teleostei, Sciaenidae) na Baía de Guaratuba, Paraná, Brasil. **Revta. Bras. Zool.** 14 (1): 81- 89. 1997.

CHAVES, P. T. C., CORRÊA, M. F. M. Composição ictiofaunística da área de manguezal da Baía de Guaratuba, Estado do Paraná, Brasil (25° 52' S; 48° 39' W). **Revta brasil. Zool.** 15 (1): 195 – 202. 1998.

CIPRIANO, R. R.; CESTARI, M. M.; FENOCCHIO, A. S. Levantamento citogenético de peixes marinhos do litoral do Paraná. In: SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA E GENÉTICA DE PEIXES, IX, 2002, Maringá – PR. **Resumos...** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2002. p.111.

CIPRIANO, R. R.; NOLETO, R. B.; KANTEK, D. L. Z.; FENOCCHIO, A. S.; CESTARI, M. M. Diversidade cariotípica em espécies do *Strongylura* (Pisces, Beloniformes). In: SIMPÓSIO DE IOGENÉTICA E GENÉTICA DE PEIXES, X, 2004, Natal – RN. **Resumos...** Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2004. p.120.

CLARK, M. S.; WALL, W. J. **Chromossomes – The complex code.** Chapman & Hall. Londres – Reino Unido. 1ª ed. 1996.

CONTI, J. B.; FURLAN, S. A. Geoecologia: o clima, os solos e a biota. In: **Geografia do Brasil**, edusp – Fundação para o Desenvolvimento da Educação (FDE). 549p. 2000.

CORRÊA, M. F. M. **Ictiofauna da Baía de Paranaguá e adjacências (litoral do Estado do Paraná-Brasil): levantamento e produtividade.** Curitiba. Dissertação (Mestrado em Zoologia) – Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Paraná. 1987.

CORRÊA, M. F. M. Ictiofauna da Baía de Paranaguá e adjacências (litoral do Estado do Paraná-Brasil). **Resumo do XV Congresso Brasileiro de Zoologia.** Curitiba. p. 344, 1988.

CORRÊA, M. F. M. **Ictiofauna da Baía de Guaraqueçaba (Paraná, Brasil). Composição, estrutura, distribuição espacial, variabilidade temporal e importância como consumo.** Curitiba. Tese (Doutorado em Zoologia) – Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Paraná. 2001.

CORRÊA, M. M. O.; BRUM, M. J. I.; AGUILAR, C. T.; OLIVEIRA, C. C.; GALETTI, P. M. Estudos cromossômicos preliminares em *Scorpaena isthmensis* (Scorpaenidae, Scorpaeniformes) do litoral do Rio de Janeiro. In: V Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais, Botucatu – SP. **Resumos...** Botucatu: Unesp, 1994. p. 27.

CORRÊA, M. M. O.; AGUILAR, C. T.; BRUM, M. J. I.; GALETTI, P. M. Contribuição à Citotaxonomia dos Scorpaeniformes (Pisces- Teleostei): Estudos Citogenéticos em Espécies Ocorrentes na Baía da Guanabara, RJ. In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 41º, 1995, Caxambu - MG. **Resumos...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1995. p.79.

CORRÊA, M. M. O.; GALETTI Jr, P. M. Chromosomal Diversity in Scorpaenidae (Teleostei, Scorpaeniformes): Cytogenetic Studies in *Scorpaena brasiliensis* and *Scorpaena isthmensis* from the Coast of Rio de Janeiro, Brazil. **Cytologia**, 62: 397-404, 1997.

COSTA, P. R.; MOLINA, W. F.; GALETTI, P. M. Estudos citogenéticos em duas espécies marinhas do gênero *Orthopristis* (Haemulidae). In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 44º, 1998, Águas de Lindóia – SP. **Resumos...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1998. p.73.

DA SILVA CORTINHAS, M. C.; CESTARI, M. M.; FENOCCHIO, A.S. Resultados preliminares do estudo citogenético em *Atherinella brasiliensis* pertencentes ao litoral paranaense. In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 47º, 2001, Águas de Lindóia – SP. **Resumos...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2001. p. 200.

DA SILVA CORTINHAS, M. C. **Estudo citogenético comparativo de duas populações de *Atherinella brasiliensis* (Pisces, Atheriniformes, Atherinopsidae)**. Curitiba. Dissertação (Mestrado em Genética). Departamento de Genética, Universidade Federal do Paraná. 2002.

DA SILVA CORTINHAS, M. C.; CESTARI, M. M.; SWARÇA, A. C.; FENOCCHIO, A.S. First chromosome data about the silverside *Atherinella brasiliensis* (Atheriniformes, Pisces) from the south coast of Brazil. Conventional, C-NOR and CMA₃ bandings and FISH studies. **Caryologia**, 56, 2: 187 –191, 2003.

DEIANA, M. A.; CAU, A.; SALVADORI, S.; COLUCCIA, E.; CANNAS, R.; MILIA, A.; TAGLIAVINI, J. Major and 5S ribosomal sequences of the largemouth bass *Micropterus solmoides* (Perciformes, centrarchidae) are localized in GC-rich regions of the genome. **Chromosome Research**. 8: 213-218. 2000.

DENTON, T. E. **Fish Chromosome Methodology**. Springfield, Illinois: Charles C. Thomas Publisher, 1973.

DOUCETTE Jr., A. J.; FITZSIMONS, J. M. Karyology of Elopiform and Clupeiform Fishes. **Copeia**: 124-130. 1988.

DYER, B. S. Phylogenetic Systematics and Historical Biogeographic of the Neotropical Silverside Family Atherinopsidae (Teleostei: Atheriniformes) In: MALABARBA, L. R.; REIS, E. R.; VARI, R. P.; LUCENA, Z. M. S.; LUCENA, C. A. **Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes**. Porto Alegre, Brasil: EDIPUCRS, 1998. P. 519 –536.

EICHER, E. E.; SANKOFF, D. Structural dynamics of eukaryotic chromosome evolution. **Science**, 301: 793 – 797. 2003.

EMÍLSON, I. The shelf and coastal waters off Southern Brazil. **Boletim do Instituto Oceanográfico**, 11(2), 101-112. 1961

FENOCCHIO, A. S.; BERTOLLO, L. A. C. A simple method for fresh-water fish lymphocyte culture. **Rev. Brasil. Genet.**, 11(4): 847-852, 1988.

FENOCCHIO, A. S.; VENERE, P. C.; CESAR, A. C. G.; DIAS, A. L.; BERTOLLO, L. A. C. Short term culture from solid tissues of fishes. **Caryologia**, v.44, n.2, 161-166. 1991.

FERRO, D. A. M.; NÉO, D. M.; MOREIRA-FILHO, O.; BERTOLLO, L. A. C. Nucleolar organizing regions, 18S and 5S rDNA in *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae): populations distribution and functional diversity. **Genetica**. 110: 55-62. 2001.

FIGUEIREDO, J. L. **Estudo das distribuições endêmicas de Peixes da Província Zoogeográfica Marinha Argentina**. Tese de Doutorado, Univ. de São Paulo. Instituto de Biociências. Brasil, 121pp. 1981.

FORESTI, F.; ALMEIDA TOLEDO, L. F.; TOLEDO, S. A. Polymorphic nature of nucleolus organizer regions in fishes. **Cytogenet. Cell Genet**. 31: 137-144. 1981.

FRANCIOSI, F.; CESTARI, M. M. Estudos citogenéticos em exemplares do gênero *Sphoeroides* (Tetraodontidae), pertencentes ao Baguaçu (Pontal do Paraná). In: EVENTO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (EVINCI), VIII, 2000, Curitiba - PR. **Anais...** Curitiba: Universidade Federal do Paraná – Pró Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, 2000. p.226.

FROLOU, S. V. **Karyotype variability and evolution in Salmonidae**. Vladivostok: Dalnauka, 2000. p.229

GALETTI Jr, P. M.; CESAR, A. C. G.; VENERE, P. C. Heterochromatin and NORs variability in *Leporinus* fish (Anostomidae, characiformes). **Caryologia**. 44: 287-292. 1991.

GALETTI Jr, P. M.; MESTRINER, C. A.; MONACO, P. J.; RASCH, E. M. Post-zygotic modifications and intra- and Inter.-individual nucleolar organizing region variations in fish: report of a case involving *Leporinus friderici*. **Chrom. Res.** 3: 285-290. 1995.

GALETTI Jr, P. M.; AGUILAR, C. T.; MOLINA, W. F. An overview of marine fish cytogenetics. **Hydrobiologia**, 20: 1-8. 1999.

GALVÃO, T. B.; MOLINA, W. F. Estudos citogenéticos em uma espécie de Labrisomidae, *Labrisomus nuchipinnis* (Pisces, Perciformes). In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 49º, 2003, Águas de Lindóia – SP. **Resumos...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2003. p.17.

GOLD, J. R. Cytogenetics. In: **Fish Physiology**. Vol. VIII. Academic Press, Inc. 353-405. 1979.

GOMES, I. D.; CHAVES, P. T. C. Ictiofauna demersal na plataforma interna do sul do Estado do Paraná. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGIA, XXV, 2004, Brasília – DF. **Resumos...** Brasília: Sociedade Brasileira de Zoologia, 2004. p.304.

GOMES, V. **Estudos cariotípicos de *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1822) e *Menticirrhus americanus* (Linnaeus, 1758) (Perciformes, Sciaenidae) da região estuarina lagunar de Cananéia, SP, Brasil.** São Paulo - SP, 1981. Dissertação - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo. 1981.

GOMES, V.; VAZZOLER, A. E. A.; NGAN, P. V. Estudos cariotípicos de peixes da família Sciaenidae (Teleostei, Perciformes) da região de Cananéia, SP, Brasil: 1. sobre o cariótipo de *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823). **Bolm. Inst. Oceanogr. S. Paulo** 32: 137 – 142. 1983a.

GOMES, V.; VAZZOLER, A. E. A.; NGAN, P. V. Estudos cariotípicos de peixes da família Sciaenidae (Teleostei, perciformes) da região de Cananéia, SP, Brasil: 2. Sobre o cariótipo de *Menticirrhus americanus* (Linnaeus, 1758). **BOL. Inst. Oceanogr. S. Paulo**, 32 187-191. 1983b.

GOMES, V.; PHAN , V. N.; PASSO, M. J. A. C. The karyotype of a marine catfish, *Bagre bagre*, from Brazil. **Japan. J. Ichthyol.** 37: 321-323. 1990.

GOMES, V.; PHAN , V. N.; PASSO, M. J. A. C. The karyotype of *Cathrops* sp., a marine catfish from Brazil. **Bolm. Inst. Oceanogr. S. Paulo** 40: 87 – 91. 1992.

GOMES, V.; PHAN , V. N.; PASSO, M. J. A. C. Karyotype of three species of marine catfishes from Brazil. **Bolm. Inst. Oceanogr. S. Paulo.** 42: 55 – 61. 1994.

GOULDING, M.; CARVALHO, M. L. Ecology of amazonian needlefishes (Belontiidae). **Revta. Bras. Zool.**, 2(3): 99-111. 1984.

HAMILTON, L. S.; SNEDACKER, S. C. **Handbook for mangrove area management**. UNESCO, Paris. 12. 123p. 1984.

HATANAKA, T. **Estudos de marcadores cromossômicos e moleculares no peixe *Prochilodus marginatus* (Prochilodontidae), uma espécie de interesse econômico no rio São Francisco**. Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, SP. 2000.

HILDEBRAND, M. **Análise da estrutura dos vertebrados**. Atheneu. São Paulo. 700p. 1995.

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

IMAI, H. T. Quantitative analysis of karyotype alteration and species differentiation in mammals. **Evolution**, 37: 1154-1161. 1983.

IMAI, H. T. Mutability of constitutive heterochromatin (C-bands) during eukaryotic chromosomal evolution and their cytological meaning. **Japanese Journal of Genetics**. 66: 635-661. 1991.

JORDÃO, L. C.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F.; GODINHO, H. M. Caracterização citogenética da tainha, *Mugil platanus* (Pisces, Mugilidae). **B. Inst. Pesca.**, 19: 63-66. 1992.

KENISH, M. J. **Ecology of estuaries**. CRC. Press, Boston, 391pp.1990.

KING, M. **Species Evolution. The role chromosome change**. Cambridge Univ. Press. 336pp. 1993

KNOPPERS, B. A.; OPITZ, S. S. An annual cycle of particulate organic matter in mangrove waters, Laranjeiras Bay, Southern Brazil. **Arq. Biol. Tecnol.**, 27 (1): 79-93, 1984.

LEGRANDE, W. H.; FITZSIMONS, J. M. Karyology of the mullets *Mugil curema* and *Mugil cephalus* (Perciformes-Mugilidae) from Louisiana. **Copeia**, Carbondale, (2): 388-91. 1976.

LEMOS, P. M. M.; FENOCCHIO, A. S.; BERTOLLO, L. A. C.; CESTARI, M. M. Karyotic studies on two *Hoplias malabaricus* populations (Characiformes, Erythrinidae) of the $2n = 42$ group, from the first plateau of the Iguaçu river basin (Paraná State, Brazil). **Caryologia**, 55, 3: 193 –198, 2002.

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

LEVIN, D. A. **The role of chromosomal change in plant evolution**. New York, USA: Oxford University Press. 2002.

LIVINGSTONE, K.; RIESEBERG, L. Chromosomal evolution and speciation: a recombination-based approach. **New Phytologist**, 161: 107 –112. 2003.

LOVEJOY, N. R. Reinterpreting recapitulation: Systematics of needlefishes and their allies (Teleostei: Belontiiformes). **Evolution**, 54(4): 1349-1362. 2000.

LOVEJOY, N. R.; ARAÚJO, L. G. Molecular systematics, biogeography and population structure of Neotropical freshwater needlefishes of the genus *Potamorhaphis*. **Molecular Ecology**, 9: 259-268. 2000.

LOVEJOY, N. R.; COLLETE, B. B. Phylogenetic relationships of New World needlefishes (Teleostei: Belontiidae) and the biogeography of transitions between marine and freshwater habitats. **Copeia**, 2: 324-338. 2001.

LOWE-McCONNELL, R. H. **Estudos Ecológicos de Comunidades de Peixes Tropicais**. Ed. USP. 534pp. 1999.

LUTNESKY, M. M. F. Size-dependent rate of protogynous sex change in the pomacanthid angelfish *Centropyge potteri*. **Copeia**. 1: 209-212. 1996.

MAACK, R. **Geografia Física do Estado do Paraná**. 2. ed. Rio de Janeiro: J. Olympio; Curitiba: Secretaria da Cultura e do Esporte do Estado do Paraná, 1981.

MAEHAMA, O. K.; CORRÊA, M. F. M. Composição ictiofaunística para a zona de arrebentação de Pontal do Sul a Praia de Leste (Litoral do Paraná, Brasil). In: XIV Congresso Brasileiro de Zoologia, Juiz de Fora – MG. **Resumo...**p. 231. 1987.

MAISTRO, E. L. **Caracterização morfológica estrutural de cromossomos supranumerários em peixes**. Tese de Doutorado. P. P. G. em Ciências Biológicas (área de concentração: Genética). Univ. Est. Paulista, Campus de Botucatu. 152p. 1996.

MARGARIDO, P. V.; GALETTI Jr, P. M. Heterochromatin patterns and karyotype relationships within and between the genera *Brycon* and *Salminus* (Pisces, Characidae). **Genet. Mol. Biol.** 22 (3): 357-361. 1999.

MARTINEZ, G.; THODE, G.; ALVAREZ, M. C.; LÓPEZ, J. R. C-banding and Ag-NOR reveal heterogeneity among karyotypes of serranids (Perciformes). **Cytobios**, 58: 53-60, 1989.

MARTINS, C.; GALETTI Jr, P. M. Karyotype similarity between two sympatric *Schizodon* fish specie (Anostomidae, Characiformes) from the paraguai River basin. **Gen. Mol. Biol.** 21(3): 355-360. 1998.

MARTINS, C.; GALETTI, P. M. Jr. Chromosomal localization of 5S rDNA genes in *Leoporinus* fish (Anostomidae, Characiformes). **Chromosome research.** 7: 363 – 367. 1999.

MARTINS, C.; GALETTI, P. M. Jr. Conservative distribution of 5S rDNA loci in *Schizodon* (Pisces, Anostomidae) chromosomes. **Chromosome Research.** 8 (4): 353-355. 2001.

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

MAZET, F.; SHIMELD, S. M. Gene duplication and divergence in the early evolution of vertebrates. **Current opinion in genetics and development.** 12: 393 –396. 2002.

MEDRANO, L.; BERNARDI, G.; COUTUNIER, J.; DUTRILLAUX, B.; BERNARDI, G. Chromosome banding and genome compartmentalization in fishes. **Chromosoma.** 96: 176-183. 1988

MENEZES, N. A. Guia prático para conhecimento e identificação das tainhas e paratis (Pisces, Mugilidae) do litoral Brasileiro. **Revta. Bras. Zool.**, 2 (1): 1-12. 1983.

MEZZANOTTE, R.; BIANCHI, U.; VANNI, R.; FERRUCI, L. Chromatin organization and restriction endonuclease activity on human metaphase chromosomes. **Cytogenet. Cell Genet.**, 36: 562-566. 1983.

MOLINA, W. F.; GALETTI, P. M. Descrição cariotípica e padrões estruturais dos cromossomos de alguns pomacentrídeos (Pisces, Perciformes) do litotal brasileiro. In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 45º, 1999, Gramado – RS. **Resumos...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1999. p. 143.

MOLINA, W. F.; LIMA, F. A. M.; AFFONSO, P. R. A. M. Assincronia entre padrões citogenéticos e morfológicos em Serranidae (Pisces, Perciformes). In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 47º, 2001, Águas de Lindóia – SP. **Resumos...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2001. p. 222.

MOLINA, W. F.; MAIA-LIMA, F. A.; AFFONSO, P. R. A. M. Divergence between karyotypical pattern and speciation events in Serranidae fish (Perciformes). **Caryologia** 55, 299-305. 2002.

MOLINA, W. F.; GALETTI Jr., P. M. Robertsonian rearrangements in the reef fish *Chromis* (Perciforme, Pomacentridae) involving chromosomes bearing 5S rRNA genes. **Gen. Mol. Biol.** 25, 4, 373 – 377. 2002

MOLINA, W. F.; GALETTI Jr., P. M. Karyotypic changes associated to the dispersive potential on Pomacentridae (Pisces, Perciformes). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 309, 109-119. 2004.

MOREIRA-FILHO, O.; BERTLLO, L. A. C.; GALETTI Jr, P. M. Distribution of sex chromosomes mechanisms in Neotropical fish and description of a ZZ/ZW system in *Parodon hilarii* (Parodontidae). **Caryologia** 46: 115-125. 1993.

MORESCALCHI, A.; HUREAU, J. H.; OLMO, E.; ZOUF-COSTAZ, C.; PISANO, E.; STANYON, R. A multiple sex-chromosome system in Antarctic ice-fishes. **Polar Biol.** 11: 655-661. 1992.

MURAMOTO, J. I.; OHNO, S.; ATKIN, N. B. On the diploid state of the fish order Ostariophysi. **Chromosoma** (Berl.) 24: 59-66. 1968.

NAYYAR, R. P. Karyotype studies in thirteen species of fishes. **Genetica**, 37: 78-92. 1966.

NELSON, J. S. **Fishes of the World**. 3rd ed., John Wiley & Sons Ltda. New York. 141-142; 150-152. 1994.

NETTO, M. R. C. B.; PAULS, E.; AFFONSO, P. R. A. M. Estudos citogenéticos em peixes marinhos V: *Selene vomer* (Perciformes: Carangidae) In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 44^º, 1998, Águas de Lindóia – SP. **Resumos...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1998a. p. 43.

NETTO, M. R. C. B.; OLIVEIRA, A. S. S.; AFFONSO, P. R. A. M.; PAULS, E. Estudos citogenéticos em peixes marinhos: *Pagrus pagrus* (Linnaeus, 1758) (Perciformes; Sparidae). In: SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA EVOLUTIVA E APLICADA DE PEIXES NEOTROPICAIS, VII, 1998, Londrina – PR. **Resumos...** Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 1998b. p. 11.

NETTO, M. R. C. B.; AFFONSO, P. R. A. M.; OLIVEIRA, A. S. S.; MUNIZ, A.; PAULS, E. Estudos citogenéticos em peixes marinhos: *Trachinotus goodei* (Linnaeus, 1758) (Perciformes; Carangidae). In: SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA EVOLUTIVA E APLICADA DE PEIXES NEOTROPICAIS, VII, 1998, Londrina – PR. **Resumos...** Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 1998c. p. 13.

NETTO, M. R. C. B.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. Caracterização cromossômica de duas espécies do gênero *Centropomus*: *C. mexicanus* e *C. undecimalis* (Centropomidae, Perciformes). In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 45^º, 1999, Gramado – RS. **Resumos...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1999. p. 79.

NETTO, M. R. C. B.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Homogeneidade cariotípica populacional de *Centropomus parallelus* e *Centropomus undecimalis* de diferentes ambientes costeiros. In: SIMPÓSIO DE IOGENÉTICA E GENÉTICA DE PEIXES, X, 2004, Natal – RN. **Resumos...** Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2004. p.110.

NIRCHIO, M.; CEQUEA, H. Karyology of *Mugil liza* and *M. curema* from Venezuela. **Bol. Inv. Mar. Cost.**, 27: 45-50. 1998.

NIRCHIO, M.; GONZÁLES, D.; PÉREZ, J. E. Estudio citogenético de *Mugil curema* y *M. liza* (Pisces, Mugilidae): Regiones organizadoras del nucleolo. **Bol. Ints. Oceanogr. Venezuela**, 40(1-2): 3-7. 2001.

NIRCHIO, M.; CERVIGÓN, F.; PORTO, J. I. R.; PÉREZ, J. E.; GÓMEZ, J. A.; VILLALAZ, J. Karyotype supporting *Mugil curema* Valenciennes, 1836 and *Mugil gaimardianus* Desmarest, 1831 (Mugilidae: Teleostei) as two valid nominal species. **Scientia Marina**, 67(1): 113-115. 2003.

NIRCHIO, M.; CIPRIANO, R. R.; CESTARI, M. M.; FENOCCHIO, A. S. Cytogenetic comparison between *Mugil curema* from Venezuela and Brazil: Intraspecific karyotypic variability or cryptic species? In: SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA E GENÉTICA DE PEIXES, X, 2004, Natal – RN. **Resumos...** Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2004. p.107.

NOLETO, R. B. **Estudos citogenéticos em Tetraodontiformes, *Sphoeroides greeleyi*, *S. testudineus* (Tetraodontidae) e *Cylichthys spinosus* (Diodontidae) pertencentes ao litoral do Paraná.** Monografia de Bacharel em Ciências Biológicas (área de concentração: Genética). Univ. Fed. do Paraná. 2003a.

NOLETO, R. B.; CESTARI, M. M.; FENOCCHIO, A. S. Estudos cariotípicos preliminares de duas espécies do gênero *Sphoeroides* (Tetraodontiformes, Tetraodontidae) do litoral paranaense. In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 49º, 2003, Águas de Lindóia – SP. **Resumos...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2003b. p.16.

OHNO, S.; WOLF, U.; ATKIN, N. B. Evolution from fish to mammals by gene duplication. **Hereditas**, 59: 169-187, 1968.

OHNO, S. **Evolution by gene duplication**. New York, Springer-Verlag, 160pp. 1970.

OHNO, S. **Protochordata, Cyclostomata and Pisces**. In John, B. (ed.). *Animal Cytogenetics* 4(1): 1-92. 1974.

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

OLIVEIRA, C.; ALMEIDA-TOLEDO, L. F.; FORESTI, F. Revisão dos estudos citogenéticos em peixes neotropicais de águas continentais. In: VIII Simpósio de Citogenética e Genética de peixes, 24, 2000, Manaus – AM. **Resumo...** 2000. 119p.

PAIVA FILHO, A. M.; TOSCANO, A. P. Estudo comparativo e variação sazonal da ictiofauna na zona entremarés do Mar Casado – Guarujá e Mar Pequeno – São Vicente, São Paulo. **Boletim do Instituto Oceanográfico**, 35(2), 153-165. 1987.

PASTORI, M. C.; CANO, J.; BERTOLLO, C.; FENOCCHIO, A. S. Cytogenetic study of two species needlefish (Belonidae) from Argentina. **Ital. J. Zool.**, 65, Suppl: 57-60. 1998.

PATTERSON, C. The caudal skeleton in Lower pholidophorid fishes. **Bull. Br. Mus. Nat. Hist. Geol.** 16: 201-239. 1968.

PATTERSON, C.; ROSEN, D. E. Review of ichthyodectiform and other Mezoic teleost fishes and the theory and practice of classfying fossils. **Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.** 158: 81-172. 1977.

PAULS, E.; COUTINHO, I. A. Levantamento citogenético em peixes de maior valor econômico do litoral Fluminense (23°. Lat./S). In: XVII Congresso Brasileiro de Zoologia, 17, 1990, Londrina, PR. **Resumo...** 1990. p.325.

PAULS, E.; COUTINHO, I. A.; PROCÓPIO, R. C. O. Estudos citogenéticos nas espécies *Orthopritis ruber*, *Bodianus rufus*, *Pomatomus saltatrix* e *Mullus argentinae*. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE ICTIOLOGIA, IX, 1991, Maringá – PR. **Resumos...** 1991. p.180.

PAULS, E. **Estudos citogenéticos em peixes marinhos visando o melhoramento genético.** Tese de Concurso para professor titular da disciplina Genética e Melhoramento Animal do Departamento de Zootecnia da Faculdade de veterinária da UFF, Niterói, RJ. 1993.

PAULS, E.; VIESTEL, M. A.; AFFONSO, P. R. A. M.; NETTO, M. R. C. B.; D. PACHECO, M. L. Levantamentos citogenéticos em peixes mareinhos II: Família Monacanthidae, *Canterhines macrocerus*. In: 41°. Congresso Nacional de Genética, Caxambu – MG. **Resumo...** Caxambu: Sociedade Brasileira de Genética. 1995a. p. 449.

PAULS, E.; VIESTEL, M. A.; AFFONSO, P. R. A. M.; NETTO, M. R. C. B.; D. PACHECO, M. L. Levantamentos citogenéticos em peixes marinhos III: Família Centropomidae, *Centropomus parallelus*. In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 41^o, 1995, Caxambu – MG. **Resumos...** 1995b. p. 449.

PAULS, E.; NETTO, M. R. C. B.; AFFONSO, P. R. A. M.; OLIVEIRA, A. S. S.; GUEDES, W.; MUNIZ, A. Estudos cariotípicos em *Mugil incilis* (Mugilidae, Perciformes) da Baía de Ilha Grande. In: SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA EVOLUTIVA E APLICADA DE PEIXES NEOTROPICAIS, VII, 1998, Londrina – PR. **Resumos...** Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 1998. p.15.

PENDÁS, A. M.; MORÁN, P.; FREIJE, J. P.; GARCÍA-VAZQUEZ, E. Multichromosomal localization of ribosomal RNA genes and heterochromatin association in brown trout. **Chrom. Res.** 1: 63-67. 1993.

PENDÁS, A. M.; MORÁN, P.; FREIJE, J. P.; GARCÍA-VAZQUEZ, E. Chromosomal mapping and nucleotide sequence of two tandem repeats of Atlantic salmon 5S rDNA. **Cytogenet. Cell Genet.** 67: 31 – 36. 1994.

PEREIRA, S. D.; CHAVES, H. A.; RODRIGUES, R. Evidências da Variação Relativa do Nível do Mar Através dos Isótopos Estáveis de Carbono da Matéria Orgânica – Manguezal de Guaratiba – Baía de Sepetiba (RJ). In: XII Semana Nacional de Oceanografia, Rio de Janeiro, RJ. **Resumo...** 1999. p. 402 – 404.

PHILLIPS, R. B.; HARTLEY, S. E. Fluorescent banding patterns of the chromosomes of the genus *Salmo*. **Genome.** 30: 193-197. 1988.

PHILLIPS, R. B.; PLEYTE, K. A.; IHSEN, P. E. Patterns of chromosomal nucleolar organizer region (NOR) variation in fishes of the genus *Salvelinus*. **Copeia.** 1: 47-55. 1989.

PIECZARKA, J. C.; MATTEVI, M. S. Heterocromatina Constitutiva. In: DUARTE, F. A. M. (ed.). **Série Monografias** n. 7. Ed. Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, SP, Brasil, 1998.

PINHEIRO, P. C. **Dinâmica das comunidades de peixes em três áreas amostrais da Ilha do Mel, Baía de Paranaguá, Paraná, Brasil**. Curitiba. Dissertação (Mestrado em Zoologia) – Depto. de Zoologia, Universidade Federal do Paraná. 105p. 1999.

POLUNIN, N. V. C.; ROBERTS, C. M. **Reef Fisheries**. Londres. 477pp. 1996.

PORTO-FORESTI, F.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Estudos Citogenéticos em Moreia- Pintada, *Gymnothorax ocellatus* – Agassiz, 1831 (Pisces, Muraenidae) da Enseada Ubatuba (SP). In: ENCONTRO BRASILEIRO DE ICTIOLOGIA, XII, 1997, São Paulo - SP. **Resumos...** São Paulo: Sociedade Brasileira de Ictologia, 1997. p. 01.

RAMALHO, T. R.; FENOCCHIO, A. S.; CESTARI, M. M. Estudos citogenéticos preliminares em *Poecilia vivipara* (Cyprinodontiformes) pertencentes à região de Pontal do Sul – PR. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE ICTIOLOGIA, XIV, 2001, São Leopoldo - RS. **Resumos...** São Leopoldo: UNISINOS, 2001. p.

RAY, G. C. Diversidade ecológica em zonas costeiras e oceanos. In: WILSON, E. O. **Biodiversidade**. Ed. Nova Fronteira, Rio de Janeiro – RJ., 1^a. ed., 657pp. ,1997.

REGGI, R.; PÉRICO, E., SUNINSKY, M.; CAMILLO, J. C. A. Estudos citogenéticos em papa-terra, *Menticirrhus litoralis* (Perciformes, Serranidae). In: Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais, Botucatu – SP. **Resumo...** Botucatu: Unesp. 1986. p. 57

RISH, K. K. A preliminary report on the karyotypes of eighteen marine fishes. **Res. Bull. (N. S.) of the panjab univ.**, vol. 24, Parts III-IV: 164-162, 1973.

RISHI, K. K.; SINGH, J. Karyological studies on five estuarine fishes. **Nucleus**, 25: 178-180. 1982.

ROCHA, E. C.; MOLINA, W. F. Caracterização citogenética da espécie *Ocyurus chrysurus* (Perciformes, Pisces) do litoral do Rio Grande do Norte, Brasil. In: SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA E GENÉTICA DE PEIXES, X, 2004, Natal – RN. **Resumos...** Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2004. p.125.

ROSSI, A. R. ; CROSSETI, D.; GORNUNG, E.; SOLA, L. Cytogenetic analysis of global populations of *Mugil cephalus* (striped mullet) by different staining techniques and fluorescent *in situ* hybridization. **Heredity**. 76: 77 – 82, 1996.

RUIZ-CARUS, R.; URIBE-ALCOCER, M. Karyotype analysis of *Eucinostomus argenteus*, *E. gula*, *E. harengulus*, and *Eugerres plumieri* (Teleostei, Gerreidae) from Florida and Puerto Rico. **Experimental Biology of Fishes** 67: 269-276. 2004.

SAENGER, P.; McIVOR, C. C. Water quality and fish populations in a mangrove estuary modified by residential and development. In: WALSH, J.; SNEDACKER, S.; TESS, H. (Ed.) **Proceedings of the international Symposium and Biology and Management of Mangroves**. Un. of Florida. P. 753 –757. 1975.

SÁ GABRIEL, L. G.; MOLINA, W. F. Diversidade cariotípica em *Balistes vetula* e *Melichthys Níger* (Balistidae, Tetraodontiformes). In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 49º, 2003, Águas de Lindóia – SP. **Resumos...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2003. p.16.

SÁ-GABRIEL, L. G.; MOLINA, W. F. Multiplicidade cariotípica em três famílias da ordem Tetraodontiformes. In: SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA E GENÉTICA DE PEIXES, X, 2004, Natal – RN. **Resumos...** Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2004. p.117.

SANMIGUEL, P.; TIKHONOV, A.; JIN, Y-K.; MOLCHALSKIA, N.; ZAKHAROV, D.; MELAKE-BERNHAM, A.; SPRINGER, P. S.; EDWARDS K. J.; LEE, M.; AURAMOVA, Z.; BENNETZEN J. L. Nested retrotransposons in the intrgenic regions of the maize genome. **Science** 274: 765-768. 1996.

SASEKUMAR, A.; CHONG, V. C.; LEH, M. U.; D'CRUZ, R. Mangroves as a habitat for fish and prawns. **Hydrobiologia**, 247, 195 – 207, 1992.

SCAVONE, M. D.; BERTOLLO, L. A. C.; CAVALLINI, M. M. Sympatric occurrence of two karyotypic forms of *Hoplias malabaricus* (Pisces, Erythrinidae). **Cytobios**, 80: 223 – 227. 1994.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y. **Manguezais Brasileiros**. Tese de Livre-docência. Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico. 42p. 1991.

SCHWEIZER, D. Reverse fluorescent chromosome banding with chromomycin and DAPI. **Chromosoma**. 58: 307-324, 1976.

SCHMID, M.; GUTTENBACH, M. Evolutionary diversity of reverse (R) fluorescent chromosome bands in vertebrates. **Chromosoma**. 97: 101-114. 1988.

SENA, D. C. S.; SÁ GABRIEL, L. G.; GALETTI JR., P. M.; MOLINA, W. F. Caracterização citogenética de uma população de *Sphoeroides testudineus* (Pisces, Tetraodontidae). In: ENCONTRO BRASILEIRO DE ICTIOLOGIA, XIII, 1999, São Carlos – SP. **Resumos...** São Carlos: Sociedade Brasileira de Ictiologia, 1999. p.159.

SENA, D. C. S.; MOLINA, W. F. Dados cariotípicos em peixes recifais marinhos *Sparisoma rubripinne* (Scaridae) e *Bodianus rufus* (Labridae) do litoral do Rio Grande do Norte. In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 47º, 2001, Águas de Lindóia – SP. **Resumos...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2001. p. 206.

SENA, D. C. S., AFFONSO, P. R. A. M.; LIMA, F. A. M.; MOLINA, W. F. Rearranjos robertsonianos e inversões pericêntricas em peixes recifais da família Scaridae (Perciformes). In: SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA E GENÉTICA DE PEIXES, IX, 2002, Maringá – PR. **Resumos...** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2002. p.109.

SENA, D. C. S.; MOLINA, W. F. Variação no número de cromossomos bibráquiais na subfamília Bodianinae: *Bodianus insularis* (Pisces, Labridae), espécie endêmica do arquipélago São Pedro e São Paulo. In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 49º, 2003, Águas de Lindóia – SP. **Resumos...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2003. p.13.

SENA, D. C. S.; MOLINA, W. F. Informações cariotípicas em peixes recifais da subfamília Bodianinae: *Bodianus rufus*, *B. insularis* e *B. pulchellus* (Pisces, Labridae). In: SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA E GENÉTICA DE PEIXES, X, 2004, Natal – RN. **Resumos...** Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2004. p.124.

SHAW, R. F.; ROGERS, B. D.; COWAN Jr., J. H.; HERKE, W. H. Ocean-estuary coupling of ichthyoplankton and nekton in the Northern Gulf of Mexico. **Am. Fish. Soc. Symposium** 3: 77 – 89, 1988.

SINGH, L.; PURDOM, I. F.; JONES, K. W. Sex chromosome associated satellite DNA: evolution and conservation. **Chromosoma**. 79: 137-157. 1980.

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

SOLA, L.; ROSSI, A. R.; IASELLI, V.; RASCH, E. M.; MONACO, P. J. Cytogenetics of bisexual/unisexual species of *Poecilia*. II. Analysis of heterochromatin and nucleolar organizer regions in *Poecilia mexicana mexicana* by C-banding and DAPI, quinacrine, chromomycin A₃, and silver staining. **Cytogenetics and Cell Genetics** 60, 229-235. 1992.

SOLA, L.; BRESSANELLO, S.; ROSSI, A. R.; IASELLI, V.; CROSSETTI, D.; CATAUDELLA, S. A karyotype analysis of the genus *Dicentrarchus* by different staining techniques. **Journal of Fish Biology**, 43: 329-337, 1993.

SOUZA, I. L.; MOREIRA-FILHO, O.; GALETTI Jr., P. M. Heterochromatin differentiation in the characid fish *Astyanax scabripinnis*. **Brazil. J. Genet.** 19(3): 405-410. 1996.

SPRINGER, V. G. **Pacific plate biogeography, with special reference to shorefishes**. Smithsonian Contrib. Zool. 367. 182 pp. 1982.

SRIVASTAVA, M. D. L.; KAURA, P. The structure and behaviour of chromosomes in six freshwater teleosts. **Cellule**, 65: 93-107. 1964.

SUMNER, A T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. **Expl. Cell Res.**, 75: 304-306. 1972.

TAYLOR, S. J.; VAN de PEER, Y.; MEYER, A. Genome duplication, divergent resolution and speciation. **Trends in genetics**, 17 (6), 299 – 301. 2001.

THAYLER, G. W.; COLBY, D. R.; HETTLER Jr, W. F. Utilization of the red mangrove prop root habitat by fish in south Florida. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, 35, 25 – 38, 1987.

THOMSON, J. M. The Mugilidae of the world. **Mem. Queen. Musm.**, 41(3): 457-562. 1997.

TYLER, J. C. **Osteology, phylogeny and higher classification of the fishes of the order Pleoctognathi (Tetraodontiformes)**. NOAA Techn. Rep. Nat. Mar. Fish. Circ. 434: 1 – 422, 1980.

VASCONCELOS, A. J. M.; LIMA, L. C. B.; ACCIOLY, I.; MOLINA, W. F. Distribuição de regiões organizadoras de nucléolo em Haemulidae (Pisces – Perciformes). In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 49º, 2003, Águas de Lindóia – SP. **Resumos...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2003. p.11.

VASCONCELOS, A. J. M.; SOUZA, A. S.; MOLINA, W. F. Caracterização citogenética na espécie *Apogon americanus* (Pisces, Perciformes). In: SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA E GENÉTICA DE PEIXES, X, 2004, Natal – RN. **Resumos...** Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2004. p.115.

VAZZOLER, A. E. A. M.; SOARES, L. S. H.; CUNNINGHAM, P. T. M. **Ictiofauna da Costa Brasileira** in LOWE-McCONNELL, R. H. Estudos Ecológicos de Comunidades de Peixes Tropicais. Ed. USP. 534pp. 1999.

VENERE, P. C. **Citogenética Comparativa de Peixes da Família Curimatidae (Characiformes)**. São Carlos-SP, 1991. 134 f. Dissertação de Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais – Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos. 1991.

VENKATESH, B. Evolution and diversity of fish genomes. **Current opinion in genetics and development**, 13: 1 – 5. 2003.

VERMA, R. S.; BABU, A. **Human chromosomes: Principles and Techniques**. 2nd. Ed. United State of America. International Edition, 1995.

VICARI, M. R.; ARTONI, R. F.; BERTOLLO, L. A. C. Comparative cytogenetics of *Hoplias malabaricus* (Pisces, Erythrinidae): A population analysis in adjacent hydrographic basins. **Genet. Mol. Biol.** 27 (4): XXX-XXX. 2004.

VIESTEL, M. A. D.; PAULS, E.; AFFONSO, P. R. A. M.; NETTO, M. R. C. B. Levantamento citogenético em peixes marinhos III: Família Centropomidae, *Centropomus undecimalis*. In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 42^o, 1996, Caxambu – MG. **Resumos...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1996. p. 113.

VITTURI, R.; CATALANO, E.; LAFARGUE, F. Evidence of heteromorphic sex chromosomes in *Zeus faber* (Pisces, Zeiformes): nucleolus organizer regions and C-pattern. **Cytobios**. 68 (272): 37-43. 1991.

VITTURI, R.; COLOMBERA, D.; CATALANO, E. Intra-populational chromosome polymorphisms in four teleost species. **Cytobios**, 75: 171-182, 1993.

WASKO, A. P. **Estudos citogenéticos no gênero *Bryconamericus* (Pisces, Characidae). Uma abordagem citotaxonômica – Evolutiva**. São Carlos – SP, 1996. 165 f. Dissertação de Mestrado – P. P. G. em Genética e Evolução do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos. 1996.

WASKO, A. P.; GALETTI Jr, P. M. Mapping 18S ribosomal genes in fish of the genus *Brycon* (Characidae) by fluorescence *in situ* hybridization (FISH). **Genet. Mol. Biol.** 23(1): 135-138. 2000.

WEISTEN, M. P. Larval fish and shellfish transport through inlets. **Am. Fish. Soc. Symp.** 3: 166p, 1988.

WHITE, M. J. D. **Models of speciation.** Freeman, San Francisco. 1978.

WHITE, T.J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, L. **Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR Protocols: A guide to methods and applications.** Academic Press, New York/London. 1990.

WICKBOM, T. Cytological Studies on the Family Cyprinodontidae. **Hereditas**, 29: 1-24. 1943.

ZENAID, A. K.; ALMEIDA-TOLEDO, L. F. O cariótipo de *Trachinotus carolinus* e *T. Falcatus* (Pisces, Carangidae). In: Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais, Botucatu – SP. **Resumo...** Botucatu: Unesp. 1994. p.25.