

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Caracterização Cariotípica de duas
Espécies do Gênero *Astyanax* (Pisces-
Characidae) da Bacia do Rio Paranaíba
da Região do Triângulo Mineiro

Ana Cristina dos Santos Araújo

Monografia apresentada à Coordenação
do Curso de Ciências Biológicas, da
Universidade Federal de Uberlândia,
para a obtenção do grau de Bacharel em
Ciências Biológicas.

UBERLÂNDIA – MG
JULHO/ 1999

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Caracterização Cariotípica de duas
Espécies do Gênero *Astyanax* (Pisces-
Characidae) da Bacia do Rio Paranaíba
da Região do Triângulo Mineiro**

Ana Cristina dos Santos Araújo

Prof^a Dr^a Sandra Morelli

Orientadora

Monografia apresentada à Coordenação
do Curso de Ciências Biológicas, da
Universidade Federal de Uberlândia,
para a obtenção do grau de Bacharel em
Ciências Biológicas.

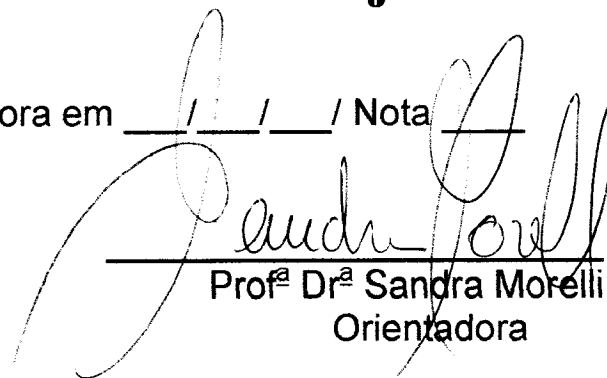
UBERLÂNDIA – MG
JULHO/ 1999

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Caracterização Cariotípica de duas
Espécies do Gênero *Astyanax* (Pisces-
Characidae) da Bacia do Rio Paranaíba
da Região do Triângulo Mineiro**

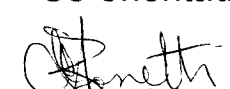
Ana Cristina do Santos Araújo

Aprovada pela banca examinadora em ____/____/____ / Nota ____



Prof.^a Dr.^a Sandra Morelli
Orientadora

Prof. Dr. Mário Antônio Spanó
Co-orientador



Prof. Dr.^a Ana Maria Bonetti
Co-orientadora

UBERLÂNDIA – MG
JULHO/ 1999

Aos meus pais João e Ivone e meus
irmãos Cristiano e Ronaldo.

“Instruir-te-ei, e ensinar-te-ei o
caminho que deves seguir, guiar-te-
ei com os meus olhos”.

Salmo 32:8

AGRADECIMENTOS

A esta instituição e a todas as pessoas que estiveram ao meu lado, me compreendendo quando faltei com atenção, me orientando, apoiando direta e indiretamente na realização destes trabalho.

Por fim, acima de tudo agradeço a Deus por todas as oportunidades que Ele me tem concedido.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 Local de coleta de <i>Astyanax scabripinnis</i>	9
FIGURA 2 Exemplar de <i>Astyanax scabripinnis</i>	9
FIGURA 3 Local de coleta de <i>Astyanax bimaculatus</i>	10
FIGURA 4 Exemplar de <i>Astyanax bimaculatus</i>	10
FIGURA 5 Gráfico do número 2n para machos de <i>Astyanax scabripinnis</i>	14
FIGURA 6 Gráfico do número 2n para fêmeas de <i>Astyanax scabripinnis</i>	15
FIGURA 7 Cariótipo e AgNOR de <i>Astyanax scabripinnis</i>	16
FIGURA 8 Gráfico do número 2n para fêmeas de <i>Astyanax bimaculatus</i>	18
FIGURA 9 Cariótipo e AgNOR de <i>Astyanax bimaculatus</i>	19

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Número cromossômicos encontrados em exemplares machos de <i>Astyanax scabripinnis</i>	14
TABELA 2	Números cromossômicos encontrados em exemplares fêmeas de <i>Astyanax scabripinnis</i>	15
TABELA 3	Números cromossômicos encontrados em exemplares fêmeas de <i>Astyanax bimaculatus</i>	18

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	1
1.1Aspectos Gerais da Citogenética de Peixes	1
1.2Citogenética do Gênero <i>Astyanax</i>	2
1.3Regiões Organizadoras de Nucléolos	3
2.OBJETIVOS	6
3.MATERIAL E MÉTODOS	7
3.1 Espécies estudadas e locais de coletas	7
3.2 Indução para aumento do Número de Mitoses	7
3.3 Preparação de Cromossomos Mitóticos	11
3.4 Preparo de lâminas	11
3.5 Estudos Cariotípicos	12
4.RESULTADOS	13
4.1 <i>Astyanax scabripinnis</i>	13
4.2 <i>Astyanax bimaculatus</i>	17
5.DISSCUSSÃO	20
5.1 A macro estrutura cariotípica	20
5.2 As Regiões Organizadoras de Nucléolos das espécies estudadas	23
6.CONCLUSÕES	25
7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26

RESUMO

Dentro da subfamília Tetragonopterinae, o gênero *Astyanax* é o mais estudado citogeneticamente devido à sua ampla diversidade cariotípica. Caracteriza-se, do ponto de vista citogenético, por um número diplóide variando de $2n=36$ a $2n=50$. No presente trabalho, foram analisadas duas populações com o intuito de caracterizar os cariótipos das mesmas, definir localização das regiões organizadoras de nucléolos e comparar os dados obtidos com os de outras populações já descritas na literatura. Os exemplares de *A. scabripinnis* provêm de uma população do córrego Jataí (Município de Uberlândia-MG) e os de *A. bimaculatus* do córrego Cruz da Retirada Bonita (Município de Campina Verde-MG), ambos os córregos localizados na bacia do rio Paranaíba. Utilizando a técnica de coloração convencional com Giemsa, a espécie *A. scabripinnis* apresentou número $2n=50$ e o número fundamental (FN) igual a 78. Apenas o primeiro par dos subtelocêntricos foi marcado pela impregnação por Prata, indicando um sistema de NOR simples. Apesar de várias fontes da literatura indicarem a presença de um cromossomo supranumerário (B), em diferentes populações desta espécie, isto não foi constatado na população estudada. Em *A. bimaculatus*, o número $2n$ também foi de 50 e NF=90. A caracterização dos cromossomos com regiões organizadoras de nucléolos, através da impregnação pela Prata evidenciou um sistema de NOR simples, com apenas o primeiro par dos subtelocêntricos como sendo o portador da mesma; várias outras populações desta espécie indicam a presença de um sistema de NORs múltiplas. Em comparações feitas com os dados da literatura, verifica-se que estas duas populações mostram um padrão cariotípico mais conservativo.

1. INTRODUÇÃO

1.1 ASPECTOS GERAIS DA CITOGENÉTICA DE PEIXES

Os peixes, por apresentarem um grande número de espécies e características biológicas peculiares, além de ocuparem uma posição central na evolução dos vertebrados, constituem um dos melhores grupos para estudos genéticos, citogenéticos e evolutivos (TOLEDO-FILHO *et al.*, 1978).

Os estudos citogenéticos de peixes tornaram-se uma importante ferramenta na abordagem de questões evolutivas, de sistemática, de hibridação inter e intraespecífica (na piscicultura), além de estudos sobre polimorfismos e poliploidia cromossômica.

A citogenética de peixes neotropicais tem se desenvolvido de modo notável nas últimas décadas, embora os dados cromossômicos até hoje obtidos correspondam a, apenas, cerca de 12% das mais de 22.000 espécies de peixes existentes (KLINKHARDT *et al.*, 1995, *apud* MAISTRO, 1996). De acordo com OLIVEIRA e FORESTI (1994) há um crescimento acentuado no número de espécies analisadas da ictiofauna neotropical de águas continentais, sendo que 634 tiveram, ao menos, seus números cromossômicos conhecidos. Segundo estes autores os dados citogenéticos disponíveis, ainda são muito restritos, ocorrendo grupos como por exemplo os Cynodontidae, Ctenolucidae, Cetopsidae, Electrophoridae onde não há nenhuma, ou pouca, informação cariotípica. Devido a isto, é necessário que os estudos citogenéticos em peixes neotropicais se ampliem ainda mais, para permitirem o levantamento de novas informações que possam auxiliar na compreensão das relações de parentesco entre, ou dentro, de diferentes ordens, famílias ou mesmo gêneros de peixes (VÊNERE, 1998).

Os peixes neotropicais apresentam uma grande variabilidade cariotípica, tanto inter quanto intraespecífica. Seus números cromossômicos diplóides encontram-se distribuídos entre $2n=20$ em *Pterolebias longipinnis* a $2n=132$ em *Corydoras aeneus* (OLIVEIRA *et al.*, 1988). A fauna de peixes neotropicais é constituída por grupos bastante numerosos de Characiformes, Siluriformes e Perciformes, e por grupos

pouco numerosos e amplamente distribuídos como os peixes pulmonados, aruanãs, pirarucus, Cyprinodontiformes, potamotrigonídeos, clupeídeos, engraulídeos, scianídeos, achirídeos, belonídeos, entre outros (VÊNERE, 1998).

A família Characidae é o grupo mais complexo entre os Characiformes e representa um grande grupo de peixes de água doce da América do Sul com 170 gêneros e 885 espécies (NELSON 1994, *apud* MARGARIDO, 1995). De acordo com VÊNERE (1998), a subfamília Tetragonopterinae constitui-se num grupo de peixes muito diversificado, no qual as relações de parentesco, mesmo entre os diferentes gêneros, são bastante confusas. Pela diversidade de formas e pela variabilidade cariotípica que se observa entre os diferentes gêneros, torna-se óbvio que esse não se constitui num grupo natural de espécie.

1.2 CITOGENÉTICA DO GÊNERO *Astyanax*

O gênero *Astyanax* é o mais comum dos Tetragonopterinae, caracterizando-se por apresentar duas séries de dentes no pré-maxilar, com cinco dentes na série interna, linha lateral completa e nadadeira caudal nua, com escamas apenas na base. Além disso, os dentes da mandíbula decrescem de tamanho abruptamente após o 3º - 4º dente anterior (BRITSKI, 1972). As espécies do gênero *Astyanax* alimentam-se principalmente de larvas de insetos aquáticos, pupas, imagos e algas, sendo elementos importantes para a manutenção do equilíbrio ecológico. As mesmas apresentam o mesmo comportamento reprodutivo dos peixes de piracema, realizando curtas migrações ascendentes na época de cheias que lhes permitiriam um certo estímulo necessário para reprodução. Na cadeia alimentar, teriam papel relevante como “espécies forrageiras” para indivíduos ictiófagos, de maior porte, como o dourado (GODOY, 1975).

Dentro da subfamília Tetragonopterinae o gênero *Astyanax* é o mais estudado citogeneticamente. O grupo apresenta grande variação cariotípica inter e intraespecífica e seu número diplóide varia de $2n=36$ a $2n=50$ cromossomos. A espécie que apresenta o menor número $2n$ de cromossomos é a *A. cf. schubarti*, já as que apresentam maior número são *A. bimaculatus*, *A. lineatus* e *A. scabripinnis* (OLIVEIRA *et al.*, 1988).

Estudos citogenéticos sobre *Astyanax*, em particular a espécie *Astyanax scabripinnis*, tem apresentado ampla diversidade cariotípica interpoblacional. Alguns indivíduos dessa espécie apresentam cromossomos Bs (supranumerários) que, são elementos genômicos encontrados em diferentes organismos, aparentemente desprovidos de função gênica específica (FORESTI, 1998). Estes são freqüentemente heterocromáticos e variáveis quanto ao tamanho e morfologia (CARDOSO *et al.*, 1998). Em estudos de *A. scabripinnis* da cabeceira do rio Cascatinha, pequeno afluente do rio Tietê (Botucatu, SP), MAISTRO *et al.* (1994) encontraram na população local somente um macro cromossômico B para cada peixe de uma população. Já NÉO e MOREIRA-FILHO (1995) encontraram no Ribeirão Grande exemplares apresentando cromossomos B de três diferentes tipos: metacêntrico e submetacêntrico grandes e submetacêntrico médio e, no mesmo rio, encontraram outros exemplares com dois cromossomos B.

O número $2n$ dessa espécie tem se mostrado variante. No rio Ivaí (Maringá, PR) foram encontradas por MIZOGUCHI e MARTINS-SANTOS (1998), duas populações com número $2n$ diferentes, a primeira com $2n=48$ e a segunda com $2n=50$. No córrego Curral das Éguas, MG, MOREIRA-FILHO e BERTOLLO (1991) encontraram uma população com $2n=46$.

MIZOGUCHI e MARTINS-SANTOS (1998) listam vários autores que observaram diferentes padrões de bandamento cromossômico sugerindo que este taxon seja um complexo de espécies, descrito por MOREIRA-FILHO e BERTOLLO (1991) como “complexo” *scabripinnis*.

Estudos realizados por autores como CENCI *et al.* (1998); SÁNCHEZ *et al.* (1998) e VALE *et al.* (1998), em populações de *Astyanax bimaculatus* provenientes de diferentes regiões da bacia do rio Paraná, mostraram o mesmo número diplóide, $2n=50$, mas com variações no citótipo, sendo que o mesmo variou de 11 meta-submetacêntricos (e 14 subtelo-acrocêntricos) a 16 meta-submetacêntricos (e 9 subtelo-acrocêntricos).

1.3 REGIÕES ORGANIZADORAS DE NUCLÉOLOS

Por meio de modificações na técnica de impregnação pela Prata, utilizada

para cromossomos humanos, foi possível visualizar a variabilidade das Regiões Organizadoras de Nucléolos (NORs) nos cromossomos de peixes.

As NORs são regiões do cromossomo na qual se encontram os principais genes de RNAr (5,8S, 18S e 28S DNAr). As mesmas têm sido muito estudadas em vários organismos com as finalidades de acrescentar informações ao conhecimento do DNA nessas regiões, conhecer melhor a estrutura cromossômica, atividade gênica, bem como, possíveis alterações cromossômicas estruturais que tenham ocorrido ao longo da evolução das espécies.

Várias técnicas estão descritas para evidenciar estas regiões cromossômicas, entre as quais destacam-se processos de hibridação *in situ* com sondas DNAr, utilização de fluorocromos base específicos que evidenciaram as heterocromatinas ricas em GC, a Cromomicina A₃ ou Mitramicina, geralmente próximas às NORs e a coloração com nitrato de Prata, que possui afinidade com as proteínas associadas ao DNAr, que esteve ativo na última intérfase (HOWELL, 1977).

Ocorrem nas regiões de DNAr variabilidades que tornam possível diferenciar não só espécies, como também populações. Esta variabilidade das NORs são observadas quanto ao número, localização, atividade, quantidade de DNAr ou número de cístrons ribossômicos presentes nas mesmas, bem como a organização das seqüências do DNAr e os mecanismos envolvidos na regulação da atividade destes cístrons (BICUDO, 1985).

OLIVEIRA e FORESTI (1994) citam 231 espécies de peixes com número e/ou localização das NORs, sendo que destas, 164 apresentaram NORs simples, 35 apresentaram dois pares de NORs, 32 apresentaram mais de dois pares de cromossomos contendo NORs.

Na família Characidae não há um padrão básico de número e/ou localização das NORs, podendo encontrar desde NORs simples como em Bryconinae (MARGARIDO, 1995) e Salmininae (VÊNERE *et al.*, 1996), NORs múltiplas em Serrasalminae (OKUMURA e ALMEIDA-TOLEDO, 1998), até mesmo NORs simples e múltiplas em indivíduos da mesma espécie como em *Bryconamericus* sp pertencentes a dois citótipos diferentes (PORTELA-CASTRO e JÚLIO-JÚNIOR,

1998).

Na subfamília Tetragonopterinae podemos encontrar, para *Astyanax bimaculatus*, NORs simples, localizadas em posição telomérica do braço menor no maior par de cromossomos subtelocentricos (CENCI *et al.*, 1998). VIEIRA *et al.* (1997), verificaram para a mesma espécie que a coloração pela Prata marcou com mais frequência três cromossomos: o primeiro par e um representante do segundo par dos subtelocêntricos, no entanto, foram observadas metáfases onde representantes de outros pares cromossômicos apareceram marcados. As preparações com Cromomicina A₃ mostraram bandas brilhantes nos braços curtos dos dois primeiros pares de subtelocêntricos e em um par de acrocêntricos. ROBAINA *et al.* (1998), encontraram para *Astyanax* sp B NORs múltiplas em cromossomos submetacêntricos e acrocêntricos.

NÉO e MOREIRA-FILHO (1998) verificaram que a maioria dos indivíduos de *Astyanax scabripinnis* analisados possuíam apenas um par de cromossomos marcados, no entanto alguns indivíduos apresentaram 3, 4, 8 e 9 cromossomos marcados, caracterizando assim um sistema de NORs múltiplas. Em populações de outras regiões o sistema de NOR simples mostrou-se mais freqüente.

Estudando a mesma espécie MIZOGUCHI e MARTINS-SANTOS (1996) encontraram para duas populações, um sistema de NORs múltiplas, ambas variando de 1 a 4 pares e em estudos realizados por ALVES e MARTINS-SANTOS (1996) o sistema de NOR encontrado foi simples, presente em um dos pares de acrocêntricos.

Em outras espécies o comportamento das NORs também mostra-se variante, como em *Astyanax eigenmanniorum*; PFISTER E MOREIRA-FILHO (1997) após análise com impregnação pelo nitrato de Prata evidenciaram uma variação de 3-9 cromossomos marcados. Já para *Astyanax fasciatus*, SWERTS *et al.* (1998), encontraram um par de cromossomos subtelocêntricos apresentando cístrons ribossômicos em posição terminal no braço curto.

É possível verificar que, também, dentro do gênero *Astyanax* não há um comportamento padrão sobre o número de regiões organizadoras de nucléolos.

2. OBJETIVOS

Os objetivos deste estudo foram:

- 1-Characterizar os cariótipos (número fundamental e número diplóide) das populações de *A. scabripinnis* do córrego Jataí e de *A. bimaculatus* do córrego Cruz da Retirada Bonita;
- 2-Definir a localização das regiões organizadoras de nucléolos;
- 3-Comparar os dados obtidos com os de outras populações já descritas na literatura.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ESPÉCIES ESTUDADAS E LOCAIS DE COLETAS

No presente trabalho foram analisadas duas espécies do gênero *Astyanax*, ou seja, *Astyanax scabripinnis* (FIGURA 2) e *Astyanax bimaculatus* (FIGURA 4).

As coletas dos peixes foram realizadas no período de setembro de 1998 a maio de 1999, sendo que exemplares da espécie *A. scabripinnis* foram coletados na nascente do córrego Jataí, localizada no Parque do Sabiá (FIGURA 1), 18°54'38"S: 48°13'27"W em Uberlândia - MG e os exemplares da espécie *A. bimaculatus* foram coletados no córrego Cruz da Retirada Bonita (FIGURA 3), localizada na Fazenda Lago Verde a 19°25'51"S: 49°37'37"W em Campina Verde - MG.

3.2 INDUÇÃO PARA AUMENTO DO NÚMERO DE MITOSES

A fim de se obter uma melhor análise cromossômica, foi proposto por CAVALLINI e BERTOLLO (1988) e CUCCHI E BARUFFALDI (1990) *apud* MAISTRO (1996) duas técnicas que auxiliam na obtenção mais consistente de células metafásicas, tanto em qualidade como em quantidade. Como o órgão utilizado para obtenção de cromossomos mitóticos é o rim (cefálico e posterior) e esse tem função hematopoiética, isto é, produz células sangüíneas (tanto as de defesa como as transporte de O_2/CO_2) uma das técnicas, a de suspensão de levedura induz o aumento na frequência de mitoses nas células de defesa e a outra, que utiliza solução de Cloreto de Cobalto ($CoCl_2$), aumenta a frequência de mitoses nas células de transporte de O_2/CO_2 . Sendo assim injetou-se solução de $CoCl_2$ em 11 exemplares de *A. scabripinnis* e em oito de *A. bimaculatus*. Quatro exemplares de *A. scabripinnis* e dois de *A. bimaculatus* foram estimulados com suspensão de levedura. Todos os 25 exemplares foram recolocados no aquário e permaneceram no local num período que variou de 20 minutos a 48 horas.

Suspensão de levedura (CAVALLINI E BERTOLLO, 1988).

- 1 - Injetar intraperitonealmente suspensão de levedura (0,5g de fermento de biológico-*Saccharomyces cerevisiae* + 1,5 g de dextrose + 6 ml de H₂O) na proporção de 1 ml de suspensão por 100g de peso animal, 24 horas antes do sacrifício da animal para a preparação de cromossomos mitóticos.

Solução de CoCl₂ (CUCCHI E BARUFFALDI, 1990).

- 1 - Injetar, intraperitonealmente, solução aquosa de CoCl₂ (4 mg/ml na proporção de 0,5 ml de solução por 100g de peso animal), 24 horas antes do sacrifício do animal para a preparação de cromossomos mitóticos.



FIGURA 1- Vista parcial do local de coleta de *A. scabripinnis* no córrego Jataí (Município de Uberlândia-MG).

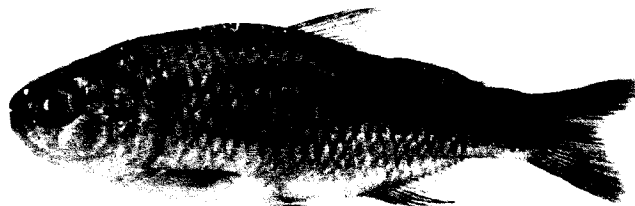


FIGURA 2- Exemplar de *Astyanax scabripinnis*. Medindo 8,5 cm.

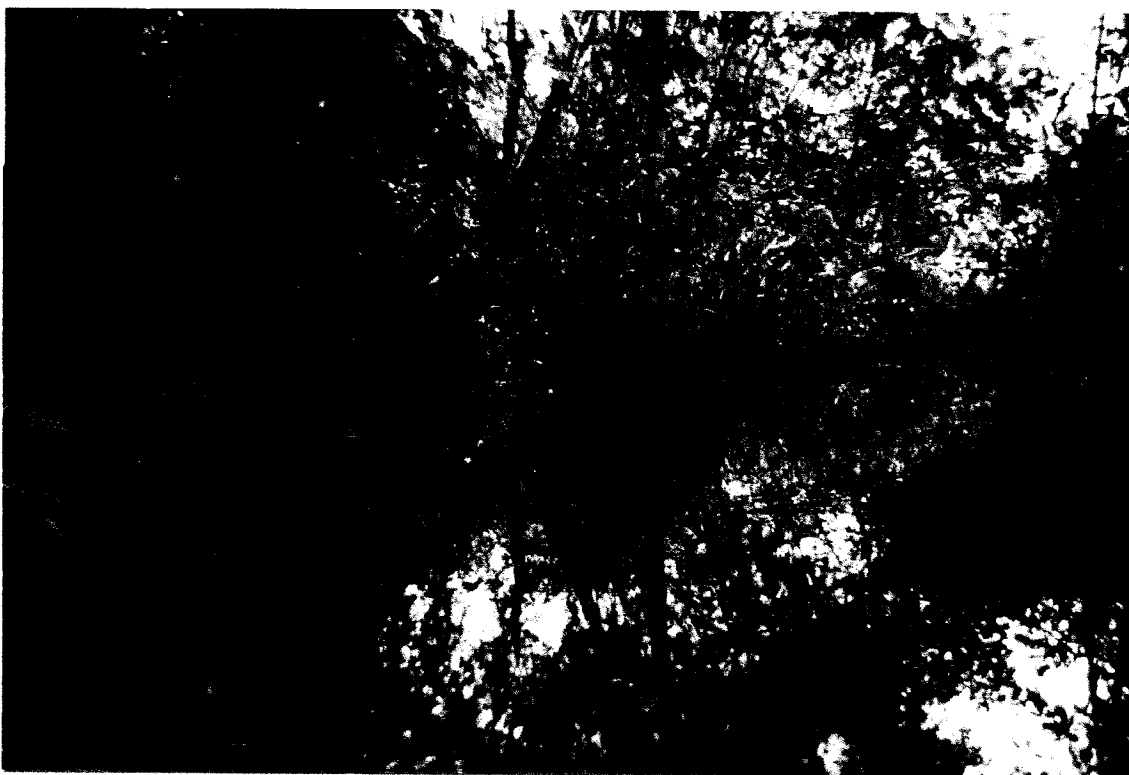


FIGURA 3- Vista parcial do local de coleta de *A. bimaculatus* no córrego Cruz da Retirada Bonita (Município de Campina Verde-MG).

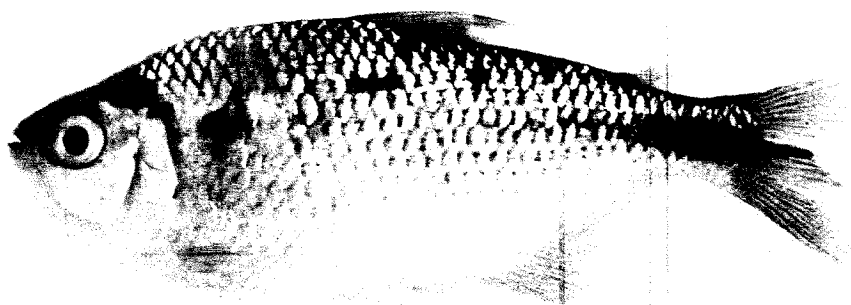


FIGURA 4- Exemplar de *Astyanax bimaculatus*. Medindo 9,5 cm.

3.3 PREPARAÇÃO DE CROMOSSOMOS MITÓTICOS

O órgão utilizado para a obtenção de metáfases mitóticas foi o rim, cefálico e posterior.

Para obtenção de cromossomos mitóticos "in vitro" foi utilizada a técnica descrita por FORESTI *et al.* (1993) como se segue:

1. Colocar rim cefálico (ou porções em regeneração de brânquias ou nadadeiras) em 6 ml de solução salina de Hanks em uma placa de Petri
2. Dissociar bem o material
3. Retirar o sobrenadante com um pipeta Pasteur, colocando o material em tubo de centrífuga
4. Pingar 25 µl de colchicina 0,016%
5. Pipetar mais ou menos 50 vezes até suspender novamente o material
6. Levar o material à estufa (36°C) por 15 minutos
7. Centrifugar por 10 minutos a 500 rpm
8. Desprezar o sobrenadante e completar para 6 ml de cloreto de potássio
9. Suspender novamente pipetando por mais 100 vezes
10. Levar novamente à estufa (36°C) por mais 30 minutos
11. Pingar 150 µl de metanol-acético proporção 3:1
12. Pipetar devagar por mais 100 vezes
13. Deixar o material descansar por 5 minutos
14. Dobrar o volume com fixador e pipetar por mais 100 vezes
15. Centrifugar por 10 minutos
16. Desprezar o sobrenadante e completar para 6 ml com o fixador, pipetando por 100 vezes
17. Centrifugar por 10 minutos, repetindo essa lavagem por duas vezes
18. Diluir o material de forma a se obter uma suspensão não muito turva

3.4 PREPARO DE LÂMINAS

Foram pingadas mais ou menos 5 gotas de suspensão celular, utilizando pipeta Pasteur, em lâminas previamente limpas e com uma fina camada de água

com temperatura ao redor de 65°C, deixando-as secar ao ar.

Logo após, corar com Giemsa 5%, diluído em tampão fosfato pH=6,8, por 5 minutos, enxaguar com água e secar ao ar.

Para determinação das NORs foi utilizada a técnica de impregnação pela Prata descrita por HOWELL e BLACK (1980) como se segue:

1. Colocar 25 µl de solução de gelatina a 2% diluída em solução de ácido fórmico a 1% e 50 µl de solução aquosa de nitrato de Prata a 50%, sobre lâmina preparada para cromossomos mitóticos;
2. Misturar as duas soluções e cobrir com lamínula;
3. Transferir para estufa a 70° C. Decorridos 5 a 6 minutos, a lâmina adquire uma coloração amarelada, passando para marrom dourada;
4. Remover a lamínula com água e lavar bem a lâmina em água deionizada;
5. Secar e examinar ao microscópio.

3.5 ESTUDOS CARIOTÍPICOS

As lâminas preparadas foram analisadas em microscópio óptico de luz. As contagens cromossômicas e as observações das NORs foram feitas com objetiva de imersão. As contagens cromossômicas, permitiram definir os números 2n e os números fundamentais (NF) das duas populações analisadas

Na determinação do número fundamental (NF) os cromossomos metacêntricos, submetacêntricos e subtelocêntricos foram considerados com dois braços e os acrocêntricos com apenas um braço.

Após as análises das lâminas, as melhores metáfases foram fotografadas em fotomicroscópio.

4. RESULTADOS

4.1 *ASTYANAX SCABRIPINNIS*

Foram preparados 74 exemplares de *A. scabripinnis* (53 fêmeas e 21 machos) provenientes da nascente do córrego Jataí, dentre os quais 13 apresentaram metáfases em condições possíveis de análise.

Na TABELA 1 e 2 é possível observar a quantidade de cada número cromossômico observado nos exemplares. O número diplóide modal dos mesmos caracterizou-se por 50 cromossomos tanto para os machos como para as fêmeas (FIGURAS 5 e 6) e o número fundamental (NF) foi igual a 78 (FIGURA 7a). As NORs evidenciadas pela impregnação de nitrato de Prata se mostraram presentes na extremidade do braço curto do primeiro par de cromossomos subtelocêntricos (FIGURA 7c e d).

O cariótipo foi montado, separando em ordem decrescente, os 14 primeiros pares de cromossomos com dois braços, denominado de grupo A, dos 11 pares de cromossomos com um braço, denominado de grupo B (FIGURA 7a).

TABELA 1-Números cromossômicos encontrados em exemplares machos de *A. scabripinnis*.

Nº DO PEIXE	NÚMERO DE CROMOSSOMOS						TOTAL
	46	47	48	49	50	51	
159	--	1	1	--	--	--	2
160	--	1	8	13	28	1	51
163	--	--	--	--	1	--	1
203	--	--	--	--	2	--	2
TOTAL	--	2	9	13	31	1	56

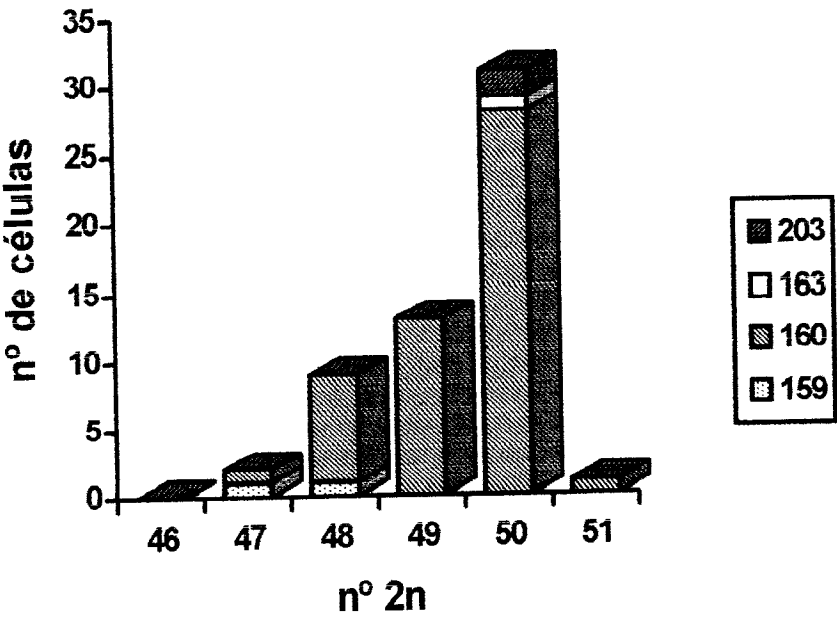


FIGURA 5 - Gráfico do número 2n para exemplares machos de *Astyanax scabripinnis*. O quadro refere-se aos números de identificação dos exemplares analisados.

FIGURA 6 - Gráfico do número 2n para exemplares fêmeas de *Astyanax scabripinnis*. O quadro refere-se aos números de identificação dos exemplares analisados.

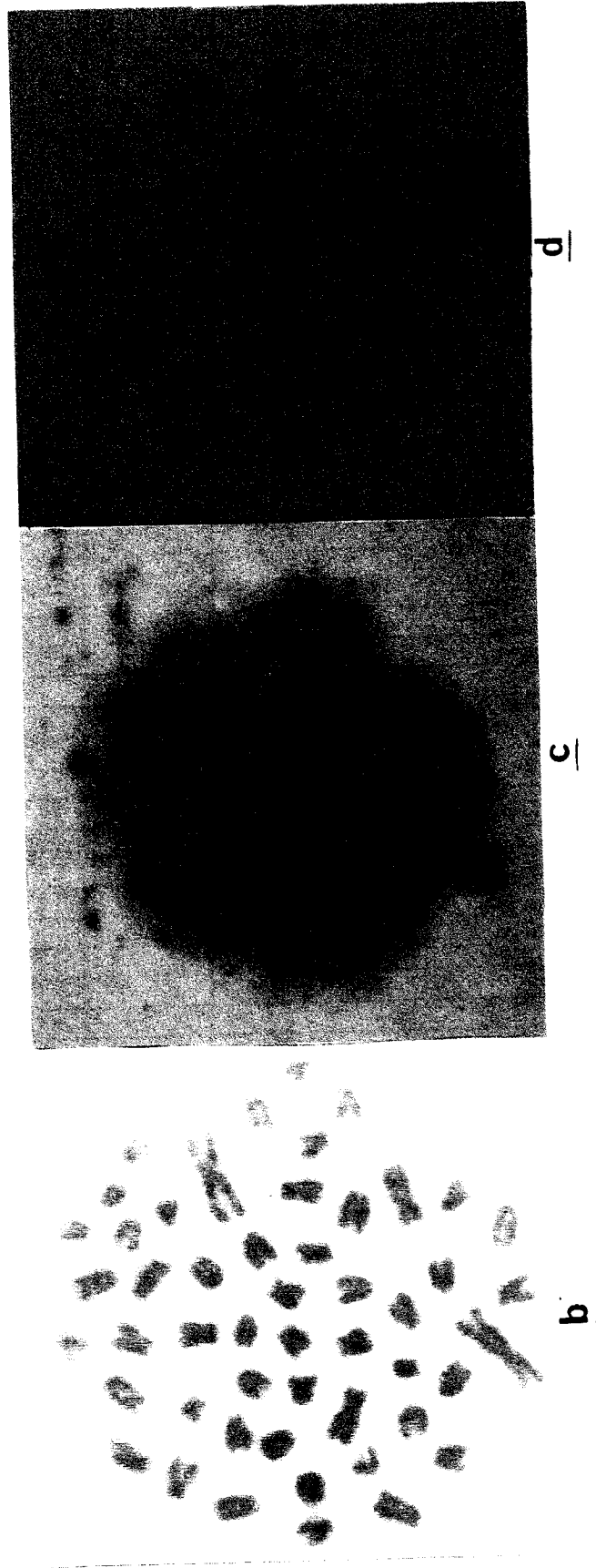
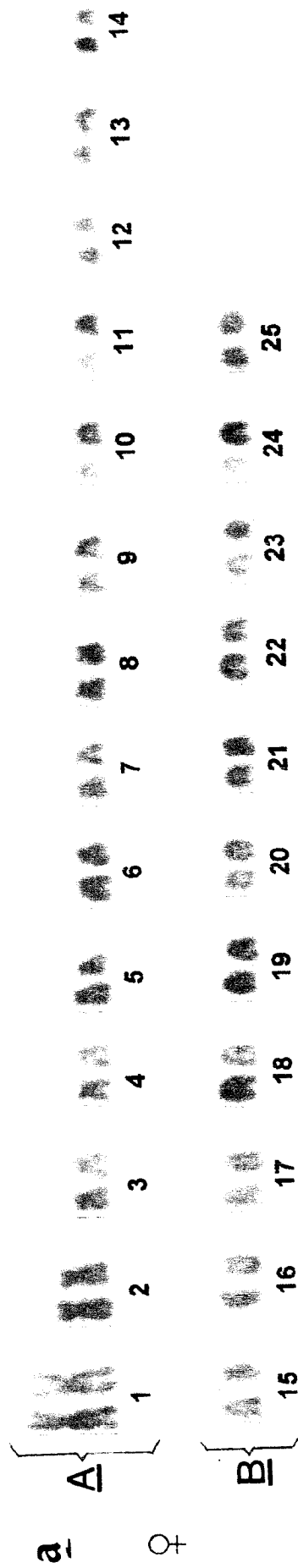


Figura 7-a) Cariótipo de *A. scabripinnis* corado com Giemsa representado em dois grupos: A (cromossomos com dois braços) e B (cromossomos com um braço); b) Metáfase corada com Giemsa; c) A mesma metáfase corada com nitrato de Prata evidenciando as NORs; d) Metáfase de outro exemplar corada com nitrato de Prata.

4.2 *ASTYANAX BIMACULATUS*

Os exemplares de *Astyanax bimaculatus* foram provenientes do córrego Cruz da Retirada Bonita, Campina Verde (MG). Todos os 13 animais obtidos eram fêmeas e cinco destas apresentaram metáfases em condições de análise. Pode ser observado na TABELA 3 a quantidade de cada número cromossômico encontrado para esses exemplares após análise das lâminas. O número diplóide modal obtido foi equivalente a $2n=50$ (FIGURA 8) e $NF=90$ (FIGURA 9a).

Assim como o cariótipo da espécie *A. scabripinnis*, este foi montado, separando em ordem decrescente, os 20 primeiros pares de cromossomos com dois braços, denominado de grupo A, dos cinco pares de cromossomos com um braço, este denominado de grupo B (FIGURA 9a). A mesma metáfase da FIGURA 9b quando submetida à coloração com nitrato de Prata, foi observada apenas na lâmina e as AgNORs visualizadas, mostraram-se simples e bem evidentes em posição telomérica no braço curto do primeiro par de cromossomos subtelocêntricos. A FIGURA 9c destaca as AgNORs de outro exemplar da mesma população, confirmando assim, o tipo cromossômico e a posição das NORs.

TABELA 2- Números cromossômicos encontrados em exemplares fêmeas de *A. bimaculatus*

Nº DO PEIXE	NÚMERO DE CROMOSSOMOS						TOTAL
	46	47	48	49	50	51	
211	--	--	--	1	5	1	7
212	--	--	--	--	1	--	1
213	--	--	--	--	1	--	1
216	--	--	--	--	1	--	1
219	--	--	--	1	--	--	1
TOTAL	--	--	--	2	8	1	11

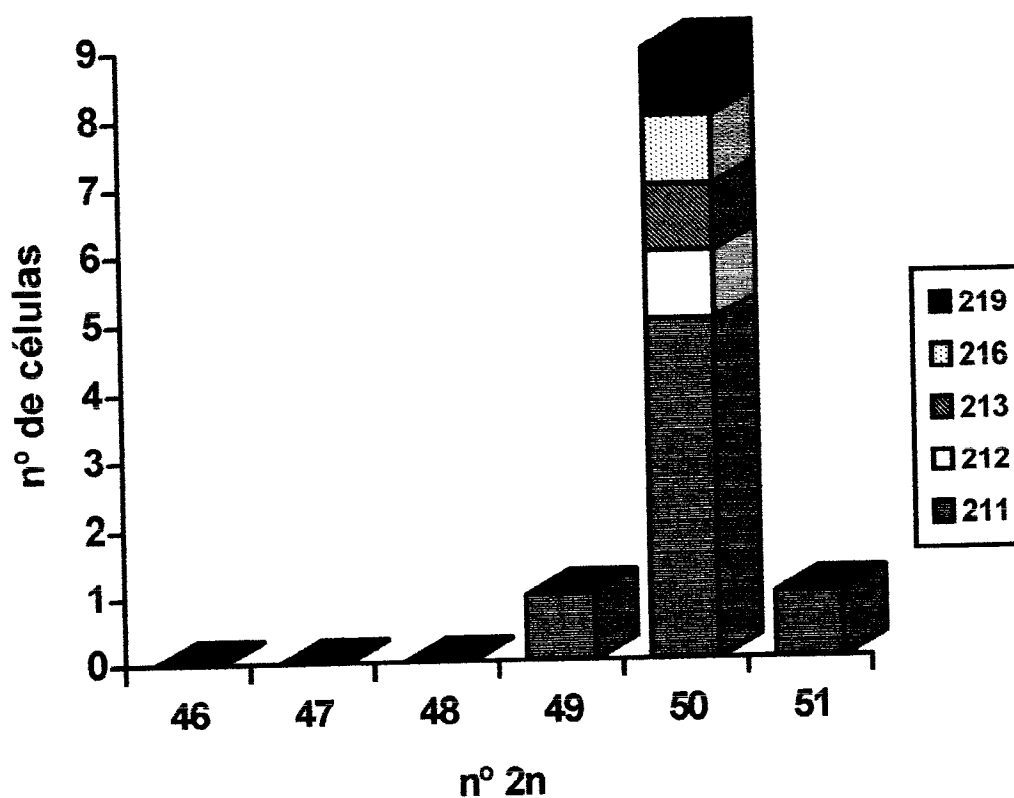


FIGURA 8 - Gráfico do número 2n para exemplares fêmeas de *Astyanax bimaculatus*. O quadro refere-se ao número de identificação do exemplar analisado.

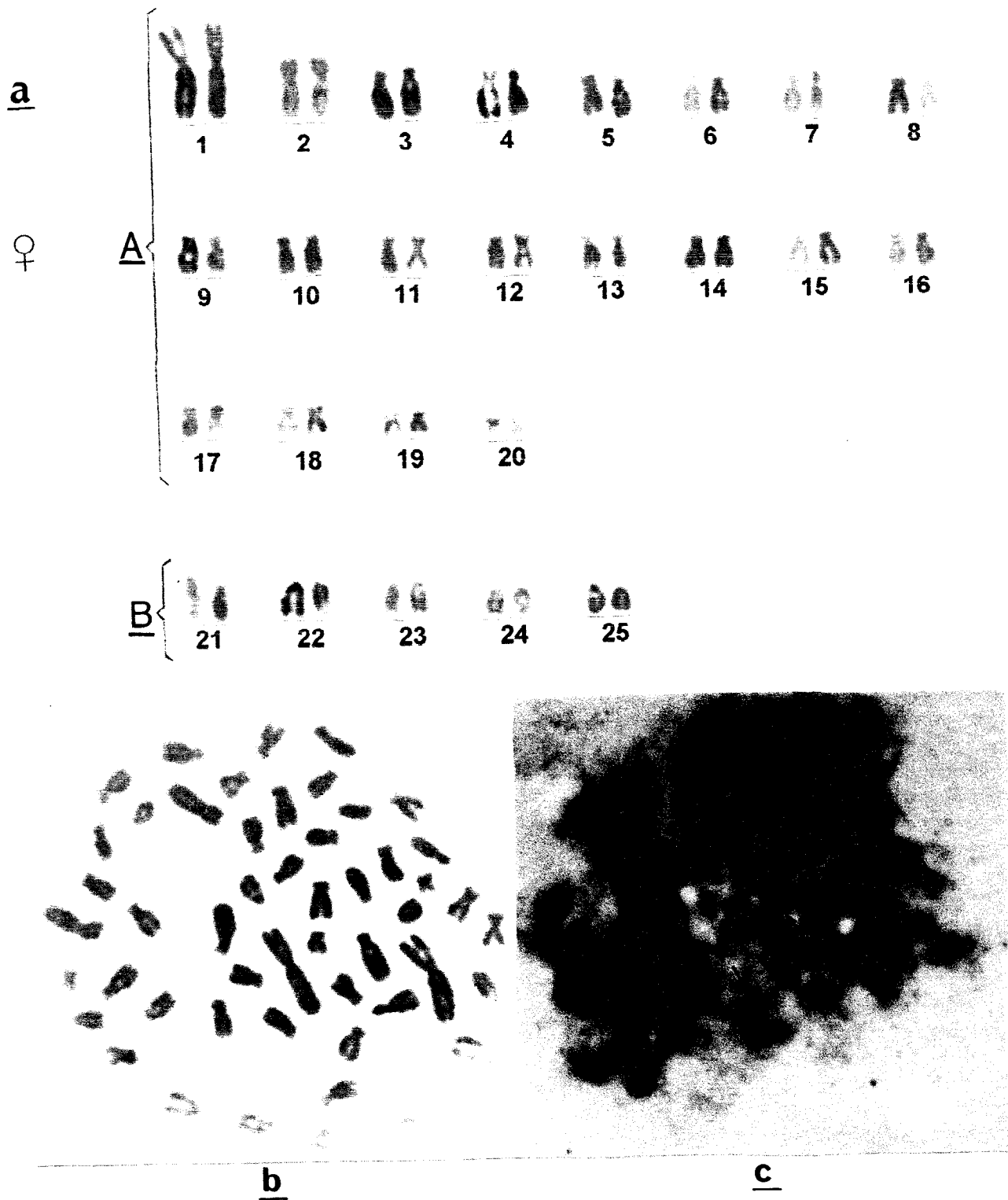


FIGURA 9-a) Cariótipo de *A. bimaculatus* corado com Giemsa, representado em dois grupos: A (cromossomos com dois braços) e B (cromossomos com um braço); b) Metáfase corada com Giemsa; c) Metáfase de outro exemplar da mesma espécie corada com nitrato de Prata evidenciando as NORs.

5. DISCUSSÃO

5.1 A MACRO ESTRUTURA CARIOTÍPICA

Uma grande variabilidade cariotípica é relatada para *A. scabripinnis* em diferentes populações. VIEIRA *et al.*, (1998) descrevem o cariótipo de animais de três populações diferentes. A população do Ribeirão da Quinta apresenta um número diplóide que indica $2n=50$, a do rio Capivara, com dois citótipos diferentes tendo $2n=48$ e de $2n=50$ e a terceira, a do córrego Água de Madalena, com três citótipos diferentes sendo $2n=46$, 48 e 50 e ainda alguns exemplares com cromossomos supranumerários. ABEL e MOREIRA-FILHO (1998) descrevem outras duas populações, sendo cada uma proveniente de riachos diferentes na bacia do rio São Francisco, $2n=46$ e 50. Comparando-se os padrões cariotípicos descritos com os da população do córrego Jataí observa-se que apesar da grande variabilidade cariotípica, esta apresenta-se dentro do padrão mais geral descrito para a espécie com $2n=50$ e sem a presença de cromossomos supranumerários.

Além das variações do número $2n$ o número fundamental também tem se mostrado bastante variante. De acordo com SOUZA E MOREIRA-FILHO (1995), duas populações de altitudes diferentes (1800 m e 780m) da bacia Paraíba do Sul, SP apresentaram o mesmo número $2n$ (50) e diferentes números fundamentais (NF), sendo que a população localizada a 1800m de altitude, o NF foi igual a 86 ($3M+12SM+3ST+7A$) em exemplares machos e para a população de 780m, $NF=70$ ($2M+5SM+3ST+15A$) em ambos os sexos. Contribuindo com esses estudos FAUAZ *et al.*, (1994), encontraram em uma população proveniente do rio da Pedras, na região de Campos do Jordão, SP, $2n=50$ em ambos os sexos e $NF=88$ ($3M+11SM+5ST+6A$). MORELLI *et al.* 1983, também encontraram o mesmo número $2n$ para uma população do Ribeirão dos Bicudos, no município de Brotas, SP e NF que poderia corresponder a 92 ou 90 ($4M+10SM+7ST+4A$ ou $4M+10SM+6ST+5A$) devido a dificuldade na caracterização de alguns pares. Verifica-se nestes dados uma

variação do NF de 70 a 92. Desta forma, NF=78 com 11 pares de cromossomos acrocêntricos, observado para a população estudada encontra-se próximo a um padrão já descrito como o da população do rio Paraíba do Sul, coletada a 780 metros de altitude com NF=70 e 15 cromossomos acrocêntricos.

Para a espécie *A. bimaculatus* ($2n=50$) foi encontrado um número diplóide igual ao da primeira população (*A. scabripinnis*), já o número fundamental foi igual a 90, evidenciando um maior número de braços cromossômicos.

O número cromossômico $2n$ básico dessa espécie se manteve constante em trabalhos de diversos autores (MORELLI, 1981; MORELLI *et al.*, 1983; TAKAHASHI *et al.*, 1994; CENCI *et al.*, 1998; DANIEL-SILVA e ALMEIDA-TOLEDO, 1998, SÁNCHEZ *et al.*, 1998 e VALE *et al.*, 1998), mas o citótipo se apresentou bastante variante. Nas populações analisadas por esses autores estiveram presentes os quatro tipos de cromossomos (metacêntricos, submetacêntricos, subtelocêntricos e acrocêntricos) sendo que os números fundamentais mostraram variações de 88, descrito para a população do rio Mogi Guaçu (MORELLI *et al.*, 1983 e DANIEL-SILVA e ALMEIDA-TOLEDO, 1998) a 94 descrito para a população do rio Paraná (SÁNCHEZ *et al.*, 1998).

Não foi possível uma identificação mais precisa dos tipos cromossômicos nas duas espécies analisadas, devido a dificuldades técnicas encontradas no presente trabalho. Os cromossomos se apresentavam de forma muito condensada, dificultando assim a definição correta quanto à sua morfologia.

Uma das possíveis causas dessa elevada condensação pode estar relacionada a colchicina utilizada, que em muitos casos aumenta a condensação natural dos cromossomos mitóticos. O tempo de hipotonização também é um fator que pode dificultar uma análise mais precisa dos cromossomos, uma vez que estes também se deformam em soluções hipotônicas.

Apesar das dificuldades encontradas em relação à identificação

cariotípica, pôde-se observar que as duas espécies apresentam um cariótipo relativamente assimétrico com os 4 tipos de cromossomos, sendo o primeiro par metacêntrico grande destacando-se nitidamente do restante. Todos os cariótipos descritos para estas duas espécies descrevem uma figura cariotípica semelhante à observada nas populações aqui estudadas. O primeiro par de tamanho nitidamente maior confirma o descrito por SCHEEL (1972, *apud* MARGARIDO, 1995) que relata para a família Characidae, em geral, a presença de dois grandes cromossomos metacêntricos, correspondentes ao primeiro par do complemento.

A espécie *Astyanax scabripinnis* se constitui numa espécie de cabeceira, assim, as populações vivem isoladas umas das outras. Portanto as alterações estruturais ocorridas nas espécies são fixadas e ficam impossibilitadas de serem passadas a outras populações devido a barreiras geográficas que existem entre as cabeceiras. As variações no número diplóide dessa espécie possivelmente devem ocorrer devido a fusão ou fissão cêntrica dos cromossomos.

Nas duas espécies, como já relatado, ocorrem mudanças nos cromossomos quanto ao tipo morfológico, causando variações no citótipo. As possíveis causas dessas variações podem ocorrer devido a prováveis inversões ou translocações cromossômicas.

Estudos cromossômicos com outras metodologias tais como caracterização de heterocromatinas por banda C, enzimas de restrição e/ou com fluorocromos base-específicos podem fornecer melhores dados a fim de definir melhor a macroestrutura cariotípica para estas populações.

Como citado anteriormente MAISTRO *et al.*, (1994) e NÉO e MOREIRA-FILHO (1995) relatam que algumas populações de *A. scabripinnis* apresentam muitos exemplares com cromossomos Bs, mas esse não foi o caso da população de *A. scabripinnis* estudada. Os cromossomos supranumerários relatados para peixes tem se mostrado mais frequentes em exemplares fêmeas (CARDOSO *et al.*, 1998 e MIZOGUCHI e MARTINS-SANTOS, 1998; MAISTRO, 1996 e PORTO-FORESTI *et al.* 1997). Na população do córrego Jataí nada foi observado que pudesse sugerir um

sistema de cromossomos supranumerários, apesar de que em algumas metáfases, pode-se observar número $2n=51$ (Figura 5, 6 e 8), o número destes casos é pouco significativo, sendo mais provável que tenha ocorrido devido a presença de cromossomos de metáfases próximas à submetida a contagem.

Deste modo os dados obtidos para *A. scabripinnis* relação ao cromossomo B, discordam de alguns casos já descritos e os obtidos para *A. bimaculatus* confirmam os dados da literatura.

5.2 AS REGIÕES ORGANIZADORAS DE NUCLEÓLOS DAS ESPÉCIES ESTUDADAS

Variações no padrão das AgNOR são bastante freqüentes em peixes. O sistema de AgNOR no gênero *Astyanax* tem, geralmente, sido caracterizado como múltiplo por autores como PASTORI *et al.* (1998); BARROS *et al.* (1998), ROBAINA *et al.* (1998), PFISTER e MOREIRA-FILHO (1997) entre outros. O número de cromossomos marcados variou de dois, como o encontrado neste trabalho, a nove descrito por PFISTER e MOREIRA-FILHO (1997) e NÉO e MOREIRA-FILHO (1998). Nas populações do córrego Jataí (Uberlândia-MG) e Cruz da Retirada Bonita (Campina Verde-MG) o sistema de NOR apresentado mostrou-se não variante, em todas as metáfases observadas mostrou-se presente em apenas um par. Nas duas espécies a NOR localizou-se na porção terminal do braço curto de apenas um par de cromossomos.

Populações de *A. scabripinnis* e *A. bimaculatus* analisados por vários autores, quanto aos tipos morfológicos de cromossomos portadores de NORs e o número de cromossomos portadores das mesmas, estas se apresentaram polimórficas. Em alguns estudos em *A. scabripinnis*, os cromossomos AgNORs⁺ foram submetacêntricos (SOUZA e MOREIRA-FILHO, 1995), subtelocêntricos (FERRO e BERTOLLO, 1998 e MAISTRO *et al.*, 1994) e acrocêntricos (SOUZA e MOREIRA-FILHO, 1995; MIZOGUCHI e MARTINS-SANTOS, 1996 e ALVES e MARTINS-SANTOS, 1996) e com a NOR

localizada quase sempre em posição terminal, não sendo relatado nenhum caso de NOR em cromossomos metacêntricos e apenas um, por MAISTRO *et al.* (1994), onde a posição da NOR foi intersticial.

MORELLI (1981) observou três tipos diferentes de cromossomos portadores AgNOR (submetacêntrico, subtelocêntricos e metacêntrico) em exemplares de *A. bimaculatus* do rio Mogi Guaçu (SP). Autores já citados obtiveram resultados semelhantes a esse em populações de outras bacias hidrográficas, confirmando a variabilidade das NORs. Este polimorfismo quanto ao número de NORs e os tipos de morfológicos dos cromossomos portadores das mesmas, provavelmente podem ser devidos à *crossing-over* desigual, atividade gênica ou associação de cromossomos não homólogos.

Apesar das duas populações analisadas nesse trabalho não apresentarem nenhuma variabilidade em relação as AgNORs, testes com fluorocromos GC específicos, ou mesmo metodologias de hibridação "in situ", podem ser sugeridos para melhor detectá-las e estudá-las tanto a sua diversidade intra e interespecífica quanto à sua localização nos cariótipos das populações analisadas, podendo oferecer informações úteis em relação às mudanças cromossômicas que ocorrem em populações dessas duas espécies.

6. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos com as análises citogenéticas envolvendo coloração convencional com Giemsa e impregnação pela Prata, pode-se concluir que:

- *Astyanax scabripinnis* da população do córrego Jataí possui número $2n=50$ e $NF=78$.

- *Astyanax bimaculatus* da população do córrego Cruz da Retirada Bonita possui $2n=50$ e $NF=90$;

- Os estudos das NORs por impregnação pela Prata nas duas espécies revelou sua localização em posição telomérica no braço curto do primeiro par de subtelocêntricos, evidenciando um sistema simples;

- Nenhum cromossomo B foi evidenciando para *Astyanax scabripinnis* da população do córrego Jataí, discordando de alguns casos já descritos. A ausência desses cromossomos nos exemplares de *Astyanax bimaculatus* confirmam os dados da literatura.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABEL, L.D.S. e MOREIRA-FILHO, O. (1998). Citogenética de *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae) da bacia do rio São Francisco. **Resumos VII Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais**. Londrina, PR. A.22.
- ALVES, A.L. e MARTINS-SANTOS, I.C. (1996). Evidência de microcromossomo restrito a fêmeas em *Astyanax scabripinnis* (Pisces; Characiformes): citótipo $2n=48$. **Resumos VI Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais**. São Carlos, SP, A.2, p.4.
- BARROS, N.M.T; GANASSO, E.; CENCI, M.A.; PAZZA, R. e MARGARIDO, V.P. (1998). Descrição do cariótipo de *Astyanax* sp (Characidae, Tetragonopterinae) coletado no rio Vorá - Bacia do Iguaçu. **Resumos VII Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais**. Londrina, PR, A.14.
- BICUDO, H.E.M.C. (1985). Variabilidade das regiões organizadoras de nucléolos em eucariotos. **Ciênc. Cult.** **37** (3): 440-447.
- BRITSKI, H.A. (1972). Peixes de água doce do estado de São Paulo. Sistemática. In: **Poluição e Piscicultura**. Faculdade de Saúde Pública da USP – Instituto de Pesca da C.P.R.N. da Secretaria da Agricultura, SP, 79-108.
- CARDOSO, T.A., VIEIRA, M.R., PORTO-FORESTI, F., OLIVEIRA, C. e FORESTI, F. (1998). Padrões de Bandas C em cromossomos supernumerários de diferentes populações de *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae). **Resumos VII Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais**. Londrina, PR, A.17.

- CENCI, M.A.; GANASSO, E.; BARROS, N.M.T.; PAZZA, R. e MARGARIDO, V.P. (1998). Análise cromossômica de *Astyanax bimaculatus* (Characidae, Tetragonopterinae) coletado na Bacia do Iguaçu. **Resumos VII Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais**. Londrina, PR, A.9.
- DANIEL-SILVA, M.F.Z. e ALMEIDA-TOLEDO, L.F. (1998). Homeologias cromossômicas entre *Astyanax bimaculatus* (2n=50) e *A. schubarti* (2n=36) identificadas através do padrão de bandas R. **Resumos VII Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais**. Londrina, PR, A.12.
- FAUAZ, G.; VICENTE, V.E. and MOREIRA-FILHO, O. (1994). Natural triploidy and B chromosomes in the neotropical fish genus *Astyanax* (Characidae). **Brazil. J. Genet.** 17 (2):157-163.
- FERRO, D.A.M e BERTOLLO, L.A.C. (1998) Detecção de cistrons ribossômicos por hibridação "in situ" em *Astyanax scabripinnis*. (Characidae). **Resumos VII Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais**. Londrina, PR, A.21.
- FORESTI, F. (1998). Hipótese alternativa sobre a origem dos cromossomos supernumerários em peixes. **Resumos VII Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais**. Londrina, PR, A.1.
- FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. and ALMEIDA-TOLEDO, L.F. (1993). A method for chromosome preparations from large fish specimens using in vitro short-term treatment with colchicine. **Experientia.** 49:810-813.
- GODOY, M.P. (1975). **Peixes do Brasil, Sub-ordem Charadoidei. Bacia do Rio Mogi-Guaçu.** 1 Ed. Franciscana, Piracicaba: 216p.

- HOWELL, W.M. (1977). Visualization of ribosomal activity: Silver stains proteins associated with rRNA transcribed from oocyte chromosomes. **Chromosomes Today**. **62**:361-367.
- HOWELL, W.M. and BLACK, DA. (1980). Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. **Experientia**. **36**:1014-1015.
- MAISTRO, E.L., FORESTI, F and OLIVEIRA C. (1994). New occurrence of a macro B-chromosome in *Astyanax scabripinnis* paranae (Pisces, Characiformes, Characidae). **Rev. Bras. Genet.** **17**(2):153-156.
- MAISTRO, E.L. (1996). **Caracterização morfológica e estrutural de cromossomos supranumerários em peixes**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista. Botucatu: SP. 152p.
- MARGARIDO, V.P. (1995) **Uma Contribuição à Citogenética dos Bryconinae (Characiformes, Characidae)**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos, SP: 115p.
- MIZOGUCHI, S.M.H.N. e MARTINS-SANTOS, I.C. (1996). Estudos citogenéticos em duas populações de *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae). **Resumos VI Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais**. São Carlos, SP, A.1, p.3.
- MIZOGUCHI, S.M.H.N., and MARTINS-SANTOS, C. (1998). Cytogenetic and morphometric differences in populations of *Astyanax "scabripinnis"* (Pisces, Characidae) from Maringá region, PR. **Genet. Mol. Biol.** **21**(1): 55-61.
- MOREIRA-FILHO, O. and BERTOLLO, L.A.C. (1991). *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae): A species complex. **Rev. Bras. Genet.** **14**(2): 331-357.

- MORELLI, S. (1981). **Aspectos citogenéticos do gênero *Astyanax* (Pisces-Characidae)**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos. SP: 219p.
- MORELLI, S.; BERTOLLO, L.A.C.; FORESTI, F.; MOREIRA-FILHO, O. and TOLEDO-FILHO, S. A. (1983). Cytogenetic considerations on the genus *Astyanax* (Pisces, Characidae) I. Karyotypic variability. **Caryologia**. **36**:235-244.
- NÉO, D.M. e MOREIRA-FILHO, O. (1995). Diferenças morfológicas dos cromossomos B em *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae). **Braz. J. Genet.** **18**:(3) 452. (Suplemento).
- NÉO, D.M. e MOREIRA-FILHO, O. (1998). Variabilidade das regiões organizadoras de nucléolos em uma população de *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae) da região de Campos de Jordão - SP. **Resumos VII Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais**. Londrina, PR, A.20.
- OKUMURA, M.M.M. e ALMEIDA-TOLEDO, L.F. (1998). Ausência de dominância nucleolar total em híbridos interespecífico na subfamília Serrasalminae (Pisces, Characidae). **Resumos VII Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais**. Londrina, PR, A.4.
- OLIVEIRA, C. e FORESTI, F. (1994). Revisão dos estudos citogenéticos em peixes neotropicais de águas continentais. **Resumos V Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais**. Botucatu, SP, A.1, p.6.
- OLIVEIRA, C.; ALMEIDA-TOLEDO, L.F.; FORESTI, F.; BRITSKI, H.A. and TOLEDO-FILHO, S.A. (1988). Chromosome formulae of neotropical freshwater fishes. **Rev. Bras. Genet.** **11**(3):577-624.

- PASTORI, M.; FENOCCHIO, A.; RONCATI, H. e MOREIRA-FILHO, O. (1998). Estudos citogenéticos em *Astyanax schubarti* (Characiformes). **Resumos VII Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais**. Londrina, PR, A.11.
- PFISTER, S.C. e MOREIRA-FILHO, O. (1997). Caracterização citogenética de uma população de *Astyanax eigenmanniorum*. **Braz. J. Genet.** 20(3):101. (Suplemento).
- PORTELA-CASTRO, A.L.B. e JÚLIO-Jr, H.F. (1998). Diversidade cromossômica em uma população de *Bryconamericus* sp da bacia do Rio Ivaí (PR). **Resumos VII Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais**. Londrina, PR, A.5.
- PORTO-FORESTI, F. ; OLIVEIRA, C. ; MAISTRO, E.L. and FORESTI, F. (1997). Estimated frequency of B-chromosomes and population density of *Astyanax scabripinnis paranae* in small stream. **Braz. J. Genet.** 20 (3):377-380.
- ROBAINA, T.F.; LEMOS, P.M.; e CESTARI, M.M. (1998). Estudos citogenéticos em *Astyanax* sp B (Characidae) do riacho Cachoeira-Petrocix, São Matheus do Sul (PR). **Resumos VII Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais**. Londrina, PR, A.16.
- SÁNCHEZ, S; JORGE, L.C e FENOCCHIO, A.S. (1998). Polimorfismos cromossômicos em *Astyanax bimaculatus* (Pisces, Tetragonopterinae). **Resumos VII Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais**. Londrina, PR, A.10.
- SOUZA, I.L. and MOREIRA FILHO, O. (1995). Cytogenetic diversity in the *Astyanax scabripinnis* species complex (Pisces, Characidae) I. Allopatric distribution in small stream. **Cytologia.** 60:1-11.

- SWERTS, G.P.; CASTRO, G.C.; MAISTRO, E.L.; FORESTI, F. e OLIVEIRA, C. (1998). Análises citogenéticas preliminares na espécie *Astyanax fasciatus* (Pisces, Characidae) proveniente do Rio Sapucaí, Represa de Furnas, MG. **Resumos VII Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais**. Londrina, PR, A.7.
- TAKAHASHI, E.K.; GIULIANO-CAETANO, L. e DIAS, A.L. (1994). Variabilidade cariotípica em *Astyanax bimaculatus* (Pisces, Tetragonopterinae) coletado no Ribeirão Três Bocas - Londrina, PR. **Resumos V Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais**. Botucatu, SP, C.1, p.53.
- TOLEDO FILHO, S.A.; FORESTI, F. e RIBEIRO, A.F. (1978). Ictiogenética: aspectos básicos e aplicados. **Ciê. Cult.** 30:320-327.
- VALE, J.D; PORTELA-CASTRO, A.L.B. e MARTINS-SANTOS, L.C. (1998). Estudo citogenético de duas populações de *Astyanax bimaculatus* (Pisces, Characidae). **Resumos VII Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais**. Londrina, PR, A.8.
- VÊNERE, P.C; MARGARIDO, V.P. e GALETTI-JÚNIOR, P.M. (1996). Análises comparativas entre *Salminus hilarii* (Characidae, Salmininae) de duas bacias hidrográficas distintas: Alto Paraná e Araguaia. **Resumos VI Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais**. São Carlos, SP, A.21, p.23.
- VÊNERE, P.C. (1998). **Diversificação cariotípica em peixes do médio rio Araguaia, com ênfase em Characiformes e Siluriformes (Teleostei, Ostariophysi)**. Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos. SP: 130p.

- VIEIRA, M.R.; OLIVEIRA, C. e FORESTI, F. (1997). Localização das RONS, através da cromomicina A₃ e pela impregnação por Prata, em cromossomos de *Astyanax bimaculatus* (Characiformes, Characidae). **Braz. J. Genet.** **20**(3):104. (Suplemento)
- VIEIRA, M.R.; OLIVEIRA, C. e FORESTI, F. (1998). Padrões de bandamento G em cromossomos de *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae) da região de Botucatu, SP. **Resumos VII Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais**. Londrina, PR, A.18.