

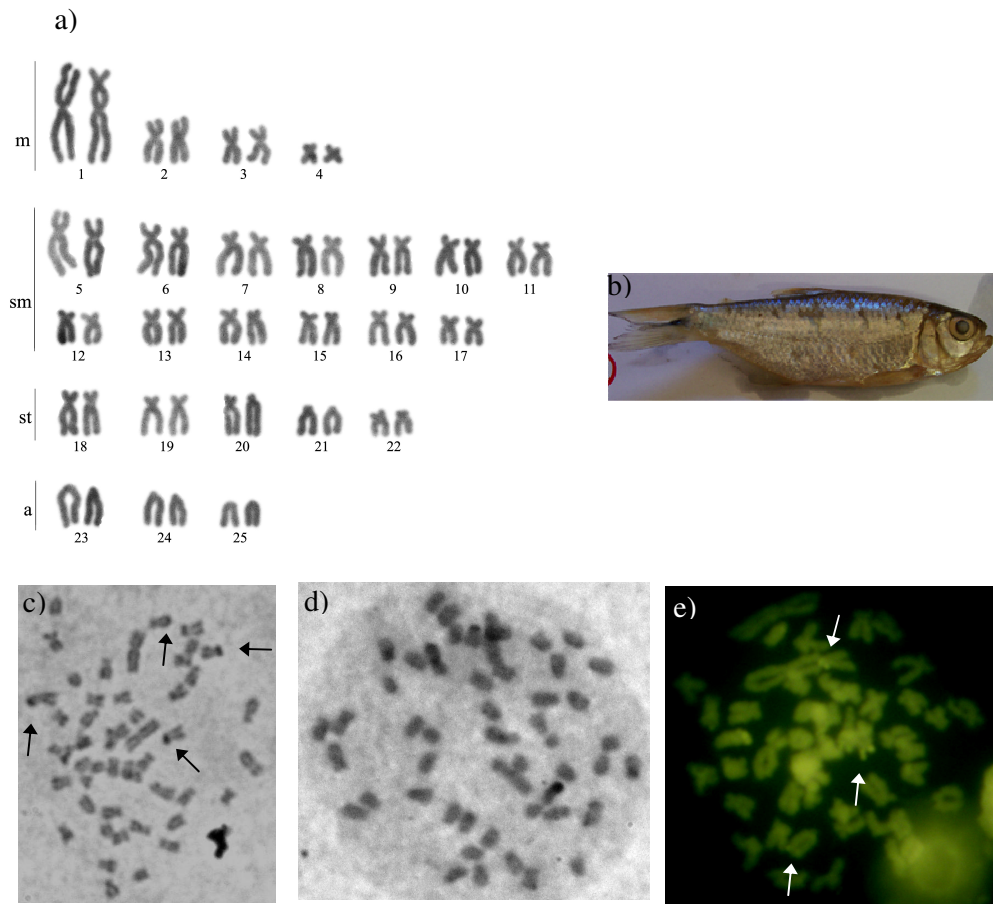


Figura 5 – *Astyanax bimaculatus* do Córrego Taboquinha. Cariótipo (a), exemplar (b), metáfases indicando os sítios de Ag-RONs (c), o bandamento C (d) e Cromomicina A₃ (e).

Em *Bryconops* sp (Figura 6b), as análises citogenéticas mostraram $2n = 48$ cromossomos, sendo o cariótipo composto por 2 pares m, 5sm, 3st, 14a e NF = 68 (Figura 6a). A impregnação pelo nitrato de prata mostrou duas marcações terminais nos braços curtos de dois cromossomos do tipo subtelocêntricos, correspondentes ao par 8 (Figura 6c), evidenciando-se assim Ag-RONs simples. O padrão de banda C evidenciou marcações nas regiões centroméricas e teloméricas, marcando principalmente o centrômero dos cromossomos acrocêntricos (Figura 6d). Após tratamento com o fluorocromo GC específico Cromomicina A₃ (CMA₃), observou-se regiões brilhantes coincidentes às RONS e outras não correspondentes a esses sítios (Figura 6e).

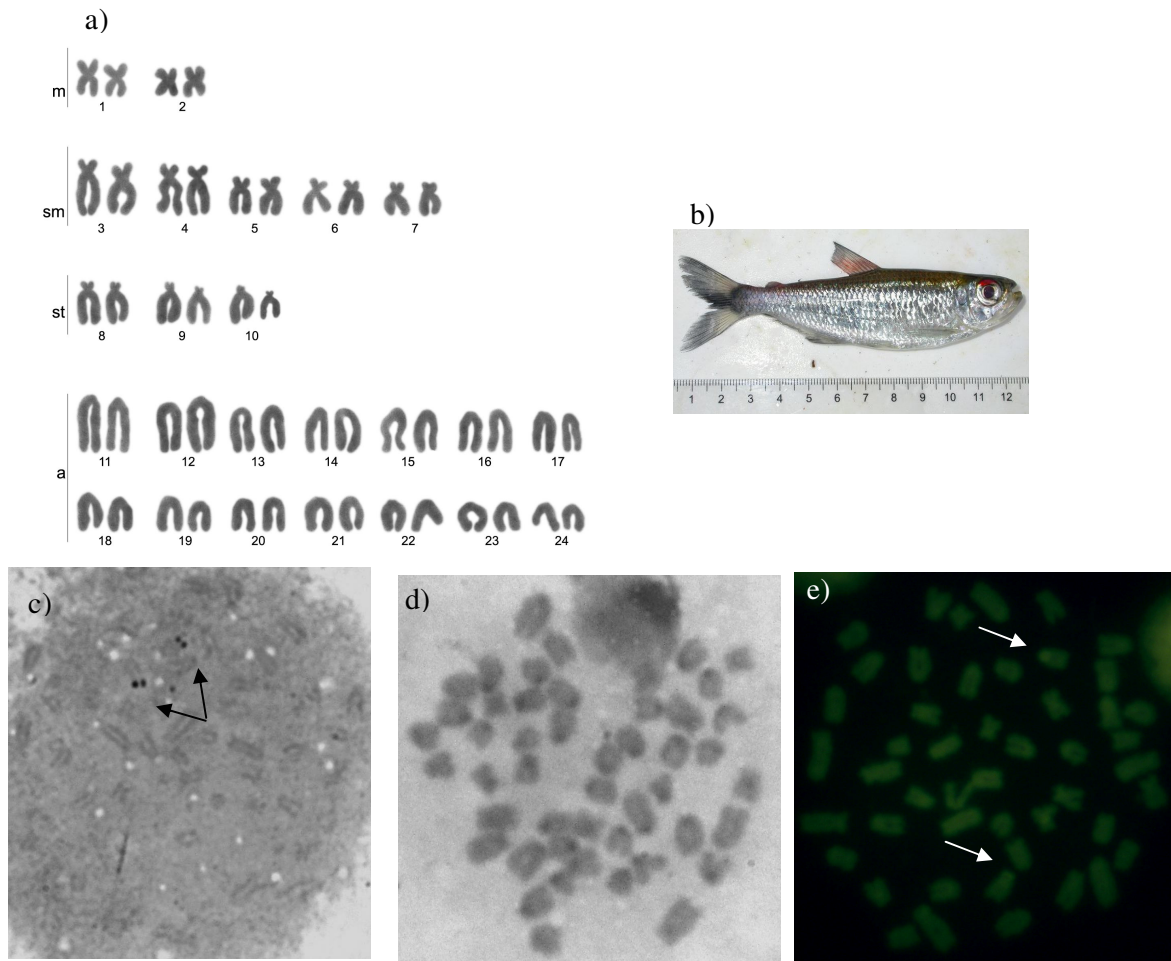


Figura 6 – *Bryconops* sp do Córrego Taboquinha. Cariótipo (a), exemplar (b). metáfases indicando os sítios de Ag-RONs (c), o bandamento C (d) e os sítios de Cromomicina A₃ (e).

2.4 Discussão

As informações citogenéticas disponíveis para o gênero *Astyanax* mostram a existência de “complexos de espécies”, relativos à pelo menos três grupos: *A. scabripinnis* (MOREIRA-FILHO; BERTOLLO, 1991); *A. fasciatus* (JUSTI, 1993, PAZZA *et al.*, 2006, 2008; KANTEK *et al.*, 2008) e *A. altiparanae* (FERNANDES; MARTINS-SANTOS, 2006). Nestes complexos são verificados: alto grau de variabilidade; presença de cromossomos supranumerários ou Bs (os quais podem também variar em tamanho e composição); polimorfismos de blocos heterocromáticos e das regiões organizadoras de nucléolos (Ag-RONs).

A. fasciatus apresenta uma ampla variação cariotípica dentro dos *Astyanax*. É caracterizada por uma variação entre populações, com citótipos

que possuem de $2n = 45$ a $2n = 48$ cromossomos, bem como distintas fórmulas cariotípicas os quais se adequam a este conceito de “complexo de espécie” (JUSTI, 1993; CENTOFANTE *et al.*, 2003; ARTONI *et al.*, 2006; PAZZA *et al.*, 2008). Os exemplares aqui estudados apresentaram 46 cromossomos sem diferenciação aparente entre machos e fêmeas, uma vez que apenas uma fórmula cariotípica foi observada. Além disso, o primeiro par metacêntrico, característico dos Characidae também se mostrou presente (SCHEEL, 1973; MORELLI *et al.*, 1983; PORTELA *et al.*, 1988; DANIEL-SILVA; ALMEIDA-TOLEDO, 2001; 2005). Por outro lado, houve variação no padrão de distribuição das Ag-RONs, onde até 10 cromossomos mostraram-se marcados, sendo que apenas alguns coincidiram com as regiões CMA_3^+ . Assim sendo, faz-se necessário a utilização de outras técnicas de marcações utilizando sondas 5S e 18S para confirmar os sítios das regiões organizadoras de nucléolo nesta população.

Em acréscimo, como na maioria das espécies de *Astyanax*, *Astyanax* sp. apresentou 50 cromossomos com similaridades com o cariótipo de outras populações de *Astyanax* e, especialmente não evidenciou a presença de nenhum par de cromossomos acrocêntricos, o que não é comum no gênero *Astyanax*. O padrão de distribuição da heterocromatina constitutiva apontou fracas marcações centroméricas e pericentroméricas, além de um bloco heterocromático de tamanho maior que os demais localizado na região telomérica de um par submetacêntrico equivalente ao par 16, que correspondeu à região responsável pela organização nucleolar.

Segundo Pazza e Kavalco (2007), a maioria das espécies de *Astyanax* com número cromossômico conservado apresenta $2n = 50$ cromossomos. Essa informação aparentemente se refere a espécies de distribuição restrita, endêmicas a certas bacias hidrográficas e com poucas amostragens ao longo dos sistemas hidrográficos em que habitam.

A presença não obrigatória de elementos supranumerários tem sido muito discutida nos dias atuais, principalmente em relação a sua relevância evolutiva bem como influências nos organismos que os possuem. Embora sejam cromossomos encontrados em uma ampla diversidade de organismos, o gênero *Astyanax* tem mostrado variações em relação ao tamanho, número e

freqüência desses elementos (MIZOGUCHI; MARTINS-SANTOS, 1997; 1998a; 1998b).

A presença de microcromossomos supranumerários variando de 0 a 6 intraespecificamente e em um mesmo exemplar, pode indicar uma possível estruturação genética desta população. Estudos adicionais sobre a composição do DNA destes cromossomos são necessários para um melhor entendimento sobre suas origens e função.

Em *A. altiparanae* os estudos cariotípicos iniciaram juntamente com as primeiras pesquisas realizadas por grupos brasileiros envolvendo cromossomos de peixes. As primeiras citações, entretanto, usam a denominação *A. bimaculatus* para as populações do Alto rio Paraná (JIN; TOLEDO, 1975; MORELLI *et al.*, 1983), uma vez que a denominação *A. altiparanae* fora criada apenas anos mais tarde (GARUTTI; BRITSKI, 2000).

Atualmente, estudos citogenéticos em várias populações no grupo *A. altiparanae-bimaculatus* e espécies próximas têm mostrado uma homogeneidade cromossômica quanto ao número diplóide e fórmula cariotípica, quando comparado a outras espécies de *Astyanax* (MORELLI *et al.*, 1983; FERNANDES; MARTINS-SANTOS, 2004; FERNANDES; MARTINS-SANTOS, 2006; DOMINGUES *et al.*, 2007; PAMPONET *et al.*, 2008).

Os presentes dados revelam que esta população do Estado do Tocantins tem um cariótipo diferenciado em relação a outras regiões brasileiras. No entanto apresenta alta similaridade cariotípica com as populações do Estado da Bahia estudada por Pamponet e colaboradores em 2008, corroborando os dados de número, localização das NORs e morfologia cromossômica (PAMPONET *et al.*, 2008).

Os dados do presente trabalho corroboram dados prévios da biologia dos “lambaris de rabo amarelo” com relação ao número $2n$ igual a 50 cromossomos, confirmando a predominância de ocorrência desse número cromossômico para esta espécie.

Em *Bryconops* sp. o número cromossômico encontrado ($2n = 48$) e a fórmula cariotípica semelhante, ou seja 2 pares m, 5sm, 3st e 14a são bastante similares ao encontrado por Souza (2003) para *Bryconops* aff *giacopinini* do rio Araguaia ($2m+2sm+4st+16a$). O autor também descreve a presença de vários

blocos heterocromáticos localizados nas regiões pericentroméricas dos cromossomos acrocêntricos.

Estudos adicionais comparando estas populações com as de outras bacias são necessários, bem como o emprego de técnicas moleculares mais precisas que contribuam para uma melhor caracterização destas espécies e para o melhor entendimento da origem e função destes cromossomos adicionais.

2.5 Referências Bibliográficas

Artoni RF, Shibatta OA, Gross MC, Schneider CH, Almeida MC, Vicari MR and Bertollo LAC (2006) *Astyanax aff. fasciatus* Cuvier, 1819 (Teleostei, Characidae): evidences of a species complex in the upper rio Tibagi basin (Paraná, Brazil). *Neotrop Ichthyol* 4:197-202.

Bertaco VA and Lucena CAS (2006) Two new species of *Astyanax* (Ostariophysi: Characiformes: Characidae) from eastern Brazil, with a synopsis of the *Astyanax scabripinnis* species complex. *Neotrop Ichthyol* 4:53-60.

Bertaco VA and Lucinda PHF (2005) *Astyanax elachylepis*, a new characidae fish from the rio Tocantins drainage, Brazil (Teleostei, Characidae). *Neotrop Ichthyol* 3:389-394.

Bertollo LAC, Takahashi CS and Moreira-filho O (1978) Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). *Brazilian Journal of Genetics* 1:103-120.

Britski HA, Sato Y and Rosa ABS (1988) Manual de identificação de peixes da região de Três Marias. (com chaves de identificação para os peixes da Bacia do São Francisco) 3ª ed Minas Gerais: Ministério da Irrigação, CODEVASF, 115p.

Centofante L, Bertollo LAC, Justi AJ and Moreira-Filho O (2003) Correlation of chromosomal and morphologic characters in two *Astyanax* species (Teleostei: Characidae). *Ichthyol Explor Freshwaters* 14:361-368.

Daniel-Silva MFZ and almeida-Toledo LF (2001) Chromosome R-banding pattern and conservation of a marker chromosome in four species, genus *Astyanax* (Characidae, Tetragonopterinae). *Caryologia* 54:209-215.

Daniel-Silva MFZ and almeida-Toledo LF (2005) Chromosome evolution in fish: BrdU replication patterns demonstrate chromosome homeologies in two species of the genus *Astyanax*. *Cytogenet Genome Res* 109:497-501.

Domingues MS, Vicari MV, Abilhoa V, Wanser JP, Cestari MM, Bertollo LAC, Almeida MC and Artoni RF (2007) Cytogenetic and comparative morphology of two allopatric populations of *Astyanax altiparanae* Garutti and Britski, 2000 (Teleostei, Characidae) from upper rio Paraná basin. *Neotrop Ichthyol* 5:37-44.

Fernandes CA and Martins-Santos IC (2004) Cytogenetics study in two populations of *Astyanax altiparanae* (Pisces, Characiformes). *Hereditas* 141:328-332.

Fernandes CA and Martins-Santos IC (2006) Mapping of the 18S and 5S ribosomal RNA genes in *Astyanax altiparanae* Garutti and Britski, 2000 (Teleostei, Characidae) from the upper Paraná river basin, Brazil. *Genet Mol Biol* 29:464-468.

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.

Garutti V (1995) Revisão taxonômica dos *Astyanax* (Pisces, Characidae), com mancha umeral ovalada e mancha do pedúnculo caudal estendendo-se à extremidade dos raios caudais medianos, das bacias do Paraná, São Francisco e Amazônia. Tese (Livre docência em Zoologia – Vertebrados). Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, SP.

Garutti V and Britski HA (2000) Descrição de espécie nova de *Astyanax* (Teleostei: Characidae) da bacia do alto rio Paraná e considerações sobre as demais espécies do gênero na bacia. *Comn. Mus. Ciênc. Tecnol.* 13:65-88.

Garutti V and Venere PC (2009) *Astyanax xavante*, a new species of characid from middle rio Araguaia in the Cerrado region, Central Brazil (Characiformes: Characidae). Neotrop Ichthyol 7:377-383.

Haluch CF and Abilhoa V (2005) *Astyanax totae*, a new characidae species (Teleostei, Characidae) from the upper rio Iguaçu basin, southeastern Brazil. Neotrop Ichthyol 3:383-388.

Howell WM and Black DA (1980) Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a one-step method. Experientia 36:1014-1015.

Jin SN and Toledo V (1975) Citogenética de *Astyanax fasciatus* e *Astyanax bimaculatus* (Characida, Tetragonopterinae). Ciênc Cult 27:1122-1124.

Justi AJ (1993) Caracterização cariotípica de populações de *Astyanax fasciatus* (Cuvier, 1819), Pisces-Characidae, em três bacias hidrográficas. MSc Thesis, Departamento de Genética e Evolução, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, Brazil.

Kantek DLZ, Noletto RB, Maurutto FAM, Bertollo LAC, Moreira-Filho, O and Cestari MM (2008) Cytotaxonomy of *Astyanax* (Characiformes, Characidae) from the Upper Iguaçu River Basin: confirmation of the occurrence of distinct evolutionary units. Journal of Fish Biology 73:2012-2020.

Kavalco KF, Brandão KO, Pazza R and Almeida-Toledo LF (2009) *Astyanax hastatus* Myers, 1928 (Teleostei, Characidae): A new species complex within the genus *Astyanax*? Genet Mol Biol 32:477-483.

Leuzzi MSP, Almeida FS, Orsi ML, and Sodr   LMK (2004) Analysis by RAPD of the genetic structure of *Astyanax altiparanae* (Pisces, Characiformes) in reservoirs on the Paranapanema River, Brazil. Genet Mol Biol 27:355-362.

Levan A, Fredga K and Sandberg AA (1964) Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52:201-220.

Lima FCT, Malabarba LR, Buckup PA, da Silva JFP, Vari RP, Harold A, Benine R, Oyakawa OT, Pavanelli CS, Menezes NA, Lucena CAS, Malabarba MCSL, Lucena ZMS, Reis RE, Langeani F, Cassati L, Bertaco VA, Moreira C and Lucinda PHF (2003) Genera *Incertae sedis* in Characidae. In: Check list of the freshwater fishes of South and Central America. Reis RE, Kullander SO and Ferraris JR CJ, (eds) pp 729 EDIPUCRS:Porto Alegre – RS, Brazil.

Melo FAG and Buckup PA (2006) *Astyanax henseli*, a new name for *Tetragonopterus aeneus*, 1870 from southern Brazil (Teleostei, Characiformes). Neotrop Ichthyol 4:45-52.

Mizoguchi SMHN and Martins-Santos IC (1997) Macro-and microchromosomes B in females of *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae). Hereditas 127:249-253.

Mizoguchi SMHN and Martins-Santos IC (1998a) Activation patterns of the nucleolar region in *Astyanax scabripinnis* populations (Pisces, Characidae). Cytologia 63:259-265.

Mizoguchi SMHN and Martins-Santos IC (1998b) Cytogenetics and morphometric differences in populations of *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae) from Maringá region, PR, Brazil. Genet Mol Biol 21: 55-61

Moreira-Filho O and Bertollo LAC (1991) *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae): a species complex. Braz J Genet 14:331-357.

Moreira-Filho O, Bertollo LAC and Galetti Jr PM (2004) B chromosome in the fish *Astyanax scabripinnis* (Characidae, Tetragonopterinae): An overview in natural populations. Cytogenet Genome Res 106:230-234.

Morelli S, Bertollo LAC, Foresti F, Moreira-Filho O and Toledo-Filho AS (1983) Cytogenetic considerations on the genus *Astyanax* (Pisces, Characidae). I Karyotypic variability. Caryologia 36:235-244.

Nelson JS (2006) Fishes of the World. John Wiley and Sons, New Jersey.

Orsi ML, Carvalho ED and Foresti F (2004) Biologia populacional de *A. altiparanae* Garutti and Britski (Teleostei, Characidae) do médio Paranapanema, Paraná, Brazil. Rev Bras Zool 21:207-218.

Pamponet VCC, Carneiro PLS, Afonso PRAM, Miranda VS, Júnior JCS, Oliveira CG and Gaiotto FA (2008) A multi-approach analysis of the genetic diversity in populations of *Astyanax* aff. *bimaculatus* Linnaeus, 1758 (Teleostei:Characidae) from Northeastern Brazil. Neotrop Ichthyol 6:621-630.

Pazza R and Kavalco KF (2007) Chromosomal evolution in the neotropical characin *Astyanax* (Teleostei, Characidae). The Nucleus 50:519-543.

Pazza R, Kavalco KF and Bertollo LAC (2006) Chromosome polymorphism in *Astyanax fasciatus* (Teleostei, Characidae). 1 – Karyotypic analysis, Ag-NORs and mapping of the 18S and 5S ribosomal genes in sympatric karyotypes and their possible hybrid forms. Cytogenet Genome Res 112:313-319.

Pazza R, Kavalco KF and Bertollo LAC (2008) Chromosome polymorphism in *Astyanax fasciatus* (Teleostei, Characidae). 2-chromosomal location of a satellite DANN. Cytogenetics and Genome Research 122:61-66.

Portela ALBS, Galetti Jr PM and Bertollo LAC (1988) Considerations on the chromosome evolution of Tetragonopterinae (Pisces, Characidae). Rev Brazil Genet 11:307-316.

Prioli SMAP, Prioli AJ, Júlio Jr. HF, Pavanelli CS, De Oliveira AV, Carrer H, Carrado DM and Prioli LM (2002) Identification of *Astyanax altiparanae* (Teleostei, Characidae) in the Iguaçu River, Brazil, based on mitochondrial DNA and RAPD markers. Genet Mol Biol 25:421-430.

Scheel JJ (1973) Fish chromosomes and their evolution. Int Rep Denmarks Akvarium, Charlottenlund, Denmark.

Schmid M (1980) Chromosome banding in amphibia. IV. Differentiation of GC- and AT-rich chromosome regions in Anura. Chromosoma 77:83-103.

Souza VAG (2003) Diversidade cariotípica em Tetragonopterinae (Pisces, Characidae) da Região do médio Rio Araguaia. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá, MT.

Sumner AT (1972) A simple technique for demonstrating centromeric heterocromatin. Exp Cell Res 75:304-306.

Vari RP and Castro RMC (2007) New species of *Astyanax* (Ostariophysi: Characiformes: Characidae) from the upper Rio Paraná System, Brazil. Copeia 2007:150-162.

CAPÍTULO 3

3 Estudo citogenético em *Moenkhausia oligolepis* de Monte do Carmo-TO.

Santos, LP¹; Morelli, S¹

¹Instituto de Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia

Resumo:

Várias espécies do gênero *Moenkhausia* já foram estudadas citogeneticamente e a presença de cromossomos B é considerada uma interessante característica nas espécies deste grupo. Estes elementos supranumerários dispensáveis que não se recombinaem com os cromossomos do complemento padrão A e seguem seu próprio mecanismo evolucionário variam em número, morfologia e distribuição. Este trabalho apresenta dados citogenéticos de uma população de *M. oligolepis* pertencente à bacia do Rio Tocantins com $2n = 50$ cromossomos, distribuídos em 5 pares m, 16sm e 4 st e além do número diplóide modal, todos os indivíduos apresentaram microcromossomos supranumerários variando de 0 a 10 em ambos os sexos. O padrão de banda C evidenciou blocos heterocromáticos localizados principalmente na região pericentromérica e nos microcromossomos. A impregnação por nitrato de prata usada para evidenciar as regiões organizadoras de nucléolos (Ag-RONs), apontou uma variação no padrão de distribuição desses sítios, sendo que alguns se mostraram positivos e coincidentes quando corados pelo fluorocromo GC-específico cromomicina.

Palavras-chave: *Moenkhausia*, supranumerário, cromossomo, Tocantins.

Abstract:

Several species of the genus *Moenkhausia* were studied cytogenetically and B chromosomes are considered as an interesting feature in species of this group. These dispensable supernumerary elements that not recombine with the standard karyotype and follow their own evolutionary mechanism vary in number, morphology and distribution. In this study show cytogenetic data of a population of *Moenkhausia oligolepis* belonging to the Tocantins River basin, with $2n = 50$ chromosomes, divided into 5 pairs m, 16sm and 4st and beyond

the modal diploid number, all specimens, showed supernumerary microchromosomes ranging from 0 to 10 in both sexes. The standard C-band showed heterochromatic blocks located mainly in the pericentromeric and regions of microchromosomes. The impregnation by silver nitrate (Ag-NORs), used to reveal the nucleolar organizer regions showed a variation in the pattern of distribution of these sites, some of which proved positive and consistent when stained by the GC-specific chromomycin.

Key-words: *Moenkhausia*, supernumerary, chromosome, Tocantins.

3.1 Introdução

Na família Characidae, os cromossomos Bs, ocorrem com relativa frequência. Estes são elementos que apresentam características diferenciadas com relação ao número, tamanho, morfologia e distribuição relacionada ou não ao sexo (PORTELA-CASTRO *et al.*, 2001).

Segundo Futuyma (1997), animais aquáticos mostram uma maior diversidade regional em regiões montanhosas onde há sistemas de rios isolados e o isolamento geográfico de espécies de peixes nas cabeceiras dos rios pode levar estas comunidades a processos evolutivos importantes, culminando na especiação por alopatria. Além disso, sistemas de rios tropicais de grande porte admitem que algumas espécies de peixes se isolem geograficamente nas cabeceiras de seus tributários, através de barreiras intrapopulacionais físicas, químicas ou bióticas, permitindo que estas evoluam dentro do próprio sistema (LOWE-McCONNEL, 1969).

Portela *et al.* (1988) encontraram $2n = 50$ cromossomos dos tipos meta e submetacêntricos em *Moenkhausia intermedia* e *Moenkhausia costae*, e sugerem que apesar deste gênero ser bem mais relacionado à *Astyanax*, ele pode ter conservado um cariótipo ancestral entre os Tetragonopterinae.

Em *Moenkhausia sanctaefilomenae*, análise através da técnica de hibridização fluorescente *in situ* (FISH), confirmou a presença de regiões organizadoras de nucléolos (RONs) também localizados sobre os cromossomos B (SOBRINHO *et al.*, 2006), descrevendo o primeiro caso de cromossomos B com genes ativos em peixes Neotropicais.

Percebe-se então que a evolução cariotípica dos peixes ainda precisa ser mais amplamente analisada. São muitos os processos pelos quais os

cariótipos podem sofrer modificações, numéricas ou morfológicas, ao longo de sua evolução. Além do mais, cada grupo pode ter sua evolução cariotípica explicada por um processo diferente em que alguns se caracterizam por um sistema mais variável ao passo que outros são explicados por modelos mais conservadores em termos de números diplóides ou morfologia cromossômica (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Marcadores citogenéticos apresentam potencial informativo para vários níveis sistemáticos, desde a avaliação dos níveis de variação genética até o teste de hipóteses evolutivas em grandes grupos (NIRCHIO; OLIVEIRA, 2006). Aqui visamos abordar aspectos da macro e microevolução cariotípica em uma espécie do gênero *Moenkhausia* ainda não explorada sobre este aspecto.

3.2 Material e Métodos

Foram analisados 18 exemplares (6 machos, 6 fêmeas e 6 com sexo indeterminado) de *M. oligolepis*, coletados no Córrego Taboquinha (bacia do Rio Tocantins) (10°47'11.12"S 48°13'16.57"W) na região de Monte do Carmo-TO.

Os peixes foram identificados pelo Dr. Oscar Akio Shibatta da Universidade Estadual de Londrina, onde foram depositados.

As preparações cromossômicas foram obtidas a partir de células do rim anterior como descrito por Bertollo *et al.* (1978) e Foresti *et al.* (1993). A heterocromatina constitutiva foi evidenciada por meio da técnica de banda C descrita por Sumner (1972), enquanto as regiões organizadoras de nucléolos foram detectadas pelo emprego do nitrato de Prata coloidal (AgRONS) segundo Howell e Black (1980). As heterocromatinas ricas em bases GC foram coradas pela técnica de coloração com Cromomicina A₃ contracorada com Distamicina segundo o protocolo de Schmid (1980). A morfologia de cada cromossomo foi estabelecida conforme a nomenclatura proposta por Levan *et al.* (1964).

3.3 Resultados

Moenkhausia oligolepis (Figura 7b) apresentou $2n = 50$ cromossomos para machos e fêmeas como número diplóide modal e fórmula cariotípica composta por 5 pares de cromossomos m, 16sm e 4st com número de braços cromossômicos representados pelo número fundamental $NF = 100$ (Figura 7a). Além dos cromossomos do complemento padrão, foram encontrados cromossomos supranumerários em aproximadamente 80% das metáfases analisadas variando de 0 a 10 por célula (Figura 7f-g). As AgRONS foram caracterizadas por uma variação no número de cromossomos marcados caracterizando um padrão múltiplo (Figura 7c-d). A análise da distribuição da heterocromatina constitutiva pelo bandamento C no cariótipo mostrou blocos marcados principalmente na região centromérica dos cromossomos do complemento A, enquanto os microcromossomos se mostraram parcialmente heterocromáticos (Figura 7e).

O emprego do fluorocromo CMA_3 evidenciou marcas teloméricas em alguns cromossomos (Figura 7h), sendo que algumas foram correspondentes aos cístrons ribossômicos verificados pela Prata.

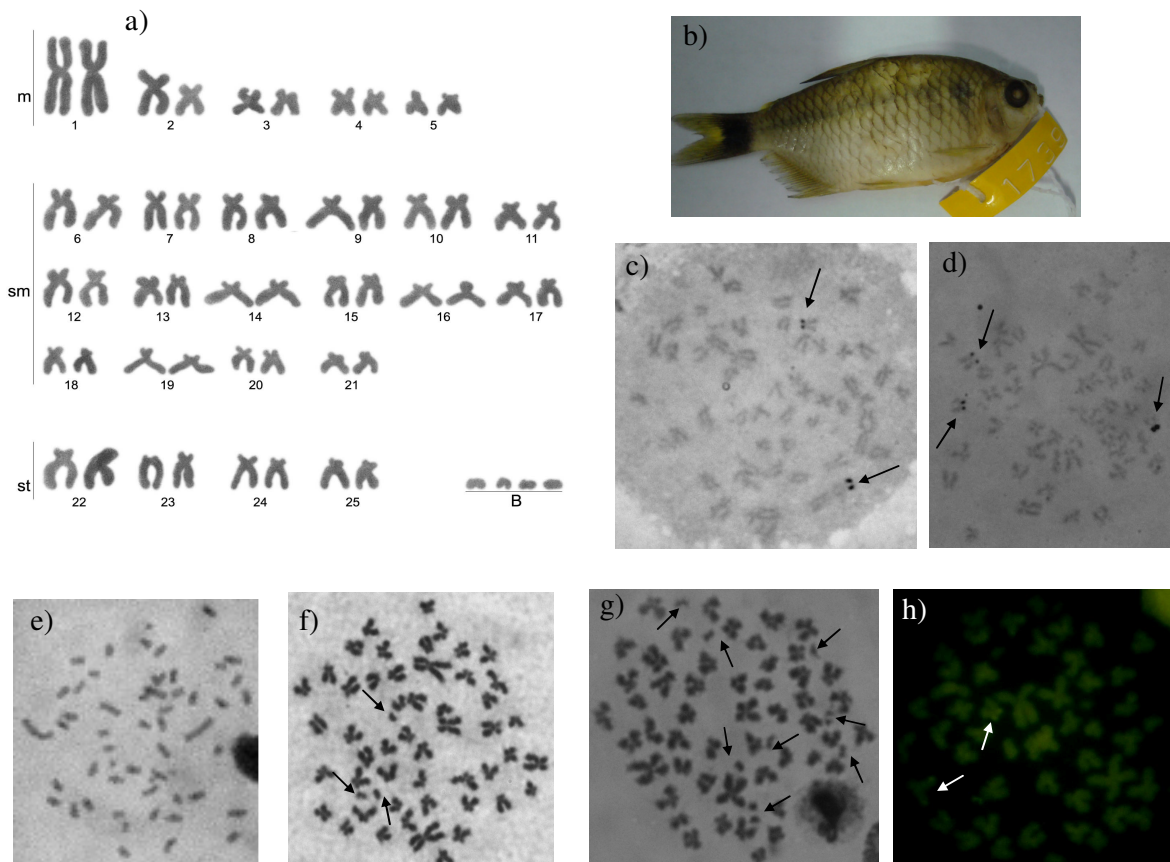


Figura 7 – *Moenkhausia oligolepis* do Córrego Taboquinha. Cariótipo (a), exemplar (b), metáfases indicando os sítios de Ag-NOR (c-d), o bandamento C (e), metáfases com 3 (f) e 10 (g) cromossomos B e os sítios de Cromomicina A₃ (h).

3.4 Discussão

Várias espécies de Characidae apresentam populações pequenas, sobretudo aquelas que representam táxons característicos de ambientes de cabeceiras de rios ou ambientes de pequenos riachos. Castro (1999) ressalta que muito da fauna das cabeceiras dos rios ainda está por ser descrita na região Neotropical, e provavelmente será constituída de peixes de pequeno porte.

Nesse contexto, a aplicação de técnicas de marcação cromossômica diferencial em algumas espécies de peixes tem ajudado na caracterização de vários grupos caracteristicamente habitantes de cabeceiras e pode ser de grande valor na definição de muitas unidades taxonômicas ainda não descritas.

Especificamente em relação ao gênero *Moenkhausia*, o estudo dos cromossomos B tem sido de grande valia no sentido de se buscar um melhor

entendimento dos mecanismos relacionados à sua origem (MAISTRO *et al.*, 2000).

As espécies *M. sanctaefilomenae* e *M. oligolepis* apresentam morfologia semelhantes, como o olho vermelho e corpo prateado com mancha preta na cauda. Segundo Lima *et al.* (2003), *M. oligolepis* ocorre nas Guianas e na bacia dos Rios da Amazônia, enquanto *M. sanctaefilomenae* está distribuída nas bacias dos Rios Parnaíba, São Francisco, Alto Paraná, Paraguai e Uruguai.

Análises detalhadas de *M. oligolepis* revelaram que novas espécies similares ocorrem em simpatria na bacia do Rio Paraguai, sugerindo que esta espécie corresponda a um complexo de espécies e não uma única espécie (BENINE *et al.*, 2009).

Foresti *et al.* (1989) encontraram uma variação de 1 a 8 microcromossomos em ambos os sexos de *M. sanctaefilomenae*, ao passo que nesta mesma espécie Portela-Castro *et al.* (2001) encontraram de 0 a 2 cromossomos B, presentes apenas nos machos.

O número cromossômico de $2n = 50$ também foi encontrado em *M. intermedia* e *M. costae* estudados por Portela *et al.* (1988). Esses autores encontraram cromossomos do tipo meta e submetacêntricos e a presença de um pequeno cromossomo supranumerário em *M. intermedia* e sugerem que espécies deste gênero retiveram um provável cariótipo ancestral dos Tetragnopterinae composto por 50 cromossomos M-SM. Os novos estudos realizados nas espécies deste gênero poderão contribuir na validação desta hipótese, pois no presente trabalho e em outros já realizados (PORTELA-CASTRO; JULIO Jr., 2002; DOMINGOS, 2008) foram encontrados também cromossomos do tipo ST, assim como um número cada vez maior de supranumerários, o que poderia indicar um evento de quebras e rearranjos no complemento padrão seguido do aumento de microcromossomos.

Em uma população de *M. sanctaefilomenae*, coletados no ribeirão Araquá, região de Botucatu, SP foi encontrado $2n = 50$ e uma variação inter e intra-individual de microcromossomos B com frequência de 0 a 6, foi encontrado também sítios de rDNA 18S e coloração diferencial após a utilização de DAPI/CMA₃ nos cromossomos B desta espécie (SOBRINHO-SCUDELER *et al.*, 2008). Estes dados demonstram a alta diversificação

cromossômica neste grupo, particularmente quanto ao comportamento dos cromossomos B.

Num estudo anterior nesta espécie de *M. oligolepis* aqui estudada, Domingos (2008) coletou indivíduos do Rio Araguaia e também detectou $2n = 50$ cromossomos e a presença de até 3 cromossomos Bs nos machos, as AgRONS se revelaram simples, ou seja, com apenas um par de cromossomos marcado. Apesar da diferença na quantidade de cromossomos supranumerários e no padrão de AgRONS, estes dados mostram-se semelhantes aos encontrados no presente trabalho, confirmando o número e a morfologia dos pares cromossômicos, as quais se diferiram apenas na quantidade de cromossomos subtelocêntricos.

Dessa forma, o presente trabalho, mostra pela primeira vez dados citogenéticos de *M. oligolepis* pertencente à bacia do Rio Tocantins e a presença de até 10 microcromossomos nunca antes observada. Estes achados podem estar relacionados às características intrínsecas de córregos de cabeceira desta bacia, a qual possui uma riqueza populacional necessária de estudos adicionais.

3.5 Referências Bibliográficas

Benine RC, Mariguela TC and Oliveira C (2009) New species of *Moenkhausia* Eigenmann, 1903 (Characiformes: Characidae) with comments of the *Moenkhausia oligolepis* species complex. Neotrop Ichthyol 7:161-168.

Bertollo LAC, Takahashi CS and Moreira-filho O (1978) Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). Brazilian Journal of Genetics 1:103-120.

Castro RMC (1999) Evolução da ictiofauna de riachos sul-americanos: padrões gerais e possíveis processos causais. In: Caramashi EP, Mazzoni R e Peres-Neto PR (eds) Ecologia de peixes de riachos. PPGE-UFRJ, Rio de Janeiro, 139-155.

Domingos TA (2008) Variação genética e morfológica de *Moenkhausia* aff *oligolepis* (Gunther, 1864) nas bacias hidrográficas do Araguaia-Tocantins e do

Pantanal Mato-Grossense. Monografia de Conclusão de Curso, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, MT.

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.

Foresti F, Almeida-Toledo LF and Toledo-Filho SA (1989) Supernumerary chromosome system, C-banding pattern characterization and multiple nucleolus organizer regions in *Moenkhausia sanctaefilomenae* (Pisces, Characidae). *Genetica* 79:107-180.

Futuyma D (1997) *Biologia evolutiva*. 2ª Ed. Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, SP.

Howell WM and Black DA (1980) Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a one-step method. *Experientia* 36:1014-1015.

Levan A, Fredga K and Sandberg AA (1964) Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52:201-220.

Lima FCT, Malabarba LR, Buckup PA, da Silva JFP, Vari RP, Harold A, Benine R, Oyakawa OT, Pavanelli CS, Menezes NA, Lucena CAS, Malabarba MCSL, Lucena ZMS, Reis RE, Langeani F, Cassati L, Bertaco VA, Moreira C and Lucinda PHF (2003) Genera Incertae sedis in Characidae. In: Check list of the freshwater fishes of South and Central America. Reis RE, Kullander SO and Ferraris CJ (eds) PP729 EDIPUCRS, Porto Alegre – RS.

Lowe-McConnell RH (1969) Speciation in tropical freshwater fishes. *Biol J Linnean Soc* 1: 51-75.

Maistro EL, Oliveira C and Foresti F (2000) Cytogenetic analysis of A- and B-chromosomes of *Prochilodus lineatus* (Teleostei, Prochilodontidae) using different restriction enzyme banding and staining methods. *Genetica* 108:119-125.

Nirchio M and Oliveira C (2006) Citogenética de Peces. Universidad de Oriente, Venezuela 212p.

Oliveira C, Foresti F and Hilsdorf AWS (2009) Genetics of neotropical fish: from chromosomes to populations. *Fish Physiol Biochem* 35:81-100.

Portela ALBS, Galetti Jr PM and Bertollo LAC (1988) Considerations on the chromosome evolution of Tetragonopterinae (Pisces, Characidae). *Rev Brazil Genet* 11:307-316.

Portela-Castro ALB, Júlio Jr HF and Nishiyama PB (2001) New occurrence of microchromosomes B in *Moenkhausia sanctaefilomenae* (Pisces, Characidae) from the Paraná River of Brazil: analysis of the synaptonemal complex. *Genetica* 110:277-283.

Portela-Castro ALB and Júlio Jr HF (2002) Karyotype Relationships among Species of Subfamily Tetragonopterinae (Pisces, Characidae): Cytotaxonomy and Evolution Aspects. *Cytologia* 67:329-336.

Schmid M (1980) Chromosome banding in amphibia. IV. Differentiation of GC- and AT-rich chromosome regions in Anura. *Chromosoma* 77:83-103.

Sobrinho PE, Paiva LRS, Oliveira C and Foresti F (2006) Variabilidade cariotípica em populações de *Moenkhausia sanctaefilomenae* (Teleostei, Characiformes, Characidae). XI Simpósio Brasileiro de Citogenética e Genética de Peixes e I Congresso Internacional de Genética de Peixes. São Carlos, SP GA 109.

Sobrinho-Scudeler PE, Oliveira C and Foresti F (2008) Caracterização citogenética e molecular de cromossomos B em *Moenkhausia sanctaefilomenae* (Characiformes, Characidae). Resumo do 54^o Congresso Brasileiro de Genética.

Sumner AT (1972) A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exptl Cell Res* 74:304-306.