

FABRÍCIO OLIVEIRA RAMOS

**CITOTAXONOMIA DE POPULAÇÕES DO GÊNERO *Astyanax*
(CHARACIFORMES, CHARACIDAE) DA BACIA DO RIO DOCE.**

Tese apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Genética e Melhoramento, para
obtenção do título de "*Magister
Scientiae*".

VIÇOSA

MINAS GERAIS - BRASIL

2004

FABRÍCIO OLIVEIRA RAMOS

**CITOTAXONOMIA DE POPULAÇÕES DO GÊNERO *Astyanax*
(CHARACIFORMES; CHARACIDAE) NA BACIA DO RIO DOCE.**

Tese apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Genética e Melhoramento, para
obtenção do título de "*Magister
Scientiae*".

Aprovada: 17 de junho de 2004.

Prof.^a. Dr.^a. Sílvia das Graças Pompolo
(Conselheira)

Prof.^a. Dr.^a. Ana Lúcia Salaro
(Conselheira)

Prof. Dr. José Henrique Schoereder

Prof. Dr. Luís Orlando de Oliveira

Prof. Dr. Jorge A. Dergam dos Santos
(Orientador)

A minha mãe Ângela, por todo amor, trabalho e confiança depositados em mim e pelo exemplo contínuo de perseverança, muito importantes para a minha formação pessoal e profissional bem como para a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realização deste curso e por ter sido minha segunda casa desde o COLUNI (Colégio Universitário), em 1992.

Ao programa de pós-graduação em Genética e Melhoramento pela oportunidade de realização deste curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos a mim concedida.

Ao professor Jorge A. Dergam dos Santos, pelos conselhos, ensinamentos e puxões de orelha que muito me ajudaram no desenvolvimento deste trabalho e no meu crescimento profissional e pessoal.

Ao Dr. Francisco Langeani da UNESP de São José do Rio Preto – SP, pela identificação morfológica dos espécimes analisados nesse trabalho.

À professora Sílvia das Graças Pompolo, por ter gentilmente cedido todos os equipamentos necessários para a parte fotográfica do trabalho e pelos conselhos durante a realização do mesmo.

À professora Ana Lúcia Salaro, por todas as conversas descontraídas e conselhos durante o desenvolvimento do trabalho.

Aos senhores José Brás e José Lélis do Museu “João Moojem de Oliveira” de Zoologia, pela ajuda nas coletas e na limpeza das tralhas.

Ao pessoal do corpo de bombeiros da Universidade Federal de Viçosa, pelo empréstimo do barco para as coletas.

Ao pessoal dos laboratórios de citogenética, Andersom, Eduardo, Andressa, Elaine e todos os outros que por lá passaram, pela ajuda, amizade e entretenimento durante a realização deste trabalho.

Aos amigos Fábio D. Miranda e Vagner Tebaldi, pela convivência, brigas, conselhos e amizade desde os tempos da graduação.

Às amigas Fernanda, Tassi, Ana Luíza e Laíse pelos momentos descontraídos e inúmeras provocações que tanto me relaxaram permitindo um melhor equilíbrio no desenvolvimento deste trabalho.

À minha querida Bruna, por ter sempre estado ao meu lado (mesmo nos momentos de péssimo humor), me apoiando e estimulando incondicionalmente.

A DEUS, pela presença constante em minha vida, que me ajuda a seguir em frente, mesmo nos momentos de maior descrença.

ÍNDICE

Resumo	vi
Abstract	vii
1 – Revisão bibliográfica	1
1.2 – A superordem Ostariophysi	2
1.2.1 – A ordem Characiformes	3
1.2.2 – A família Characidae	4
1.3 – Técnicas citogenéticas	11
1.3.1 – Regiões organizadoras do nucléolo (Banda NOR)	12
2 – Citotaxonomia de populações de <i>Astyanax</i> (Characidae: Teleostei) na bacia do rio Doce, sudeste do Brasil.	13
2.1 – Introdução	13
2.2 – Objetivos	15
2.3 – Materiais e métodos	15
2.4 – Resultados	18
2.5 – Discussão	23
2.6 – Conclusões	28
3 – Referências bibliográficas	30

RESUMO

RAMOS, Fabrício Oliveira, M.S., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2004. **Citotaxonomia de populações do gênero *Astyanax* (Characiformes, Characidae) da bacia do rio Doce.** Orientador: Jorge A. Dergam Dos Santos. Conselheiros: Sílvia das Graças Pompolo e Ana Lúcia Salaro.

Foram realizados estudos citogenéticos em três espécies pertencentes à subfamília Tetragonopterinae, provenientes de seis localidades na bacia do rio Doce. *Astyanax fasciatus* apresentou $2n=50$ ($4m+14sm+34a$) e um par de cromossomos com regiões organizadoras do nucléolo, sugerindo se tratar de uma nova espécie, por apresentar um cariótipo diferente aos indicados para a espécie até o momento. As populações de *Astyanax scabripinnis* apresentaram $2n=50$ ($4m+10sm+20st+16a$) no rio Casca, $2n=50$ ($4m+12sm+18st+16a$) no rio Das Pacas e $2n=48$ ($8m+20sm+14st+6a$) no rio Turvo e respectivamente um, três e dois pares cromossômicos portadores de regiões organizadoras do nucléolo, confirmando a extensa variabilidade cariotípica existente nesse complexo de espécies na região neotropical. Os resultados de *Astyanax bimaculatus* confirmam a estabilidade cariotípica característica da espécie, apresentando $2n=50$ ($14m+22sm+6st+8a$) no rio Turvo e rio Piranga e $2n=50$ ($14m+24sm+4st+8a$) no rio Santo Antônio. Os resultados sugerem que a bacia do rio Doce tem sido um cenário de evolução cariotípica independente para as espécies do gênero *Astyanax*.

ABSTRACT

RAMOS, Fabrício Oliveira, M.S., Universidade Federal de Viçosa, June 2004.
Cytotaxonomy of populations of genus *Astyanax* (Characiformes, Characidae) of the Doce Basin. Adviser: Jorge A. Dergam Dos Santos.
Committee members: Sílvia das Graças Pompolo and Ana Lúcia Salaro.

Three species of Tetragonopterinae from six locales in the rio Doce basin were subject to cytogenetic analyses. *Astyanax fasciatus* showed a diploid number of $2n=50$ ($4m+14sm+18st+14a$) and one pair of NOR-bearing chromosomes, this unique karyotype suggests that this population represents a new species within the *A. fasciatus* species complex. Populations of *Astyanax scabripinnis* were $2n=50$ ($4m+10sm+20st+16a$) in rio Casca, $2n=50$ ($4m+12sm+34a$) in rio das Pacas, and $2n=48$ ($8m+20sm+14st+6a$) in rio Turvo, while chromosome bearing pairs varied from one, three and two for each population, showing high levels of variation characteristic of this species complex elsewhere in the Neotropical region. Patterns of variation in *Astyanax bimaculatus* indicated stability of diploid number $2n=50$ ($14m+22sm+6st+8a$) in the Turvo and Piranga rivers, and $2n=50$ ($14m+24sm+4st+8a$) in rio Santo Antônio. The results suggest that the rio Doce basin has been a scenario of independent karyotypic evolution for fish populations of the genus *Astyanax*.

1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A ictiofauna continental neotropical é considerada a mais rica do mundo, possuindo cerca de 60 famílias com estimativas que variaram de mais de 2500 (Böhlke *et al.* 1978) a 8000 espécies (Vari e Malabarba, 1998). Segundo Vari e Malabarba (1998), mesmo 350 anos após as primeiras descrições de espécies de peixes de água doce, o conhecimento desta ictiofauna permanece limitado pela escassez de informações sobre as relações filogenéticas dentro e entre os grupos de peixes, particularmente nos Characiformes e Siluriformes, componentes dominantes da ictiofauna neotropical. A compreensão dos verdadeiros níveis de biodiversidade desta fauna é dificultada por uma série de fatores, como as dimensões das drenagens, a riqueza e complexidade da fauna e por limitados recursos humanos e de infra-estrutura (Böhlke *et al.*, 1978); a isto, devemos somar os critérios morfológicos de classificação, determinados por um sistema artificial de delimitação de espécies e gêneros. Devido a estas dificuldades, o conhecimento da ecologia dos peixes neotropicais tem como grande obstáculo a presença de muitas espécies que se assemelham muito entre si (Lowe-McConnell, 1987). Muitas dessas espécies nominais apresentam ampla distribuição, complicando ainda mais a determinação do seu status específico. Em linhas gerais, o conhecimento da taxonomia em níveis específicos tem sido mais lento que a resolução de relações filogenéticas de grandes grupos, particularmente daqueles táxons representados por um número reduzido de espécies (Vari e Malabarba, 1998).

O conhecimento da taxonomia sistemática é essencial para a compreensão da evolução dos grupos de peixes, permitindo a elaboração de planos de conservação de biotas e ecossistemas. Os resultados da pesquisa sistemática podem ser utilizados em outras áreas da biologia, tais como zoogeografia, genética e ecologia, as quais por sua vez podem fornecer subsídios para testar hipóteses filogenéticas (Böhlke *et al.* 1978). Lamentavelmente, na região neotropical não existem ainda subsídios

sistemáticos suficientes para a elaboração de políticas de conservação e manejo de recursos.

1.2 – A SUPERORDEM OSTARIOPHYSI

De acordo com a classificação cladística de Fink e Fink (1981), os Ostariophysi incluem as séries Otophysi e Anotophysi. Os Ostariophysi apresentam quatro ordens consideradas monofiléticas. A série Anotophysi apresenta a ordem Gonorhynchiformes e a série Otophysi, as ordens Cypriniformes, Characiformes e Siluriformes. Os integrantes da série Otophysi são caracterizados dentre outras sinapomorfias, pela presença do aparelho de Weber, formado por modificações nas quatro vértebras anteriores. O aparelho de Weber aumenta a capacidade auditiva desses peixes, o que possivelmente permitiu uma melhor colonização do ambiente de água doce com correnteza (lótico) (Rosen e Greenwood, 1970). A superordem Ostariophysi é um táxon morfológicamente bem definido, restrito basicamente a ambientes dulcícolas, de distribuição cosmopolita e que inclui os peixes dominantes em todos os continentes, exceto Austrália e Antártica (Moyle e Cech, 1988). Dentre eles, os Siluriformes (Siluroidei e Gymnoidei) apresentam uma extensa variabilidade cariotípica onde, provavelmente, os mecanismos robertsonianos tais como fusões e fissões cêntricas devem ter desempenhado um importante papel (Le Grande, 1981; Almeida Toledo *et al.*, 1984; Foresti *et al.*, 1984). A ordem Cypriniformes caracteriza-se por uma estabilidade muito maior, com espécies apresentando geralmente $2n=50$ e outras, $2n=100$ (Gold e Avise, 1977; Gold *et al.*, 1978).

Dentro da superordem Ostariophysi, foram relatadas 433 fórmulas cromossômicas, em 145 gêneros e 33 famílias, todas pertencentes à região Neotropical (Oliveira *et al.*, 1988) e muitas outras foram analisadas nos anos seguintes. Dentre as espécies analisadas, 49 espécies nominais apresentam mais de um cariótipo descrito (aproximadamente 11,3% do total). Em 10 espécies foi detectada a presença de

cromossomos supranumerários ou cromossomos B, correspondendo a 2,3% do total. Cromossomos sexuais distinguíveis com coloração convencional foram encontrados em 25 espécies (aproximadamente 5,8% do número total). Dentro dessas espécies, cinco tipos diferentes de mecanismos sexuais foram relatados (Oliveira *et al.*, 1988).

1.2.1 – A ORDEM CHARACIFORMES

A ordem Characiformes apresenta ampla distribuição geográfica, com pelo menos 1300 espécies na América do Sul, representando oito famílias, das quais sete são endêmicas (Moyle e Cech, 1988). Os Characiformes apresentam uma ampla variação no número cromossômico diplóide, que vai desde $2n = 28$ cromossomos, indicado para uma espécie de *Hemigrammus* (Scheel, 1973) a $2n = 64$ cromossomos, em *Serrassalmus holandii* (Muramoto *et al.*, 1968). Segundo Galetti Jr. *et al.* (1994), dois padrões evolutivos principais têm sido encontrados nesta ordem; o primeiro consiste de um padrão heterogêneo de evolução cromossômica que ocorre em táxons como *Hoplias* e *Astyanax* e que são caracterizados por variações estruturais e numéricas em seus cariótipos. Assim, dados iniciais em *Hoplias* (Bertollo, 1978) têm demonstrado a presença de citótipos distintos em populações da espécie *Hoplias malabaricus* nas diferentes bacias hidrográficas estudadas, incluindo vários sistemas de determinação cromossômica do sexo (e.g., Bertollo, 1978; Bertollo *et al.*, 1979; Bertollo *et al.*, 2000).

O segundo padrão de variação cariotípica de Characiformes raramente envolve alterações no número diplóide, e pode ser observado nas famílias Curimatidae (com algumas exceções), Anostomidae, Hemiodontidae, Parodontidae, Chilodontidae e Prochilodontidae, as quais apresentam $2n = 54$ cromossomos constituídos por dois braços. Parece provável que este cariótipo represente uma sinapomorfia dessas famílias (Galetti Jr. *et al.*, 1994), particularmente considerando o padrão bimodal dos Cypriniformes, grupo-irmão dos Characiformes (Fink e Fink, 1981).

Outras variações do padrão cariotípico podem também representar condições derivadas que poderiam caracterizar grupos naturais de espécies, como, por exemplo, as relacionadas com a ocorrência de cromossomos sexuais, como em Parodontidae (Moreira-Filho *et al.*, 1980) do tipo ZZ/ZW e Anostomidae (Galetti Jr. *et al.*, 1981; Galetti Jr. e Foresti, 1986) também do tipo ZZ/ZW. Em algumas espécies de curimatídeos, os números cromossômicos $2n = 56, 58$ e 102 teriam se originado a partir de fissões cêntricas mais recentes, seguidas ou não por inversões pericêntricas (Feldberg *et al.*, 1993; Vênere, 1991).

A situação citogenética aparentemente mais simples destas famílias é também acompanhada por um maior conhecimento morfológico dos grupos; dentro dos Characiformes, dois grupos de táxons podem ser identificados: aqueles com morfologia suficientemente conhecida para integrar famílias bem definidas, e os que não se ajustam a critérios morfológicos não-ambíguos (Reis *et al.*, 2003). Dentro do primeiro grupo, segundo Reis *et al.*, 2003 encontram-se as famílias Parodontidae, Curimatidae, Prochilodontidae, Crenuchidae, Hemiodontidae, Gasteropelecidae, Acestrorhynchidae, Cynodontidae, Erythrinidae, Lebiasinidae e Ctenoluciidae. Em contraste com essa condição, a família Characidae não tem nem limites nem relações filogenéticas internas bem definidas.

1.2.2 – A FAMÍLIA CHARACIDAE

A família Characidae, caracterizada por um grande número de espécies – 1352 - (Reis *et al.*, 2003), é atualmente reconhecida como não monofilética (Lundberg, 1998), embora alguns dos seus subgrupos sejam considerados como unidades naturais, como é o caso dos Serrasalminae (Machado Allison, 1983 em Lundberg, 1998). Apesar disso, Weitzman e Malabarba, (1998) consideram que alguns grupos tradicionalmente incluídos nos Characidae como as subfamílias Agoniatinae, Aphyocharacinae, Characinae, Cheirodontinae,

Gandulocaudinae, Paragoniinae, Rhoadsiinae, Stethaprioninae e Tetragonopterinae, além de outros caracídeos aparentados com *Brycon* e com *Alestes* (este último, africano), podem potencialmente compor uma família Characidae monofilética.

Os fósseis dos caracídeos são relativamente raros. Restos fósseis pertencentes a tetragonopteríneos aparecem em estratos de finais do Cretáceo da Bolívia (Gayet, 1991 apud Lundberg, 1998). Mais recentemente, fósseis da subfamília Cheirodontinae estão representados por *Megacheiroduon unicus* de Oligoceno-Mioceno para a bacia do rio Taubaté no Estado de São Paulo (Malabarba, 1998). Os registros da bacia de Taubaté também incluem formas aparentadas com os Bryconinae e Salmininae. O parentesco dos Bryconinae não pode ser ainda determinado de forma clara, já que gênero *Brycon* não é considerado monofilético (Malabarba, 1998). Dentes característicos de Cynodontinae também foram registrados na jazida fóssil miocênica de La Venta no Equador (Lundberg, 1997).

Um resumo do conhecimento dos grupos integrantes ou próximos aos Characidae sugerido por Weitzman e Malabarba (1998) e por Reis *et al.* (2003) demonstra a necessidade de estudos citogenéticos neste complexo táxon, tanto como subsídio para determinar status específico quanto, e, mas provavelmente, para apontar os grupos naturais não reconhecidos pelo sistema taxonômico proposto por Eigenmann (1918, 1921, 1927). Como parte desta revisão, incorporou-se informações de Oliveira *et al.* (1988) e dados mais recentes de outras fontes.

Sub-família Bryconinae. Como indicado anteriormente, os briconíneos encontram-se em fase de revisão. Atualmente, a subfamília inclui 40 espécies válidas (Lima, 2003). Segundo Lima (2003a) gêneros como *Chilobrycon* e *Henochilus* são hoje considerados como próximos ao gênero *Brycon*, enquanto que outros táxons, considerados tradicionalmente como aliados a *Brycon* (*Salminus*, *Triporthesus* e *Chalceus*), são hoje vistos como não relacionados. Das espécies de *Brycon*, três espécies analisadas citogeneticamente, *B. orthotaenia* do

São Francisco e duas espécies não identificadas da bacia amazônica, apresentaram $2n=50$ cromossomos (Oliveira *et al.*, 1988).

Subfamília Agoniatinae. Compreende apenas duas espécies de peixes de corpo alongado, porte médio e que se assemelham com peixes clupeídeos em coloração e formato do corpo (Lima e Zanata, 2003). Zanata (2000) os considerou como próximos a *Triportheus* e *Lignobrycon*. Não existem dados cariotípicos destas espécies.

Subfamília Clupeacharacinae. É um táxon monotípico, incluindo apenas *Clupeacharax anchoveoides* (Lima, 2003b). A espécie ocorre no alto Amazonas e nas bacias do Paraná e Paraguai. Não existem dados citogenéticos para esta espécie.

Subfamília Aphyocharacinae. Os afiocaracíneos foram tradicionalmente incluídos dentro dos Cheirodontinae e hoje são representados apenas pelo gênero *Aphyocharax*, com 10 espécies válidas (Lima, 2003). O gênero é considerado monofilético com base em caracteres osteológicos da série circumorbital de ossos, a saber, redução no segundo osso infraorbital e desenvolvimento dos segundo e terceiro infraorbitais, os quais recobrem a região genal (Lima, 2003a).

Sub-família Characinae. Os caracíneos compreendem 12 gêneros e 70 espécies, cujo parentesco ainda não foi completamente resolvido (Lucena e Menezes, 2003). Oliveira *et al.* (1988) e dados mais recentes indicam apenas uma espécie analisada, com número diplóide de 52 cromossomos.

Sub-família Cheirodontinae. Este táxon apresenta uma série de caracteres únicos, indicados por Malabarba (2003) como: pseudotímpano com estrutura única, localizado entre a primeira e a segunda costelas pleurais, ausência de mancha umeral, dentes mandibulares com pedúnculo basal e geralmente multicuspidados, entre outros caracteres. As espécies são abundantes em águas lênticas e de baixa altitude e têm sido incluídas em duas tribos, com cinco gêneros *Incertae Sedis* (Malabarba, 2003). Oliveira *et al.* (1988) citam diversas espécies de *Cheirodon*, as quais têm sido consideradas como *Incertae Sedis* dentro de

“*Cheirodon*” ou têm sido transferidas para outros gêneros, também em condição de *Incertae Sedis*.

Sub-família Glandulocaudinae. Foram analisadas quatro espécies pertencentes a dois gêneros, o número cariotípico $2n=52$ cromossomos é válido para todas as espécies analisadas, mas a fórmula cariotípica varia entre as espécies.

Subfamília Iguanodectinae. Outra pequena subfamília composta por 11 espécies válidas e dois gêneros (*Iguanodectes* e *Piabucus*). Os iguanodectíneos ocorrem na bacia amazônica e nos principais tributários, assim nas drenagens dos rios Paraguai, Orinoco e as drenagens costeiras da Venezuela (Moreira, 2003). Não existem dados citogenéticos para esta subfamília.

Subfamília Paragoniatinae. Com apenas uma espécie, *Paragoniates alburnus* (Reis *et al.*, 2003). Esta espécie não foi ainda cariotipada.

Subfamília Rhoadsiinae. Esta subfamília pode ser diferenciada dos outros Characidae pela presença de uma única série dentária na pré-maxila (semelhante à condição dos Cheirodontinae), quando jovens e duas séries na fase adulta (exceto para o gênero *Carlana*, o qual mantém a condição juvenil) (Cardoso, 2003). O táxon compreende três gêneros, *Rhoadsia*, *Parastremma* e *Carlana*, sendo que não existem dados citogenéticos para o grupo.

Subfamília Serrasalminae. É a unidade taxonômica melhor definida dentro dos Characidae. Caracterizam-se por apresentarem corpo alto e comprimido, com uma série de espinhos ventrais formando uma quilha e, exceto em *Colossoma*, *Piaractus* e *Mylossoma*, um espinho direcionado anteriormente, localizado anteriormente ao primeiro raio da nadadeira dorsal. O táxon apresenta 80 espécies válidas, das quais oito são *Incertae Sedis* (Jégu, 2003). O táxon foi extensivamente estudado sob o ponto de vista citogenético. O tambaqui *Colossoma macropomum* apresenta $2n=54$ cromossomos ($20m+34sm$) (Almeida Toledo *et al.*, 1987); duas espécies do gênero *Metynnis* foram indicadas como

apresentando números entre $2n=62$ e $n=30$ cromossomos (Oliveira *et al.*, 1988). No gênero *Myloplus*, a espécie *M. arnoldi* apresenta o número diplóide $2n=58$ cromossomos (Ojima *et al.*, 1976). Em *Myloplus*, todas as espécies apresentaram $2n=54$ cromossomos e no gênero *Pygocentrus*, *P. nattereri* e *P. piraya* caracterizam-se por apresentarem $2n=60$ cromossomos (revisão em Oliveira *et al.*, 1988). No gênero *Serrasalmus*, 15 espécies apresentaram números diplóides entre 58 e 64 cromossomos, sendo que doze delas possuíam $2n=60$ cromossomos (Oliveira *et al.*, 1988). Em resumo, a subfamília é caracterizada por números diplóides muito superiores aos encontrados nos Characidae em geral.

Sub-família Stethaprioninae. Os stethaprioníneos são identificados pelo corpo alto e, às vezes, discoidal. Apresentam também um espinho que se projeta para frente, anterior ao primeiro raio dorsal; quatro gêneros, *Brachychalcinus*, *Stethaprion*, *Orthospinus* e *Poptella* integram o táxon, com o último gênero representando o grupo mais basal (Reis, 2003). Duas espécies analisadas, *P. orbicularis* (Oliveira *et al.*, 1988) e *Brachychalcinus copei* (Carvalho *et al.*, 2001).

Sub-família Tetragonopterinae. Este táxon é o maior e mais problemático dentro dos Characidae. Nove espécies aparecem como *Incertae Sedis* dentro da família; delas, cinco do gênero *Cheirodon*, três do gênero *Deuterodon* seriam integrantes dos tetragonopteríneos tradicionais. A posição de *Incertae Sedis* é decorrência da revisão de espécies e da aplicação de métodos cladísticos para a determinação de grupos naturais (Reis *et al.*, 2003). Ainda dentro dos Characidae, o gênero *Astyanax*, junto a todos os gêneros restantes de tetragonopteríneos, é considerado como *Incertae Sedis* dentro dos Characidae. Todavia, considerando os limites tradicionais da subfamília, foram analisadas citogeneticamente oitenta e sete espécies pertencentes a dezenove gêneros distintos, apresentando $2n=28$, 36, 38, 42, 46, 48, 50 e 52 cromossomos (Oliveira *et al.*, 1988).

Este táxon inclui peixes de hábitos alimentares muito diversificados (herbívoros, onívoros e carnívoros), explorando assim uma extensa variedade de habitats. São bons nadadores, possuem quase sempre uma nadadeira sem raios situada entre a dorsal e a caudal, chamada de nadadeira adiposa e incluem a grande maioria dos peixes de escamas conhecidos pelos brasileiros. Dentre os mais citados estão os lambaris, piracanjubas, piranhas, pacus, peixe cachorro, dourado e outros. Segundo Britski (1972), é expressiva a variação de tamanho dentro da família, variam desde 2 cm, como os pequiras, até mais de um metro, como o dourado.

Esta subfamília está distribuída por toda a América do Sul e Central, estendendo-se da fronteira do México com os Estados Unidos até a Argentina (Britski, 1972).

Segundo Melo (2000), para separar seus gêneros, a sistemática dos Tetragonopterinae é baseada na morfologia externa utilizando caracteres como denticção, escamas na linha lateral e na nadadeira caudal, incluindo mais recentemente caracteres osteológicos.

O gênero *Astyanax* corresponde à maior unidade taxonômica dos Tetragonopterinae, contém aproximadamente 100 espécies e subespécies nominais descritas e distribuídas amplamente na região neotropical do sul dos Estados Unidos ao norte da Argentina (Garutti, 1995, 1998). *Astyanax* necessita de ampla revisão para melhor definição taxonômica de suas formas e é provável que muitas espécies devam ainda ser descritas. De acordo com Melo (2000), as espécies de *Astyanax* são, em geral, similares morfologicamente e sua separação tem sido historicamente difícil. Em função dessa dificuldade, *Astyanax*, assim como vários outros gêneros de Tetragonopterinae, têm recebido pouca atenção por parte dos sistematas.

A última grande revisão no gênero *Astyanax* foi feita por Eigenmann (1918, 1921, 1927) e, apesar desse esforço, inúmeros problemas da sistemática do referido gênero não foram resolvidos provavelmente pela falta de uma diagnose baseada em caracteres

apomórficos (Melo, 2000). Conseqüentemente, a definição e os limites desse gênero ainda não são claros. Eigenmann (1927) considerou 74 espécies e subespécies e Gery (1977), mais de 62 espécies e subespécies em águas doces no Brasil.

Eigenmann (1921) caracteriza o gênero *Astyanax*, como peixes pequenos, comprimidos, mais ou menos alongados, raramente atingindo tamanho superior a 150 mm, usualmente muito menor. Apresenta duas séries de dentes no pré-maxilar, a série interna com cinco, raramente quatro dentes, linha lateral completa, ausência de escamas na nadadeira caudal, ossos infra-orbitais que não cobrem completamente a face, presença de nadadeira adiposa e quatro dentes ântero-mediais grandes e largos do dentário seguidos de dentes diminutos. Dentro do gênero *Astyanax*, *Astyanax bimaculatus* e *Astyanax fasciatus* são as espécies mais frequentemente encontradas nos nossos rios. A primeira tem uma mancha ovalada e escura na região umeral e as nadadeiras são amarelas; a segunda tem a nadadeira caudal vermelha e mancha umeral difusa (Eigenmann, 1921).

Outro aspecto interessante, nesse gênero, é a ocorrência de diferentes números diplóides, entre algumas populações consideradas como pertencentes à mesma espécie nominal, em alopatria (Morelli *et al.*, 1983b; Paganelli e Moreira Filho, 1986; Moreira Filho e Bertollo, 1986).

Um exemplo da extensa variabilidade cariotípica no gênero *Astyanax* pode ser visto no trabalho de Morelli *et al.*, (1983b) que determinou os seguintes números diplóides para espécies do referido gênero: $2n = 46$ cromossomos para *A. fasciatus* do rio Mogi-Guaçu, $2n = 48$ cromossomos para *A. fasciatus* do rio Juquiá, $2n = 50$ cromossomos para *A. bimaculatus* do rio Juquiá, $2n = 50$ cromossomos para *A. scabripinnis paranae* do rio Juquiá e $2n = 36$ cromossomos para *A. schubarti* também do rio Juquiá.

1.3 – TÉCNICAS CITOGENÉTICAS

Segundo Guerra (1988), a citogenética compreende todo e qualquer estudo relativo ao cromossomo isolado ou em conjunto, distendido ou condensado, tanto no que diz respeito à sua morfologia, organização, função e replicação, quanto à sua variação e evolução. Dentre as suas aplicações está a determinação do número, da morfologia, e das variações numéricas e estruturais dos cromossomos.

As técnicas de bandeamento cromossômico expandiram consideravelmente os horizontes da citogenética; o bandeamento cromossômico é consequência de variações nas propriedades de coloração ao longo do cromossomo (e.g. Gold e Li, 1991; Rocha, 2000). Entre suas aplicações, está o pareamento cromossômico acurado e a detecção de variações estruturais, como deleção, duplicações, inversões e outras, relacionadas no ser humano, com certas anomalias do desenvolvimento (Guerra, 1988); nos animais e plantas, estas modificações podem fornecer excelentes informações para determinar a direção das mudanças evolutivas. Esta informação permite localizar exatamente a região do cromossomo diretamente afetada, o que seria impossível com a coloração convencional, por isso em estudos evolutivos o bandeamento cromossômico possibilita a observação detalhada das transformações que ocorreram em grupos de espécies próximas que apresentam cariótipos com aparência muito semelhante quando coradas apenas com Giemsa.

A citogenética experimentou grandes avanços, como resultado da crescente interação com outras técnicas, como a biologia molecular (Sessions, 1996). Devido a esses avanços, a citogenética tornou-se uma importante ferramenta para a resolução de várias questões, que vão desde o nível de organização genômica à evolução das espécies. A análise citogenética tem trazido grande contribuição ao estudo da filogenia, dos mecanismos de especiação e da variabilidade genética. Isto se deve, principalmente, ao fato de que os cromossomos

representam a base física do sistema genético, portanto, alterações destes são quase sempre significativas para o rumo evolutivo das espécies (White, 1973).

1.3.1 – REGIÕES ORGANIZADORAS DO NUCLÉOLO (BANDA NOR)

Uma técnica bastante simples de coloração por prata descrita inicialmente, para mamíferos (Goodpasture e Bloom, 1975), tornou possível a detecção citológica rápida e a localização precisa das regiões organizadoras do nucléolo (NORs) nos cromossomos. Essa coloração evidencia NORs que estiveram ativas na interfase anterior (Miller *et al.*, 1976). Assim, essa técnica consiste em evidência indireta da atividade gênica (rDNA). Devido à sua simplicidade e aos bons resultados que propicia, a técnica tem sido bastante utilizada no estudo dos cromossomos de vertebrados em geral (Almeida Toledo e Foresti, 1985).

A NOR representa uma região do cromossomo que contém os principais genes de rRNA (18S e 28S rDNA) e leva à formação do nucléolo na interfase. O nucléolo é uma estrutura nuclear que consiste de vários componentes como: centro fibrilar (rDNA e RNA polimerase I); componente fibrilar denso, que envolve o centro fibrilar onde ocorre a transcrição de genes ribossomais; partículas pré-ribossomais; e cromatina condensada, que parece conectar-se com o DNA do centro fibrilar (Sumner, 1990)

Geralmente, as constrições cromossômicas secundárias correspondem às regiões organizadoras do nucléolo, embora nem sempre haja uma correspondência inequívoca entre constrição secundária e NORs. Um exemplo constitui o camundongo, que apresenta 19 pares de cromossomos com constrição secundária, sendo que destes, apenas três apresentam sítios de rDNA (Henderson *et al.*, 1974).

Schmid (1978, 1980, 1982), estudando a distribuição das regiões organizadoras de nucléolo em *Anura*, verificou que a maioria das espécies

possuía apenas um par de cromossomos portador de NORs sendo que, em muitas espécies, as regiões apresentavam consideráveis diferenças de tamanho.

Em peixes formas heteromórficas de NORs, são também freqüentes. Em *Eigenmannia virescens*, Almeida Toledo *et al.*, (1980) constataram uma diferença considerável no tamanho das NORs, entre os homólogos. Outros casos de heteromorfismo são também descritos para *Astyanax* (Morelli, 1981), Acestrorhynchinae e Cynopotaminae (Falcão e Bertollo, 1985), *Cichlasoma* e *Geophagus* (Feldberg e Bertollo, 1985) e em *Apareiodon* (Moreira-Filho, 1983).

Nos roedores, um elevado grau de polimorfismo de NORs foi encontrado por Yonenaga *et. al.* (1976) em *Akodon arviculoides*. Em treze indivíduos analisados o número de NORs variou de 2 a 8 por célula. Dos quatro pares de cromossomos nucleolares, o cromossomo X apresentou a maior variação na freqüência de coloração pelo nitrato de prata. Contudo, cada cromossomo apresenta um padrão e freqüência característica, quanto às NORs, em cada indivíduo.

Verifica-se que as características das NORs, sua ocorrência e sua distribuição no cariótipo podem variar, não só interespecificamente, como também intraespecífica, intraindividual e intrapopulacionalmente, o que torna seu estudo mais interessante e dinâmico, entre os diferentes grupos de organismos (Pauls, 1985).

2 – CITOTAXONOMIA DE POPULAÇÕES DE *Astyanax* (CHARACIDAE; TELEOSTEI) NA BACIA DO RIO DOCE, SUDESTE DO BRASIL.

2.1 – INTRODUÇÃO

O uso de dados cariotípicos para a identificação de espécies e elaboração de padrões filogenéticos entre elas foi proposto inicialmente por Mathey (1949), no primeiro trabalho de revisão de dados

cromossômicos de vertebrados. Esta idéia é sustentada pelo fato de que, com algumas exceções, a maioria das espécies é cariotipicamente única, diferindo de outras espécies em relação ao número cromossômico e/ou em relação a outras características citológicas (White, 1978).

Muitos eventos de especiação estão relacionados com a ocorrência de rearranjos cromossômicos, porém não está claro se esses desempenham papel causativo direto ou se eles seguem a especiação como consequência desta. Particularmente nos peixes, devido ao grande número de descendentes de cada prole e o pequeno espaço de tempo que separa cada geração, a difusão de rearranjos cromossômicos adaptativos, poderia estar facilitada, principalmente naquelas espécies que habitam pequenos isolados geográficos.

Considerando a existência de problemas taxonômicos e filogenéticos a subfamília Tetragonopterinae tem sido considerada por vários autores (Reis *et al.*, 2003; Weitzman and Fink, 1983) como um grupo artificial, onde novos estudos se fazem necessários para um melhor entendimento das relações entre esses organismos.

Estudos citogenéticos no gênero *Astyanax* e, de forma mais específica, nas espécies *Astyanax scabripinnis* e *Astyanax fasciatus* têm mostrado grande variabilidade cariotípica interpopulacional e número diplóide de cromossomos variando de $2n = 46$, 48 ou 50 entre populações consideradas como pertencentes à mesma espécie, em condições de alopatria (Morelli *et al.*, 1983b; Paganelli e Moreira Filho, 1986; Moreira Filho e Bertollo, 1986; Oliveira *et al.*, 1988). Por exemplo, Morelli *et al.*, (1983b) determinaram para *A. fasciatus*, $2n = 46$ e $2n=48$ para as populações dos rios Mogi-Guaçu (bacia do Alto Paraná) e Juquiá (bacia costeira – rio Ribeira) respectivamente. Ferramentas morfológicas não-tradicionais como a citotaxonomia foram relevantes neste trabalho, auxiliando na determinação do status citotaxonômico de populações do gênero *Astyanax*.

2.2 – OBJETIVOS

Determinação do status citotaxonômico de populações do gênero *Astyanax* identificadas morfológicamente como *Astyanax fasciatus*, *Astyanax scabripinnis* e *Astyanax bimaculatus* na região do alto rio Doce e comparação dos dados obtidos com os de populações de outras bacias hidrográficas, afim de identificar as diferenças e similaridades entre tais populações.

2.3 – MATERIAIS E MÉTODOS

Estudos citogenéticos foram realizados em três espécies pertencentes à subfamília Tetragonopterinae (figuras 2, 3 e 4), provenientes de seis localidades na bacia do rio Doce (figura 1 e tabela I).

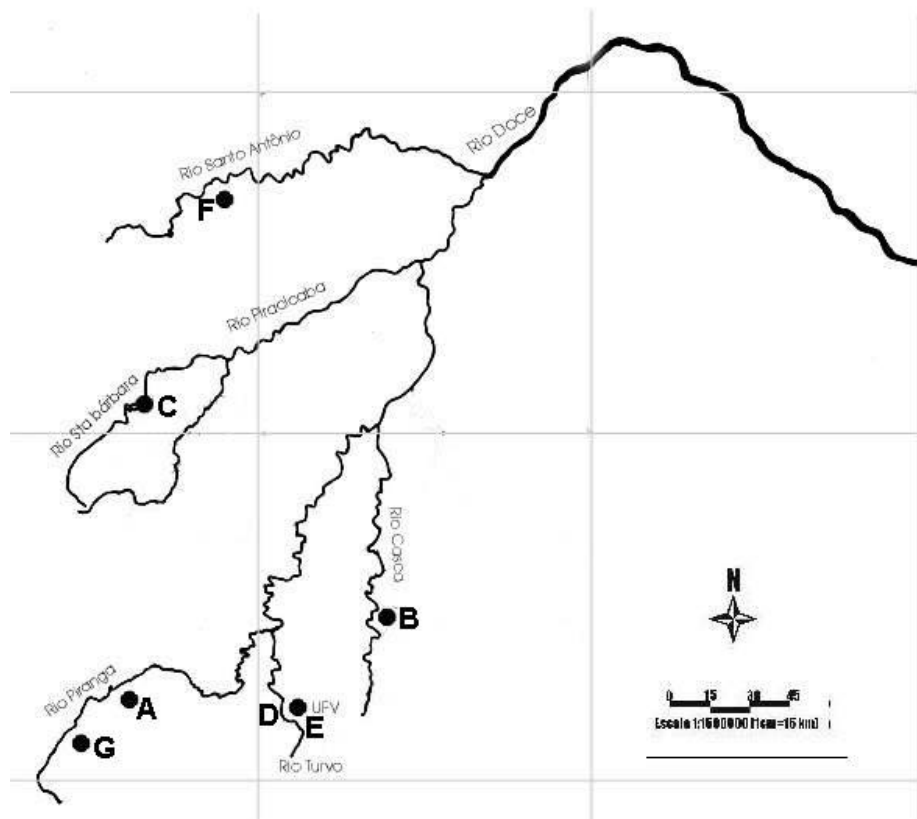


FIGURA 1. Mapa indicando as localidades de coleta de populações de *Astyanax* na bacia do rio Doce.



FIGURA 2. Exemplos de *Astyanax fasciatus* da pop. A, UHE Brito, rio Piranga.



Figura 3. Exemplos de *Astyanax scabripinnis* da pop. B, rio Casca.

Os espécimes coletados foram conduzidos ao laboratório de citogenética de peixes da Universidade Federal de Viçosa. Após a análise citogenética, os espécimes foram depositados na coleção de peixes do Museu de Zoologia da referida instituição e na Coleção de Peixes (DZSJRP) do Departamento de Zoologia e Botânica, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista – UNESP, São José do Rio Preto – SP, onde foram morfologicamente identificados pelo Dr. Francisco Langeani.



Figura 4. *Astyanax bimaculatus* da pop. E, ribeirão São Bartolomeu, rio Turvo.

As preparações cromossômicas foram obtidas segundo a técnica de “air drying” Egozcue (1971) modificada por Bertollo (1978), as preparações de cromossomos mitóticos foram submetidas a coloração convencional com Giemsa, e à técnica para a detecção de regiões organizadoras do nucléolo (Ag-NORs) pelo método de Howell e Black (1980). Apenas a porção cefálica do rim foi utilizada.

Agentes mitogênicos como fermento biológico (Hillis *et al.*, 1996) ou Munolan® foram injetados 24 (uma dose) ou 48 horas (duas doses) antes do processamento dos espécimes, na proporção de 1mL de solução/100g ou um comprimido dissolvido em água/50g de peso corporal. A classificação dos cromossomos foi determinada segundo a relação entre seus braços proposta por Levan *et al.* (1964), sendo os cromossomos classificados como metacêntricos (m), submetacêntricos (sm), subtlocêntricos (st) e acrocêntricos (a).

2.4 – RESULTADOS

Tabela I: Informações referentes às espécies, aos locais de coleta, ao número de espécimes analisados, número diplóide (2n), número fundamental (NF), fórmula cariotípica e número de pares cromossômicos portadores de regiões organizadoras de nucléolo (NORs).

Espécies	Localização e População	Tamanho amostral	2n	NF	Fórmula Cariotípica	NORs
<i>Astyanax fasciatus</i>	rio Piranga- UHE Brito, Ponte Nova. Pop. A	15	50	86	4m+14sm+18st+14a	1
<i>Astyanax scabripinnis</i>	rio Casca, Canaã. Pop. B	32	50	84	4m+10sm+20st+16a	1
<i>Astyanax scabripinnis</i>	rio Das Pacas, Santa Bárbara. Pop. C	12	50	66	4m+12sm+34a	3
<i>Astyanax scabripinnis</i>	ribeirão São Bartolomeu – UFV, Viçosa. Pop. D	24	48	90	8m+20sm+14st+6a	2
<i>Astyanax bimaculatus</i>	ribeirão São Bartolomeu – UFV, Viçosa. Pop. E	34	50	92	14m+22sm+6st+8a	1
<i>Astyanax bimaculatus</i>	rio Santo Antônio, Ferros. Pop. F	17	50	92	14m+24sm+4st+8a	1
<i>Astyanax bimaculatus</i>	rio Piranga UHE Brecha, Guaraciaba. Pop. G	07	50	92	14m+22sm+6st+8a	1

Astyanax fasciatus: possui 2n=50 cromossomos (4m+14sm+18st+14a) para a população do rio Piranga à jusante da Usina Hidrelétrica do Brito (figura 5). O cariótipo foi igual em ambos os sexos e um par de cromossomos subtelocêntricos portador de regiões organizadoras do nucléolo foi detectado em todos os espécimes analisados.

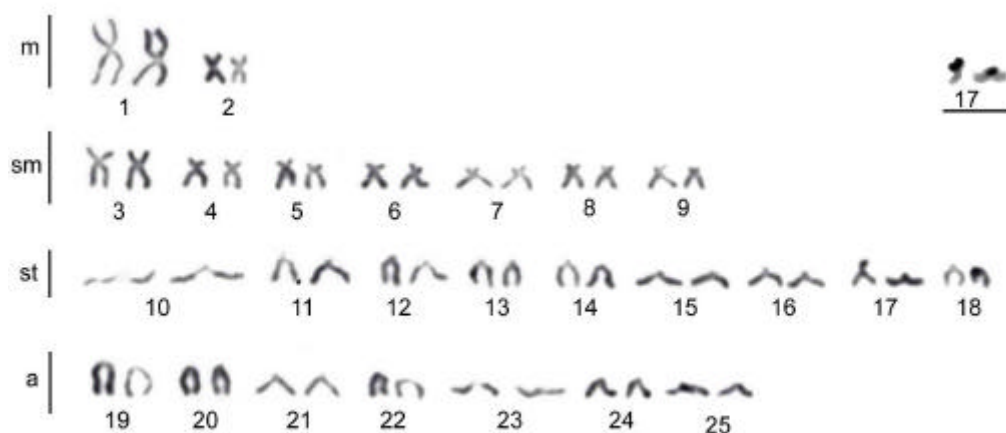


FIGURA 5. Cariograma de *Astyanax fasciatus* da população do rio Piranga, usina hidrelétrica do Brito, com $2n=50$ cromossomos, obtido com coloração convencional. No detalhe, o par de homólogos portador de regiões organizadoras de nucléolo (NORs).

***Astyanax scabripinnis*:** possui $2n=50$ cromossomos ($4m+10sm+20st+16a$) para a população do rio Casca (figura 6), com um par de cromossomos subtelo-cêntricos portador de regiões organizadoras do nucléolo, $2n=50$ cromossomos ($4m+12sm+34a$) para a população do rio Das Pacas (figura 7), com três pares de cromossomos, submetacêntricos, subtelo-cêntricos e acrocêntricos respectivamente portadores de regiões organizadoras do nucléolo e $2n=48$ cromossomos ($8m+20sm+14st+6a$) para a população do ribeirão São Bartolomeu, rio Turvo (figura 8), com dois pares de cromossomos, subtelo-cêntricos e acrocêntricos respectivamente portadores de regiões organizadoras do nucléolo. Esses resultados são válidos para ambos os sexos em todas as populações analisadas.

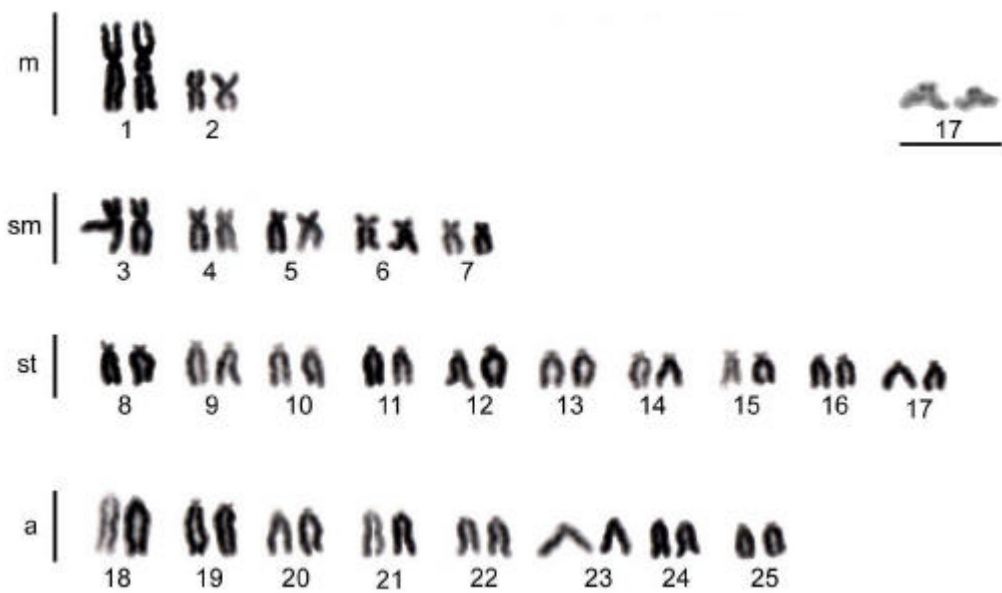


FIGURA 6. Cariograma de *Astyanax scabripinnis* da população do rio Casca, com $2n=50$ cromossomos, obtido com coloração convencional. No canto superior direito os cromossomos portadores de regiões organizadoras de nucléolo (NORs).

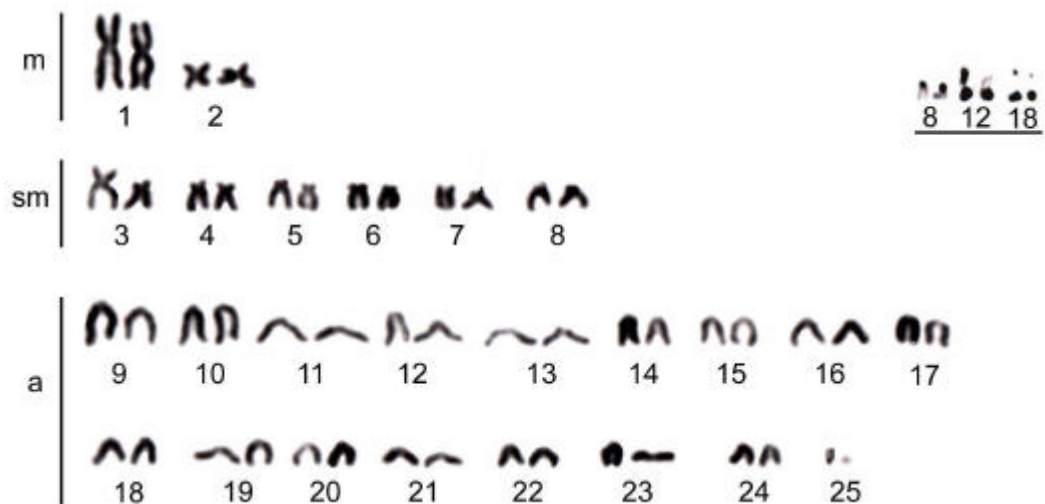


FIGURA 7. Cariograma de *Astyanax scabripinnis* da população do rio das Pacas, com $2n=50$ cromossomos, obtido com coloração convencional. No canto superior direito os cromossomos portadores de regiões organizadoras de nucléolo (NORs)

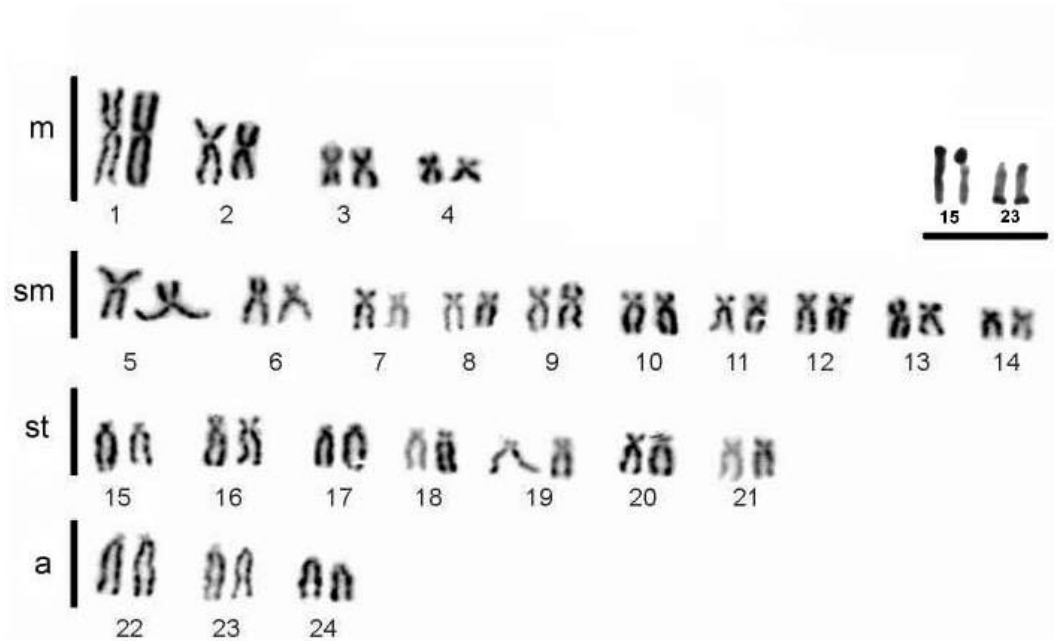


FIGURA 8. Cariograma de *Astyanax scabripinnis* da população do rio Turvo (ribeirão São Bartolomeu) com $2n=48$ cromossomos, obtido com coloração convencional. No canto superior direito os cromossomos portadores de regiões organizadoras de nucléolo (NORs).

***Astyanax bimaculatus*:** a espécie possui $2n=50$ nas três populações analisadas. Algumas diferenças observadas entre as populações podem ser artefatos do grau diferente de condensação dos cromossomos entre diferentes metáfases. A população do rio Piranga, à jusante da Usina Hidrelétrica da Brecha (figura 9), a população do rio Santo Antônio (figura 10) e população do ribeirão São Bartolomeu (figura 11) apresentaram padrão idêntico quanto à distribuição das NORs, dado que nas populações analisadas, estas aparecem sempre no segundo par de cromossomos submetacêntricos.

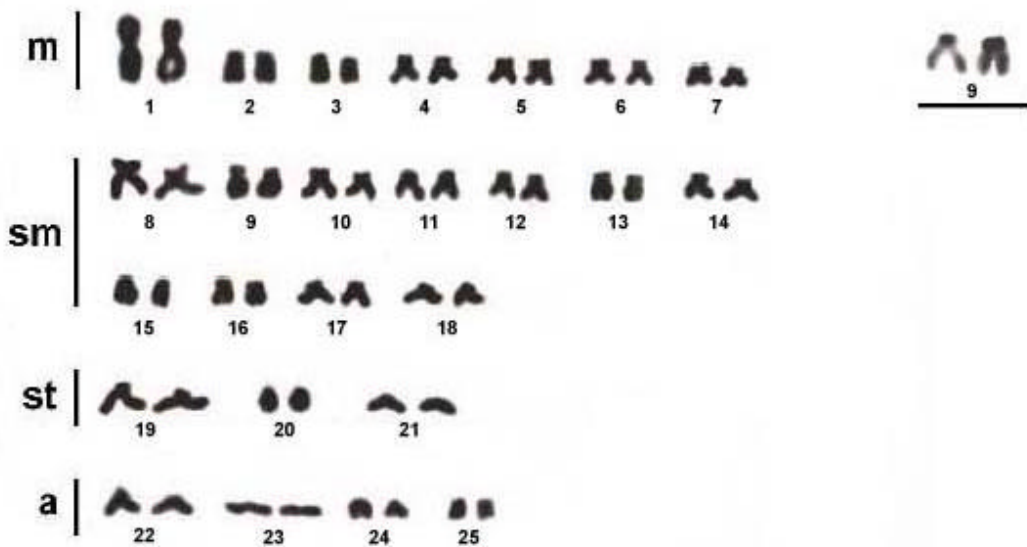


FIGURA 9. Cariograma de *Astyanax bimaculatus* da população do rio Piranga, com $2n = 50$ cromossomos, obtido com coloração convencional. No canto superior direito os cromossomos portadores de regiões organizadoras do nucléolo (NORs).

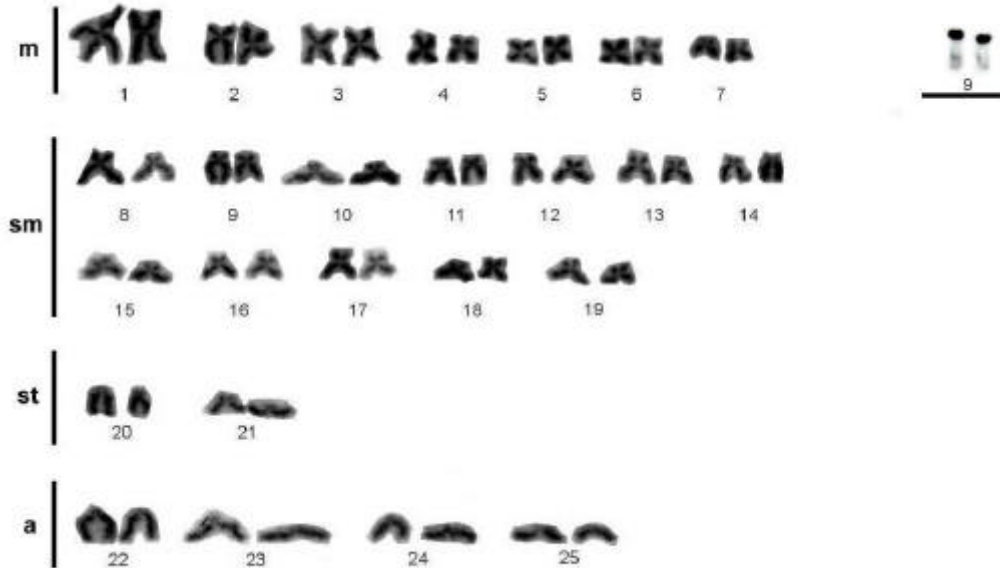


FIGURA 10. Cariograma de *Astyanax bimaculatus* da população do rio Santo Antonio, com $2n = 50$ cromossomos, obtido com coloração convencional. No canto superior direito os cromossomos portadores de regiões organizadoras do nucléolo (NORs).

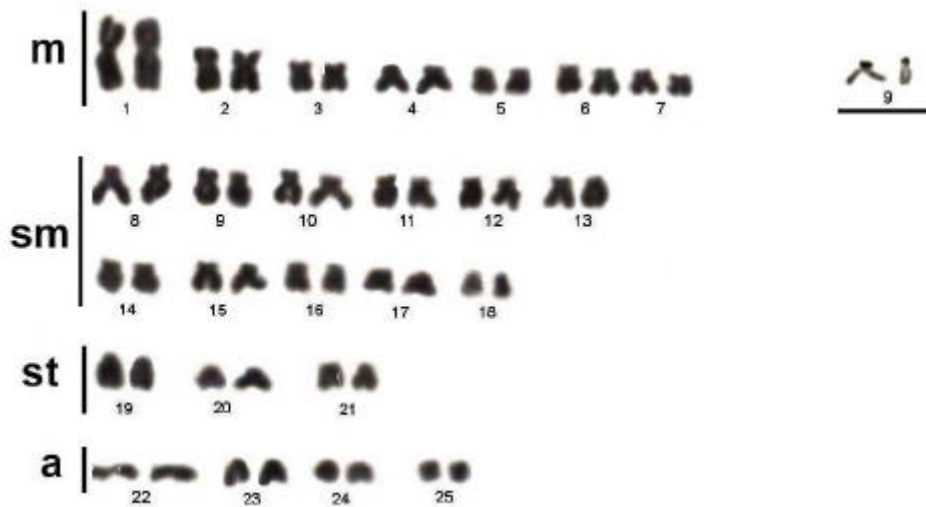


FIGURA 11. Cariograma de *Astyanax bimaculatus* da população, do ribeirão São Bartolomeu com $2n = 50$ cromossomos, obtido com coloração convencional. No canto superior direito os cromossomos portadores de regiões organizadoras do nucléolo (NORs).

2.5 – DISCUSSÃO

Com base nos dados obtidos, é evidente que as populações de peixes identificadas como pertencentes ao gênero *Astyanax* da bacia do rio Doce se acomodam de maneira variável aos critérios utilizados para definir outras espécies do gênero em outras bacias.

***Astyanax fasciatus*:** o número diplóide de 50 cromossomos e a fórmula cromossômica da população de *Astyanax fasciatus* do rio Piranga à jusante da Usina Hidrelétrica do Brito é inédita para este complexo de espécies, considerando que a maioria das populações analisadas de *Astyanax fasciatus* apresenta $2n=48$ cromossomos, e umas poucas populações apresentam $2n= 46$ cromossomos (Tabela II). Sugerindo assim se tratar esta população de uma nova espécie dentro do complexo *Astyanax*. Além das características morfométricas e merísticas, as populações indicadas como *Astyanax fasciatus* do rio Doce não apresentam cauda de cor vermelha intensa, uma

característica marcante das populações da mesma espécie que ocorrem nas bacias do São Francisco e do Paraná-Paraguai.

Astyanax scabripinnis: as populações de *A. scabripinnis* do rio Doce apresentaram variabilidade interpopulacional e corroboram padrões observados na literatura, como os indicados por Moreira-Filho e Bertollo (1991) em diversas populações de *A. scabripinnis* nas bacias do São Francisco e do Alto Paraná. Estes autores indicaram a ocorrência de três números diplóides neste complexo de espécies: $2n=46$ cromossomos em uma população da bacia do alto rio São Francisco (São Gonçalo do Abaeté – MG), $2n=48$ cromossomos em uma população da bacia do Paranapanema (ribeirão Marrecas, Londrina – PR) e $2n=50$ em cinco populações pertencentes às bacias do São Francisco, Tietê e Paranapanema (estas duas, dentro do Alto Paraná). Todas estas variações ocorreram da mesma forma que nossos resultados, em condições de alopatria. A fórmula cariotípica das populações dos rios Casca e das Pacas são pouco semelhantes, e as diferenças encontradas são consistentes com o padrão descrito por Moreira-Filho e Bertollo (1991), os quais sugerem uma tendência para *A. scabripinnis* das bacias indicadas, de manutenção do número de pares metacêntricos e subtelocêntricos em seus cariótipos. Moreira-Filho e Bertollo (1991) consideraram três e quatro o número de pares metacêntricos e subtelocêntricos, respectivamente, como uma característica plesiomórfica e as variações encontradas, como derivadas. Mesmo havendo grande variabilidade na morfologia cromossômica das populações avaliadas até o presente, outras populações mantêm o número diplóide primitivo de 50 cromossomos. Mizoguchi e Santos (1998) sugerem que nas situações onde ocorrem rearranjos cromossômicos, as inversões pericêntricas possuem maior relevância e que as diminuições do número diplóide, como no caso da população do ribeirão São Bartolomeu, se devem basicamente às fusões cêntricas.

Números variados de cromossomos com regiões organizadoras do nucléolo já foram anteriormente descritos para *A. scabripinnis*. Rocon-Stange e Almeida-Toledo (1993) descreveram para o rio Jucú, uma população onde os indivíduos apresentaram 13 cromossomos portadores de regiões organizadoras do nucléolo. Maistro *et al.* (2000) analisando uma população de *A. scabripinnis* do ribeirão Tamanduá, um pequeno tributário do rio Paranapanema em Itatinga, São Paulo, encontraram dois citótipos distintos, $2n=50$ ($6m+26sm+4st+14a$) e $2n=48$ ($6m+28sm+4st+10a$) ocorrendo em simpatria, todos eles caracterizados pela presença de apenas um par de cromossomos portadores de regiões organizadoras de nucléolo. Todavia, um indivíduo do citótipo I apresentou três pares portadores de NORs, configurando assim uma variação intra-específica para o número de pares portadores de regiões organizadoras do nucléolo, ou a existência de mais de dois citótipos naquele local. Sendo assim, a variação encontrada na distribuição das regiões organizadoras do nucléolo (população do rio Casca, um par; população do ribeirão São Bartolomeu, dois pares e a população do rio das Pacas, três pares) é considerada como característica da espécie. Na bacia do rio Doce, esta variação representa um bom caráter taxonômico para distinguir as populações do rio Casca e rio Das Pacas, as quais partilham o número diplóide de 50 cromossomos. A fórmula cariotípica é bastante diferente entre as populações, já que a população do rio Das Pacas não apresenta subteloentrícos.

Tabela II: Variação cariotípica de populações de *Astyanax fasciatus* em distintas bacias hidrográficas brasileiras.

População	Número diplóide	Fórmula cariotípica	Referência
São Bento Sapucaí (SP), (Alto Paraná)	$2n=48$	($10m+20sm+10s+8a$)	Heras e Moreira-Filho, 1996

rios Barra Funda, Passa Cinco (SP), (Alto Paraná)	2n=46	(9m+18sm+12st+7a)	Heras e Moreira-Filho 1996
rio Mogi-Guaçu (SP), (Alto Paraná)	2n=46	[9(13m)+18(16)sm+12st+7(5)a]	Heras e Moreira-Filho 1996
rio Paraibuna (SP), (bacia do Leste)	2n=48	(8m+18sm+12st+10a)	Heras e Moreira-Filho 1996
represa de Três Marias (MG), (bacia do São Francisco)	2n=48	(10m+14sm+14st+10a)	Heras e Moreira-Filho 1996
rio Juquiá (SP), (bacia Costeira)	2n=48	[10(8)m+24sm+12(14)st+2a],	Morelli <i>et al.</i> , 1983b.

Por outro lado, a população do ribeirão São Bartolomeu caracteriza-se por apresentar número diplóide de 48 cromossomos. As variações na distribuição das regiões organizadoras do nucléolo em peixes podem ser causadas por mecanismos de rearranjos cromossômicos e de transferências de sítios ribossomais, contudo eventos de transposição têm sido apontados como os responsáveis pela maioria dos casos de polimorfismos de NORs nesses animais (Galetti Jr. *et al.*, 1994 ; Almeida Toledo *et al.*, 1996). Segundo Hsu *et al.* (1975) os cariótipos com um único par de cromossomos portadores de NORs poderiam ser considerados como ancestrais daqueles cujas NORs estão distribuídas em diversos cromossomos.

A. scabripinnis caracteriza-se por ocorrer nas cabeceiras de córregos, provavelmente formando pequenas populações, um fator demográfico que seria decisivo para a diferenciação cromossômica, pois favoreceria a fixação de rearranjos cromossômicos, promovendo dessa

forma, a especiação (revisão em Sites e Moritz, 1987; Sites e Reeds, 1994). Nos últimos anos, outras características citológicas têm permitido considerar este complexo de espécies um modelo de estudo de fenômenos de variabilidade biológica. Assim, Néo *et al.* (2000) analisaram populações do complexo, coletadas em diferentes altitudes de Ribeirão Grande, Campos do Jordão - SP apresentaram $2n=50$ cromossomos. As populações coletadas a 1920 m, 51% dos indivíduos têm cromossomos B e a 1800 m, 21% apresentaram cromossomos deste tipo. Já os B's não aparecem em amostras coletadas a 700 m. Os cromossomos B destas populações são de três tipos diferentes, um metacêntrico grande semelhante ao primeiro par de homólogos e só identificável por bandamento C ou DAPI (Ferro *et al.*, 2003), um submetacêntrico grande e um pequeno metacêntrico. Estes autores interpretaram este padrão como originado por uma maior tolerância à presença de B's em ambientes com características ecológicas mais adequadas para a espécie, favorecidas pelo isolamento geográfico.

Astyanax bimaculatus: graças à presença de uma mancha umeral ovalada e uma mancha no pedúnculo caudal, *Astyanax bimaculatus* é, na bacia do Doce, a única espécie de fácil identificação dentro do gênero. Estes caracteres, na verdade, abrangem um conjunto de espécies (Garutti, 1995), as quais apresentam características morfológicas que permitem o reconhecimento de espécies endêmicas para as grandes bacias sul-americanas. Considerando os dados citogenéticos, este complexo de espécies é conservador em termos de número diplóide, visto que todas as populações estudadas têm apresentado $2n=50$ cromossomos (Heras e Moreira-Filho, 1996; Jim e Toledo, 1975; Morelli *et al.*, 1983b). Por outro lado, as variações estruturais encontradas entre os cariótipos das populações provavelmente estão relacionadas a processos evolutivos de diferenciação específica. Desta forma, as populações dos rios Juquiá (SP) e Mogi-Guaçu (SP) que possuem $2n=50$ cromossomos (Morelli *et al.*, 1983b) indicam que as diferenças cariotípicas para a espécie nas

duas bacias são “pouco significativas” com uma fórmula cariotípica (10m+24sm+4st+12a) para a população do Mogi-Guaçu (Alto Paraná) e (6m+22sm+12st+10a) para a população do rio Juquiá (bacia do Leste). Por outro lado, uma população do rio Meia Ponte (GO) (bacia do Paranaíba, Alto Paraná), apresentou (26sm+24a), (Jim e Toledo, 1975). Mesmo considerando estabilidade de número diplóide, é interessante que *A. bimaculatus* da bacia do rio Doce apresente um número de metacêntricos diferente ao das populações do rio Juquiá, já que ambas são integrantes das bacias do Leste. Embora deva se considerar a distancia entre as populações visto que os espécimes analisados provenientes do rio Piranga e do ribeirão São Bartolomeu (localidades mais próximas entre si) apresentaram o mesmo cariótipo, diferindo embora pouco da população analisada no rio Santo Antonio. Embora Garutti e Bristki (2000) considerem que o Alto Paraná apresenta uma espécie endêmica (*Astyanax altiparanae*), as diferenças cariotípicas entre as populações do Mogi-Guaçu e da bacia do Paranaíba sugerem maior grau de diversidade evolutiva no Alto Paraná, como foi posteriormente confirmado por Pacheco *et al.* (2001), onde a espécie apresenta três citótipos sem alteração do número diplóide.

2.6 – CONCLUSÕES

***Astyanax fasciatus*:** possivelmente a população de *Astyanax fasciatus* desta bacia seja uma nova espécie, visto que os dados citogenéticos encontrados não condizem com os da literatura e que características típicas da espécie, como o rabo avermelhado, não caracterizam as populações na bacia.

***Astyanax scabripinnis*:** as populações alopátricas de *Astyanax scabripinnis* apresentaram significativas diferenças citogenéticas dentro

da bacia, mas o padrão observado nas outras bacias é muito complexo e não permite determinar características únicas do *A. scabripinnis* do rio Doce. Considerando que as diferenças foram observadas em alopatria, a análise dos citótipos em condições de simpatria permitirá determinar o status taxonômico das populações na bacia.

Astyanax bimaculatus: devido a grande estabilidade cariotípica *Astyanax bimaculatus* parece se tratar de uma unidade taxonômica ao longo da bacia do rio Doce, embora diferente de todas as outras da região neotropical.

3 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida Toledo, L.F., Foresti, F., Toledo Filho, S.A. 1980. Estudos Citogenéticos em Gymnotoidei (Pisces, Ostariophysi) Bandas C e Organizadores Nucleolares em *Eigenmannia virescens*. Ciência e Cultura Supl. 32: 719.
- Almeida Toledo, L.F., Foresti, F., Toledo Filho, S.A. 1984. Complex Sex Chromosome System in *Eigenmannia* sp. (Pisces, Gymnotiformes). Genetica 64: 165-169.
- Almeida Toledo, L.F. e Foresti, F. 1985. As regiões organizadoras do nucléolo em peixes. Ciência e Cultura 37: 448-453.
- Almeida Toledo, L.F., Foresti, F., Toledo Filho, S.A., Bernardino, G., Ferrari, W. e Alcântara, R.C.G. 1987. Cytogenetic studies of *Colossoma mitrei*, *Colossoma macropomum* and their interspecific hybrid. Proceedings of the World Symposium on Selection, Hybridization and Genetic Engineering in Aquaculture, pp. 189-195.
- Almeida Toledo, L.F., Bigoni, A. P., Bernardino, G., Foresti, F. e Toledo-Filho, S.A., 1996. Karyotype and NOR conservation with heterochromatin reorganization in Neotropical Bryconids. Caryologia 49: 35-43.
- Bertollo, L.A.C. 1978. Estudos Citogenéticos no Gênero *Hoplias* Gill, 1903 (Pisces, Erythrinidae). Tese de Doutorado. Departamento de Genética e Matemática Aplicada. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo.
- Bertollo, L.A.C., Takahashi, C.S., Moreira-Filho, O. 1979. Karyotypic Studies of Two Allopatric Populations of the Genus *Hoplias* (Pisces, Erythrinidae). Revista Brasileira de Genética 2: 17-37.
- Bertollo, L.A.C., Born, G.G., Dergam, J.A. Fenocchio, A.S. e Moreira-Filho, O. 2000. A biodiversity approach in the neotropical Erythrinidae fish, *Hoplias malabaricus*. Karyotypic survey, geographic distribution of cytotypes and cytotaxonomic considerations. Chromosome Research 8: 603-613.
- BÖLKE, J. E., WEITZMAN, S.H. e MENEZES, N.A. 1978. Estado Atual da Sistemática dos Peixes de Água Doce da América do Sul. Acta Amazônica, v.8, n°4, p.657-677.

- BRITSKI, H.A. 1972. Comissão Interestadual da Bacia Paraná-Uruguaí ed. editors. Poluição e Piscicultura. São Paulo: Comissão Interestadual da Bacia Paraná-Uruguaí ed. v. 103-1.
- Cardoso, A. R. 2003. Subfamília Rhoadsiinae. Pp. 213-214. In: Checklist of the Freshwater Fishes of Central and South America. Reis, R.E., Kullander, S.O. e Ferraris Jr., C.J. EDIPUCRS, PUC, Porto Alegre, RS. 729 p.
- Carvalho, M.L., C. Oliveira, e F. Foresti. 2001. Cytogenetic analysis of three species of the families Characidae and Curimatidae (Teleostei, Characiformes) from the Acre River. Chrom. Sci. 5: 91-96.
- Egozcue, J. 1971. Técnicas em Citogenética. Editorial , Barcelona, 144p.
- Eigenmann, C.H. 1918. The American Characidae. Mem. Mus. Comp. Zool. 43: 103-208.
- Eigenmann, C.H. 1921. The American Characidae. Mem. Mus. Comp. Zool. 43: 209-310.
- Eigenmann, C.H. 1927. The American Characidae. Mem. Mus. Comp. Zool. 43: 311-428.
- Falcão, J.N. e Bertollo, L.A.C. 1985. Chromosome characterization in Acestrorhynchinae e Cynopotaminae (Pisces, Characidae). J. Fish Biol. 27: 603-610.
- Feldberg, E. e Bertollo, L.A.C. 1985. Karyotypes of 10 species of Neotropical Cichlids (Pisces, Perciformes). Caryologia 38: 257-268.
- Feldberg, E., Porto, J.I.R., Nakayama, C.M., Bertollo, L.A.C. 1993. Karyotype evolution in Curimatidae (Teleostei, Characiformes) of the Amazon Region. II. Centric fissions in the genus *Potamorhina*. Genome 36: 373-376.
- Ferro, D.A.M., Moreira-Filho, O., e Bertollo, L.A. C. 2003. B chromosome polymorphism in the fish, *Astyanax scabripinnis*. Genetica 119:147-153.
- Fink, S.V. e Fink, W.L. 1981. Interrelationships of the Ostariophysi fishes (Teleostei). Zool. J. Linn. Soc. 72:297-353.

- Foresti, F., Almeida-Toledo, L.F., Toledo-Filho, S.A. 1984. Chromosome studies in *Gymnotus carapo* and *Gymnotus sp.* (Pisces, Gymnotidae). *Caryologia* 37:141-146.
- Galetti, Jr. e Foresti, F. 1986. Evolution of the ZZ/ZW heterogamety in *Leporinus* (Pisces, Anostomidae). *Cytogen. Cell Genet.* 43:43-46.
- Galetti, Jr., Foresti, F., Bertollo, L.A.C., Moreira - Filho, O. 1981. Heteromorphic Sex chromosomes in three species of the genus *Leporinus* (Pisces, Anostomidae). *Cytogen. Cell Genet.* 29:138-142.
- Galetti, Jr., P.M. Bertollo, L.A.C. e Moreira - Filho, O. 1994. Trends in chromosome evolution of Neotropical characiform fishes. *Caryologia* 47:289-298.
- Garutti, V. 1995. Revisão taxonômica dos *Astyanax* (Pisces, Characidae), com mancha umeral ovalada do pedúnculo caudal, estendendo-se à extremidade dos raios caudais medianos, das bacias do Paraná, São Francisco e Amazônica. 286p. Tese de Livre Docência em Zoologia (Vertebrados), Instituto de Biociências, letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, São Paulo.
- Garutti, V. e Britski, H.A. 2000. Descrição de uma nova espécie de *Astyanax* (Teleostei: Characidae), da bacia do alto do rio Paraná e considerações gerais sobre as demais espécies do gênero na bacia. *Comum. Mus. Ciênc. Tecnol. PUCRS. Ser. Zool. Porto Alegre*, 13:65-88.
- GÉRY, J. 1977. Characoids of the world. T. F. H. publications 672p.
- Gold, J. R. e Avise, L.C. 1977. Cytogenetic Studies in North American minnows (Cyprinidae) I. Karyology of nine California genera. *Copeia* 3: 541-549.
- Gold, J.R., e Li, Y.C. 1991. Trypsin G-banding of North American Cyprinid Chromosomes: phylogenetic considerations, implications for fish chromosome structure, and chromosomal polymorphism. *Cytologia* 56:199-208.
- Gold, J. R., Womac, W.D., Deal, F.H., Barlow Jr., J.A. 1978. Gross karyotypic change and evolution in North American Cyprinidae fishes. *Gen. Res.* 32: 37-46.

- Goodpasture, C. e Bloom, S.E. 1975. Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromosomes using silver staining. *Chromosoma (Berl.)* 53: 37-50.
- Guerra, S.M. 1988. Introdução a Citogenética Geral. Rio de Janeiro: Guanabara, 142p.
- Henderson, A.S., Warburton, D., Atwood, K.C. 1974. Localization of rDNA in the *Rhesus (Macaca mulatta)* chromosome complement. *Chromosoma* 44: 367-370.
- Heras, M.P. e Moreira - Filho, O. 1996. Novos dados sobre a variabilidade cariotípica de *Astyanax fasciatus* Cuvier, 1819 (Pisces, Characidae). VI Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais. UFSCar São Carlos, São Paulo, Brasil.
- Hillis, D.M., C. Moritz e B.K. Mable. 1996. *Molecular Systematics*. Segunda Edição. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Howell, W.M. e Black, D.A. 1980. Controlled silver-staining of nucleolar organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia* 36: 1014-1015.
- Hsu, T. C., Spirito, S. E. e Pardue, M. L. 1975. Distribution of 18 + 28S ribosomal genes in mammalian genomes. *Chromosoma* 53: 25-33.
- Jégu, M. 2003. Subfamily Serrasalminae. Pp. 182-196. In: Checklist of the Freshwater Fishes of Central and South America. Reis, R.E., Kullander, S.O. e Ferraris Jr., C.J. EDIPUCRS, PUC, Porto Alegre, RS. 729 p.
- Jim, S.M. and Toledo, V. 1975. Citogenética de *Astyanax fasciatus* e *Astyanax bimaculatus* (Characidae, Tetragonopterinae). *Ciênc. Cult.* 27:1122-1124.
- Le Grande, W.H. 1981. Chromosomal evolution in North American catfishes (Siluriformes, Ictaluridae) with particular emphasis on the madtoms *Noturus*. *Copeia* 1981: 33-52.
- Levan, A., Fredga, K., e Sandberg, A.A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52: 201-220.
- Lima, R.S. 2003. Subfamily Aphyocharacinae. Pp. 197-199. In: Checklist of the Freshwater Fishes of Central and South America. Reis, R.E.,

- Kullander, S.O. e Ferraris Jr., C.J. EDIPUCRS, PUC, Porto Alegre, RS. 729 p.
- Lima, F.C.T. 2003a. Subfamily Bryconinae. Pp.174-181. In: Checklist of the Freshwater Fishes of Central and South America. Reis, R.E., Kullander, S.O. e Ferraris Jr., C.J. EDIPUCRS, PUC, Porto Alegre, RS. 729 p.
- Lima, F.C.T. 2003b. Subfamily Clupeocharacinae. Pp.171. In: Checklist of the Freshwater Fishes of Central and South America. Reis, R.E., Kullander, S.O. e Ferraris Jr., C.J. EDIPUCRS, PUC, Porto Alegre, RS. 729 p.
- Lima, F.C.T. e Zanata, A. 2003. Subfamily Agoniatinae. Pp. 170. In: Checklist of the Freshwater Fishes of Central and South America. Reis, R.E., Kullander, S.O. e Ferraris Jr., C.J. EDIPUCRS, PUC, Porto Alegre, RS. 729 p.
- Lowe-McConnell, R.H. 1987. Ecological studies in tropical fish communities. Cambridge Tropical Biology Series. Cambridge University Press. Cambridge, Estados Unidos. 382 p.
- Lucena, C.A.S. e Menezes, N.A. 2003. Subfamily Aphyocharacinae. Pp. 200-208. In: Checklist of the Freshwater Fishes of Central and South America. Reis, R.E., Kullander, S.O. e Ferraris Jr., C.J. EDIPUCRS, PUC, Porto Alegre, RS. 729 p.
- Lundberg, J.G. 1997. Fishes of the La Venta fauna: additional taxa, biotic and paleoenvironmental implications. Pp. 67-91 In: R.F. Kay, Madden, R.H., Cifelli, R.F. e Flynn, J.J. (eds.) Vertebrate Paleontology in the Neotropics: The Miocene fauna of La Venta, Colômbia. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C, Estados Unidos.
- Lundberg, J.G. 1998. The temporal context for the diversification of Neotropical Fishes. Pp. 49-68. In: Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes. Malabarba, L.R., Reis, R.E., Vari, R.P., Lucena Z.M.S. e Lucena, C.A.S. (eds.). EDIPUCRS, PUC, Porto Alegre, RS. Brasil. 603 p.
- Maistro, E. L., Oliveira, O. e 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.

- Malabarba, M.C.S.L. 1998. Phylogeny of fossil Characiformes and paleobiogeography of the Tremembé formation, São Paulo, Brazil. Pp. 69-110. In: Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes. Malabarba, L.R., Reis, R.E., Vari, R.P., Lucena Z.M.S. e Lucena, C.A.S. (eds.). EDPUCRS, PUC, Porto Alegre, RS. Brasil. 603 p.
- Malabarba, L.R. 2003. Subfamily Cheirodontinae. Pp. 215-221. In: Checklist of the Freshwater Fishes of Central and South America. Reis, R.E., Kullander, S.O. e Ferraris Jr., C.J. EDIPUCRS, PUC, Porto Alegre, RS. Brasil. 729 p.
- Mathey, R. 1949. Les chromossomes des vertébrés. Rouge, Lausanne.
- MELO, F. A .G. de. 2000. A Serra dos Órgãos como barreira biogeográfica para peixes dos gêneros *Astyanax* Baird e Girard (1854) e *Deuterodon* Eigenmann (1907) (Teleostei: Characiformes: Characidae). Dissertação (mestrado), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Museu Nacional, Pós – Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia). 139p.:il.
- Miller, O.J.; Miller, D.A.; Dev, V.G.; Tantravati, R.; Croce, C.M. 1976. Expression of human and suppression of mouse nucleolus organizer activity in mouse-human somatic cell hybrids. Proc. Natn. Acad. Sci., USA 73: 4531-4535.
- Mizoguchi, S. M. H. N. e Martins – Santos, I. C. 1998. Cytogenetics and morphometric differences in populations of *Astyanax "scabripinnis"* (Pisces, Characidae) from Maringá region, PR. Genet. Mol. Biol. 21(1): 55-61.
- Moreira, C.M. 2003. Subfamily Iguanodectinae. Pp. 172-173. In: Checklist of the Freshwater Fishes of Central and South America. Reis, R.E., Kullander, S.O. e Ferraris Jr., C.J. EDIPUCRS, PUC, Porto Alegre, RS. 729 p.
- Moreira-Filho, O. 1983. Estudos na família Parodontidae (Pisces, Cypriniformes) da bacia do rio Passa-Cinco, SP: Aspectos Citogenéticos e Considerações Correlatas. Dissertação de mestrado. Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Carlos-SP.
- Moreira-Filho, O. e Bertollo, L.A.C. 1986. Estudo cariotípico comparativo nos grupos "*fasciatus*" e "*scabripinnis*" (Teleostei, Characiformes, Characidae). I Simpósio de Citogenética Aplicada de Peixes Neotropicais. Resumos, São Carlos, São Paulo. Brasil. pp.50.

- Moreira-Filho, O., Bertollo, L.A.C. 1991. *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae): A species complex. Rev. Brasil. Genet. 14:331-357.
- Moreira-Filho, O., Bertollo, L.A.C., Galetti Jr., P.M. 1980. Evidences for a multiple Sex chromosome system with female heterogamety in *Apareiodon affinis* (pisces, Parodontidae). Caryologia 33: 83-91.
- Morelli, S. 1981. Aspectos citogenéticos do gênero *Astyanax* (Pisces, Characidae). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- Morelli, S.; Bertollo, L.A.C.; Foresti, F.; Moreira-Filho, O.; Toledo Filho, S.A. 1983B. Cytogenetic considerations on the genus *Astyanax* (Pisces, Characidae). I. Karyotypic variability. Caryologia 36:235-244.
- Moyle, P.B. e Cech, J.J., 1988. Fishes – an Introduction to Ichthyology. New Jersey: Prentice-Hall. Estados Unidos.
- Muramoto, J.I., Ohno, S., e Atkin, N.B. 1968. On the diploid state of the fish order Ostariophysi. Chromosoma 24: 59-66.
- Néo, D.M., Bertollo, L.A.C., Moreira-Filho, O. 2000. Morphological differentiation and possible origin of B chromosomes in natural Brazilian populations of *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae). Genética 108:211-215.
- Ojima, Y., K. Ueno, e Hayashi, M. 1976. A review of the chromosome numbers in fishes. La Kromosomo 2:19-47.
- Oliveira, C., Toledo, L.F.A., Foresti, F., Britski, H.A., Toledo-Filho, S.A. 1988. Chromosome formulae of Neotropical freshwater fishes. Rev. Bras. Gen. 11: 577-624.
- Pacheco, R.B., Giuliano-Caetano, L., e Dias, A.L. 2001. Cytotypes and multiple NORs in an *Astyanax altiparanae* population (Pisces, Tetragonopterinae). Chrom. Sci. 5:109-114.
- Paganelli, H.H. e Moreira-Filho, O. 1986. Considerações cariotípicas de *Astyanax fasciatus* (Characiformes, Characidae) de três bacias hidrográficas. XIII Congresso Brasileiro de Zoologia. Resumos. P.20.
- Pauls, E. 1985. Considerações sobre a evolução cromossômica e sistema de cromossomos supranumerários em espécies do gênero *Prochilodus* (Pisces, Prochilodontidae). Tese de Doutorado.

Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Carlos, SP. Brasil. 156p.

Reis, R.E., 2003. Subfamily Stethaprioninae. Pp. 209-211. In: Checklist of the Freshwater Fishes of Central and South America. Reis, R.E., Kullander, S.O. e Ferraris Jr., C.J. EDIPUCRS, PUC, Porto Alegre, RS. 729 p.

Reis, R.E., S.O. Kullander e C.J., Ferraris Jr. 2003. In: Checklist of the Freshwater Fishes of Central and South America. Reis, R.E., Kullander, S.O. e Ferraris Jr., C.J. EDIPUCRS, PUC, Porto Alegre, RS. 729 p.

Rocha, M.P. 2000. Análise cariotípica de dez espécies de abelhas do gênero *Melípona Illiger*, 1806 (Hymenoptera, Apidae), baseada em padrões de heterocromatina. Tese de mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

Rocon – Stange, E. A. and Almeida – Toledo, L. F. 1993. Supernumerary B chromosomes restricted to males in *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae). Rev. Bras. Genet. 16 (3): 601-615.

Rosen, D.E. e Greenwood, P.H. 1970. Origin of the Weberian apparatus and the relationships of the Ostariophysan and the Gonorhynchiform fishes. Am. Mus. Novitates 2428: 1-25.

Scheel, J.J. 1973. Fish chromosomes and their evolution. Internal Report of Denmark's Akvarium, 1-22. Charlottenlund, Dinamarca.

Schmid, M. 1978. Chromosome banding in Amphibia. I. Constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions in *Bufo* and *Hyla*. Chromosoma (Berl.), 66:361-388.

Schmid, M. 1980. Chromosome banding in Amphibia. V. Highly differentiated ZW/ZZ sex chromosomes and exceptional genome size in *Pyxicephalus adspersus* (Anura, Ranidae). Chromosoma (Berl.), 80: 69-96.

Schmid, M. 1982. Chromosome banding in Amphibia. VII. Analysis of the structure and variability of NORs in Anura. Chromosoma (Berl.), 87: 327-344.

Sessions, K. 1996. Chromosomes: Molecular Cytogenetics. Pp. 121-168. In: Molecular Systematics. Hillis, D.M., Moritz, C. e Mable, B.K. (eds.). Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

- Sites, J.W., e Moritz, C.. 1987. Chromosome change and speciation revisited. *Syst. Zool.* 36:153-174.
- Sites, J.W., e Reeds, K.M. 1994. Chromosomal evolution, speciation, and systematics, some relevant issues. *Herpetologica* 50: 237-249.
- Sumner, A.T. 1990. Chromosome Banding. London, Unwin Hyman, 434p.
- Vari, R.P. 1987. The Curimatidae, a lowland neotropical fish family (Pisces: Characiformes); distribution, endemism, and phylogenetic biogeography. p. 343-377. *In: Proceedings of a workshop on Neotropical distribution patterns.* P. E. Vanzolini and W. R. Heyer (eds.). Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- Vari, R.P. and Malabarba, L.R. 1998. Neotropical Ichthyology: An Overview. *In: Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes.* Malabarba, L.R., Reis, R.E., Vari, R.P., Lucena Z.M.S. e Lucena, C.A.S. (eds.). EDPUCRS, PUC, Porto Alegre, RS. 603 p.
- VÊNERE, P.C. 1991. Citogenética comparativa de peixe da família Curimatidae (Characiformes). Tese de Mestrado, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.
- Yonenaga, Y.; Frota-Pessoa, O.; Kasahara, S.; Almeida E.J.C. 1976. Cytogenetics studies on Brazilian rodents. *Ciência e Cultura*, 28, 202-211.
- Weitzman, S.H. e Fink, W.L. 1983. Relationships of the neon tetras, a group of South American freshwater fishes (Teleostei: Characidae), with comments on the phylogeny of New World characiforms. *Bull. Mus. Comp. Zool.*, 150(6): 339-395.
- Weitzman, S.H. e Malabarba, L.R. 1998. Perspectives about the phylogeny an classification of the Characidae (Teleostei: Characiformes). Pp. 161-170. *In: Checklist of the Freshwater Fishes of Central and South America.* Reis, R.E., Kullander, S.O. e Ferraris Jr., C.J. EDIPUCRS, PUC, Porto Alegre, RS. 729 p.
- White, M.J.D. 1973. Animal cytology and evolution. London: Cambridge University Press, 961p.
- White, M.J.D. 1978. Modes of Speciation. Copyright by W.H. Freeman and Company.
- Zanata, A.M., 2000. Estudo das relações filogenéticas do gênero *Brycon* Muller e Troschel, 1844 (Characidae; Characiformes). Tese de

doutorado. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 358p.