

Diversificação cromossômica estrutural em dois bagres marinhos (Ariidae) do Atlântico Sul

Washington Candeia de Araújo^{1*}, Divana Eliva Oliveira Alves², Roberto Ferreira Artoni³, Thaís Saad Sczepanski⁴, Gideão Wagner Werneck Félix da Costa⁵, Wagner Franco Molina⁶

1. Biólogo (Universidade Federal da Paraíba). Doutorando em Bioquímica (Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil).

2. Graduação em Aquicultura, Doutoranda em Biotecnologia-RENOBIO (Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil).

3. Biólogo, Doutor em Genética e Evolução (Universidade Federal de São Carlos, Brasil). Professor da Universidade Estadual de Ponta Grossa, Brasil.

4. Bióloga, Doutora em Genética (Universidade Federal do Paraná, Brasil).

5. Biólogo, Doutor em Biotecnologia (Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil).

6. Biólogo (Universidade Federal do Rio Grande do Norte). Doutor em Genética e Evolução (Universidade Federal de São Carlos). Professor da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil.

* washingtoncandeia@yahoo.com.br

RESUMO. Siluriformes constitui um dos mais diversificados grupos da ictiofauna neotropical. Cerca de 1.750 espécies ocorrem exclusivamente nas Américas. Diante do elevado número de espécies, ampla distribuição geográfica e similaridades morfológicas, ainda persistem muitas questões acerca das relações entre algumas famílias e espécies. Uma das duas famílias desta Ordem que podem habitar o ambiente marinho, Ariidae apresenta inúmeras incertezas taxonômicas. Análises citogenéticas em espécies Atlânticas ainda são incipientes. Visando avaliar a diversidade cariotípica e inferir acerca da história evolutiva deste clado aqui são apresentados dados cromossômicos das espécies *Cathorops spixii* e *Sciades* sp., presentes no extenso litoral nordeste brasileiro. Ambas as espécies possuem um mesmo número diploide, $2n=56$, mas com diferenças marcantes entre as fórmulas cromossômicas de *C. spixii* ($12m+16sm+24st+4a$; $NF=108$) e *Sciades* sp. ($14m+10sm+22st+10a$; $NF=102$). Ambas as espécies apresentam RONS (regiões organizadoras de nucléolos) múltiplas, na porção terminal de dois pares cromossômicos. Os padrões cariotípicos destas e de outras espécies de Ariidae indicam que inversões pericêntricas representam o principal mecanismo envolvido na diversificação cromossômica da família. Incertezas taxonômicas em alguns taxa e a ocorrência de variações cariotípicas interpopulacionais em espécies de Ariidae, suscitam análises pormenorizadas utilizando o mapeamento de seqüências repetitivas com vistas a identificação de possíveis espécies crípticas nesta família ao longo do litoral brasileiro.

Palavras-chave: *Cathorops spixii*, *Sciades* sp., inversões pericêntricas, citogenética de peixes, bagres marinhos.

Structural chromosome diversification in two Southern Atlantic marine catfishes (Ariidae)

ABSTRACT. Siluriforms is one of the most diverse groups of the Neotropical *ichthyofauna*. About 1,750 species occurs exclusively in the Americas. In view the high number of species, geographical widespread and morphological similarities, there are still many questions about the relationship among some families and species. One of the two families in this Order that inhabit the marine environment, Ariidae shows numerous taxonomic uncertainties. Cytogenetic analysis in Atlantic species are still incipient. To evaluate the karyotype diversity and infer the evolutionary history of this clade are presented here chromosomal data of species *Cathorops spixii* and *Sciades* sp. distributed in the northeastern Brazil coastline. Both species have the same diploid number $2n=56$, but with marked differences between chromosomal formulas. In fact, *C. spixii* shows $12m+16sm+24st+4a$ ($NF=108$) and *Sciades* sp. presents $14m+10sm+22st+10a$ ($NF=102$). Both species have multiple NORs (nucleolar organizer regions), localized in the terminal portion of two chromosome pairs. The karyotypic patterns of these and other species of Ariidae indicates that pericentric inversion represent that the main mechanism involved in chromosomal diversity of the family. Taxonomic uncertainty in some taxa and the occurrence of interpopulational karyotypic variations in species Ariidae, raise detailed analyzes using the mapping of repetitive sequences in order to identify possible cryptic species in this family along the Brazilian coast.

Keywords: *Cathorops spixii*, *Sciades* sp., pericentric inversions, fish cytogenetics, marine catfishes.

1. Introdução

Aproximadamente um em cada vinte vertebrados é um bagre (NELSON, 2006). Esses peixes, inseridos na ordem Siluriformes, estão entre os grupos mais especiosos da Ictiofauna Neotropical, estando também distribuídos nas demais regiões biogeográficas. Compreendem 39 famílias (VAN DER LAAN et al., 2014), 446 gêneros, cerca de 2.867 espécies sendo 2.740 de dulcícolas, com cerca de 60% ocorrendo exclusivamente nas Américas (NELSON, 2006). Siluriformes constitui um grupo de peixes dominantes nas águas doces de todo o mundo, com uma grande irradiação neste ambiente (96% das espécies viventes). Seu sucesso evolutivo remonta o Cretáceo (~63 M.A) tendo sido encontrados em todos os continentes (com exceção da Austrália), inclusive na Antártida, o que sugere uma distribuição cosmopolita de longa data (LUNDBERG, 1993; DE LA PENA; SOLER-GIJÓN, 1996; GRANDE; DE PINNA, 1998; CIONE; PRASAD, 2002).

Diante de tamanha diversidade de espécies continentais, apenas duas famílias de Siluriformes (Plotosidae e Ariidae)

apresentam espécies estritamente marinhas. Dentre elas, Ariidae é formada por aproximadamente 150 espécies que habitam ambientes marinhos, estuarinos e dulcícolas em regiões tropicais e subtropicais (MARCENIUK; MENEZES, 2007). As espécies desta família apresentam uma morfologia externa muito semelhante entre si, tornando sua classificação e diagnose difícil. A forma e disposição das placas de dentes relacionadas ao vômer e das placas acessórias é a característica mais empregada na diagnose dos gêneros - embora, valores informativos sejam reconhecidos como inconsistentes para este fim (MARCENIUK; MENEZES, 2007). Análises morfológicas e moleculares têm sido utilizadas visando elucidar as relações filogenéticas entre os táxons que compõem Ariidae. Essas abordagens têm suportado a monofilia da família (SULLIVAN et al., 2006; ACERO; BETANCUR-R, 2007; MARCENIUK; MENEZES, 2007; BETANCUR-R et al., 2007; MARCENIUK et al., 2012).

Dados cromossômicos têm sido extensivamente utilizados no entendimento das relações intra e interfamiliares de Siluriformes continentais (ver ARTONI et al., 2001; ALVES et

al., 2006; GARCIA; MOREIRA-FILHO, 2005). Inversões pericêntricas são rearranjos frequentes na diversificação dos cariótipos desses peixes. Em menor escala ocorrem também fissões e fusões cêntricas que juntos resultam em mudanças no número de braços cromossômicos ou número fundamental (NF; número de braços cromossômicos) e variações dos números diploides (LEGRANDE, 1981; OLIVEIRA et al., 1988).

Em algumas famílias de Siluriformes, os dados citogenéticos disponíveis possuem ampla extensão filogenética (ARTONI; BERTOLLO, 2001; MARTINEZ et al., 2011) e alto grau de resolução das técnicas empregadas (ROSA et al., 2012; BLANCO et al., 2014). Por outro lado, estudos cromossômicos em espécies marinhas, incluindo Ariidae, são incipientes (Sczepanski et al., 2010), sobretudo para a região Nordeste do Brasil. A ampliação dos dados citogenéticos nesta família propiciará um acurado reconhecimento da diversidade de espécies e dos aspectos evolutivos dos cromossomos. Diante disso, aqui são apresentadas análises citogenéticas comparativas das espécies *Cathorops spixii* e *Sciades* sp. da costa do Rio Grande do Norte, região nordeste do Brasil, utilizando técnicas de bandamento C, Ag-RONs, coloração com CMA₃, além do mapeamento físico de sítios ribossomais 18S, através de hibridização *in situ* fluorescente (FISH).

2. Material e Métodos

Para as análises citogenéticas foram amostrados seis exemplares de *Cathorops spixii* (AGASSIZ, 1829) e quatro espécimes de *Sciades* sp., todos imaturos, coletados no litoral do Rio Grande do Norte, região nordeste do Brasil. Os exemplares foram submetidos à estimulação mitótica por 24 horas utilizando complexos de lisados bacterianos e fúngicos (MOLINA, 2001; MOLINA et al., 2010). Posteriormente os cromossomos mitóticos foram obtidos através de cultivo de curto tempo de acordo com GOLD et al. (1990). Os cromossomos foram corados com Giemsa 5%, diluído em tampão fosfato pH 6,8. Análises citogenéticas foram realizadas utilizando microscópio ótico com aumento de 1.000 X. Um total de 30 metáfases de cada exemplar foram analisadas a fim de se determinar o número diploide para as duas espécies.

Os cístrons ribossomais foram caracterizados através da técnica Ag-RON (HOWELL; BLACK, 1980) e sítios DNAr 18S fisicamente mapeados com o uso da *fluorescence in situ hybridization* (FISH). As regiões heterocromáticas foram identificadas de acordo com SUMMER (1972). Adicionalmente, as preparações cromossômicas foram coradas com os fluorocromos cromomicina (CMA₃) e 4', 6'-diamidino-2-fenilindol (DAPI) (SCHWEIZER, 1980).

As preparações da FISH foram realizadas de acordo com PINKEL et al. (1986). Sondas DNAr 18S, com aproximadamente 1400bp, foram obtidas por *Polimerase Chain Reaction* (PCR) a partir do DNA do peixe *Lutjanus alexandrei*, usando os primers NS1 5'-GTA GTC ATA TGC TTG TCT C-3' e NS8 5'-TCC GCA GGT TCA CCT ACG GA-3' (WHITE et al., 1990). A sonda foi marcada com biotin-14-dATP por *nick translation* de acordo com as instruções do fabricante (BioNick™ Labeling System, Invitrogen, San Diego, CA, USA).

As melhores metáfases foram fotografadas em microscópio Olympus BX50, com sistema digital de captura

Olympus DP73, utilizando o software cellSens (Olympus Optical Co. Ltd.).

Para a montagem dos cariótipos, os cromossomos foram organizados em ordem decrescente de tamanho e classificados em grupos de acordo com a razão entre os braços (LEVAN et al., 1964). Para a definição do número fundamental (número de braços cromossômicos, NF), os cromossomos metacêntricos, submetacêntricos e subtelo-cêntricos foram considerados com dois braços, enquanto os cromossomos acrocêntricos com um único braço. Esta definição foi aplicada também para outras espécies da família previamente analisadas (Tabela 1) com a finalidade de comparações interespecíficas.

3. Resultados

Cathorops spixii apresentou $2n=56$ cromossomos, com fórmula cariotípica $14m+20sm+18st+4a$ (NF=108) (Figura 1a). *Sciades* sp., por sua vez, apresentou $2n=56$ cromossomos, com um cariótipo composto por $14m+14sm+24st+4a$ (NF=108) (Figura 1b). Ambas as espécies apresentam dois pares organizadores nucleolares, de tamanho médio, cujos sítios Ag-RONs/CMA⁺, confirmados com sondas de DNAr 18S (Figura 1, em destaque), estão localizados em posição terminal nos braços curtos (Figura 2).

Em *C. spixii* e em *Sciades* sp. as heterocromatinas estavam distribuídas nas regiões centroméricas, pericentroméricas, bem como em posição terminal em alguns pares cromossômicos. Nos pares submetacêntricos regiões heterocromáticas conspícuas podem ocupar todo o braço curto dos cromossomos (Figura 2d, e).

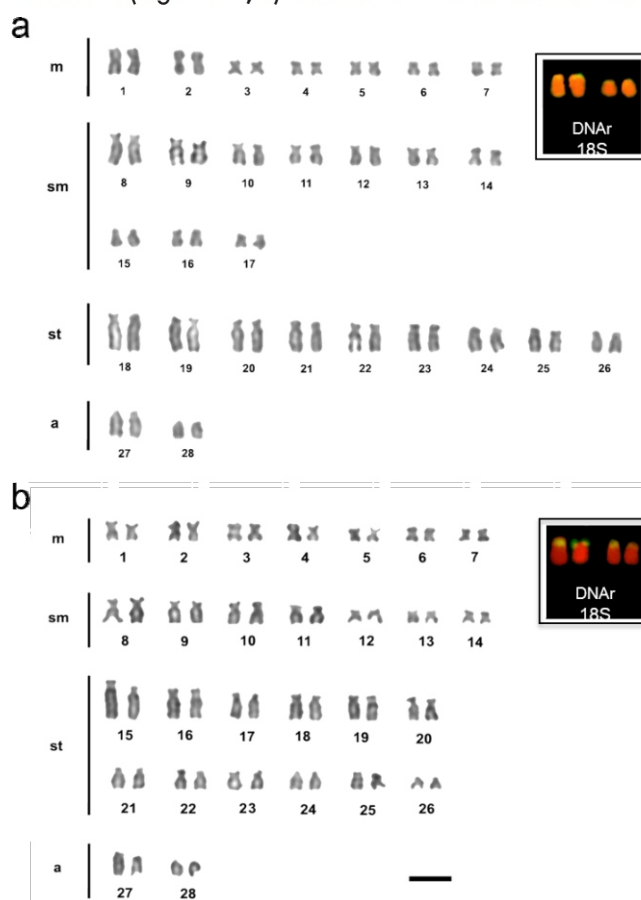


Figura 1. Cariótipo de *Cathorops spixii* (a); e *Sciades* sp. (b) submetidos à coloração convencional com Giemsa. Em destaque, os pares portadores de sítios DNAr 18S identificados através da FISH. Barra=5μm. / **Figure 1.** Karyotype of *Cathorops spixii* (a); and *Sciades* sp. (b) by Giemsa staining. In the boxes, the pairs bearing 18S rDNA sites identified by FISH technique. Bar = 5μm.

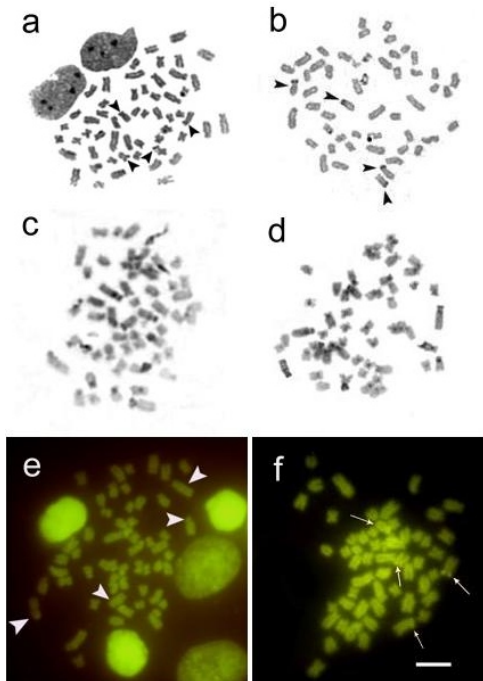


Figura 2. Metáfases de *C. spixii* (a, c, e) e de *Sciades* sp. (b, d, f) após tratamento com AgNO_3 (a, b), bandamento C (c, d) e coloração com CMA_3 . Barra=5 μm . / **Figure 2.** Metaphase chromosomes of *C. spixii* (a, c, e) and *Sciades* sp. (b, d, f) after treatment with AgNO_3 (a, b), C-banding (c, d) and CMA_3 staining. Bar = 5 μm .

Tabela 1. Dados citogenéticos de espécies da família Ariidae. / **Table 1.** Cytogenetic data on species of family Ariidae.

Espécie	2n	NF	Fórmula cariotípica	Local	Ref.
<i>Ariopsis felis</i> (citada como <i>Arius felis</i>)	54	102	16m+12sm+20st+6a	Campeche, México	GARCIA-MOLINA; URIBE-ALCOCER, 1988
<i>Ariopsis felis</i> (citada como <i>Arius felis</i>)	54	108	26sm+28st	Golfo do México	LEGRANDE, 1980
<i>Arius caerulescens</i> (citada como <i>Galeichthys caerulescens</i>)	52	102	16m+24sm+10st+2a	Guerrero, México	ARREGUÍN, 1983
<i>Aspistor luniscutis</i>	56	112	14m+22sm+20st	Paraná, Brasil	SCZEPANSKI et al., 2010
<i>Bagre bagre</i>	56	112	24m+26sm+6st	São Paulo, Brasil	GOMES et al., 1990
<i>Bagre marinus</i>	54	108	12m+8sm+34st	NE do Golfo do México	FITZSIMONS et al., 1988
<i>Cathorops aff. mapale</i>	52	104	14m+20sm+18st	Isla Margarita, Venezuela	NIRCHIO et al., 2010
<i>Cathorops melanopus</i> (citada como <i>Arius melanopus</i>)	52	104	16m+30sm+6st	Golfo do México	RAMIREZ, 1985
<i>Cathorops</i> sp.	54	108	13m+13sm+28st	São Paulo, Brasil	GOMES et al., 1992
<i>Cathorops spixii</i>	56	108	14m+20sm+18st+4a	Rio Grande do Norte, Brasil	Presente estudo
<i>Nemapteryx nenga</i> (citada como <i>Arius nenga</i>)	54	108	16m+36sm+2st	Mar Gopalpur, Índia	CHOU DHURY et al., 1993
<i>Netuma thalassina</i> (citada como <i>Arius serratus</i>)	56	112	8m+24sm+24st	Mar Gopalpur, Índia	CHOU DHURY et al., 1993
<i>Genidens barbuis</i>	56	108	10m+14sm+26st+6a	São Paulo, Brasil	NIRCHIO et al., 2010
<i>Genidens barbuis</i> (citada como <i>Netuma barba</i>)	56	110	18m+18sm+18st+2a, XX/XY	São Paulo, Brasil	GOMES et al., 1994
<i>Genidens barbuis</i>	56	108	14m+16sm+22st+4a, XX/XY	Paraná, Brasil	SCZEPANSKI, 2008
<i>Genidens genidens</i>	56	108	12m+20sm+20st+4a	São Paulo, Brasil	GOMES et al., 1994
<i>Genidens genidens</i>	56	108	14m+22sm+16st+4a	Paraná, Brasil	SCZEPANSKI et al., 2010
<i>Plicofollis dussumieri</i> (citada como <i>Arius dussumieri</i>)	54	96	12m+18sm+12st+12a	Índico	RISHI et al., 1983
<i>Sciades</i> sp.	56	108	14m+14sm+24st+4a	Rio Grande do Norte, Brasil	Presente estudo
<i>Sciades herzbergii</i> (citada como <i>Hexanematichthys herbergii</i>)	56	110	24m+24sm+6st+2a	Lago de Maracaibo, Venezuela	MOLINA et al., 2004
<i>Sciades herzbergii</i>	56	108	14m+20sm+18st+4a	Isla Margarita, Venezuela	NIRCHIO et al., 2010
<i>Sciades parkeri</i> (citada como <i>Arius parkeri</i>)	56	110	16m+16sm+22st+2a	São Paulo, Brasil	GOMES et al., 1994

4. Discussão

Cathorops spixii e *Sciades* sp. apresentam características cromossômicas que reforçam alguns padrões que se mostram comuns a outras espécies de Ariidae. Ambas as espécies exibem $2n=56$, que é o valor diploide modal nesta família e

considerado basal nos Siluriformes (ELER et al., 2007), além de diversificação nos padrões estruturais dos cromossomos (Tabela 1).

A diversidade cariotípica em Ariidae pode ser identificada pela variação no número de braços cromossômicos (NF), que

em geral é elevado, e considerado como uma simplesiomorfia nesta ordem (OLIVEIRA; GOSZTONYI, 2000). De fato, valores elevados de NF se mostram frequentes em outras famílias de Siluriformes (Stolf et al., 2004), como em Trichomycteridae (BORIN; MARTINS-SANTOS, 1999), Doradidae (ELER et al., 2007) e Loricariidae (ARTONI; BERTOLLO, 2001; ALVES et al., 2005; KAVALCO et al., 2005).

Alguns mecanismos de diversificação cromossômica se mostram prevalentes em alguns grupos de peixes. A baixa variação do número diploide ($2n=54\pm 2$, $NF>100$) e a elevada diversidade na fórmula cromossômica nas espécies de Ariidae indicam que as inversões pericêntricas, representam o principal mecanismo envolvido na diversificação cariotípica da família (NIRCHIO et al., 2010; SCZEPANSKI et al., 2010), superando às fusões e fissões cêntricas. Este tipo de rearranjo também tem sido apontado como o mais importante mecanismo envolvido na diversificação do cariótipo de diversos grupos de peixes marinhos (GALETTI et al., 2000; MOLINA; GALETTI, 2004).

Algumas espécies de Ariidae já tiveram mais de uma população citogeneticamente analisada no Atlântico. Assim, comparações populacionais dos perfis citogenéticos de três espécies revelam algumas conspícuas diferenciações cariotípicas interpopulacionais entre diferentes regiões geográficas do litoral brasileiro (Tabela 1). Assim, os padrões cariotípicos das populações de *Genidens genidens* do litoral do Paraná comparadas àquelas do litoral de São Paulo (Atlântico Ocidental), ambas regiões localizadas no litoral sul-sudeste do Brasil, diferem discretamente quanto à fórmula cariotípica. Diante da manutenção do número cromossômico e cariótipos muito similares, não é possível descartar que a variação observada não seja devido a diferentes níveis de condensação dos cromossomos sob análise. Por outro lado, análises citogenéticas interpopulacionais em três localidades de distribuição de *G. barbatus* apontam diferenciações na fórmula cariotípica entre essas regiões. Embora o número diploide seja o mesmo ($2n=56$), as duas amostras do litoral de São Paulo (Ubatuba e Cananéia) diferem notadamente, além de aspectos estruturais dos cromossomos, em relação à presença ou ausência de um sistema de cromossomos sexuais XY (GOMES et al., 1994; NIRCHIO et al., 2010). Distintos cariomorfos também foram identificados quanto à fórmula cariotípica entre populações de *Sciades herzbergii* ($2n=56$) situadas em duas localidades na costa da Venezuela (Tabela 1). Embora não seja possível descartar que algumas dessas divergências possam estar relacionadas à artefatos técnicos (NIRCHIO et al., 2010), elas podem refletir diferenças conspícuas entre as áreas de distribuição de uma mesma espécie.

Em *C. spixii* e *Sciades* sp., de outros representantes de Ariidae (SCZEPANSKI et al., 2010), bem como na maioria dos Siluriformes (KAVALCO et al., 2005; ANDREATA et al., 2006; ELER et al., 2007), a heterocromatina se encontra principalmente distribuída nas regiões centroméricas e teloméricas dos cromossomos. Destacadamente, blocos heterocromáticos conspícuos estão presentes nas regiões organizadoras de nucléolo (NOR) das espécies.

A presença de sítios ribossomais em posição terminal do braço curto de um único par cromossômico é uma condição comumente encontrada em diversas famílias de Siluriformes,

como Loricariidae (ARTONI; BERTOLLO, 2001; KAVALCO et al., 2005; ALVES et al., 2005), Doradidae (ELER et al., 2007), Trichomycteridae (BORIN; MARTINS-SANTOS, 1999) e Pimelodidae (GARCIA; MOREIRA-FILHO, 2005).

Entre os Ariidae, informações sobre as regiões organizadoras de nucléolos ainda são incipientes, mas indicam que tais regiões possam estar distribuídas em um ou mais pares de cromossomos. Assim, enquanto os sítios ribossomais, identificados através de sinais Ag⁺ e hibridação com sondas DNAr 18S, estão em um único sítio cromossômico em *G. genidens* (SCZEPANSKI et al., 2010), nas espécies *C. spixii* e *Sciades* sp., além de *Sciades herzbergii* (NIRCHIO et al., 2010) e *Netuma barbatus* (SCZEPANSKI et al., 2010) eles são múltiplos, localizados no braço curto de dois pares subtelocêntricos. O número de tais sítios pode ser ainda maior, como em *Arius luniscutis*, que apresenta três pares portadores de sítios ribossomais (SCZEPANSKI et al., 2010). Algumas similaridades de tipo e tamanho dos cromossomos portadores, bem como da posição nos cromossomos, sugerem que alguns destes pares sejam homeólogos entre as espécies destes gêneros.

A presença de múltiplos cístrons ribossomais representa uma condição considerada apomórfica em muitos vertebrados (HSU et al., 1975) e podem refletir as múltiplas transições evolutivas ocorridas nos números diploides e na estrutura dos cromossomos durante a diversificação das espécies de Ariidae. A ocorrência de RONs múltiplas têm sido observada nos cariótipos de outros grupos de bagres, como Loricariidae e Callichthyidae (SHIMABUKURO-DIAS et al., 2004; KAVALCO et al., 2005), demonstrando o dinamismo de rearranjos cromossômicos estruturais na evolução cariotípica dos Siluriformes.

O uso de fluorocromos base-específicos provê informações sobre a composição e o conteúdo da heterocromatina em peixes (ARTONI et al., 1999; MANTOVANI et al., 2005). A coloração com os fluorocromos CMA dos cromossomos das duas espécies analisadas indica a presença de sítios GC-ricos exclusivamente co-localizados com as regiões organizadoras de nucléolos. De fato, cístrons ribossomais 45S, apresentam um elevado conteúdo de bases GC em suas regiões espaçadoras ou entre sequências de DNA repetitivos adjacentes (PENDÁZ et al., 1993). Este padrão heterocromático tem sido identificado em outros ariídeos (SCZEPANSKI et al., 2010), e espécies de diversas famílias de Siluriformes (e.g. BORIN; MARTINS-SANTOS, 1999; SWARÇA et al., 2001; SOUZA et al., 2004; KAVALCO et al., 2005).

A extensa variação de tipos cromossômicos, com pequena variação de números cromossômicos, presentes dentro e entre espécies nominais em Ariidae pode estar associada às características biológicas deste grupo de peixes. A incubação bucal dos ovos e o baixo potencial dispersivo (BETANCUR-R et al., 2007) pode restringir o fluxo gênico entre populações desta família. Levantamentos citogenéticos mais extensos, abrangendo outras áreas de distribuição e um maior número de espécies, permitirão esclarecer sobre possíveis estruturas populacionais ou mesmo quanto a existência de espécies crípticas ao longo do litoral brasileiro.

5. Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq (Proc. 556793/2009-9), ao INCT "Ciências Marinhas" and FAPESB (565054/2010-4 and 8936/2011) pelo apoio financeiro; ao CAPES pela bolsa de pesquisa de GWWFC, ao ICMBio SISBIO (licenças 19135-1, 27027-2 e 131360-1) pelas permissões para coleta de espécimes.

6. Referências Bibliográficas

- ACERO, P. A.; BETANCUR-R., R. Monophyly, affinities, and subfamilial clades of the sea catfishes (Siluriformes: Ariidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, v. 18, p. 133–143, 2007.
- ALVES, A. L.; OLIVEIRA, C.; GRANADO, A.; FORESTI, F. Karyotypic relationships among the tribes of Hypostominae (Siluriformes: Loricariidae) with description of XO sex chromosome system in a Neotropical fish species. *Genetica*, v. 128, p. 1–9, 2005.
- ALVES, A. L.; OLIVEIRA, C.; NIRCHIO, M.; GRANADO, A.; FORESTI, F. Karyotypic relationships among the tribes of Hypostominae (Siluriformes: Loricariidae) with description of XO sex chromosome system in a Neotropical fish species. *Genetica*, v. 128, p. 1-9, 2006.
- ANDREATA, A. A.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Karyological characterization of four Neotropical fish species of the genus *Hisonotus* (Teleostei, Loricariidae, Hypoptopomatinae) from distinct Brazilian river basins. *Genetics and Molecular Biology*, v. 29, p. 62–66, 2006.
- ARREGUIN, R. E. Caracterización citogenética en el bagre (*Galeichthys caeruleus*). Tesis Profesional, Facultad de Ciencias, UNAM. 1983.
- ARTONI, R. F.; MOLINA, W. F.; BERTOLLO, L. A. C.; GALETTI JR., P. M. Heterochromatin analysis in the fish species *Liposarcus anisitsi* (Siluriformes) and *Leporinus elongatus* (Characiformes). *Genetics and Molecular Biology*, v. 22, p. 1-6, 1999.
- ARTONI, R. F.; BERTOLLO, L. A. C. Trends in the karyotype evolution of Loricariidae fish (Siluriformes). *Hereditas*, v. 134, p. 201-210, 2001.
- ARTONI, R. F.; FALCÃO, J.D.N., MOREIRA-FILHO, O., BERTOLLO, L.A.C. An uncommon condition for a sex chromosome system in Characidae fish. Distribution and differentiation of the ZZ/ZW system in *Triportheus*. *Chromosome Research*, v. 9, p. 449-456, 2001.
- BETANCUR-R, R.; ARMBRUSTER, J.W. Molecular clocks provide new insights into the evolutionary history of Galeichthyine sea catfishes. *Evolution*, v. 63, p. 1232-1243, 2009.
- BETANCUR-R., R.; ACERO P. A.; BERMINGHAM, E.; COOKE, R. Systematics and biogeography of New World sea catfishes (Siluriformes: Ariidae) as inferred from mitochondrial, nuclear, and morphological evidence. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 45, p. 339-357, 2007.
- BLANCO, D. R.; VICARI, M. R.; LUI, R. L.; ARTONI, R. F.; ALMEIDA, M. C.; TRALDI, J. B.; MARGARIDO, V. P.; MOREIRA-FILHO, O. Origin of the $X_1X_2X_2/X_1X_2Y$ sex chromosome system of *Harttia punctata* (Siluriformes, Loricariidae) inferred from chromosome painting and FISH with ribosomal DNA markers. *Genetica*, v. 142, p. 119-126, 2014.
- BORIN, L. A.; MARTINS-SANTOS, I. C. Karyotype characterization of three species of the genus *Trichomycterus* (Teleostei, Siluriformes) from Iguçu river basin. *Genetica*, v. 106, p. 3-8, 1999.
- CHOUDHURY, R. C.; PRASAD, R., DAS, C. C. Chromosomes of four Indian marine catfishes (Bagridae, Ariidae: Siluriformes) with a heteromorphic pair in male *Mystus gulio*. *Caryologia*, v. 46, p. 233-243, 1993.
- CIONE, A. L.; PRASAD, G. V. R. The oldest known catfish (Teleostei, Siluriformes) from Asia (India, Late Cretaceous). *Journal of Paleontology*, v. 76, p. 190-193, 2002.
- DE LA PEÑA, A.; SOLER-GIJÓN, R. The first siluriform fish from the Cretaceous-Tertiary interval of Eurasia. *Lethaia*, v. 29, p. 85-86, 1996.
- ELER, E. S.; DERGAM, J. A.; VENERE, P. C.; PAIVA, L. C.; MIRANDA, G. A.; OLIVEIRA, A. A. The karyotypes of the thorny catfishes *Wertheimeria maculate* Steindachner, 1877 and *Hassar wilderi* Kindle, 1895 (Siluriformes: Doradidae) and their relevance in doradids chromosomal evolution. *Genetica*, v. 130, p. 99-103, 2007.
- FITZSIMONS, J.; LEGRANDE, M.; KORTH, J. Karyology of the marine catfish *Bagre marinus* Ariidae with an analysis of chromosome numbers among siluriform fishes. *Journal of Ichthyology*, v. 35, p. 189-193, 1988.
- GARCIA-MOLINA, F.; URIBE-ALCOCER, M. Análisis cromosómico del bagre marino *Arius felis* (Ariidae: Siluriformes) de la Región de la Laguna de Términos, Campeche. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología*, v. 16, p. 69-74, 1988.
- GARCIA, C.; MOREIRA-FILHO, O. Cytogenetical analyses in three fish species of the genus *Pimelodus* (Siluriformes: Pimelodidae) from São Francisco river: considerations about the karyotypical evolution in the genus. *Neotropical Ichthyology*, v. 3, p. 285-290, 2005.
- GOLD, J. R.; LI, Y. C.; SHIPLEY, N. S.; POWERS, P. D. Improved methods for working with fish chromosomes with a review of metaphase chromosome banding. *Journal of Fish Biology*, v. 37, p. 563-575, 1990.
- GOMES, V.; PHAN, V. N.; PASSOS, M. J. A. C. R. The karyotype of a marine catfish, *Bagre bagre*, from Brazil. *Japan Journal of Ichthyology*, v. 37, p. 321-323, 1990.
- GALETTI JR., P. M.; AGUILAR, C. T.; MOLINA, W. F. An overview of marine fish cytogenetics. *Hydrobiologia*, v. 420, p. 55–62, 2000.
- GOMES, V.; PHAN, V. N.; PASSOS, M. J. A. C. R. The karyotype of *Cathorops* sp., a marine catfish from Brazil. *Boletim do Instituto Oceanográfico*, v. 40, p. 87-91, 1992.
- GOMES, V.; PHAN, V. N.; PASSOS, M. J. A. C. R. Karyotypes of three species of marine catfishes from Brazil. *Boletim do Instituto Oceanográfico*, v. 42, p. 55-61. 1994.
- GRANDE, L.; DE PINNA, M. C. C. Description of a second species of the catfish *Hypsidoris* and a reevaluation of the genus and the family Hypsidoridae. *Journal of Vertebrate Paleontology*, v. 18, p. 451–474, 1998.
- HOWELL, W. M.; BLACK, D. A. Controller silver staining of nucleolus organizer region with protective colloidal developer: a 1 – step method. *Experientia*, v. 36, p. 1014–1015, 1980.
- HSU, T. C.; SPIRITO, S. E.; PARDUE, M. L. Distribution of the 18 + 28 ribosomal genes in mammalian genomes. *Chromosoma*, v. 53, p. 25–36, 1975.
- KAVALCO, K. F.; PAZZA, R.; BERTOLLO, L. A. C.; MOREIRA-FILHO, O. 2005. Karyotypic diversity and evolution of Loricariidae (Pisces, Siluriformes). *Heredity*, v. 94, p. 180-186.
- LEGRANDE, W. H. The chromosome complement of *Arius felis* (Siluriformes, Ariidae). *Japanese Journal of Ichthyology*, 27: 82-84, 1980.
- LEVAN, A.; FREDGA, K.; SANDBERG, A. A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, v. 52, p. 201-220, 1964.
- LUNDBERG, J. G. African-South American freshwater fish clades and continental drift: problems with a paradigm. In: Goldblatt, P. (Ed.), *Biological Relationships between Africa and South America*. Yale University Press, New Haven, pp. 156–199, 1993.
- MANTOVANI, M.; ABEL, L. D. S.; MOREIRA-FILHO, O. Conserved 5S and variable 45S rDNA chromosomal localization revealed by FISH in *Aspianax scabripinnis* (Pisces, Characidae). *Genetica*, v. 123, p. 211-216, 2005.
- MARCENIUK, A. P.; MENEZES, N. E. Systematics of the family Ariidae (Ostariophysi, Siluriformes), with a redefinition of the genera. *Zootaxa*, v. 1416, p. 1-26, 2007.
- MARCENIUK, A. P.; MENEZES, N. A.; BRITTO, M. R. Phylogenetic analysis of the family Ariidae (Ostariophysi: Siluriformes), with a hypothesis on the monophyly and relationships of the genera. *Zoological Journal of the Linnean Society*, v. 165, p. 534-669, 2012.
- MARTINEZ, E. R. M.; ZAWADZKI, C. H.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. Cytogenetic analysis of five *Hypostomus* species (Siluriformes, Loricariidae). *Genetics and Molecular Biology*, v. 34, p. 562-568, 2011.

- MOLINA, W. F. An alternative method of mitotic stimulation in fish cytogenetics. **Chromosome Science**, v. 5, p. 149-152, 2001.
- MOLINA, W. F.; ALVES, D. E. O.; ARAÚJO, W. C.; MARTINEZ, P. A.; SILVA, M. F. M.; COSTA, G. W. W. F. Performance of human immunostimulating agents in the improvement of fish cytogenetic preparations. **Genetics and Molecular Research**, v. 9, p. 1807-1814, 2010.
- MOLINA, W. F.; GALETTI, JR. P. M. Karyotypic changes associated to the dispersive potential on Pomacentridae (Pisces, Perciformes). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 309, p. 109-119, 2004.
- MOLINA, J.; MOLERO, T.; HERNÁNDEZ, L.; ACOSTA, D.; HERNANDEZ, J.; VILLAMEDIANA, P. Cariotipo del bagre guatero *Hexanemataichthys herbergii* (Ariidae: Siluriformes) del estrecho del Lago de Maracaibo, Venezuela. **Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas**, v. 38, p. 163-174, 2004.
- NELSON, J. S. **Fishes of the World**. 4rd ed. New York: John Wiley and Sons Inc., 2006.
- NIRCHIO, M.; MARTINEZ, E. R. M.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. Cytogenetic analysis of three sea catfish species (Teleostei, Siluriformes, Ariidae) with the first report of Ag-NOR in this fish family. **Genetics and Molecular Biology**, v. 33, p. 262-265, 2010.
- OLIVEIRA, C.; ALMEIDA-TOLEDO, L. F.; FORESTI, F.; BRITSKI, H. A.; TOLEDO-FILHO, S. A. Chromosome formulae of Neotropical freshwater fishes. **Brazilian Journal of Genetics**, v. 11, p. 577-624, 1988.
- OLIVEIRA, C.; GOSZTONYI, A. E. A cytogenetic study of *Diplomystes mesembrinus* (Teleostei, Siluriformes, Diplomystidae) with a discussion of chromosome evolution in siluriforms. **Caryologia**, v. 53, p. 31-37, 2000.
- PENDÁS, A. M.; MORÁN, P.; GARCIA-VAZQUEZ, E. Multi-chromosoma location of ribosomal RNA genes and heterochromatin association in brown trout. **Chromosome Research**, v. 1, p. 63-67, 1993.
- PINKEL, D.; STRAUME, T.; GRAY, J. W. Cytogenetic analysis using quantitative, high sensitivity fluorescence hybridization. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 83, p. 2934-2938, 1986.
- RAMIREZ, A. E. Estudios citogenéticos en el bagre marino *Arius melanopus*. 1985. 48 f. Tesis Profesional - Facultad de Ciencias, U.N.A.M., 1985.
- RISHI, K. K.; SINGH, J.; HAQBAM, M. S. Karyological study on a marine catfish, *Arius dussumieri* (Val.) (Ariidae: Siluriformes). **Chromosome Information Service**, v. 34, p. 7-9, 1983.
- ROSA, K. O.; ZIEMNICZAK, K.; BARROS, A. V.; NOGAROTO, V.; ALMEIDA, M. C.; CESTARI, M. M.; ARTONI, R. F.; VICARI, M. R. Numeric and structural chromosome polymorphism in *Rineloricaria lima* (Siluriformes: Loricariidae): fusion points carrying 5S rDNA or telomere sequence vestiges. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 22, p. 739-749, 2012.
- SCZEPANSKI, T. S.; NOLETO, R. B.; CESTARI, M. M.; ARTONI, R. F. A comparative study of two marine catfish (Siluriformes, Ariidae): Cytogenetic tools for determining cytotaxonomy and karyotype evolution. **Micron**, v. 41, p. 193-197, 2010.
- SCHWEIZER, D. Simultaneous fluorescent staining of R bands and specific heterochromatic regions (DA-DAPI bands) in human chromosomes. **Cytogenetics and Cell Genetics**, v. 27, p. 190-193, 1980.
- SHIMABUKURO-DIAS, C. K.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Cytogenetic analysis of five species of the subfamily Corydoradinae (Teleostei: Siluriformes: Callichthyidae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, p. 549-554, 2004.
- SULLIVAN, J. P.; LUNDBERG, J. G.; HARDMAN, M. A phylogenetic analysis of the major groups of catfishes (Teleostei: Siluriformes) using rag1 and rag2 nuclear gene sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 41, p. 636-662, 2006.
- SUMNER, A. T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. **Experimental Cell Research**, v. 75, p. 304-306, 1972.
- SWARÇA, A. C.; CAETANO, L. G.; DIAS, A. L. Analyses of nucleolus organizer regions and heterochromatin of *Pimelodus maculatus*. **Genetica**, v. 1, p. 97-100, 2001.
- VAN DER LAAN, R.; ESCHMEYER, W. N.; FRICKE, R. Family-group names of Recent fishes. **Zootaxa**, v. 3882, p. 001-230, 2014.
- WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: **PCR Protocols: a Guide to Methods and Applications**. Academic Press Inc., pp. 315-322, 1990.