

Citótipo exclusivo para *Parauchenipterus galeatus* (Siluriformes, Auchenipteridae) na Bacia do Atlântico NE Oriental do Brasil: Indicações de um complexo de espécies.

Washington Candeia Araújo¹ e Wagner Franco Molina²

1. Mestre em Genética e Biologia Molecular, Doutorando em Biotecnologia pela Rede RENORBIO, Brasil. E-mail: wash_cand@ufrnet.br

2. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Programa de Pós-graduação em Sistemática e Evolução, Rede Nordeste de Biotecnologia, Brasil. E-mail: molinawf2@yahoo.com.br

RESUMO. Endemismos entre as ictiofaunas das bacias hidrográficas brasileiras vêm se mostrando frequentes, principalmente decorrentes de vicariância ou dispersão. Diversas espécies constituem verdadeiramente complexos de espécies crípticas, em franco processo de diferenciação. Análises citogenéticas realizadas no bagre, *Parauchenipterus galeatus*, da bacia hidrográfica do NE Oriental do Brasil revelaram um cariótipo com $2n=58$ ($24m+16sm+10st+8a$; $NF=108$), com RONs simples localizadas em região distal de um par cromossômico submetacêntrico, com regiões heterocromáticas reduzidas. Este padrão cariotípico se mostra diferenciado de outros já descritos para a espécie de outras bacias hidrográficas. A distribuição da heterocromatina, associada às variações estruturais do cariótipo representam importantes indícios de diferenciação citogenética de *P. galeatus* em diferentes bacias brasileiras. Considerando o tempo de divergência entre as grandes bacias, é possível que as diferenças citogenéticas encontradas possam representar em alguns casos efetivas barreiras reprodutivas pós-zigóticas. A diversidade cariotípica para a espécie apoia a existência de um complexo de espécies.

Palavras-chave: cangati, espécies crípticas, citogenética de peixes, especiação alopátrica.

ABSTRACT: Exclusive cytotype in *Parauchenipterus galeatus* (Siluriformes, Auchenipteridae) in the Eastern North-east Atlantic basin of Brazil: indication of a species complex. Endemisms among the ichthyofauna of the hydrographic Brazilian basins has been showed frequent, mainly due to vicariance or dispersal processes. Several species constitute genuinely complexes of cryptic species, in clear process of differentiation. Cytogenetic analysis performed in the catfish, *Parauchenipterus galeatus*, in the basin of the Eastern North-east Atlantic basin of Brazil revealed a karyotype with $2n = 58$ ($24m+16sm+10st+8a$; $NF=108$), with unique NORs sites located in the distal region of a submetacentric chromosome pair and with reduced heterochromatic regions. This standard karyotype shown differentiated from other already described for species of others basins. The distribution of heterochromatin associated with structural variations of karyotype represent important evidences of cytogenetic differentiation of *P. galeatus* among the different Brazilian basins. Considering the time of divergence between large basins, it is possible that the cytogenetic differences found may represent in some cases effective post-zygotic reproductive barriers. The diversity of the species karyotype supports the existence of a species complex.

Key words: Cangati, cryptic species, fish cytogenetics, allopatric speciation.

1. Introdução

A região Neotropical apresenta um dos maiores contingentes de biodiversidade de peixes dulcícolas, principalmente originada pelo isolamento histórico de bacias. Neste contexto geográfico a Ordem Siluriformes constitui um dos maiores grupos de peixes, com mais de 3.000 espécies. Dentre as famílias que a compõem, Auchenipteridae possui 20 gêneros e aproximadamente 90 espécies, sendo 82% delas encontradas em águas continentais brasileiras (FERRARIS JR., 2007).

Endemismos ao longo das bacias hidrográficas brasileiras vêm se mostrando um fenômeno comum, sendo amplamente disperso em grupos de peixes, principalmente devido à vicariância ou dispersão (MARQUES et al., 2008). Análises citogenéticas realizadas em Characiformes e Anguilliformes Neotropicais (MOREIRA-FILHO; BERTOLLO, 1991; BERTOLLO et al., 2000; 2004; TORRES et al., 2005) têm revelado diversos complexos de espécies.

O bagre dulcícola, *Parauchenipterus galeatus*, que exibe ampla distribuição na

América do Sul, constitui um típico representante da ictiofauna neotropical de Siluriformes, popularmente conhecido como cangati. Ocorre geralmente nas áreas de matas alagadas e sob vegetação aquática flutuante, possuindo hábitos noturnos (MEDEIROS et al., 2003). Possui peculiaridades em relação ao seu modo de reprodução, apresentando fertilização interna e dimorfismo sexual marcante, o qual nos machos é mais evidente devido à modificação de seu primeiro raio da nadadeira anal em um órgão intromitente. As fêmeas possuem uma estrutura sacular no oviduto onde espermatozoide é armazenado após fertilização (SANCHES et al., 1999). Sua ampla distribuição geográfica suscita dúvidas quanto ao real *status* taxonômico da espécie.

Dados citogenéticos de Siluriformes da bacia do Atlântico NE Oriental permanecem escassos e o baixo conhecimento de seus aspectos citogenéticos dificulta o reconhecimento da diversidade de espécies. O presente estudo analisa espécimes de *Parauchenipterus galeatus* da bacia do Atlântico NE Oriental, utilizando bandamentos clássicos (banda C, Ag-RONs) bem como coloração com fluorocromos CMA₃/DAPI e hibridação *in situ* fluorescente (FISH) com sondas de DNAr 18S, com vistas a estabelecer o nível de divergência cariotípica frente a outras bacias hidrográficas brasileiras.

2. Material e Métodos

Foram analisados 19 exemplares (2 machos, 9 fêmeas e 8 juvenis) de *Parauchenipterus galeatus*, coletados no rio Pium (05°46'24"S, 35°11'O), bacia do Atlântico NE Oriental, Estado do Rio Grande do Norte. Os animais foram submetidos à estimulação mitótica de acordo com MOLINA (2001), por meio de inoculação de antígenos mistos nas 24 horas que antecederam o sacrifício dos animais, visando um maior número de figuras metafásicas. As preparações cromossômicas seguiram o método de preparação direta *in vitro* (GOLD et al., 1990), utilizando suspensão de células renais. O material foi gotejado em lâminas recobertas com um filme de água aquecida à 60°C, que foram secas ao ar e coradas com Giemsa 5% diluído em tampão

fosfato pH 6,8. Análises citogenéticas foram desenvolvidas utilizando microscópio ótico com aumento de 1.000 X, sendo analisadas em média trinta metáfases para cada exemplar.

A heterocromatina e as regiões organizadoras de nucléolos (RONs) foram identificadas, respectivamente, a partir das técnicas de SUMNER (1972) e HOWELL e BLACK (1980). Adicionalmente à coloração convencional, as preparações cromossômicas foram também coradas os fluorocromos cromomicina (CMA₃) e 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) (SCHWEIZER, 1980) com a finalidade de identificar regiões ricas em GC- ou AT- respectivamente. Brevemente, lâminas envelhecidas por três dias foram coradas com CMA₃ (0.1 mg/ml) por 1 h e recorada com DAPI (1 µg/ml), for 30 min. As lâminas foram então montadas em glicerol: tampão McIlvaine pH 7.0 (1:1). As melhores metáfases foram fotografadas em microscópio Olympus BX50, com sistema digital de captura de imagem Olympus DP 70. Os cromossomos foram organizados por tamanho em ordem decrescente e classificados em grupos, como metacêntricos, submetacêntricos, subtelocêntricos e acrocêntricos, de acordo com nomenclatura desenvolvida por LEVAN et al. (1964).

Hibridação *in situ* fluorescente (FISH) foi realizada segundo PINKEL et al. (1986) utilizando sonda 18S DNAr, isolada do DNA de *Prochilodus argenteus* (HATANAKA; GALETTI, 2004) marcada por *nick translation* com biotina-14-dATP (Invitrogen), de acordo com as especificações do fabricante.

3. Resultados

Parauchenipterus galeatus apresenta 2n=58 cromossomos e fórmula cariotípica composta por 24m+16sm+10st+8a (NF=108) (Figura 1a). O bandamento C evidenciou blocos heterocromáticos presentes predominantemente em regiões centroméricas e pericentroméricas (Figura 1b). Os sítios Ag-RONs são simples e estão localizados, em posição terminal dos braços curtos de um par submetacêntrico. Este padrão foi coincidente com a hibridação utilizando sonda de DNAr 18S (Figura 1, quadros). Devido às

similaridades críticas neste grupo de cromossomos não foi possível estabelecer com precisão o par portador nucleolar.

A coloração com CMA₃ evidenciou marcações positivas apenas nas RONS (Figura

2a; b). Por outro lado, o fluorocromo DAPI, AT-específico não revelou a presença de regiões ricas, demonstrando um padrão neutro disseminado (Figura 2c).

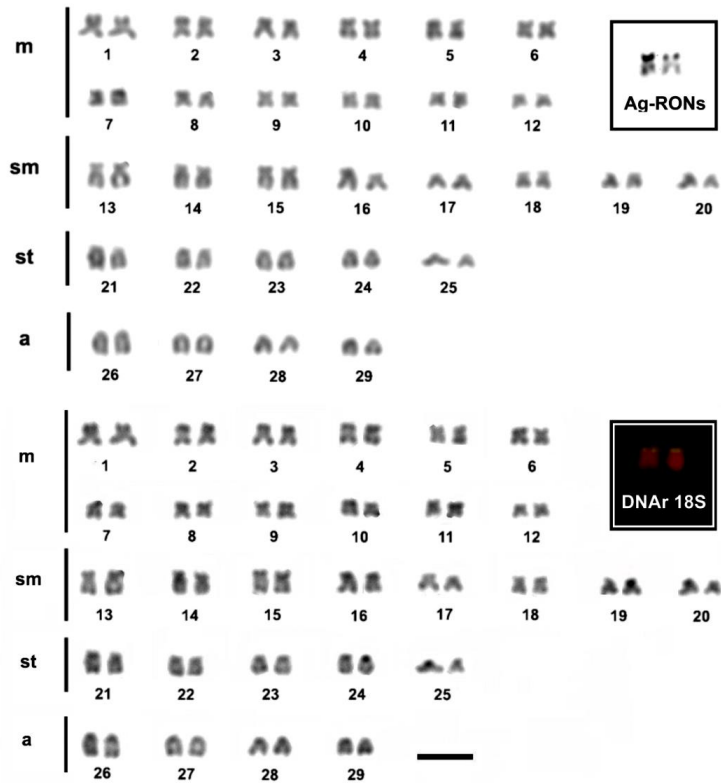


Figura 1. Cariótipo de *P. galeatus* (2n=58 cromossomos; NF=108) do rio Pium, Rio Grande do Norte, através de coloração com Giemsa (a) e bandamento C sequencial (b). Em destaque nos quadros os pares organizadores nucleolares identificados pela técnica de Ag-RONs e hibridação *in situ* com sondas DNa r 18S. Barra = 5µm.

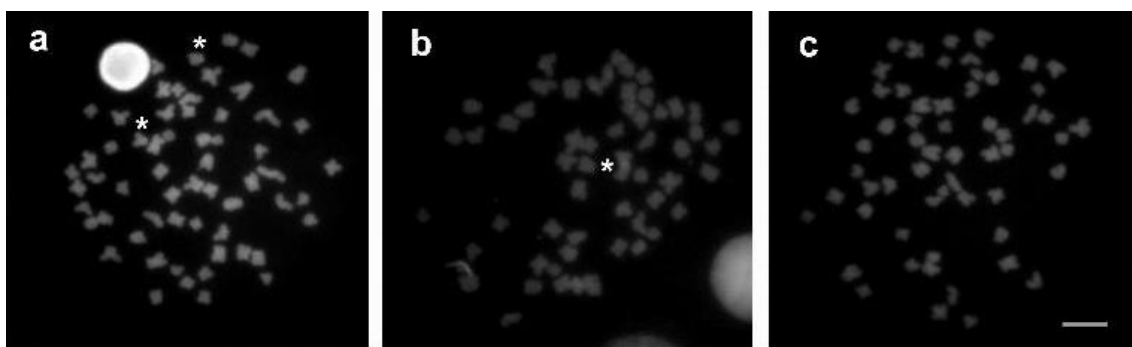


Figura 2. Metáfases de *P. galeatus* submetidas à coloração com o fluorocromo CMA₃ (a), associação dos sítios ribossomais evidenciada através de CMA₃ (b) e padrão de coloração com o fluorocromo DAPI (c). Os asteriscos indicam o par organizador nucleolar. Barra = 5µm.

4. Discussão

A Ordem Siluriformes abriga um dos maiores grupos de peixes continentais da região neotropical. É composta por 15 famílias e 1.548 espécies (REIS et al., 2003). Neste grupo, uma

grande quantidade de dados citogenéticos vêm sendo acumulado, identificando em diversos grupos elevada diversidade e variabilidade cromossômica, tanto numérica quanto estrutural. Aliado a isto, tem sido reportada a

presença de sistemas de cromossomos sexuais em várias espécies (ARTONI et al., 2001; ANDREATA et al., 2006; CENTOFANTE et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2006; MILHOMEM et al., 2008, entre outros), que podem constituir barreiras pós-zigóticas efetivas entre populações.

Existem níveis variados de conhecimento sobre os aspectos citogenéticos das espécies ícticas das bacias hidrográficas do Nordeste brasileiro. Desta forma, a bacia do rio São Francisco é uma das mais bem estudadas, considerada uma área de grande endemismo, condição corroborada por uma grande quantidade de dados citogenéticos provenientes de suas espécies nativas (ver GARCIA; MOREIRA-FILHO, 2005; MARQUES et al., 2008). Por outro lado, outras bacias hidrográficas nesta região, como a do Atlântico Nordeste Oriental, que abrange uma extensão de 287.348 km² e corresponde à cerca de 3% do território brasileiro, tem uma ictiofauna praticamente desprovida de informações citogenéticas. Esta bacia drena importantes biomas como fragmentos de floresta Atlântica, caatinga, uma parcela pequena de cerrado além de biomas costeiros (ANA, Brasil; < <http://www.ana.gov.br/mapainicial/pgMapaF.as> p>).

Dentre os Siluriformes com ocorrência no NE do Brasil, Auchenipteridae constitui uma família com características biológicas peculiares, como fecundação interna, que provavelmente é extensiva a todas as suas espécies (NELSON, 2006). Essas peculiaridades biológicas podem ter reflexos no padrão de diferenciação de populações em isolamento.

A amostra de *P. galeatus* da bacia hidrográfica Nordeste Oriental, no Rio Grande do Norte, apresenta $2n=58$ cromossomos e fórmula cariotípica composta por $24m+16sm+10st+8a$ (NF=108). Este citótipo é similar quanto ao valor diploide aos de outras bacias hidrográficas brasileiras, mas

conspicuamente diferente quanto aos padrões cromossômicos estruturais (Tabela 1). De fato, para a bacia Amazônica, a espécie apresenta $2n=58$, com $20m+14sm+12st+12a$ (NF=104) (SOUZA et al., 2002), enquanto que no rio São Francisco exibe $2n=58$ e cariótipo composto por $24m+20sm+6st+8a$ (NF=108) (GARCIA, 2005). Todos os citótipos apresentam um único par organizador nucleolar submetacêntrico, com RONS localizadas em posição terminal no braço curto. Aqui foi possível confirmar através do mapeamento de sequências DNAr 18S a presença única desta região no genoma da espécie. Evolutivamente, a presença de RONS únicas é considerada uma condição simplesiomórfica para os Siluriformes (OLIVEIRA et al., 2000; ARTONI; BERTOLLO, 2001; KAVALCO et al., 2005).

Tendências de modificações cariotípicas são mais pronunciadas no ambiente continental que nos ambientes marinhos, principalmente pela maior quantidade e efetividade de barreiras ao fluxo gênico (GALETTI et al., 2000). Assim, o confinamento aos sistemas hidrográficos resulta em um estreito relacionamento entre as histórias das bacias e histórias evolutivas das suas espécies (KAVALCO, 2003).

A distribuição da heterocromatina no cariótipo das espécies de peixe constitui, para este grupo vertebrado, uma valiosa ferramenta citotaxonomica (SOUZA et al., 1996). Em geral os Siluriformes apresentam pequena quantidade de heterocromatina nos cromossomos, distribuída predominantemente em região pericentromérica e telomérica, com relatos ocasionais de ocorrência de marcações intersticiais e polimorfismos (ARTONI; BERTOLLO, 2001; KAVALCO et al., 2005).

Na amostra de *P. galeatus* do rio Pium, analisada no presente estudo, bem como em amostras da bacia Amazônica e do São Francisco, a heterocromatina está distribuída de forma discreta, predominantemente nas regiões pericentroméricas e centroméricas.

Tabela 1. Revisão dos dados cariotípicos da família Auchenipteridae.

Espécie	2n	NF	Cariótipo	Posição Ag-RONs	Ag-RONs	Localidade	Ref.
<i>Auchenipterichthys thoracatus</i>	58	104	18m+16sm+12st+12a	T, p, par 23	Simple	Bacia Amazônica	1
<i>Glanidium ribeiroi</i>	58	112	28m+16sm+10st+4a	P, p, par 17	Simple	Bacia do Iguaçu	7
<i>G. ribeiroi</i>	58	108	24m+14sm+12st+8a	I, par 1	Simple	Bacia do Iguaçu	3
<i>Liosomadoras oncinus</i>	58	104	16m+22sm+8st+12a	T, p, st-a	Múltipla	Bacia Amazônica	1
<i>Trachelioperichthys taeniatus</i>	58	104	20m+18sm+8st+12a	T, p, par 24	Simple	Bacia Amazônica	1
<i>Parauchenipterus galeatus</i>	58	104	20m+14sm+12st+12a	T, p, par 20	Simple	Bacia Amazônica	1
<i>P. galeatus</i>	58	108	24m+20sm+6st+8a	T, p, par 20	Simple	Bacia do São Francisco	4
<i>P. galeatus</i>	58	108	24m+16sm+10st-8a	T, p, sm	Simple	Bacia do NE Oriental	8
<i>P. galeatus</i>	58	108	22m+16sm+12st+8a, 2B	T, p, par 23 st	Simple	Bacia São Francisco	5; 6
<i>P. galeatus</i>	58	108	20m+16sm+14st+8a	T, p, par 24 st	Simple	Bacia do Piumhi	6
<i>P. galeatus</i>	58	108	24m+18sm+8st+8a	T, p, par 25 st	Simple	Bacia do Paraná	6
<i>P. galeatus</i>	58	108	22m+12sm+6st+18a	T, p, par 23 a	Simple	Bacia do Paraná	7
<i>P. leopardinus</i>	58	110	24m+24sm+4st+6a	par 20	Simple	Bacia São Francisco	4

T – terminal; I – intersticial; p – braço curto; q – braço longo; (1) SOUZA et al. (2002); (2) Roman et al. (2001); (3) ROMAN e MARGARIDO (2000); FENOCCHIO et al. (2004); (4) GARCIA (2005); (5) LUI et al. (2009); (6) LUI et al., (2010); (7) RAVEDUTTI; JULIO Jr., (2001); (8) Presente estudo;

As pequenas diferenciações nos padrões de heterocromatina para amostras geográficas de *P. galeatus* se estendem também aos seus aspectos composicionais. Desta forma, enquanto na bacia do São Francisco ocorre um par de cromossomos com blocos DAPI⁺, coincidentes com uma região heterocromática (GARCIA, 2005), esta característica não está presente nos espécimes do rio Pium, que exibe um padrão neutro sem qualquer evidência de regiões ricas em bases AT.

Padrões de diferenciação causados pela natureza composicional da heterocromatina foram estabelecidos em outros Siluriformes. Na subfamília Hypotopomatinae (Loricariidae), quatro espécies (*Hisonotos* A e D, *H. nigricauda* e *H. leucofrenatus*) foram separadas em dois grupos distintos em relação ao conteúdo de heterocromatina detectada pelo bandamento C (ANDREATA et al., 2006). Como em *P. galeatus*, um reduzido conteúdo heterocromático tem sido observado em outros grupos de peixes (KAVALCO et al., 2005b). Citótipos apresentando diferenças na distribuição de heterocromatina foram encontrados em *Astyanax scabripinnis* e outros Characiformes (MAISTRO et al., 2000; PORTELA-CASTRO et al., 2007; entre outros).

Regiões ricas em bases GC (sinais fluorescentes CMA⁺) foram evidenciadas no cariótipo de *P. galeatus*, coincidentes com as RONS, evidenciando sua natureza rica em bases GC. Esta condição também está presente nas amostras de *P. galeatus* da bacia do São Francisco (GARCIA, 2005). Constitutivamente isto poderia estar relacionado à maior quantidade de bases GC nas regiões espaçadoras dos genes ribossomais ou entre sequências de DNA repetitivos adjacentes (PENDÁS et al., 1993). RONS GC+ terminais têm sido relatadas para outros Siluriformes (FENOCCHIO et al., 2002; MAISTRO et al., 2002), embora em outras famílias, como Trichomycteridae, em três espécies do gênero *Trichomycterus* (Siluriformes) marcações CMA₃⁺ estão presentes em regiões intersticiais (BORIN; MARTINS-SANTOS, 1999).

Os dados obtidos demonstram que o padrão cariotípico de *P. galeatus* da bacia do Atlântico NE Oriental é conspicuamente diferenciado daqueles das bacias do Amazonas e São Francisco, tanto em relação à fórmula cariotípica, como quanto à natureza da heterocromatina. Apesar das diferenciações estruturais, a amostra analisada, revela maior similaridade quanto à macroestrutura cariotípica com a da bacia do São Francisco, do qual difere quanto aos grupos de cromossomos

submetacêntricos e subtlocêntricos. Embora estudos conclusivos sejam necessários, é possível inferir uma maior proximidade filogenética entre as amostras destas bacias. As diferenciações citogenéticas, no entanto, são suficientes para indicar formas biológicas particulares, morfologicamente crípticas, constituindo um complexo de espécies, ainda sob a denominação genérica de "*P. galeatus*".

5. Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq pelo suporte financeiro (Processo No. 556793/2009-9) para condução do presente estudo.

6. Referências Bibliográficas

- ANDREATA, A. A.; OLIVEIRA, O.; 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.
- 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. Un 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.
- BERTOLLO, L. A. C.; OLIVEIRA, C.; MOLINA, W. F.; MARGARIDO, V. P.; FONTES, M. S.; PASTORI, M. C.; FALCÃO, J. N.; FENOCCHIO, A. S. Chromosome evolution in the erythrinid fish, *Erythrinus erythrinus* (Teleostei, Characiformes). **Heredity**, v. 93, p. 228–233, 2004.
- BERTOLLO, L. A. C.; BORN, G. G.; DERGAM, J. A.; FENOCCHIO, A. S.; MOREIRA-FILHO, O. A biodiversity approach in the neotropical Erythrinidae fish, *Hoplias malabaricus*. Karyotypic survey, geographic distribution of cytotypes and cytotaxonomic considerations. **Chromosome Research**, v. 8, p. 603–613, 2000.
- BORIN, L. A.; MARTINS-SANTOS, I. C. Karyotype characterization of three species of the genus *Trichomycterus* (Teleostei, Siluriformes) from Iguazu river basin. **Genetica**, v. 106, p. 3–8, 1999.
- CENTOFANTE, L.; BERTOLLO, L. A. C.; MOREIRA-FILHO, O. Cytogenetic characterization and description of an XX/XY₁Y₂ sex chromosome system in catfish *Harttia carvalhoi* (Siluriformes, Loricariidae). **Cytogenetic and Genome Research**, v. 112, p. 320–324, 2006.
- FENOCCHIO, A. S.; BERTOLLO, L. A. C.; TAKAHASHI, C. S.; DIAS, A. L.; SWARÇA, A. C. Cytogenetics studies and correlations on Rhamdiinae relationships (Pisces, Siluroidei, Pimelodidae). **Cytologia**, v. 68, p. 363–368, 2002.
- FENOCCHIO, A. S.; SWARÇA, A. C.; DIAS, A. L. Dados cariotípicos preliminares em *Glanidium riberoi* (Auchenipteridae, Siluriformes) do rio Iguazu, PR. **X Simpósio de Citogenética e Genética de Peixes**, Natal-RN, p.138, 2004.
- FERRARIS, C. J. Checklist of catfishes, recent and fossil (Osteichthyes: Siluriformes), and catalogue of siluriform primary types. **Zootaxa**, v. 1418, p. 1–628, 2007.
- GALETTI Jr., P. M.; AGUILAR, C. T.; MOLINA, W. F. An overview of marine fish cytogenetics. **Hydrobiologia**, v. 420, p. 55–62, 2000.
- GARCIA, C. Contribuição aos estudos citogenéticos em algumas espécies de cinco famílias de Siluriformes do Rio São Francisco. 2005. 104 f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2005.
- GARCIA, C.; MOREIRA-FILHO, O. Cytogenetical analyses in three fish species of the genus *Pimelodus* (Siluriformes: Pimelodidae) from rio São Francisco: considerations about the karyotypical evolution in the genus. **Neotropical Ichthyology**, v. 3, p. 285–290, 2005.
- GOLD, J. R.; LEE, C.; SHIPLEY, N. S.; POWERS, P. K. Improved methods for working with fish chromosomes with a review of metaphase chromosome banding. **Journal of Fish Biology**, v. 37, p. 563–575, 1990.
- HATANAKA, T.; GALETTI Jr., P. M. Mapping of the 18S and 5S ribosomal RNA genes in the fish *Prochilodus argenteus* Agassiz, 1829 (Characiformes, Prochilodontidae). **Genetica**, v. 122, p. 239–244, 2004.
- 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.
- KAVALCO, K. F. **Contribuição citogenética a análise da biodiversidade da ictiofauna das nascentes do rio Piraitininga**. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, São Paulo, 2003.
- KAVALCO, K. F.; PAZZA, R.; BERTOLLO, L. A. C.; MOREIRA-FILHO, O. Karyotypic diversity and evolution of Loricariidae (Pisces, Siluriformes). **Heredity**, v. 94, p. 180–186, 2005a.
- KAVALCO, K. F.; PAZZA, R.; BERTOLLO, L. A. C.; MOREIRA-FILHO, O. Molecular cytogenetics of *Oligosarcus hepsetus* (Teleostei, Characiformes) from two Brazilian locations. **Genetica**, v. 124, p. 85–91, 2005b.
- LEVAN, A.; FREDGA, K.; SANDEBERG, A. A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. **Hereditas**, v. 52, p. 201–220, 1964.
- LUI, R. L.; BLANCO, D. R.; MARGARIDO, V. P.; MOREIRA-FILHO, O. First description of B chromosomes in the family Auchenipteridae, *Parauchenipterus galeatus* (Siluriformes) of the São Francisco River basin (MG, Brazil). **Micron**, v. 40, 552–559, 2009.
- LUI, R. L.; BLANCO, D. R.; MARGARIDO, V. P.; MOREIRA-FILHO, O. Chromosome characterization and Biogeographic relations among three populations of

- the driftwood catfish *Parauchenipterus galeatus* (Linnaeus, 1766) (Siluriformes: Auchenipteridae) in Brazil. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 99, p. 648–656, 2010.
- MAISTRO, E. L.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Cytogenetic analysis of A and B chromosomes of *Rhamdia hilarii* (Teleostei, Pimelodidae): C-banding, silver nitrate and CMA₃ staining and restriction endonuclease banding. **Cytologia**, v. 67, p. 25–31, 2002.
- MAISTRO, E. L.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Sympatric occurrence of two cytotypes of *Asyanax scabripinnis* (Characiformes, Characidae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, p. 365–369, 2000.
- MARGARIDO, V. P.; ROMAN, M. P. Estudos citogenéticos em *Glanidium ribeiroi*, *Pariolius* sp., *Rhamdia voulezi* (PISCES, SILURIFORMES) coletados no rio Iguaçu - Quedas do Iguaçu - Paraná. **Anais do 46º Congresso Nacional de Genética**, Águas de Lindóia, 2000.
- MARQUES, M. B. A.; MOREIRA-FILHO, O.; GARCIA, C.; MARGARIDO, V. P. Cytogenetic analyses of two endemic from the São Francisco River basin: *Conorhynchus conirostris* and *Lophiosilurus alexandri* (Siluriformes). **Genetics and Molecular Biology**, v. 31, p. 515–521, 2008.
- MEDEIROS, A. P. T.; CHELLAPPA, N. T.; CHELLAPPA, S. Aspectos reprodutivos do cangati, *Parauchenipterus galeatus* Linnaeus (Osteichthyes, Auchenipteridae) da Lagoa de Extremoz, Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.20, p. 647–650, 2003.
- MILHOMEM, S. S. R.; PIECZARKA, J. C.; CRAMPTON, W. G. R.; SILVA, D. S.; SOUZA, A. C. P.; CARVALHO, J. R.; NAGAMACHI, C. Y. Chromosomal evidence for a putative cryptic species in the *Gymnotus carapo* species-complex (Gymnotiformes, Gymnotidae). **BMC Genetics**, v. 9, p. 75–85, 2008.
- MOLINA, WF. An alternative method for mitotic stimulation in fish cytogenetics. **Chromosome Science**, v. 5, p. 149–152, 2001.
- MOREIRA-FILHO, O.; BERTOLLO, L. A. C. *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae): a species complex. **Revista Brasileira de Genética**, v.14, p. 331–357, 1991.
- NELSON, J.S. **Fishes of the World**. New York: John Wiley and Sons Inc., 2006.
- OLIVEIRA, C.; GOSZTONYI, A. E. A cytogenetic study of *Diplomystes mesenbrinus* (Teleostei, Siluriformes, Diplomystidae) with a discussion of chromosome evolution in siluriforms. **Caryologia**, v. 53, p. 31–37, 2000.
- OLIVEIRA, R. R.; SOUZA, I. L.; VENERE, P. C. Karyotype description of three species of Loricariidae (Siluriformes) and occurrence of the ZZ/ZW sexual system in *Hemiancistrus spilomma* CARDOSO & LUCINDA, 2003. **Neotropical Ichthyology**, v. 4, p. 93–97, 2006.
- PENDÁS, A. M.; MORÁN, P.; FREIJE, J. P.; GARCÍA-VÁZQUEZ, E. Chromosomal location and nucleotide sequence of two tandem repeats of the Atlantic salmon 5S rDNA. **Cytogenetics and Cell Genetics**, v. 67, p. 31–36, 1994.
- 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 USA**, v. 83, p. 2934–2938, 1986.
- PORTELA-CASTRO, A. L. B.; JULIO Jr., H. F.; SANTOS, I. C. M.; PAVANELLI, C. S. Occurrence of two cytotypes in Bryconamericus aff. Iheringii (Characidae): karyotype analysis by C- and G-banding and replication bands. **Genetica**, v. 133, p. 113–118, 2007.
- RAVEDUTTI, C. G.; JÚLIO Jr., H. F. Cytogenetic analysis of three species of the Neotropical family Auchenipteridae (Pisces, Siluriformes) from the Paraná river basin, Brazil. **Cytologia**, v. 66, p. 65–70, 2001.
- REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS Jr., C. J. **Check List of the Freshwaters of South and Central America**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2003.
- ROMAN, M. P.; PEGARARO, J. L.; MARGARIDO, V. P. Análises citogenéticas em quatro espécies de Siluriformes (Pisces) com ênfase ao padrão de distribuição da heterocromatina constitutiva. **Anais 47º Congresso Brasileiro de Genética**, Águas de Lindóia, SP, 2001.
- SANCHES, P.V.; NAKATANI, K.; BIALETZKI, A. Morphological description of the developmental stages of *Parauchenipterus galeatus* (Linnaeus, 1766) (Siluriformes, Auchenipteridae) on the floodplain of the upper Paraná river. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 59, p. 429–438, 1999.
- SCHWEIZER, D. Simultaneous fluorescent staining of R bands and specific heterochromatic regions (DA-DAPI bands) in human chromosomes. **Cytogenetic and Cell Genetics**, v. 27, p. 190–193, 1980.
- SOUZA, E. L. M.; FELDBERG, E.; NAKAYAMA, C. M. Análise cromossômica de quatro espécies da família Auchenipteridae (Pisces, Siluriformes) da Bacia Amazônica. **IX Congresso de Citogenética e Genética de Peixes**, Maringá, PR, p. 84, 2002.
- SOUZA, I. L.; MOREIRA-FILHO, O.; GALETTI Jr., P. M. Heterochromatin differentiation in the characid fish *Astyanax scabripinnis*. **Brazilian Journal of Genetics**, v. 19, p. 405–410, 1996.
- SUMNER, A. T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. **Experimental Cell Research**, v. 75, p. 304–306, 1972.
- TORRES, R. A.; ROPER, J. J.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. Surprising genomic diversity in the Neotropical fish *Synbranchus marmoratus* (Teleostei: Synbranchidae): how many species? **Neotropical ichthyology**, v. 3, p. 277–284, 2005.