

Caracterização citogenética de uma espécie de *Spatuloricaria* (Siluriformes, Loricariidae) do rio Xingu, (Pará, Amazônia, Brasil)

Renata Oliveira Ferreira¹, Adenilson Leão Pereira¹, Cleusa Yoshiko Nagamachi³, Julio Cesar Pieczarka³, Leandro Melo de Sousa², Renata Coelho Rodrigues Noronha¹

1. Laboratório de Citogenética, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará - Campus do Guamá, Brasil.

2. Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará - Campus de Altamira, Brasil.

3. Pesquisador do CNPq, Brasil.

RESUMO: O gênero *Spatuloricaria* (Loricariinae, Loricariidae) compreende 12 espécies com caracterização pouco precisa, com dados morfológicos insipientes e nenhuma informação cariotípica disponível. Neste trabalho foi feita a primeira caracterização citogenética de uma espécie de *Spatuloricaria* do rio Xingu, utilizando técnicas de coloração convencional, bandeamento C, CMA₃, DAPI, hibridização *in situ* fluorescente (FISH) com sondas teloméricas e DNAr18S. Os resultados mostram que *Spatuloricaria* sp. apresenta 2n=66 (6st+7sm+4m+16a) e número fundamental (NF) 92. A heterocromatina constitutiva (HC) está presente nas regiões centroméricas e pericentroméricas dos cromossomos e no braço curto do par 15, coincidindo com as marcações de DAPI. A FISH com sondas de DNAr 18S marcou o par cromossômico oito em sua porção terminal correspondente à marcação de CMA3, sendo observado heteromorfismo de tamanho dessa região. Não foram observadas sequências teloméricas intersticiais. Estes dados poderão servir como marcadores citotaxonômicos para a melhor compreensão do grupo e suas relações dentro da família Loricariidae, permitindo traçar inferências sobre a evolução cromossômica do gênero e suas relações com outros loricarídeos.

Palavras-chave: Loricariinae, citotaxonomia, FISH, sondas DNAr, sequências teloméricas.

Cytogenetic characterization of a *Spatuloricaria* (Siluriformes, Loricariidae) species of the Xingu River (Pará, Amazon, Brazil)

ABSTRACT: Genus *Spatuloricaria* (Loricariinae, Loricariidae) comprises 12 species which are not very precisely characterized, because morphological data are incipient and no karyotype information is available. In this work, was made the first cytogenetic characterization of a *Spatuloricaria* species of the Xingu River. Chromosomes were analyzed with conventional staining techniques, C banding, CMA3, DAPI, fluorescent *in situ* hybridization (FISH) with telomeric probes and rDNA18S. The results show that *Spatuloricaria* sp. has 2n=66 (6st/7sm/4m/16a) and a fundamental number (FN) of 92. The C-banding pattern revealed a distribution of heterochromatin in the centromeric and pericentromeric regions of the chromosomes and on the short arm of pair 15, coinciding with the DAPI labeling. FISH with rDNA 18S probes painted the terminal portion of chromosome pair eighth, corresponding to the CMA3 labeling, and a heteromorphism between the genomic blocks of this region was observed. The data obtained shall serve as cytotaxonomic markers for a better understanding of this group and its relationships within family Loricariidae, allowing inferences about the chromosomal evolution of the genus and its relations with other loricarids.

Keywords: Loricariinae, cytotaxonomy, FISH, rDNA and telomeric probes.

1. Introdução

A família Loricariidae é monofilética (MONTROYA-BURGOS et al., 1998; ARMBRUSTER, 2004), contabilizando 785 espécies distribuídas em 100 gêneros (ESCHMEYER, 2012). A taxonomia da família é confusa (ISBRUCKER, 2001). Dados citogenéticos poderiam auxiliar no esclarecimento das relações taxonômicas, mas poucas espécies foram estudadas e, entre essas, há uma grande variação no número diploide, variando de 2n=34, em *Ancistrus cuiabae* (MARIOTTO et al., 2009), até 2n=96, em *Upsilonodus* sp.

(KAVALCO et al., 2004), o que dificulta a comparação destes cariótipos.

Atualmente, são reconhecidas seis subfamílias de Loricariidae: Delturiinae, Hypoptopomatinae, Hypostominae, Lithogeneinae, Loricariinae e Neoplecostominae (ARMBRUSTER, 2004; REIS et al., 2006; CRAMER et al., 2011). A subfamília Loricariinae é constituída de 31 gêneros com 210 espécies reconhecidas (ISBRUCKER, 2001), com cinco dos seus gêneros apresentando informações citogenéticas (Quadro 1).

Quadro 1. Revisão da literatura dos gêneros da subfamília Loricariinae com dados citogenéticos (2n).

Gênero	Espécie	Localidade	2n	Referência
Harttia	<i>Harttia kronei</i>	Rio Betari (SP)	58	ALVES, 2000
	<i>Harttia loricariformis</i>	Córrego Grande (SP)	52	ALVES, 2000
	<i>Harttia loricariformis</i>	Rio Paraitinga (SP)	56	KAVALCO, 2005
Loricaria	<i>Loricaria</i> sp.	Rio Solimões (AM)	62	DELLA-ROSA et al., 1980
	<i>Loricaria</i> sp.	Rio Paraná (PR)	64	SCAVONI E JÚLIO Jr., 1994
	<i>Loricaria</i> sp.	Rio Guaíba (RS)	66	ALVES, 2000
	<i>Loricaria macrodon</i>	-	58	MICHELLE et al., 1977
	<i>Loricaria parva</i>	-	48	GYLDENHOLM E SCHEEL, 1971
	<i>Loricaria proluxa</i>	Rio Paraná (PR)	62	SCAVONE E JÚLIO Jr., 1994
Loricariichthys	<i>Loricariichthys</i> sp.	Rio Paraná (ARG)	54	FENOCCHIO, 1993
	<i>Loricariichthys platymetopom</i>	Rio Paraná (RS)	54	SCAVONE, 1993, SCAVONE E JÚLIO Jr., 1995
Rineloricaria	<i>Rineloricaria</i> sp.	Rio Betari (SP)	70	ALVES, 2000; ALVES et al., 2003
	<i>Rineloricaria kronei</i>	Córrego Cavalo (RS) e Rio Itapoçu (SC)	64	ALVES, 2000; ALVES et al., 2003
	<i>Rineloricaria latirostris</i>	Rio Passa Cinco (SP)	44	GIULIANO-CAETANO, 1998
	<i>Rineloricaria latirostris</i>	Rio Passa Cinco (SP)	46	GIULIANO-CAETANO, 1998
	<i>Rineloricaria latirostris</i>	Rio Mogi Guaçu (SP)	36/37/38/39/40	GIULIANO-CAETANO, 1998
	<i>Rineloricaria latirostris</i>	Córrego Três Bocas (SP)	43/44/46/47/48	GIULIANO-CAETANO, 1998
	<i>Rineloricaria latirostris</i>	Rio Passa Cinco (SP)	44/45/46/47	GIULIANO-CAETANO, 1998
	<i>Rineloricaria latirostris</i>	Córrego Keller (PR)	56	GIULIANO-CAETANO, 1998 E 1999
	<i>Rineloricaria cadeaë</i>	Rio Guaíba (RS)	66	ALVES et al., 2003
Sturisoma	<i>Sturisoma cf. nigrirostrum</i>	Rio Araguaia (MT)	74	ARTONI E BERTOLLO, 2001

Após extensiva revisão da família Loricariidae, Kavalco et al. (2005), apoiam a proposta de Artoni e Bertolo (2001), que sugerem $2n=54$ como um caráter plesiomórfico nos loricarídeos e que rearranjos cromossômicos dos tipos fusão, fissão e inversão pericêntrica atuaram na diferenciação cariotípica dessa família.

A subfamília Loricariinae, considerada a segunda mais numerosa dentre os Loricariidae, apresenta uma grande diversidade cariotípica, tanto em relação ao valor diploide, quanto no cariótipo, com uma variação de número diploide de 36 a 74 (Quadro 1). O gênero *Rineloricaria* é o mais diversificado da subfamília, com 60 espécies reconhecidas e somente nove com informações citogenéticas disponíveis (RODRIGUEZ; REIS, 2008; GHAZZI, 2008).

O gênero *Spatuloricaria* (Loricariinae) é encontrado

em drenagens do Pacífico, do Atlântico, dos Andes e nas bacias dos rios Amazonas, Alto Paraguai e São Francisco (COVAIN, 2007), compreendendo 12 espécies (Quadro 2). Nenhuma informação citogenética está disponível para suas espécies. A posição filogenética do gênero é incerta. Na filogenia proposta por Isbrucker e Nijssen (1978) *Spatuloricaria* é posicionado na tribo Loricariini e subtribo Rineloricariinae (ISBRUCKER, 1979). Por outro lado, PY-DANIEL (1997) propõe que *Spatuloricaria* não está inserido em nenhuma subtribo. FICHBERG (2008) propõe uma filogenia baseada em caracteres morfológicos identificando dois grupos dentro da tribo Loricariini, nos quais *Spatuloricaria* está na base dos dois grupos. Conflitos taxonômicos entre os gêneros da subfamília permanecem e os dados morfológicos não são suficientes para resolvê-los.

Quadro 2. Relação das espécies do gênero *Spatuloricaria* e seus locais de distribuição.

Espécies	Localidades
<i>Spatuloricaria nudiventris</i> (Valenciennes, 1840)	Brasil
<i>S. evansii</i> (Boulenger, 1892)	Argentina, Bolívia e Brasil
<i>S. gymnogaster</i> (Eigenmann e Vance, 1912)	Colômbia
<i>S. fimbriata</i> (Eigenmann e Vance, 1912)	Colômbia e Panamá
<i>S. pujanensis</i> (Pearson, 1937)	Peru
<i>S. curvispina</i> (Dahl, 1942)	Colômbia
<i>S. caquetae</i> (Fowler, 1943)	Colômbia
<i>S. lagoichthys</i> (Schultz, 1944)	Venezuela
<i>S. atratoensis</i> (Schultz, 1944)	Colômbia
<i>S. phelpsi</i> (Schultz, 1944)	Venezuela
<i>S. euacanthagenys</i> (Isbrucker, 1979)	Colômbia

Neste trabalho nós caracterizamos cariotipicamente uma espécie de *Spatuloricaria* proveniente do rio Xingu, fornecendo novas informações citogenéticas dentro de Loricariinae, com objetivo de auxiliar na compreensão dos processos evolutivos envolvidos na diversificação do grupo.

2. Material e Métodos

Foram analisados seis machos e uma fêmea de *Spatuloricaria* sp. provenientes do rio Xingu ($52^{\circ}11'10''W$, $31^{\circ}9'30''$), na região de Altamira, Pará (Figura 1). Os cromossomos metafásicos foram obtidos de células do rim cefálico após serem submetidas à colchicina, através dos procedimentos descritos por BERTOLLO et al. (1978). A preparação cromossômica foi analisada por coloração convencional (Giemsa). As

regiões ricas em heterocromatina no cariótipo da espécie estudada foram reveladas através de bandeamento C após tratamento por Bário 2%, seguindo SUMNER, (1972). A marcação das regiões ricas em G-C foram reveladas por Cromomicina A₃, descrita por Schweize (1980). As regiões ricas em A-T foram reveladas através da coloração por DAPI (4'-6-diamidino-2-phenilindole), descrita por PIECZARKA et al. (2006).

Para a hibridização *in situ* fluorescente (FISH) com sondas de DNA ribossomal 18S (rDNA18S), foram obtidas sequências gênicas dessa região por amplificação por meio de reação em cadeia da polimerase (PCR) dessas sequências gênicas do genoma de *Prochilodus argenteus* (HATANAKA; GALETTI, 2004). As sondas de rDNA 18S foram marcadas com

digoxigenina-d-UTP por *nick translation* (Roche) e detectadas com anti-digoxigenina-FITC. A sonda de rDNA 18S foi desnaturada em solução de formamida 70% diluída em 2xSSC à 60°C por 2 minutos, as lâminas foram incubadas a 37°C por 72 horas em câmaras escuras úmidas; em seguida as lâminas foram submetidas a lavagem de estringência em solução

formamida 50% diluída em 2xSSC à uma temperatura de 40°C por 5 minutos. Para FISH com sondas teloméricas, foram utilizadas sondas comerciais da Oncor de seqüências teloméricas humanas e a FISH foi realizada de acordo com protocolo sugerido pela empresa. Os cromossomos foram organizados de acordo com Guerra (1986).

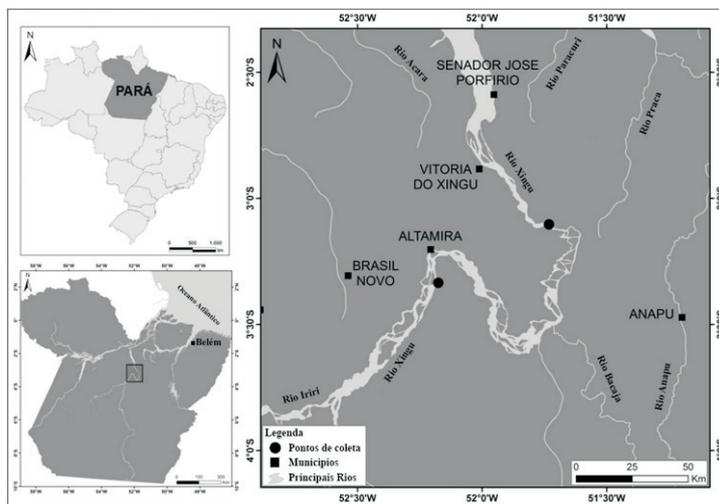


Figura 1. Mapa de coleta dos espécimes *Spatuloricaria* sp.

3. Resultados

Os espécimes de *Spatuloricaria* sp. apresentaram $2n=66$ e $NF=92$ com fórmula cariotípica (6st+7sm+4m+16a) e ausência de cromossomos sexuais diferenciados (Figura 2).

Bandas heterocromáticas (BC) (Figura 3) e marcações positivas por DAPI (Figura 4) coincidiram, sendo evidenciadas nas regiões centroméricas e pericentroméricas de todos os cromossomos, apresentando-se mais conspícuas nos braços curtos do par cromossômico 15 (Figuras 2 e 3).

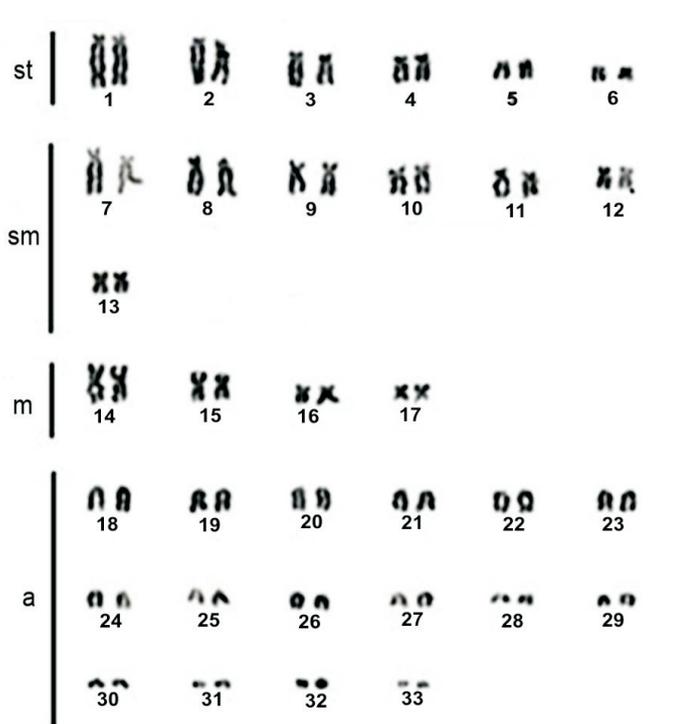


Figura 2. Cariótipo de *Spatuloricaria* sp. Em coloração convencional com Giemsa, com $2n=66$ ($NF=92$) e fórmula cariotípica 6st+7sm+4m+16a.

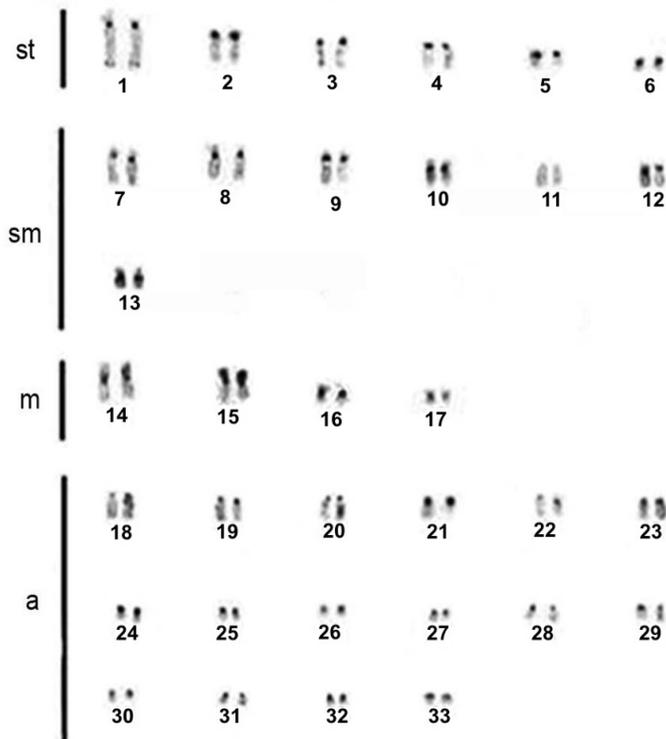


Figura 3. Bandejamento C do cariótipo de *Spatuloricaria* sp.

As sequências de DNAr 18S estão localizadas nos braços curtos do par 8 (nas regras da revista tenho que escrever por extenso até 9) (RON simples), que possuem um heteromorfismo de tamanho desta região e que coincidem com marcações positivas de CMA₃ (Figura 5A, B). A figura 5D mostra um quadro comparativo com

marcações (BC, CMA₃ e DNAr 18S) na região portadora da RON, localizada no par seis.

A FISH com sondas teloméricas (TTAGGG) hibridizou nas regiões terminais de todos os cromossomos, não sendo observada a presença de marcações teloméricas intersticiais (ITS) (Figura 5C).

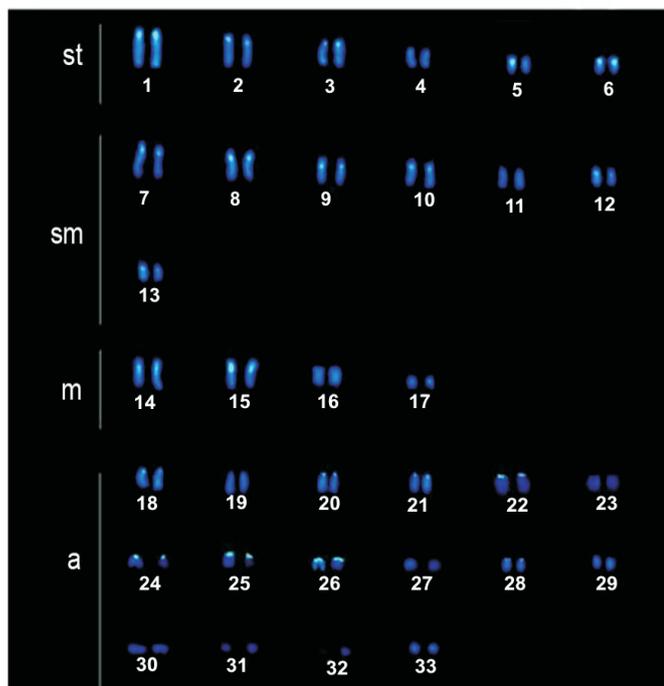


Figura 4. Cariótipo de *Spatuloricaria* sp. por coloração com o fluorocromo DAPI.

4. Discussão

Dentre as 12 espécies de *Spatuloricaria* reconhecidas na literatura nenhuma apresenta dados citogenéticos. Este é o primeiro estudo deste tipo em uma espécie deste gênero, *Spatuloricaria* sp., que apresenta $2n=66$ e $NF=92$. As análises citogenéticas demonstraram uma grande diversidade cariotípica na família Loricariidae, com variação no número diplóide de 34 a 94 (KAVALCO et al., 2004; MARIOTTO et al., 2009). Na subfamília Loricariinae a variação do número diplóide aponta uma diversidade bastante acentuada de 36 a 74 (Quadro 1); esses dados reforçam a ideia de que rearranjos cromossômicos sucessivos, provavelmente do tipo fissão cêntrica, poderiam estar envolvidos no processo evolutivo de *Spatuloricaria* sp., considerando que as espécies da família Loricariidae com $2n$ acima de 54 representam formas cariotípicas mais derivadas (ARTONI; BERTOLO, 2001; KAVALCO et al., 2005).

A diversidade encontrada nos Loricariidae mostra evolução por meio de rearranjos Robertsonianos e inversões pericêntricas. O alto número diplóide observado em algumas espécies de Loricariinae vem acompanhado por um grande número de cromossomos acrocêntricos, sugerindo a ocorrência de fissões cêntricas (ALVES et al., 2003). No entanto é importante a realização de mais estudos morfológicos, cariotípicos e moleculares para se entender o curso evolutivo de

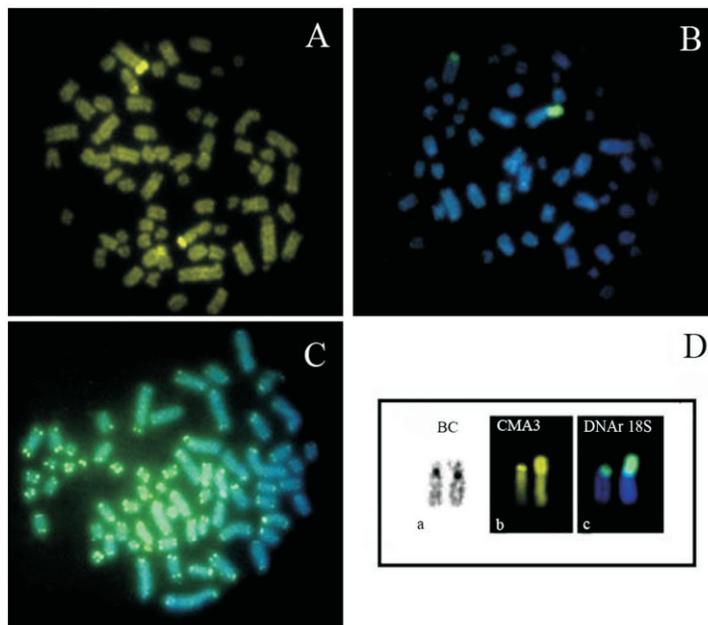


Figura 5. (A) marcação com CMA₃; (B) FISH com sondas de DNAr 18S; (C) FISH com sondas teloméricas; (D) quadro comparativo do oitavo par cromossômico portador das RONs: (a) BC, (b) CMA₃ e (c) DNAr 18S com o heteromorfismo de tamanho.

Spatuloricaria. Provavelmente, outros rearranjos cromossômicos, como fusões, inversões, deleções e duplicações contribuíram para a diferenciação cromossômica da subfamília.

Observamos que em *Spatuloricaria* sp., a DAPI marcou positivamente as regiões de heterocromatina constitutiva demonstrando que essas regiões são ricas em pares de bases adenina-timina (A-T). Dos gêneros da subfamília Loricariinae, *Hartia* é considerado filogeneticamente o grupo mais basal (ISBRUCKER, 1979; COVAIN et al., 2008) e apresenta um grande acúmulo de heterocromatina constitutiva (RODRIGUES, 2010). *Spatuloricaria* também é considerado um grupo basal na tribo Loricariini (FICHBERG, 2008) e apresenta uma pequena quantidade de HC nas regiões pericentromérica e centromérica dos cromossomos, provavelmente, eventos independentes de modificações da heterocromatina podem ter ocorrido durante a evolução cromossômica da subfamília.

As marcações de CMA₃ coincidentes com as marcações de RONs confirmam a afinidade de ligação pelas bases G-C em *Spatuloricaria* sp., informação essa, relatada para diversas espécies de peixes (SOLA et al., 1992; NOLETO et al., 2007) incluindo os Siluriformes (ARTONI et al., 1999; MAISTRO et al., 2002; GARCIA, 2003; SOUZA et al., 2004). Segundo Pendás et al. (1993), a coincidência de marcações com fluorocromo G-C específicos e as regiões de Ag-RONs, ocorre

provavelmente devido ao alto conteúdo de bases G-C nas regiões espaçadoras dos genes ribossomais e as seqüências de DNA repetitivo adjacentes, permitindo a identificação de RONS independentemente da sua atividade durante o ciclo celular. As marcações coincidentes mostram um heteromorfismo de tamanho que pode ter sido gerado por *crossing over* desigual, por meio de duplicações e /ou deleções gênicas de seqüências repetitivas localizadas nestas regiões. Esse heteromorfismo é bastante comum em peixes neotropicais segundo ALMEIDA-TOLEDO et al. (2000), e também verificado em grupos da família Loricariidae como: Hypoptopomatinae (ALVES, 2000), Hypostominae (ARTONI; BERTOLLO, 1996) e Loricariinae (GIULIANO-CAETANO, 1998).

Artoni (1996) propôs que o fenótipo ancestral para as RONS nos Loricariidae seria a localização terminal no braço longo de um par de cromossomos metacêntrico. No entanto, existem loricarídeos que apresentam RONS múltiplas, como em Hypostominae (ARTONI; BERTOLO, 2001) e RONS simples aqui descrita para *Spatuloricaria*. Milhomem et al. (2013) ao analisarem homeologias de marcações RONS s em diferentes espécies de *Gymnotus* sugerem que, nem sempre a RONS simples tem caráter primitivo e RONS múltipla caráter derivado, estudos mais precisos com citogenética molecular são importantes para se determinar a NOR como um marcador cromossômico evolutivo. Nagamachi et al. (2010) usando pintura cromossômica constataram que duas populações de *Gymnotus carapo* se diferenciam por um número maior de rearranjos cromossômicos do que se supunha em um estudo prévio usando apenas dados de citogenética clássica (MILHOMEM et al., 2008). Neste trabalho, sugerimos que em *Spatuloricaria* sp. não se deve definir a marcação de RONS simples, como uma característica basal. A falta de estudos no grupo dificulta o levantamento de hipóteses sobre a posição e evolução das regiões ribossomais.

As espécies de *Spatuloricaria* são difíceis de serem identificadas morfológicamente e podem ser facilmente confundidas. Nossa pesquisa vem contribuir com as primeiras informações cariotípicas que irão auxiliar na elucidação de problemas taxonômicos e filogenéticos da subfamília.

5. Conclusão

As características citogenéticas descritas para *Spatuloricaria* sp. ($2n=66$ e $NF=92$) representam as primeiras informações para o gênero, incluindo resultados de BC, DAPI, FISH com sondas de DNAr 18S e teloméricas. Os dados observados poderão servir como marcadores citotaxonômicos para a melhor compreensão da diversidade do grupo e suas relações dentro da família Loricariidae, permitindo traçar inferências sobre a evolução cromossômica do gênero e suas relações com outros loricarídeos.

6. Agradecimentos

Os autores agradecem aos órgãos de fomento UFPA e Vale-FAPESPA. Ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA)

pela autorização das coletas (número da licença 21078-5) e ao Projeto ARAPAIMA IMPORTAÇÃO E EXPORTAÇÃO DE AQUICULTURA LTDA por alguns exemplares cedidos para o estudo.

7. Referências Bibliográficas

- ALMEIDA-TOLEDO, L. F.; FORESTI, F.; TOLEDO-FILHO, S. A. Karyotypic evolution in Neotropical freshwater fish. **Chromosome Today**, v. 13, p. 169-182. 2000.
- ALVES, A. L. **Análise da evolução dos gêneros da subfamília Hemipsilichthiinae (Ostariophysi, Siluriformes), com base em caracteres cromossômicos e de DNA mitocondrial.** 129p. 2000. Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual Paulista. 2000.
- ALVES, A. L.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Karyotype variability in eight species of the subfamilies Loricariinae and Ancistrinae (Teleostei, Siluriformes, Loricariidae). **Caryologia**, v. 56, n. 1, p. 57-63, 2003.
- ARMBRUSTER, J. W. Phylogenetic relationships of the sucker mouthed catfishes (Loricariidae) with emphasis on the Hypostominae and the Ancistrinae. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 141, p.1-80, 2004.
- ARTONI, R. F. **Estudos Citogenéticos na família Loricariidae, com ênfase no gênero Hypostomus Lacépède (1803), (Pisces Siluriformes).** 1996. 162f. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Carlos, São Carlos, 1996..
- 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). **Genet. Mol. Biol.** v. 22, p. 39-44, 1999.
- ARTONI, R. F.; BERTOLLO, L. A. C. Trends in the karyotype evolution of Loricariidae fish (Siluriformes). **Hereditas** v. 134, p. 201–210, 2001.
- BERTOLLO, L. A. C.; TAKASHI, C. S.; MOREIRA-FILHO, O. Cytotaxonomic considerations on *Hopliaslaccerae* (Pisces, Erytrinae). **Brazilian Journal of Genetics**, v. 2, p. 103-120, 1978.
- COVAIN, R.; FISCH-MULLER. The genera of the neotropical armored catfish subfamília *Loricariinae* (Siluriformes: Loricariidae): a practical key and synopsis. **Zootaxa**, v. 1462, p. 1-40, 2007.
- COVAIN, R. DRAY, S.; FISCH-MULLER, S.; MONTOYA-BURGOS, J.R. Assessing phylogenetic dependence of morphological traits using co-inertia prior to investigate character evolution in Loricariinae catfishes. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 46, p. 986-1002, 2008.
- CRAMER, C. A.; BONATTO, S. L.; REIS, R. E. Molecular phylogeny of the Neoplecostominae and Hypoptopomatinae (Siluriformes: Loricariidae) using multiple genes. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 59, p. 43–52, 2011.
- DELLA-ROSA, V. A.; BERTOLLO, L. A. C.; FERRARI, I.; TAKAHASHI, C. S.; MOREIRA-FILHO, O.; FORESTI, F. Estudos citogenéticos em peixes da Amazônia II: Ordem Siluriformes. **Ciência e Cultura** v. 32, p. 735, 1980.
- ESCHMEYER, W. N. (ed). **Catalog of Fishes. California Academy of Sciences** (<http://research.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>). Acesso em: 12-09-2012.
- FENOCCHIO, A. S. **Cromossomos supranumerários no gênero Rhamdia (Pisces). Caracterização cromossômica e considerações sobre a evolução cariotípica nos Siluroidei.** 1993. 122f. Tese (Doutorado) Universidade de São Paulo, São Paulo. 1993.
- FICHBERG, I. **Relações filogenéticas do gênero Rinoloricaria BLEEKER, 1862 (Siluriformes, Loricariidae, Loricariinae).** Tese (Pós-Doutorado) Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- GARCIA, C.; MOREIRA-FILHO, O.; BERTOLLO, L. A. C.; CENTOFANTE, L. B. Chromosomes and natural triploidy in *Rhamdia* sp. (Pisces, Siluriformes, Heptapteridae). **Cytologia** v. 64, n. 4, p. 403-411, 2003.
- GIULIANO-CAETANO, L. **Polimorfismo cromossômico Robertsoniano em populações de Rinoloricaria latirostris**

- (Pisces, Loricariinae). Tese (Doutorado) 78f. 1998. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1998.
- GIULIANO-CAETANO, L.; MOREIRA-FILHO, O.; BERTOLLO, L. A. C. Estudos citogenéticos em *Rineloricaria pentamaculata* (Langeani e Araújo, 1994). **Genet. Mol. Biol.**, v. 22, p. 192, 1999.
- GUERRA, M. S.. Reviewing the chromosome nomenclature of Levan et al. **Brazilian Journal of Genetics**, v. 9, p. 741-743. 1986.
- GHAZZI, M. S. Nove espécies novas do gênero *Rineloricaria* (Siluriformes, Loricariidae) do rio Uruguai, do sul do Brasil. **Iheringia, Sér. Zool.**, v. 98, n. 1, p. 100-122. 2008.
- GYLDENHOLM, A. O.; SCHEEL, J. J. Chromosome numbers of fishes I. **J. Fish. Biol.**, v. 3, p. 479-486, 1971.
- HATANAKA, T.; GALETTI JR, P. M. Mapping of 18S and 5S ribosomal RNA genes in the fish *Prochilodus argenteus* Agassiz, 1829 (Characiformes, Prochilodontidae). **Genetica**, v. 122, p. 239-244. 2004.
- ISBRÜCKER, I. J. H.; NIJSSSEN, H. Theneotropical mailed catfishes of the genera *Lamontichthys* P. de Miranda Ribeiro, 1939 and *Pterosturisoma* n. gen., including the description of *Lamontichthys stibaros* n. sp. from Ecuador (Pisces, Siluriformes, Loricariidae). **Bijdragen tot de Dierkunde**, v. 48 n. 1 p. 57-80, 1978.
- ISBRÜCKER, I. J. H. Descriptions préliminaires de nouveaux taxa de la famille des Loricariidae, poissons-chats cuirassés néotropicaux, avec un catalogue critique de lasous-familienominales (Pisces, Siluriformes). **Revue française ed' Aquariologie et Herpétologie**, v. 5, n.4, p. 86-117, 1979.
- ISBRÜCKER, I. J. H.; SEIDEL, I.; MICHELS, J. P.; SCHRAML, E.; WERNER, A. Diagnose vierzehneuer Gattungen der Familie Loricariidae Rafinesque, 1815 (Teleostei, Ostariophysi). Pp. 17-24, in: STAWIKOWSKI, R. (ed.), Harnischwelse 2. Die Aquarien- und Terrarien Zeitschrift, Sonderheft, Eugen Ulmer, Stuttgart, 2001.
- KAVALCO, K. F.; PAZZA, R.; BERTOLLO, L. A. C.; MOREIRA-FILHO, O. Heterochromatin characterization of four fish species of the family Loricariidae (Siluriformes). **Hereditas**. v. 141, p. 237-242, 2004.
- KAVALCO, K. F.; PAZZA, R.; BERTOLLO, L. A.; MOREIRA-FILHO, O. Karyotypic diversity and evolution of Loricariidae (Pisces, Siluriformes). **Heredity**, v. 94, n. 2, p. 180-186, 2005.
- 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.
- MARIOTTO, S.; CENTOFANTE, L.; MIYAZAWA, S. C et al. Chromosome polymorphism in *Ancistrus cuiabae* Knaack, 1999 (Siluriformes: Loricariidae: Ancistrini). **Neotropical Ichthyology**, v. 7, n. 4, p. 595-600, 2009.
- MICHELLE, J. L.; TAKAHASHI, C. S.; FERRARI, I. Karyotypic study of some species of the family Loricariidae (Pisces). **Cytologia** v. 42, p. 539-546, 1977.
- MILHOMEM, S. S. R.; PIECZARKA, J. C.; CRAMPTON, W. G. R.; SILVA, D. S.; SOUZA, A. C. P.; CARVALHO JR, J. R.; NAGAMACHI, C. Y. Chromosomal evidence of a cryptic species in the *Gymnotus carapo* species-complex (Gymnotiformes-Gymnotidae). **BMC Genetics** v. 9, p. 75. 2008.
- MILHOMEM, S. S. R.; SCACCHETTI, P. C.; PIECZARKA, J. C.; FERGUSON-SMITH, M. A.; PENSONATO-ALVES, J. C.; O'BRIEN, P. C. M.; FORESTI, F.; NAGAMACHI, C. Y. Are NORs Always Located on Homeologous Chromosomes? A FISH Investigation with rDNA and Whole Chromosome Probes in *Gymnotus* Fishes (Gymnotiformes). **Plos One**, v. 8, p. e55608. 2013.
- MONTOYA-BURGOS, J. I.; FISCHER-MULLER, S.; WEBER, C.; PAWLOWSKI, J. **Phylogenetic relationships of the Loricariidae (Siluriformes) basen on mitochondrial rRNA gene sequences**. In: MALABARBA, L. R.; REIS, R. E.; VARI, R. P.; LUCENA, Z. M. S.; LUCENA, C. A. S. (eds). Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes. Porto Alegre: EDIPUCRS, pp. 363-375, 1998.
- NAGAMACHI, C. Y.; PIECZARKA, J. C.; MILHOMEM, S. S. R.; O'BRIEN, P. C. M.; SOUZA, A. C. P.; FERGUSON-SMITH, M. A. Multiple rearrangements in cryptic species of electric knife fish, *Gymnotus carapo* (Gymnotidae, Gymnotiformes) revealed by chromosome painting. **BMC Genetics** v. 11:28. doi: 10.1186/1471-2156-11-28, 2010.
- NOLETO, R. B.; GUIMARÃES, F. S. F.; PALUDO K. S.; VICARI, M. R.; ARTONI, R. F.; CESTARI, M. M. Genome size evaluation in Tetraodontiform fishes from the Neotropical region. **Mar Biotechnol.** v. 11, p. 680-685, 2007.
- PENDÁS, A. M.; MÓRAN, P.; GARCÍA-VÁZQUEZ, E. Ribosomal RNA genes are interspersed throughout a heterochromatic chromosome arm in Atlantic salmon. **Cytogenetics and Cell Genetics** v. 63 p. 128-130. 1993.
- PIECZARKA, J. C.; NAGAMACHI, C. Y.; SOUZA, A. C. P.; MILHOMEM, S. S. R.; DE CASTRO R. R.; NASCIMENTO, A. L. An adaptation to DAPI-banding to fishes chromosomes. **Caryologia** v. 59. n. 1 p. 43-46. 2006
- PY-DANIEL L. R. Phylogeny of the neotropical armored catfishes of the subfamily Loricariinae (Siluriformes; Loricariidae). Ph. D. Thesis. The University of Arizona, 280pp, 1997.
- REIS, R. E.; PEREIRA, E. H. L.; ARMBRUSTER, J. A. W. *Delturinae*, a new loricariid catfish subfamily (Teleostei, Siluriformes), with revisions of *Delturus* and *Hemipsilichthys*. **Zool. J. Linn. Soc.** v. 147, p. 277-299, 2006.
- RODRIGUES, R. M. **Estudos cromossômicos e moleculares em Loricariinae com ênfase em espécies de Rineloricaria (Siluriformes, Loricariidae): uma perspectiva evolutiva** Dissertação (Mestrado). 218f. 2010. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.
- RODRIGUEZ, M. S.; REIS, R. E. Taxonomic review of *Rineloricaria* (Loricariidae, Loricariinae) from the Laguna dos Patos drainage, Southern Brazil, with the descriptions of two new species and the recognition of two species groups. **Copeia**, v.2, p.333-349. 2008
- SCAVONE, M. D. P. Análise citogenética de espécies dos gêneros *Loricaria* e *Loricariichthys* (Loricariidae, Siluriformes) da bacia do rio Parana. **MSc Thesis, Universidade Estadual de Maringá**. 82pp, 1993.
- SCAVONE, M. D. P.; JÚLIO JR, H. F. Cytogenetic analysis and probable supernumerary chromosomes of *Loricaria prolix* and *Loricaria* sp. females (Loricariidae – Siluriformes) from the Parana river basin. **Rev Ictiol** v. 2 n. 3 p. 41-47, 1994.
- SCAVONE, M. D. P.; JÚLIO JR, H. F. Cytogenetics analysis and heterochromatin distribution in ZZ/ZW sex chromosomes of the mailed catfish *Loricariichthys platymetopon* (Loricariidae: Siluriformes). **Braz J Genet**, v. 18, p. 31-35, 1995.
- SOLA, L.; ROSSI, A. R.; IASELLI, V. V.; RASH, E. M.; MÓNACO, P. J. Cytogenetics of bisexual/unisexual species of *Poecilia*. II Analysis of heterochromatin and nucleolar organizer regions in *Poecilia mexicana mexicana* by C-banding and DAPI, quinacrine, chromomycine A3 and silver staining. **Cytogenetic and Cell Genetics**, v. 60, p. 229-235, 1992.
- SOUZA, A. C. P.; NASCIMENTO, A. L.; CARVALHO JR., J. R.; BARROS, R. M. S.; FELDBERG, E.; NAGAMACHI, C. Y.; PIECZARKA, J. C. Karyotypic analysis of *Baryancistrus* aff. *Niveatus* (Ancistrinae, Loricariidae) by C-banding, Ag-Nor, CMA3, DAPI and FISH. **Caryologia**, v. 57, n.3, p. 219-223, 2004.
- SUMNER, A. T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. **Exp Cell Res**, v. 75, p. 304-306, 1972.
- 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.