

**MARGARET MARIA DE OLIVEIRA CORRÊA**

**CONTRIBUIÇÃO À CITOTAXONOMIA DOS SCORPAENIFORMES  
(OSTEICHTHYES - TELEOSTEI): ESTUDOS CITOGENÉTICOS EM  
ESPÉCIES DO LITORAL DO RIO DE JANEIRO, BRASIL.**

**Dissertação apresentada à Coordenação de Pós-Graduação em Zoologia da  
Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à  
obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas - Zoologia.**

**Rio de Janeiro**

**1995**

**MARGARET MARIA DE OLIVEIRA CORRÊA**

**CONTRIBUIÇÃO À CITOTAXONOMIA DOS SCORPAENIFORMES  
(OSTEICHTHYES - TELEOSTEI): ESTUDOS CITOGENÉTICOS EM  
ESPÉCIES DO LITORAL DO RIO DE JANEIRO, BRASIL.**

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Paulo Andreas Buckup  
(Presidente da Banca)

Prof. Dr. Luís Antônio Carlos Bertollo

Prof. Dr. Mario Jorge Ignacio Brum

Rio de Janeiro, outubro de 1995.

Trabalho realizado no Departamento de Zoologia, Instituto de Biologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ e no Departamento de Genética e Evolução, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de São Carlos, SP.

Orientador:

Prof. Dr. Pedro Manoel Galetti Junior  
Universidade Federal de São Carlos

## FICHA CATALOGRÁFICA

CORRÊA, Margaret Maria de Oliveira

Contribuição à Citotaxonomia dos Scorpaeniformes (Osteichthyes - Teleostei): Estudos Citogenéticos em Espécies do Litoral do Rio de Janeiro, Brasil. UFRJ, Museu Nacional, 1995.

xiii, 123 f.

Tese: Mestre em Ciências Biológicas (Zoologia)

1. Citotaxonomia
2. Scorpaeniformes
3. Evolução Cromossômica
4. Rio de Janeiro
5. Peixes Marinhos

I- Universidade Federal do Rio de Janeiro - Museu Nacional

II - Teses

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Pedro Manoel Galetti Júnior, orientador e amigo, pela confiança, estímulo e dedicação durante a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Mario Jorge I. Brum, por todo o apoio e amizade e também pela permissão da utilização do Laboratório de Citotaxonomia de Peixes, do Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

À coordenação do programa de pós-graduação em Zoologia do Museu Nacional, por todo o apoio à realização deste trabalho.

À grande amiga, Cecília T. de Aguiar, pelo companheirismo, ajuda e incentivos constantes durante os momentos mais difíceis deste trabalho.

À grande amiga, Kátia Maria L. da Fonseca, pela amizade e por toda a ajuda, não só durante a realização deste trabalho mas também durante os dez anos que nos conhecemos.

À colega e amiga, Adriana Medaglia, técnica do laboratório de Citogenética de Peixes da Universidade Federal de São Carlos, pela grande ajuda, principalmente na parte final deste trabalho.

Ao Sr. Alois Copriva, técnico do Laboratório de Citogenética da Universidade Federal de São Carlos, por toda a ajuda e principalmente pela confecção das fotografias.

Ao Sr. Boa Ventura, pescador da Colônia Z-11 da Ilha do Governador, e aos amigos Charles Frederic de M. L. Muratori, Jota L. Neves, Marcelo C. Brandão e Francisco Mattos (Chicão), pela captura dos exemplares estudados.

Aos professores, colegas e amigos do Laboratório de Citogenética de Peixes da Universidade Federal de São Carlos: Prof. Bertollo, Prof. Orlando, Lucinha, Margarete, Beto, Vladimir, Célia, Adriane, Luciano, Robertão, etc., por toda ajuda e, principalmente, amizade, que souberam me proporcionar durante a realização deste trabalho, além das inúmeras hospedagens que me ofereceram.

Ao amigo Paulo Roberto D. Lopes, Professor da Universidade Estadual de Feira de Santana, pela identificação dos exemplares estudados e pela ajuda na parte de sistemática.

Aos amigos e colegas, Flávio A. Bockmann e Gabriel L. Mejdalani pela amizade e pela ajuda imprescindível na realização deste trabalho.

Aos Profs. Leila M. Pessoa e Antônio M. Solé-Cava, pelas sugestões na redação do “abstract”.

Ao Prof. Sérgio Luiz C. Bonecker, Chefe do Departamento de Zoologia da UFRJ, pelo apoio e compreensão durante a realização deste trabalho.

A Prof. Maria Cristina Ostrovski de Mattos, do Departamento de Zoologia da UFRJ, pela ajuda e amizade.

Ao pessoal do Laboratório de Citogenética Humana do Instituto de Biofísica da UFRJ, Prof. Dr. Juan C. L. Júnior, José Humberto T. de Abreu (Beto) e Lúcia Fátima M. Moraes, pela ajuda e sugestões dadas durante o trabalho.

A todos os meus amigos (Andréia, Geórgia, Marcão, Marcelinho, Mário, Luis, Beth, etc.), pela amizade e companheirismo durante todos estes anos, que me ajudaram a ter força para chegar até o final.

Aos meus pais, Klinger e Shirley, por terem me dado todas as oportunidades para chegar até aqui e ao restante de minha família (Marta, Fernando, Teresa e Marco Antônio), em especial ao meu marido Paulo, pelo amor, compreensão e paciência durante a realização deste trabalho.

## RESUMO

A ordem Scorpaeniformes é muito diversificada morfológicamente e tem como único caráter definindo o grupo um processo suborbitário que consiste de uma extensão posterior do terceiro infra-orbital até o pré-opérculo. Esta ordem apresenta muitos problemas sistemáticos e relações filogenéticas pouco conhecidas. Foram analisadas citogeneticamente 4 espécies pertencentes a 3 famílias da ordem: *Scorpaena brasiliensis*, *Scorpaena isthmensis* (Scorpaenidae), *Prionotus punctatus* (Triglidae) e *Dactylopterus volitans* (Dactylopteridae). Os exemplares estudados foram coletados no litoral do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Este estudo teve como objetivo contribuir com o conhecimento da citotaxonomia e filogenia da ordem.

Os cromossomos mitóticos foram obtidos através de preparação direta ou de cultura de curto termo. Foram estabelecidos os cariótipos em Giemsa das 4 espécies estudadas. A espécie *S. brasiliensis* apresentou um número diplóide ( $2n$ ) igual a 46 cromossomos ( $4M + 10SM + 14ST + 18A$ ) e número fundamental (NF) igual a 60. Já *S. isthmensis* mostrou-se com  $2n=40$  ( $6M + 8SM + 2ST + 24A$ ) e NF=54. O cariótipo de *P. punctatus* apresentou cerca de 100 cromossomos acrocêntricos (NF=100), com alguns microcromossomos e, o provável cariótipo de *D. volitans* mostrou-se com  $2n=48$  e NF=78 ( $16M + 14SM + 6ST + 12A$ ).

As regiões organizadoras de nucléolos (RONs), evidenciadas pela coloração com nitrato de prata e mitramicina A, analisadas nas 2 espécies de Scorpaenidae, apresentaram-se na região telomérica do braço menor de 2 submetacêntricos, identificados como o par 5 do cariótipo em *S. isthmensis* e como o par 2 em *S. brasiliensis*. Nesta última espécie as RONs apresentaram um heteromorfismo de tamanho entre os homólogos.

O padrão de distribuição da heterocromatina constitutiva (bandas C), analisado nas 2 espécies de Scorpaenidae, evidenciou marcações de pequenos blocos heterocromáticos centroméricos, em praticamente todos os cromossomos do

complemento, sendo que em *S. brasiliensis*, além destes, foram observados 2 blocos heterocromáticos teloméricos mais conspícuos, que correspondem ao par portador das RONS (bandas C-positivas). Em *P. punctatus*, as análises de bandas C evidenciaram a presença de blocos heterocromáticos, principalmente centroméricos, na maioria dos cromossomos do complemento, além de blocos teloméricos mais conspícuos nos maiores pares. Os microcromossomos não revelaram a presença de heterocromatina constitutiva abundante, exceto na região centromérica de alguns destes cromossomos.

Os cariótipos das espécies da família Scorpaenidae, estudadas neste trabalho, estão de acordo com a grande diversidade cromossômica encontrada para a família, em estudos anteriores. Já o cariótipo de *P. punctatus* é único dentro da ordem, até o momento, e pode ter se originado de um cariótipo com o valor de NF alto, através de várias fissões cêntricas. O cariótipo de *D. volitans* é bastante semelhante aos encontrados nos demais representantes da ordem Scorpaeniformes, embora a sua posição filogenética seja incerta.

De modo geral, a ordem Scorpaeniformes apresenta uma significativa diversidade cromossômica, principalmente em relação à morfologia dos cromossomos, como resultado de inúmeros rearranjos cromossômicos, especialmente, inversões pericêntricas, acompanhadas muitas vezes por translocações Robertsonianas. Esta grande diversidade cromossômica encontrada num grupo de peixes essencialmente marinho, difere do encontrado para a maioria dos grupos marinhos estudados, até o momento, onde se observa uma grande estabilidade cariotípica.

## **Contribution to the Cytotaxonomy of the Scorpaeniformes (Osteichthyes-Teleostei): Cytogenetic Studies in Species from the Coast of Rio de Janeiro, Brazil.**

### **ABSTRACT**

The order Scorpaeniformes is morphologically diverse and the only character defining the group is a bony suborbital stay extending posteriorly from the third infraorbital to the preopercle. This order shows a great number of systematic problems and the phylogenetic relationships within the group are not clear. Four species belonging to three families of the order Scorpaeniformes were cytogenetically analyzed: *Scorpaena brasiliensis*, *Scorpaena isthmensis* (Scorpaenidae), *Prionotus punctatus* (Triglidae) and *Dactylopterus volitans* (Dactylopteridae). The specimens were collected in the coast of Rio de Janeiro, Brazil. This study has the aim of contributing to the knowledge of the cytotaxonomy and phylogeny of the order.

Mitotic chromosomes were obtained from cellular suspensions, either through air-drying or short term culture techniques. Giemsa karyotypes were established for all the four species studied. *S. brasiliensis* showed a diploid number (2n) of 46 chromosomes (4M + 10SM + 14ST + 18A) and its fundamental number (FN) was 60. *S. isthmensis* had 2n=40 (6M + 8SM + 2ST + 24A) and FN=54. In *P. punctatus*, the karyotype had approximately 100 acrocentric chromosomes (FN=100), some being microchromosomes and in *D. volitans*, the probable karyotype showed 2n=48 and FN=78 (16M + 14SM + 6ST + 12A).

The nucleolus organizer regions (NORs) were observed by silver-staining and mitramycin A only in the two species of the family Scorpaenidae. Both species show two telomeric NORs in the short arms of a submetacentric chromosome pair which was identified as the fifth pair of the complement in *S. isthmensis* and the second one in *S. brasiliensis*. The latter species showed a size heteromorphism of

the NORs between the homologous chromosomes.

The constitutive heterochromatin distribution pattern was determined by the C band method in the two species of Scorpaenidae, and revealed the presence of small centromeric heterochromatic segments in almost all chromosomes. In *S. brasiliensis* a conspicuous block was also observed in the NOR sites. In *P. punctatus*, the C band analyses revealed the presence of heterochromatic blocks, in almost all chromosomes of the diploid complement, besides conspicuous telomeric blocks in the first pairs. The microchromosomes did not show large quantities of constitutive heterochromatin, except for the centromeric regions of some of these chromosomes.

The karyotypes of the Scorpaenidae species analyzed in this study confirm the great chromosome diversity found in the family in previous studies. Thus far, the karyotype of *P. punctatus* is unique in the order and is hypothesized to have been originated from a karyotype with high FN by several centric fissions. The karyotype of *D. volitans* is very similar to the other ones found in the other members of the order Scorpaeniformes, although the phylogenetic position of Dactylopteridae remains uncertain.

The order Scorpaeniformes presents a significative chromosome diversity, principally concerning the chromosomes morphology, as the result of several chromosomal rearrangements, especially pericentric inversions followed by Robertsonian translocations. This great chromosomal diversity found in a group of essentially marine fishes, differs from what is found in the majority of the other marine groups studied thus far, in which a great karyotypic stability is observed.

## ÍNDICE

<b>1- INTRODUÇÃO</b> .....	1
1.1- Citogenética e Taxonomia.....	1
1.2- Ordem Scorpaeniformes.....	9
1.2.1- Classificação.....	9
1.2.2- Aspectos Gerais e Relações Filogenéticas.....	10
1.2.2.1- Família Dactylopteridae.....	14
1.2.2.2- Família Scorpaenidae.....	15
1.2.2.3- Família Congiopodidae.....	17
1.2.2.4- Família Triglidae.....	18
1.2.3- Aspectos Citogenéticos .....	20
1.3- Objetivos .....	21
<b>2- MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	22
2.1- Espécies Estudadas .....	22
2.2- Coletas .....	29
2.2.1- Local de Coleta .....	29
2.3- Identificação do Sexo dos Exemplos Estudados .....	32
2.4- Identificação e Conservação dos Exemplos Estudados .....	32
2.5- Análises Cromossômicas .....	33
2.5.1- Preparação de Cromossomos Mitóticos .....	33
2.5.1.1- Preparação Direta .....	33
2.5.1.2- Tratamentos <i>in vitro</i> .....	35
2.5.1.3- Cultura de Curto Termo de Tecidos Sólidos em Suspensão.....	37
2.5.1.4- Indução de Metáfases por Injeção de Fermento .....	38
2.5.2- Caracterização das Regiões Organizadoras de Nucléolos (RONs) .....	39

2.5.2.1- Coloração com Nitrato de Prata .....	39
2.5.2.2- Coloração com Fluorocromo GC-específico (Mitramicina A) .....	40
2.5.3- Detecção da Heterocromatina Constitutiva (Bandas-C) .....	41
2.5.4- Estudos Cariotípicos .....	42
2.5.4.1- Análises Microscópicas .....	42
2.5.4.2- Montagem dos Cariótipos .....	43
2.5.4.3- Medidas Cromossômicas .....	43
<b>3- RESULTADOS</b> .....	<b>45</b>
3.1- <i>Scorpaena brasiliensis</i> .....	45
3.1.1- Cariótipo Analisado .....	45
3.1.2- Regiões Organizadoras de Nucléolos (RONs) .....	46
3.1.2.1- Análises com Nitrato de Prata .....	46
3.1.2.2- Análises com Mitramicina A .....	47
3.1.3- Distribuição da Heterocromatina Constitutiva (Bandas-C) .....	47
3.2- <i>Scorpaena isthmensis</i> .....	57
3.2.1- Cariótipo Analisado .....	57
3.2.2- Regiões Organizadoras de Nucléolos .....	58
3.2.2.1- Análises com Nitrato de Prata .....	58
3.2.2.2- Análises com Mitramicina A .....	58
3.2.3- Distribuição da Heterocromatina Constitutiva .....	59
3.3- <i>Prionotus punctatus</i> .....	70
3.3.1- Cariótipo Analisado .....	70
3.3.2- Distribuição da Heterocromatina Constitutiva .....	71
3.4- <i>Dactylopterus volitans</i> .....	78
3.4.1- Cariótipo Analisado .....	78

<b>4- DISCUSSÃO</b> .....	83
4.1- Evolução Cromossômica na Ordem Scorpaeniformes.....	83
4.1.1- Diversidade Cromossômica em Scorpaenidae.....	83
4.1.1.1- Análise da Macroestrutura Cariotípica.....	83
4.1.1.2- Análise da Microestrutura do Cariótipo.....	92
4.1.2- Relações Cromossômicas em Scorpaeniformes.....	98
<b>5- CONCLUSÕES</b> .....	106
<b>6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	108
<b>APÊNDICE</b> .....	122

# 1- INTRODUÇÃO

## 1.1- CITOGENÉTICA E TAXONOMIA

A Sistemática surgiu na tentativa de descrever e explicar a diversidade biológica. Os primeiros sistemas de classificação surgiram na Grécia Antiga, principalmente com Platão e Aristóteles, mas foi através do sistema de nomenclatura de Linnaeus, em 1758, que houve a formalização de uma hierarquia estabelecendo-se uma forma de descrever e categorizar esta diversidade. Com os estudos de Darwin, em 1859 e Haeckel, em 1866, este sistema hierárquico de classificação, através do conceito da ancestralidade, passou a levar em conta a evolução dos organismos, procurando então, se basear nas relações filogenéticas.

Até 1960, os sistematas se baseavam somente em análises morfológicas e variações comportamentais. Este tipo de análise continua sendo largamente utilizada até hoje com incrementada sofisticação. Entretanto, com a elucidação das bases moleculares da hereditariedade, as macromoléculas biológicas assumiram uma grande importância nos estudos evolutivos. Dessa forma, os ácidos nucleicos, proteínas e cromossomos passam a ter grande importância no estudo de Genética de Populações e de relações entre os taxa (MORITZ & HILLIS, 1990).

O termo “cromossomo” foi introduzido por Wilhelm Waldeyer, em 1888 (SESSIONS, 1990) e, embora apenas recentemente sua importância em Sistemática

e Taxonomia tenha sido reconhecida, McClung, em 1908, em sua obra “Cytology and Taxonomy”, já tinha idéia da relação entre os cromossomos e a organização estrutural dos organismos (NOGUSA, 1960). Com o progresso da Citologia, foi se confirmando que todas as mudanças evolutivas ocorriam primeiro nos cromossomos e que isto seria importante na elucidação de problemas taxonômicos comparando, principalmente, detalhes morfológicos dessas estruturas entre espécies relacionadas e com isso, contribuindo para o conhecimento do grau de afinidades dessas espécies. (WHITE *apud* NOGUSA, 1960; BENAZZI, 1973).

O estudo das relações filogenéticas entre espécies baseado em comparações de números e morfologia dos cromossomos recebeu o nome de Citosistemática, enquanto a utilização destes dados para a identificação de espécies foi chamada de Citotaxonomia. As bases da Citotaxonomia foram lançadas com a aceitação do princípio da individualidade cromossômica e o estabelecimento da teoria cromossômica da hereditariedade, elaborada e proposta por Theodor Boveri, Walter S. Sutton e Thomas H. Morgan na primeira parte deste século. A partir de então, o estudo dos cromossomos, que recebeu o nome de Cariologia ou Citogenética, tem ocupado um lugar proeminente em Genética, assim como em Biologia Comparada e estudos filogenéticos. A Citogenética Comparativa é portanto um antigo campo com diversas escolas de interpretações no que diz respeito à estrutura, função e evolução cromossômicas e pode revelar diferenças e similaridades que podem não ser óbvias ao nível morfológico (SESSIONS, 1990).

Como o cariótipo de uma espécie, caracterizado pelo número, tamanho e morfologia dos cromossomos, é um caráter definido e constante, algumas mudanças, mais ou menos pronunciadas entre diferentes grupos, ao lado de características morfológicas podem esclarecer relações filogenéticas. O cariótipo, assim como as características morfológicas, pode ser considerado como parte do fenótipo, embora, deva-se admitir o seu baixo valor adaptativo comparado com outras características morfológicas, como por exemplo tamanho, coloração, derivados cutâneos, etc. (BENAZZI, 1973).

Análises comparativas de complementos cromossômicos, entretanto, não respondem a todos os problemas de sistemática e evolução. Quando espécies relacionadas são examinadas, cariótipos similares indicam uma separação relativamente recente, enquanto cariótipos muito diferentes indicam uma separação mais antiga (SOLA *et al.*, 1981). Entretanto, em alguns grupos o padrão cromossômico tem persistido inalterado por longos estágios evolutivos, enquanto em outros grupos mudanças marcantes ocorreram, mesmo em espécies muito relacionadas, como é o caso dos peixes. Estas observações levantaram algumas dúvidas sobre o valor da Citotaxonomia. Nas primeiras décadas da Citogenética, o cariótipo teve o seu significado evolutivo contestado por alguns eminentes pesquisadores que acreditavam que não eram os cromossomos, mas os genes que eles contêm que tinham importância. Em 1925, porém, Sturtevant demonstrou que o efeito de um locus não depende somente da natureza do gene mas também da sua posição em relação aos outros genes (BENAZZI, 1973).

As bases físicas da evolução não são, portanto, representadas somente pelos genes, mas também pelos cromossomos como entidades morfológicas bem definidas, caracterizadas pela seqüência e associações gênicas, pela posição centromérica e por uma distribuição de eucromatina e heterocromatina determinadas. Isto obviamente devolve o valor e significado da Citotaxonomia no seu aspecto tradicional, isto é, da análise morfológica do genoma (BENZAZZI, 1973).

O valor evolutivo das variações cromossômicas foi posteriormente muito estudado. Segundo GOLD (1979), a evolução dos organismos, incluindo a especiação, envolve muitas vezes rearranjos cromossômicos. Realmente, muitos estudos filogenéticos usam número e morfologia cromossômica e com menos freqüência, alguns tipos de bandas cromossômicas. Os rearranjos ou translocações Robertsonianas que consistem em fusões e fissões de cromossomos através dos centrômeros e as inversões, envolvendo o centrômero (pericêntricas) ou não (paracêntricas), são variações úteis filogeneticamente (SESSIONS, 1990). A hipótese de que os rearranjos cromossômicos estão relacionados com a evolução dos organismos postula que o número de rearranjos pode estar relacionado com o grau de evolução morfológica exibida por uma linhagem através do tempo. Assim, formas morfológicamente mais conservadas devem mostrar menores mudanças em relação a um cariótipo ancestral se comparado a formas que tiveram rápidas mudanças adaptativas (WILSON *et al.*, 1974).

Ainda assim, a importância destas diferenças na estrutura dos cromossomos no processo de especiação ainda não está clara (PATTON &

SHERWOOD, 1983). Segundo CHRISMAN *et al.* (1990), os rearranjos e duplicações cromossômicas foram os principais mecanismos de evolução dos peixes, incluindo especiação e OLIVEIRA (1994) acredita que existem várias evidências da ocorrência desses rearranjos muito cedo no processo de especiação. Segundo SOLA *et al.* (1981), a capacidade de adaptação dos peixes tem levado a uma colonização de diferentes habitats aquáticos e à ocupação de nichos extremamente especializados e isto não poderia ser totalmente explicado pelo isolamento geográfico, sendo os mecanismos cromossômicos possivelmente responsáveis em parte pela especiação.

Essa discussão tem sido dificultada devido à aceitação de um conceito de espécie que leva em conta apenas o isolamento reprodutivo. Assim, com o surgimento de novos conceitos, considerando espécie como um agrupamento de indivíduos com manutenção de uma unidade fenotípica (TEMPLETON, *apud* GOSLING, 1994) e com um padrão de ancestralidade e descendência (ELDREDGE & CRACRAFT, 1980), a existência de diferenças cromossômicas, ainda que não garantam um isolamento reprodutivo, são importantes no diagnóstico de novas espécies (OLIVEIRA, 1994).

A Citogenética teve a sua importância firmada e, ao longo de sua história, pode ser dividida em várias épocas, onde em cada uma delas surgiram inovações tecnológicas. A época moderna da Citogenética teve início com o desenvolvimento de técnicas como o tratamento hipotônico que proporciona um melhor espalhamento das metáfases, permitindo observações seguras dos números e formas

cromossômicas; a utilização dos bandeamentos cromossômicos, tais como as regiões organizadoras de nucléolos coradas pelo nitrato de prata (Ag-RONs) e a heterocromatina constitutiva (bandas C ) e, mais recentemente, de fluorocromos base-específicos e endonucleases de restrição, que permitem uma melhor identificação de cromossomos homólogos, na comparação de cariótipos de uma mesma espécie e homeólogos comparando cariótipos de espécies diferentes; e, da hibridização *in situ*, que pode localizar sequências específicas de ADN, através de sondas de ácidos nucléicos.

Nas últimas décadas, a Citogenética têm progredido muito na elucidação da história filogenética através das investigações moleculares. No debate sobre quais dados (morfológicos ou moleculares) são melhores para estimar filogenia, há muita controvérsia. Entretanto, para os sistematas o que importa é se os caracteres examinados exibem variações apropriadas às questões, se têm uma base genética clara e independente e se os dados são coletados e analisados de forma que seja possível comparar e combinar hipóteses filogenéticas derivadas deles. Na verdade, cada proposta tem suas vantagens e desvantagens (MORITZ & HILLIS, 1990). Sendo o primeiro objetivo de estudos filogenéticos reconstruir a história evolutiva de um grupo de organismos que têm uma única história, qualquer tipo de estudo sistemático, seja morfológico ou molecular, deve chegar a um consenso e a congruência entre estes dois tipos de estudo deve ser uma forte evidência de que esta história foi descoberta (HILLIS, 1987).

Geralmente, estudos que incorporam dados moleculares e morfológicos vão proporcionar descrições e interpretações muito melhores da diversidade biológica, embora seja possível discutir alguns problemas sistemáticos com qualquer um dos tipos de dados isoladamente (MORITZ & HILLIS, 1990).

Embora não seja possível obter conclusões decisivas sobre relações filogenéticas através de comparações com cariótipos de diferentes espécies, as análises cariotípicas podem complementar outras avaliações taxonômicas (SOLA *et al.*, 1981).

Em relação à Citogenética de Peixes, embora tenha tido início há aproximadamente 100 anos, foi somente por volta de 1960, com o desenvolvimento de novas técnicas de preparação e análises cromossômicas que os trabalhos começaram a apresentar resultados mais precisos, embora se referindo apenas a números e formas cromossômicas.

Devido à sua posição basal na evolução dos vertebrados, os peixes são um importante instrumento para o estudo de evolução animal e desenvolvimento dos vertebrados em geral (CHIARELLI & CAPANNA, 1973; OJIMA, 1983). Por esta razão, informações cariológicas mais precisas sobre este grupo são muito importantes, mas, devido a dificuldades em relação a algumas técnicas, a Citogenética de Peixes apresenta um certo atraso, principalmente em comparação aos estudos com mamíferos.

De qualquer maneira, na medida em que os problemas estão sendo minimizados, a Citogenética de Peixes vem contribuindo muito com outras áreas,

como é o caso da Genética de Melhoramento Animal, da Piscicultura e da Zoogeografia, além de ser uma importante ferramenta na Taxonomia e Sistemática (ALMEIDA-TOLEDO *et al.*, 1993). Deste modo, uma boa caracterização cromossômica das espécies, o levantamento de evidências cariotípicas de suas relações evolutivas, um suporte adicional na identificação de espécies taxonomicamente problemáticas e em possíveis casos de espécies crípticas, têm sido algumas das contribuições importantes da Citogenética na Taxonomia de peixes (BERTOLLO *et al.*, 1986). No Brasil, por exemplo, após vinte anos de estudos em Citogenética de Peixes, já se conhecem as grandes tendências de evolução cromossômica dos principais grupos, com grandes contribuições para o melhor entendimento da Biologia, Taxonomia e Filogenia destes animais (GALETTI *et al.*, 1994).

## 1.2- ORDEM SCORPAENIFORMES

### 1.2.1- Classificação (Segundo NELSON, 1994)

Osteichthyes  
   Actinopterygii  
     Teleostei  
       Euteleostei  
         Acanthopterygii  
           Scorpaeniformes  
             Dactylopteroidei  
               Dactylopteridae  
             Scorpaenoidei  
               Scorpaenidae  
               Caracanthidae  
               Aploactinidae  
               Pataecidae  
               Gnathanacanthidae  
               Congiopodidae  
               Triglidae  
             Platycephaloidei  
               Bembridge (Bembrididae)  
               Platycephalidae  
               Hoplichthyidae (Oplichthyidae)  
             Anoplopomatoidei  
               Anoplopomatidae  
             Hexagrammoidei  
               Hexagrammidae  
             Normanichthyoidei  
               Normanichthyidae  
             Cottoidei  
               Cottoidea  
               Ramphocottidae  
               Ereuniidae  
               Cottidae  
               Comephoridae  
               Abissocottidae  
               Hemitripteridae  
               Cottocomephoridae  
               Agonidae  
               Psychrolutidae  
               Bathychthyidae  
             Cyclopteroidea  
               Cyclopteridae  
               Liparidae (Liparididae)

### 1.2.2- Aspectos Gerais e Relações Filogenéticas

REGAN (1913) propôs uma classificação para a ordem Scorpaeniformes (Scleroparei ou Loricati) que foi aceita durante quase toda a primeira parte deste século, e a definiu como um grupo natural muito grande e variado.

Atualmente a classificação da ordem pode ser considerada provisória, com suas 7 subordens reconhecidas indefinidas e servindo para agrupar as famílias mais relacionadas entre si, agrupamento este cujos limites são subjetivos e portanto controversos (NELSON, 1994).

A ordem Scorpaeniformes contém cerca de 25 famílias, 266 gêneros e 1271 espécies, a maioria marinhas. Este grupo é muito diversificado morfológicamente e constitui-se na quinta maior ordem de peixes. Duas famílias, Cottomephoridae e Comephoridae, são exclusivas de água doce e endêmicas do Lago Baikal, na Rússia e apenas Cottidae caracteriza-se por apresentar representantes marinhos e de água doce. Os escorpeniformes são, muitas vezes, bentônicos ou epibentônicos e apresentam ampla distribuição geográfica, sendo encontrados desde praticamente todos os mares tropicais e temperados até os Oceanos Ártico e Antártico (NELSON, 1994; WASHINGTON *et al.*, 1984a).

No sudeste do Brasil ocorrem 4 famílias: Scorpaenidae, Triglidae, Congiopodidae e Dactylopteridae (FIGUEIREDO & MENEZES, 1980). A posição filogenética de Dactylopteridae continua problemática, com alguns autores considerando este grupo como uma família de Scorpaeniformes (MATSUBARA,

*apud* WASHINGTON *et al.*, 1984a ; WASHINGTON *et al.*, 1984a; ESCHMEYER, 1990; NELSON, 1994; entre outros), outros o considerando como uma ordem a parte (GREENWOOD *et al.*, 1966; LAUDER & LIEM, 1983; JOHNSON, 1993; JOHNSON & PATTERSON, 1993; entre outros), e outros autores ainda, como PIETSCH (1978), acreditam que os dactilopterídeos compartilham várias especializações com alguns subgrupos de Gasterosteiformes, tais como Syngnathidae.

MATSUBARA (*apud* WASHINGTON *et al.*, 1984a), embora tenha aceitado várias diferenças osteológicas entre dactilopterídeos e escorpeniformes, observou que os primeiros possuem um arranjo dos ossos suborbitais característico de escorpenídeos e triglídeos. Este autor acredita que dactilopterídeos, triglídeos e peristediídeos tenham evoluído de um ancestral escorpenídeo generalizado. Já WASHINGTON *et al.* (1984a) sugerem que estes três grupos, juntamente com uma subfamília de Scorpaenidae, Apistinae, têm um ancestral comum. FREIHOFER (1963) observou que os peixes da família Dactylopteridae e Triglidae não possuem um nervo craniano e que isto daria a eles uma posição mais derivada em relação aos peixes da família Scorpaenidae, onde este nervo está presente.

Neste trabalho, foram então consideradas estas quatro famílias de Scorpaeniformes ocorrentes no Sudeste do Brasil.

Os representantes desta ordem apresentam o osso suborbital aumentado formando um processo suborbitário. Este processo consiste de uma extensão posterior do terceiro infra-orbital até o pré-opérculo, que com freqüência, é

fortemente preso a este osso. Este processo pode ser aparente superficialmente, embora a sua detecção geralmente necessite de dissecação (HART, 1973; NELSON, 1994). Este é o único caráter conhecido que define a ordem (WASHINGTON *et al.*, 1984a), entretanto, alguns autores acreditam que este processo se desenvolveu várias vezes, independentemente, em várias linhagens indicando que a ordem não seja monofilética (MATSUBARA, *apud* WASHINGTON *et al.*, 1984a; QUAST, 1965; GREENWOOD *et al.*, 1966; NELSON, 1994; entre outros).

Os escorpaeniformes, em geral, têm uma tendência a apresentar a cabeça e o corpo com espinhos ou placas ósseas como resultado de uma hipertrofia ou ossificação especializada (LAUDER & LIEM, 1983), além de possuírem nadadeiras peitorais e caudais arredondadas, embora ocasionalmente sejam truncadas ou furcadas (NELSON, 1994).

MATSUBARA (*apud* WASHINGTON *et al.*, 1984b) reconheceu várias linhagens entre os Scorpaeniformes, tais como: 1) Hexagrammidae, Anoplopomatidae e Scorpaenidae mais generalizados; 2) Peristediidae, Triglidae e Dactylopteridae; 3) Scorpaenidae mais especializados, Bembridae, Platycephalidae e Hoplichthyidae; 4) Cottidae e Agonidae; e, 5) Cyclopteridae e Liparididae. FREIHOFER (1963), baseado na forma e orientação do nervo facial recorrente e QUAST (1965), baseado em osteologia e outras evidências, concluíram que esta ordem deve ser um grupo artificial contendo pelo menos três linhas evolutivas distintas, que são: Scorpaenidae, Anoplopomatidae e Hexagrammidae-Cottidae,

onde Scorpaenidae apresenta as condições mais primitivas e Cottidae as mais derivadas, com Hexagrammidae apresentando características intermediárias.

As relações filogenéticas dos Scorpaeniformes são também indefinidas. Vários autores (MATSUBARA *apud* WASHINGTON *et al.*, 1984b; LAUDER & LIEM, 1983; entre outros) acreditam que os escorpeniformes evoluíram de um ancestral perciforme generalizado devido a similaridades na forma geral do corpo e caracteres anatômicos e osteológicos entre escorpenídeos generalizados e Perciformes. Muitos autores, entretanto, acreditam que os Scorpaeniformes sejam um grupo polifilético, e por isso, tenham se originado de vários grupos diferentes. GREENWOOD *et al.* (1966) observaram que a linhagem dos Anoplopomatidae têm similaridades com a ordem Gadiformes, a linhagem Hexagrammidae-Cottidae com a ordem Batrachoidiformes e os Scorpaenidae com a ordem Perciformes, sendo as espécies mais parecidas com estes últimos, as mais generalizadas da ordem.

Levando em consideração que entre os Scorpaeniformes muitos grupos mostram uma redução ou perda do processo suborbitário, outros grupos também podem ter tido esta perda e, grupos que tenham perdido os ossos circumorbitais e possivelmente um processo suborbitário, devam ser também considerados no estudo destas relações (WASHINGTON *et al.*, 1984b).

GREENWOOD *et al.* (1966) e NELSON (1994), consideram os escorpeniformes como um grupo “pré-perciformes”. Já JOHNSON & PATTERSON (1993), acreditam que este grupo assim como alguns grupos “pós-perciformes”, do ponto de vista cladístico, estariam melhor colocados entre os Perciformes.

Entretanto, como os autores ainda não têm como caracterizar esta hipótese, consideram os Scorpaeniformes, Perciformes, Pleuronectiformes, Tetraodontiformes e Dactylopteriformes, juntamente com os Smegmamorpha (Atherinomorpha, Mugiloidei, Gasterosteiformes, Elasmobranchii e Synbranchyiformes) como um grupo monofilético denominado Percomorpha, com uma policotomia não resolvida.

Sendo assim, os limites da ordem, das subordens, das famílias e a distribuição das famílias nas subordens, assim como as suas relações filogenéticas, são ainda muito confusas, necessitando de estudos mais amplos e sobre diversos aspectos para maiores esclarecimentos.

#### **1.2.2.1- Família Dactylopteridae**

A família Dactylopteridae é muito pequena, possuindo 2 gêneros e, aproximadamente, 7 espécies, todas marinhas, sendo encontradas nos Oceanos Indo-Pacífico (*Dactyloptena*) e Atlântico (*Dactylopterus*) (NELSON, 1994).

Os peixes desta família apresentam um escudo cefálico ósseo bem desenvolvido e nadadeiras peitorais muito longas. Nestes peixes, entretanto, a nadadeira peitoral é separada em uma parte superior grande e uma inferior pequena, cujos raios não são separados. Possuem um espinho quilhado, estendendo-se da parte posterior de cada lado da cabeça até a parte média da nadadeira dorsal anterior, um espinho forte se prolongando do ângulo do pré-opérculo e um espinho na nadadeira pélvica. Possuem dois espinhos livres anteriores à nadadeira dorsal e

nadadeiras pélvicas torácicas. A boca é pequena e inferior. Apresentam o corpo coberto por escamas fortemente carenadas, sem linha lateral aparente e chegam a medir 50 cm de comprimento. Habitam fundo de areia ou lama, onde praticamente andam com o auxílio dos cinco primeiros raios das nadadeiras peitorais e, ao contrário do que muitos pensam, não utilizam as grandes peitorais para planar fora da água, como é o caso dos peixes da família Exocoetidae (Cyprinodontiformes). Na verdade, os peixes da família Dactylopteridae conseguem “planar” apenas debaixo da água. (CERVIGÓN, 1966; FIGUEIREDO & MENEZES, 1980; BÖHLKE & CHAPLIN, 1993; NELSON, 1994).

Os ovos dos peixes desta família são pelágicos e pequenos, levemente ovóides, com um único glóbulo de óleo (WASHINGTON *et al.*, 1984a).

Não se sabe ainda se os peixes desta família apresentam algum tipo de peçonha nos espinhos, mas foram registrados alguns casos de ataque à banhistas em que a perna ferida ficou imediatamente paralisada (BREDER Jr., 1963). Segundo FIGUEIREDO & MENEZES (1980), no litoral do Rio de Janeiro ocorre apenas a espécie *Dactylopterus volitans* (Linnaeus, 1758).

#### **1.2.2.2- Família Scorpaenidae**

Esta família possui aproximadamente 56 gêneros e 388 espécies, amplamente distribuídas em águas rasas de mares tropicais e temperados (NELSON, 1994). A maior diversidade de espécies desta família é encontrada no Oceano Indo-

Pacífico , sendo que no Oceano Atlântico são reconhecidas apenas 58 espécies distribuídas em 11 gêneros (ESCHMEYER, 1969). Esta família encontra-se ainda pouco estudada, apresentando vários problemas sistemáticos.

Os representantes da família Scorpaenidae possuem o corpo robusto ou moderadamente comprimido, com a cabeça volumosa e com espinhos em cristas ósseas. O processo suborbitário, geralmente, é fortemente preso ao pré-opérculo. Apresentam 4 ou 5 espinhos no pré-opérculo e 2 no opérculo. A boca é terminal e geralmente grande. Os pré-maxilares são protráteis. A linha lateral é simples e contínua. A nadadeira dorsal é contínua, mas pode apresentar um entalhe profundo dividindo-a em duas partes. Quando apresentam escamas, estas geralmente são do tipo ctenóide. Os peixes desta família habitam fundos de pedras, corais, areia e algas em águas costeiras, alimentando-se de pequenos peixes e crustáceos (FIGUEIREDO & MENEZES, 1980; BÖHLKE & CHAPLIN, 1993).

A maioria dos Scorpaenidae apresenta fertilização interna, depositando os ovos em balões gelatinosos pelágicos que chegam a 20 cm de diâmetro e alguns dando a luz à indivíduos jovens, como é o caso dos gêneros *Sebastes* e *Helicolenus* (NELSON, 1994; WASHINGTON *et al.*, 1984a). A maioria dos peixes dessa família são sedentários ou se locomovem por distâncias limitadas (HARTMANN, 1987). Algumas espécies possuem espinhos peçonhentos nas nadadeiras dorsal, anal e pélvica, o que, aliado à coloração que os torna quase imperceptíveis no ambiente, pode causar ferimentos dolorosos a nadadores e mergulhadores. Embora algumas espécies sejam comprovadamente mais peçonhentas que outras (gênero *Pterois*, do

Indo-Pacífico), ao lado de algumas que não são peçonhentas, o comportamento de defesa da família como um todo é muito semelhante, principalmente no que diz respeito ao posicionamento dos espinhos em direção a qualquer objeto que se aproxime (BREder Jr., 1963).

No litoral do Rio de Janeiro ocorrem 4 espécies do gênero *Scorpaena*: *S. brasiliensis* Cuvier, 1829; *S. dispar* Longley & Hildebrand, 1940; *S. isthmensis* Meek & Hildebrand, 1928 e *S. plumieri* Bloch, 1789; e uma do gênero *Pontinus*: *P. rathbuni* Goode & Bean, 1896 (FIGUEIREDO & MENEZES, 1980). Nesta região, assim como no restante do sudeste do Brasil, as espécies da família não têm valor comercial, ao contrário do que ocorre em regiões temperadas (FIGUEIREDO & MENEZES, 1980). Mais recentemente, na Califórnia, espécies de escorpenídeos vêm se tornando importantes tanto na pesca comercial como esportiva (HARTMANN, 1987).

### 1.2.2.3- Família Congiopodidae

Esta família possui 4 gêneros e 17 espécies, todas marinhas (NELSON, 1994). São peixes de águas frias, restritas ao hemisfério sul, próximos as costas da América do Sul (Atlântico e Pacífico), África do Sul, Austrália, Nova Zelândia e de ilhas subantárticas (HUREAU, 1971).

Assim como os peixes da família Scorpaenidae, os congiopodídeos possuem cristas e espinhos ósseos na cabeça. O corpo é alongado e comprimido e o

perfil anterior da cabeça é quase vertical. Não apresentam escamas no corpo e a pele às vezes é granulosa. A linha lateral é, geralmente, bem desenvolvida. A nadadeira dorsal é longa, com a origem logo acima dos olhos e se estendendo até próximo à base da cauda, sendo a parte anterior com espinhos, maior que a posterior, com raios. Produzem ovos pelágicos individuais e não apresentam valor comercial (FIGUEIREDO & MENEZES, 1980; WASHINGTON *et al.*, 1984a; NELSON, 1994).

Segundo FIGUEIREDO & MENEZES (1980), no sudeste do Brasil ocorre apenas uma espécie: *Congiopodus peruvianus* (Cuvier, 1829).

#### **1.2.2.4- Família Triglidae**

A família Triglidae possui cerca de 14 gêneros e 100 espécies totalmente marinhas, distribuídas em todos os mares tropicais e temperados (NELSON, 1994).

Os representantes desta família possuem o corpo alongado, moderadamente comprimido e coberto por escamas ou placas ósseas. Estes peixes são superficialmente semelhantes aos peixes da família Dactylopteridae, pois também possuem a cabeça grande e com placas ósseas, algumas delas armadas com espinhos e cristas, e nadadeiras peitorais longas. Os olhos são altos e a boca é terminal ou sub-inferior. Os pré-maxilares são protráteis. O corpo é constituído por escamas ctenóides. A linha lateral é contínua, quase reta, levemente arqueada na parte anterior. Possuem 3 raios livres na parte inferior da nadadeira peitoral,

grossos e digitiformes e com função tátil, que utilizam para explorar o substrato à procura de moluscos e crustáceos. Chegam a alcançar 50 cm de comprimento e por sua carne não ser considerada de boa qualidade não são apreciados como alimento, embora em algumas partes do mundo sejam consumidos. São habitantes de fundos de areia ou lama da plataforma continental e também próximos a ilhas (GINSBURG, 1950; CERVIGÓN, 1966; FIGUEIREDO & MENEZES, 1980).

Os peixes da família Triglidae também produzem ovos pelágicos individuais, sendo que os do gênero *Prionotus* têm múltiplos glóbulos de óleo (WASHINGTON *et al.*, 1984a).

Os triglídeos produzem sons através de músculos ligados à bexiga natatória e, algumas espécies parecem produzir estes sons, mais intensamente, na época da desova (BÖHLKE & CHAPLIN, 1993).

No litoral do Rio de Janeiro, segundo FIGUEIREDO & MENEZES (1980), ocorre uma espécie do gênero *Bellator*: *B. brachyhir* (Regan, 1914); e 2 do gênero *Prionotus*: *P. nudigula* Ginsburg, 1950 e *P. punctatus* (Bloch, 1797). Estes dois gêneros são endêmicos das Américas e considerados como da subfamília Prionotinae por MILLER & RICHARDS (1991), embora NELSON (1994) dê a este grupo o “status” de tribo e considere a subfamília Triglinae. O gênero *Prionotus* é o maior dentro da família (BÖHLKE & CHAPLIN).

### 1.2.3- Aspectos Citogenéticos

Apesar da Citogenética de peixes se encontrar em pleno desenvolvimento com a utilização de técnicas avançadas de bandeamentos cromossômicos e Genética Molecular, a grande maioria dos trabalhos realizados se restringem a apresentar somente os números cromossômicos e/ou fórmulas cariotípicas das espécies estudadas, que somam menos de 10% do total de espécies de peixes conhecidas até o momento (GOLD *et al.*, 1990). De aproximadamente 20.000 espécies de peixes catalogadas até o momento, cerca de 1.000 têm o número cromossômico estabelecido e 800 possuem o cariótipo totalmente conhecido (OJIMA, 1983).

Os primeiros trabalhos de Citogenética com representantes da ordem Scorpaeniformes datam do final da década de 20, e se limitam a descrever meramente os números e formas cromossômicas (HANN, 1927; MAKINO, 1937; entre outros). Das 1271 espécies de Scorpaeniformes, apenas 53 foram cariotipadas até o momento, as quais pertencem às famílias Scorpaenidae (NOGUSA, 1960; ARAI & KATSUYAMA, 1973; CATAUDELLA *et al.*, 1973; NISHIKAWA *et al.*, *apud* ARAI & FUJIKI, 1978; SASAKI & SAKAMOTO, 1977; SOLA *et al.*, 1978; IDA *et al.*, 1982; VITTURI *et al.*, 1989; YOKOYAMA *et al.*, 1992; YU *et al.*, 1992; UENO *et al.*, 1992), Triglidae (VITTURI *et al.*, 1989), Hexagrammidae (MAKINO, 1937; NOGUSA, 1960; MATSUMIYA *et al.*, 1980; NISHIKAWA & SAKAMOTO, 1982; YU *et al.*, 1992) e Cottidae (HANN, 1927; NOGUSA, 1960; POST *apud* ARAI & FUJIKI, 1978; CHEN *apud* ARAI & FUJIKI, 1978;

STARMACH, 1967; ABE, 1972; ABE, 1976 ARAI & FUJIKI, 1978; CUCCHI & BARUFALDI, 1980; IDA *et al.*, 1989; VITTURI & RASOTTO, 1990; TERASHIMA & IDA, 1991). Destas espécies, 40 apresentam um número diplóide igual a 48 cromossomos.

Trabalhos com análises de bandas C e Ag-RONs foram realizados com algumas espécies das famílias Scorpaenidae (THODE *et al.*, 1985; YOKOYAMA *et al.*, 1992) e Cottidae (VITTURI *et al.*, 1989). GILES *et al.* (1988) realizaram estudos preliminares de bandas de replicação em duas espécies da família Scorpaenidae.

### 1.3- OBJETIVOS

Visando contribuir para a identificação da evolução cromossômica na ordem SCORPAENIFORMES, procurou-se:

- 1- Caracterizar citogeneticamente 4 espécies do grupo ocorrentes no litoral do Rio de Janeiro através da coloração convencional Giemsa;
- 2- Identificar as Regiões Organizadoras de Nucléolos (RONs) através da coloração com nitrato de prata e com fluorocromo GC-específico (Mitramicina A) das duas espécies do gênero *Scorpaena*;
- 3- Verificar a distribuição de heterocromatina constitutiva através do bandeamento C, com hidróxido de bário das duas espécies do gênero *Scorpaena*;
- 4- Inferir sobre a Citotaxonomia e relações filogenéticas desta ordem de peixes.

## 2- MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1- ESPÉCIES ESTUDADAS

As 4 espécies analisadas citogeneticamente no presente estudo apresentam a seguinte classificação (NELSON, 1994):

#### SCORPAENIFORMES

##### Dactylopteroidei

##### Dactylopteridae

*Dactylopterus* Lacepède, 1801

*Dactylopterus volitans* (Linnaeus, 1758)

##### Scorpaenoidei

##### Scorpaenidae

##### Scorpaeninae

*Scorpaena* Linnaeus, 1758

*Scorpaena brasiliensis* Cuvier, 1829

*Scorpaena isthmensis* Meek & Hildebrand, 1928

##### Triglidae

##### Triglinae

*Prionotus* Lacepède, 1801

*Prionotus punctatus* (Bloch, 1797)

*Davtylopterus volitans* (Linnaeus, 1758)

(Voador - Figura 1)

Espécie de hábito bentônico encontrada em fundos de areia, lama e pedras, é frequentemente encontrada na orla da praia à poucos centímetros de profundidade. Apresenta uma coloração escura no dorso com as peitorais também escuras e com pequenas manchas azuis, sendo a parte interna toda azul. Esta nadadeira se estende além do final da base da anal, chegando a mais de 70% do comprimento total. Possui 2 espinhos livres na frente da primeira dorsal e o espaço interorbital é marcadamente côncavo. Não apresenta linha lateral. Alimenta-se principalmente de crustáceos, moluscos e pequenos peixes bentônicos e chega a 45 cm de comprimento. É encontrada em ambos os lados do Atlântico, sendo que no Atlântico Ocidental ocorre desde as Bermudas e Massachusetts até a Argentina (CERVIGÓN, 1966; FIGUEIREDO & MENEZES, 1980; UYENO *et al.*, 1983; BÖHLKE & CHAPLIN, 1993).

*Scorpaena brasiliensis* Cuvier, 1829

(Mangangá - Figura 2a)

É a espécie do gênero mais comum no Atlântico Ocidental, encontrada em águas rasas até aproximadamente 100m de profundidade. De hábitos sedentários, costuma ficar em repouso sobre fundos de areia, pedras e corais onde se torna quase imperceptível devido à sua coloração e por se cobrir de areia. Seus espinhos apresentam peçonha e, embora seja comestível, não apresenta importância

comercial. O corpo apresenta-se com manchas irregulares e atrás da cabeça possui duas manchas escuras. Apresenta o corpo coberto com escamas ciclóides, linha lateral completa até a base da caudal, depressão occipital presente e pontos escuros na parte interna das nadadeiras peitorais sobre fundo claro. Se distribui no Atlântico ocidental, da Virgínia até o Rio de Janeiro e em todo o Golfo do México. Pode chegar até 35 cm de comprimento e se alimenta de crustáceos e pequenos peixes (CERVIGÓN, 1966; ESCHMEYER, 1969; FIGUEIREDO & MENEZES, 1980; UYENO *et al.*, 1983).

*Scorpaena isthmensis* Meek & Hildebrand, 1928

(Mangangá - Figura 2b)

Esta espécie, como a anterior, é encontrada em águas rasas de fundos arenosos e pedregosos, embora esporadicamente ocorra em profundidades de cerca de 100 m. Apresenta também uma coloração escura na parte superior do corpo, mas na parte ventral, é rosada com círculos esbranquiçados. As nadadeiras peitorais, anal e caudal apresentam bandas transversais escuras. O corpo também apresenta manchas irregulares, mas com apenas uma mancha escura atrás do opérculo. Possui uma mancha negra bem visível entre o quarto e quinto espinhos da dorsal, região occipital com uma fosseta profunda e bem marcada e crista suborbital lisa, sem espinhos. Alcança pouco mais de 15 cm de comprimento e se distribui do Panamá ao Rio de Janeiro (CERVIGÓN, 1966; FIGUEIREDO & MENEZES, 1980; UYENO *et al.*, 1983).

*Prionotus punctatus* (Bloch, 1797)

(Cabrinha - Figura 3)

Espécie bentônica de fundos de areia e lama é também encontrada em poças de zonas entre-marés e próximo a áreas estuarinas. Geralmente encontrada entre 18 e 70m de profundidade, às vezes muito próximo à costa. Sua coloração é castanho-claro na parte dorsal, mais clara lateralmente e branca ventralmente. Acima da linha lateral apresenta pequenas manchas e abaixo, 5 manchas grandes, arredondadas e avermelhadas, dispostas numa série longitudinal até a origem da caudal. Parte inferior externa das nadadeiras peitorais azul e o restante marrom escuro com manchas ovaladas e o bordo superior interno azulado. Chega a medir 40cm de comprimento e, embora os maiores exemplares sejam aproveitados pelos pescadores, não são encontrados nos mercados. Se alimenta de crustáceos e se distribui da Geórgia até a Argentina e no norte do Golfo do México (CERVIGÓN, 1966; FIGUEIREDO & MENEZES, 1980; CERVIGÓN *et al.*, 1992).

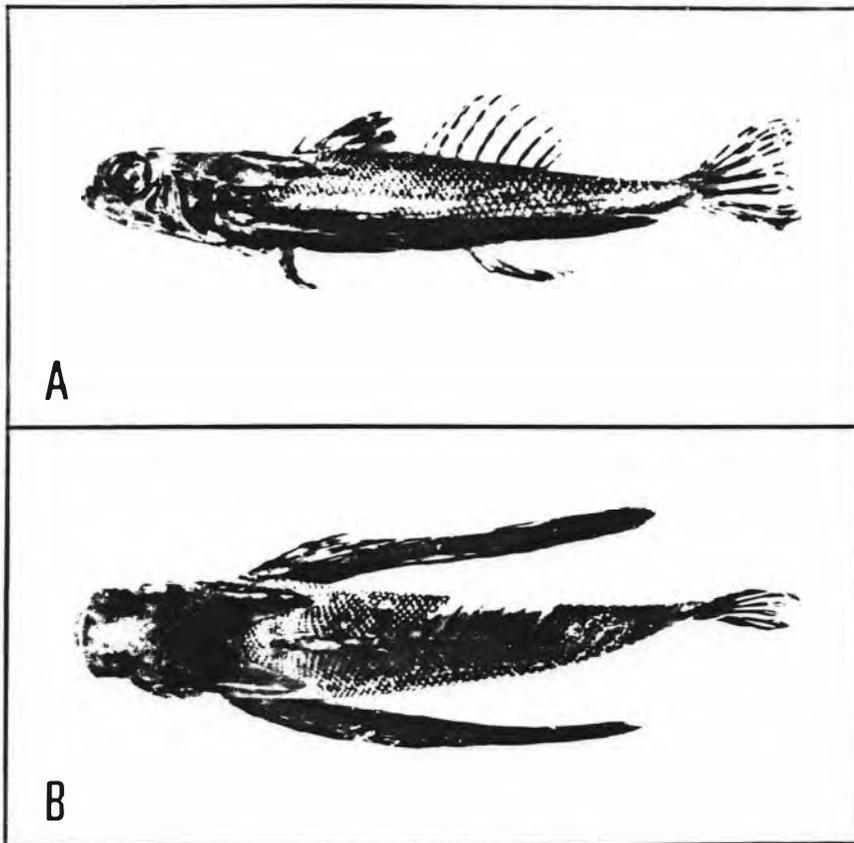


Figura 1- Exemplar da espécie *Dactylopterus volitans* estudada no presente trabalho: a) vista lateral; b) vista dorsal.

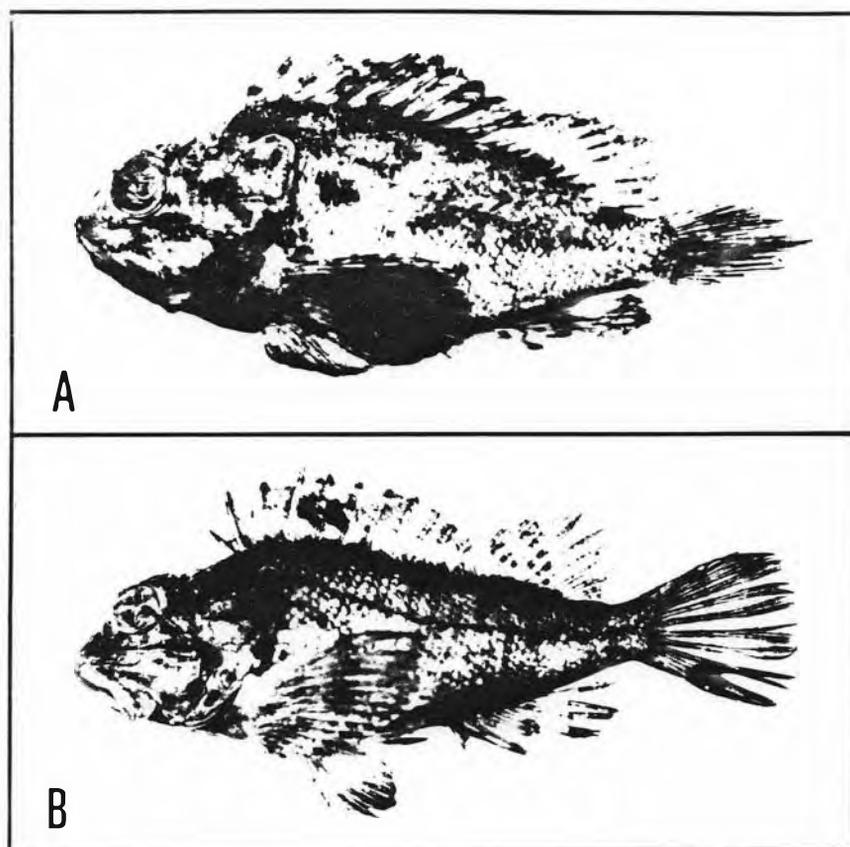


Figura 2- Exemplos das espécies de *Scorpaena* estudadas no presente trabalho:

a) *Scorpaena brasiliensis*; b) *Scorpaena isthmensis*.

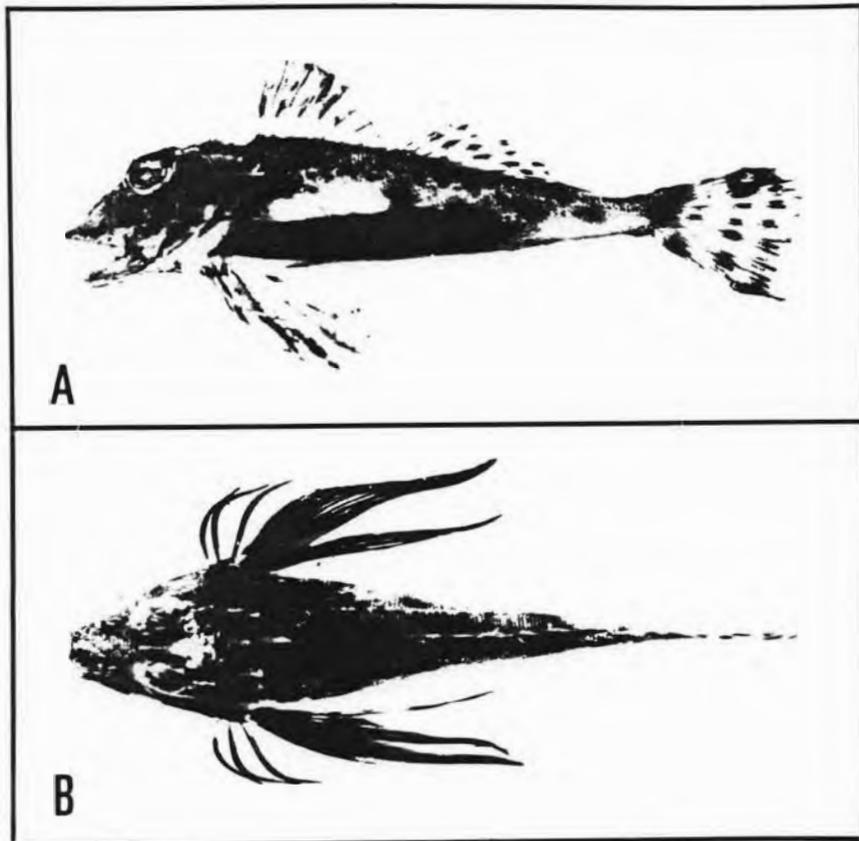


Figura 3- Exemplo da espécie *Prionotus punctatus* estudada no presente trabalho:

a) vista lateral; b) vista dorsal.

## **2.2- COLETAS**

As coletas foram realizadas no período de fevereiro de 1993 a janeiro de 1995. Os exemplares das espécies aqui estudadas foram coletados em diferentes pontos da Baía de Guanabara, no Estado do Rio de Janeiro (Figura 4).

### **2.2.1- Local de Coleta**

A Baía de Guanabara, localizada no litoral do Estado do Rio de Janeiro, está contida na Região Metropolitana do Estado. Sua bacia hidrográfica possui cerca de 35 rios de maior importância. Este complexo ecossistema, constituído por 381 Km<sup>2</sup> de área, incluindo 44 Km<sup>2</sup> de 42 ilhas e ilhotas, um perímetro de 131 Km e um volume de 2 bilhões de m<sup>3</sup> de água, possui suas margens cercadas por cerca de 6000 indústrias, constituindo o segundo parque industrial do país e responsáveis por 80% da poluição industrial lançada na Baía. Além disso, possui uma refinaria de grande porte (REDUC), terminais marítimos de petróleo, postos de serviços e estaleiros, que juntos, lançam por dia quase 5 toneladas de óleo na Baía; 2 portos comerciais (Rio de Janeiro e Niterói), vazadouros de lixo e redes de drenagem de esgoto doméstico. Todos estes problemas levaram a Baía a um alto grau de poluição que vem acarretando vários danos como a diminuição da pesca comercial em 90% nos últimos anos, destruição paulatina dos manguezais, violação dos padrões de balneabilidade em grande parte de suas praias, e mais o assoreamento crescente

determinando a necessidade constante de dragagens. Ainda assim, este ecossistema se apresenta com vida bastante intensa, principalmente na área do canal central que apresenta boa qualidade de água, com níveis de oxigênio dissolvido dentro dos padrões normais. Além disso, nesta região podem ser encontradas várias espécies de peixes, crustáceos e moluscos, propiciando o sustento de cerca de 6000 pescadores, com uma produção média de 260 t/mês de pescado e 20 t/mês de mexilhão (PINHO-FILHO, 1990).

#### **\* Praia Vermelha e Praia da Urca**

Foram coletados na Praia Vermelha e Praia da Urca, através de mergulho com garrafa e auxílio de puçá, 13 exemplares de *Scorpaena isthmensis* (8 fêmeas, 4 machos e 1 de sexo indeterminado).

#### **\* Canal Central**

Foram coletados no canal central da Baía de Guanabara, através de arrastos-de-fundo, 10 exemplares de *Scorpaena brasiliensis* (5 fêmeas, 4 machos e 1 de sexo indeterminado), os demais exemplares de *Scorpaena isthmensis* (7 fêmeas e 13 machos), 22 exemplares de *Prionotus punctatus* (6 fêmeas, 9 machos e 7 de sexo indeterminado), e 10 exemplares de *Dactylopterus volitans* (1 fêmea, 7 machos e 1 de sexo indeterminado).

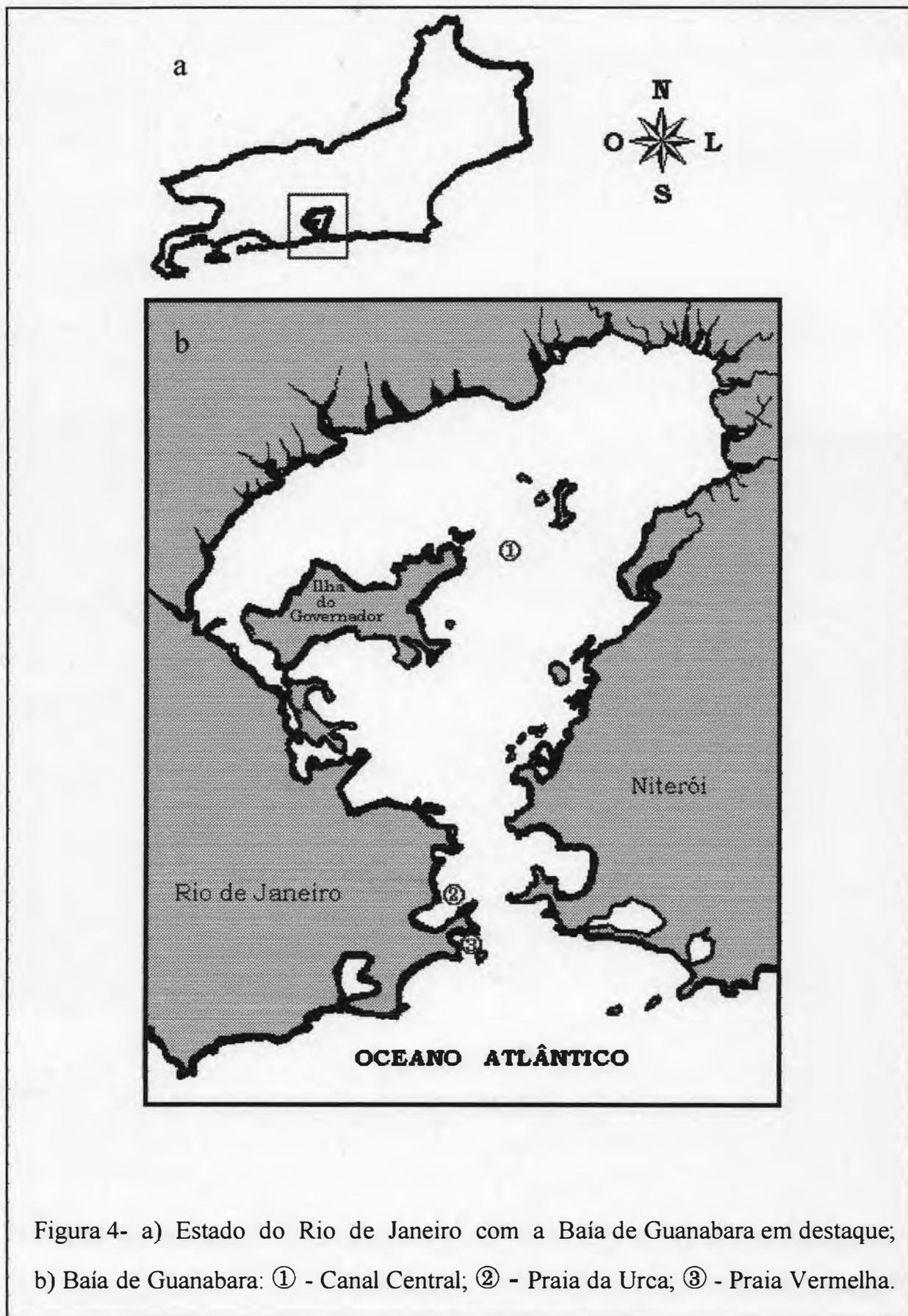


Figura 4- a) Estado do Rio de Janeiro com a Baía de Guanabara em destaque;  
b) Baía de Guanabara: ① - Canal Central; ② - Praia da Urca; ③ - Praia Vermelha.

### **2.3- IDENTIFICAÇÃO DO SEXO DOS EXEMPLARES ESTUDADOS**

Devido a maioria dos peixes não apresentarem dimorfismo sexual externo, a identificação do sexo foi feita através da observação direta das gônadas ou pela observação da gônada esmagada entre lâmina e lamínula, ao microscópio óptico. Em alguns indivíduos porém, não foi possível essa identificação (pelo fato dos indivíduos serem muito jovens, houve dificuldade na visualização das gônadas), sendo considerados então, como de sexo indeterminado.

### **2.4- IDENTIFICAÇÃO E CONSERVAÇÃO DOS EXEMPLARES ESTUDADOS**

A identificação taxonômica dos exemplares coletados foi realizada pelo Prof. Paulo Roberto Duarte Lopes (Universidade Estadual de Feira de Santana). Todos os animais com resultados cariotípicos positivos, depois de estudados citogeneticamente e fixados em formalina a 10%, foram conservados em álcool etílico a 70% e depositados em lotes na coleção ictiológica do Museu Nacional - UFRJ, sob os números: MNRJ 13566 a 13584 e MNRJ 14263 a 14268 (vide apêndice).

É importante ressaltar que, do total de 75 exemplares estudados citogeneticamente, apenas 30 apresentaram resultados satisfatórios, o que demonstra a grande dificuldade de se obter bons resultados cariotípicos em relação a peixes marinhos.

## 2.5- ANÁLISES CROMOSSÔMICAS

### 2.5.1- Preparação de Cromossomos Mitóticos

A fim de adequar as melhores técnicas para obtenção de cromossomos mitóticos para as diferentes espécies aqui estudadas, foram utilizadas as técnicas de preparação direta, tratamentos *in vitro* e cultura de curto termo de tecidos sólidos em suspensão, como descritas a seguir.

#### 2.5.1.1- Preparação direta

A técnica empregada foi a de BERTOLLO (1978), modificada para peixes marinhos por BRUM *et al.* (1992).

1. Injetar, intraperitonealmente, uma solução aquosa de colchicina a 0,025%, na proporção de 1ml/100g de peso do animal.
2. Deixar o peixe em aquário bem aerado por um período de 1 hora.
3. Em seguida, sacrificar o animal e retirar o rim cefálico e/ou posterior.
4. Lavar rapidamente o rim em uma solução hipotônica de KCl a 0,075M.
5. Transferir o material para uma cuba de vidro contendo aproximadamente 10 ml de solução hipotônica de KCL a 0,075M.

6. Fragmentar bem o material com o auxílio de pinças de dissecação, completando-se o processo com uma seringa hipodérmica de vidro, desprovida de agulha, aspirando e expirando o material para facilitar a separação das células, proporcionando a obtenção de uma suspensão celular homogênea.
7. Incubar a suspensão celular em estufa a 37°C por 30 minutos.
8. Ressuspender cuidadosamente o material com o auxílio de uma pipeta Pasteur e transferir a suspensão para um tubo de centrifuga descartando os pedaços de tecidos não desfeitos totalmente.
9. Pré-fixar o material, adicionando 5 a 6 gotas de fixador (álcool metílico e ácido acético na proporção de 3:1), recém-preparado, e ressuspender cuidadosamente com o auxílio de uma pipeta Pasteur.
10. Centrifugar durante 10 minutos a 500 rpm, descartando o sobrenadante com pipeta Pasteur.
11. Adicionar vagarosamente, cerca de 10 ml de fixador (álcool metílico e ácido acético na proporção de 3:1), recém-preparado, deixando-o escorrer pelo tubo.
12. Ressuspender cuidadosamente o material com auxílio de pipeta Pasteur.
13. Repetir os itens 10 e 11 por mais duas vezes.
14. Após a última centrifugação e descarte do sobrenadante, adicionar de 1 a 2 ml de fixador, de acordo com a quantidade de material sedimentado e ressuspender o material. Este pode ser guardado no freezer, acondicionado em microtubos plásticos (Eppendorfs) ou ser imediatamente trabalhado como descrito a seguir.

15. Pingar de 2 a 3 gotas de suspensão celular, com uma pipeta Pasteur, sobre diferentes regiões de uma lâmina bem limpa e seca, sobre uma placa aquecida a aproximadamente 37°C.
16. Secar diretamente ao ar.
17. Corar com Giemsa diluído a 5% em tampão fosfato ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$  a 0,066M +  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  a 0,066M) pH 6,8, durante 10 minutos.
18. Lavar em água destilada e secar ao ar.

#### **2.5.1.2- Tratamentos *in vitro***

Foram utilizadas as técnicas de MOREIRA-FILHO & BERTOLLO (1990) e FORESTI *et al.* (1992), como descrito a seguir.

1. Sacrificar o animal e retirar fragmentos do rim cefálico e/ou posterior.
2. Lavar rapidamente os fragmentos de rim em uma solução hipotônica de KCL a 0,075M.
3. Transferir o material para uma pequena cuba de vidro, contendo 10 ml de solução hipotônica de KCL a 0,075M.
4. Dissociar bem o material, com auxílio de pinças de dissecação, completando-se esse processo com uma seringa hipodérmica de vidro, desprovida de agulha, com movimentos de aspiração e expiração do material, facilitando a separação das células para a obtenção de uma suspensão celular homogênea.

5. Incubar a suspensão obtida em estufa, à 37°C por 15 minutos.
6. Adicionar 5 a 6 gotas de solução aquosa de colchicina a 0.025% e deixar em estufa à 37°C, por mais 15 minutos.
7. Ressuspender cuidadosamente o material, com o auxílio de uma pipeta Pasteur e transferir a suspensão para um tubo de centrifuga descartando os pedaços de tecidos não desfeitos totalmente.
8. Prosseguir com os mesmos procedimentos descritos na técnica de Preparação direta (ítems 9 a 18).

Foi utilizada também, uma adaptação (AGUILAR, 1993) à técnica descrita anteriormente, que consiste em incubar a suspensão celular obtida em meio de cultura (TC 199 ou RPMI), sem soro, durante 40 minutos à temperatura ambiente, após adicionar 5 a 6 gotas de solução aquosa de colchicina a 0,025%. Em seguida, ressuspende-se o material cuidadosamente, com o auxílio de uma pipeta Pasteur e o material é transferido para um tubo de centrifuga, onde será centrifugado durante 10 minutos a 500 rpm. Após descartar o sobrenadante com uma pipeta Pasteur, adiciona-se aproximadamente 10 ml de solução hipotônica de KCL a 0,075M, ressuspendendo cuidadosamente o material e prossegue-se com os mesmos procedimentos descritos na técnica de preparação direta (ítems 7 a 18)

### 2.5.1.3- Cultura de Curto Termo de Tecidos Sólidos em Suspensão

A técnica utilizada foi descrita por FENOCCHIO *et al.* (1991), conforme se segue:

1. Sacrificar o animal e retirar fragmentos do rim cefálico e/ou posterior.
2. Lavar rapidamente o rim em solução hipotônica de KCL a 0,075M.
3. Transferir o material para uma pequena cuba de vidro contendo 5 ml de meio de cultura (TC 199 ou RPMI), contendo 20% de soro humano inativado ou soro bovino fetal.
4. Fragmentar bem o material, com auxílio de pinças de dissecação, completando-se esse processo com uma seringa hipodérmica de vidro, desprovida de agulha, com movimentos de aspiração e expiração do material, facilitando a separação das células, a fim de se obter uma suspensão celular para se obter uma suspensão celular homogênea.
5. Incubar a suspensão celular obtida a temperatura ambiente ou em estufa a aproximadamente 30°C, por um período de 18 a 24 horas.
6. Adicionar 5 a 6 gotas de solução aquosa de colchicina a 0,025%, 40 minutos antes do término da cultura.
7. Ressuspender o material, com cuidado, utilizando uma pipeta Pasteur e transferir a suspensão para um tubo de centrifuga.

8. Centrifugar durante 10 minutos a 500 rpm, descartando o sobrenadante com auxílio de pipeta Pasteur.
9. Adicionar, vagorosamente, cerca de 10 ml de solução hipotônica de KCL a 0,075M, ressuspendendo o material com pipeta Pasteur.
10. Prosseguir conforme a técnica descrita para preparação direta (itens 7 a 18).

#### **2.5.1.4- Indução de Metáfases por Injeção de Fermento**

Em alguns exemplares analisados, exceto naqueles em que foram realizadas culturas de curto termo, devido a obtenção de poucas células em metáfase, foi necessário a indução destas através das técnicas de LEE & ELDER (1980) e BERTOLLO (1986), que consiste na estimulação da divisão celular do tecido hematopoiético (“rim cefálico”), por injeção de uma solução de leveduras ativadas, com posterior administração de colchicina, como descrita a seguir.

1. Preparar uma solução de leveduras (fermento biológico Fleischmanns): 3 g de fermento + 6 g de dextrose + 25 ml de água morna.
2. Incubar essa solução a 37-40°C por aproximadamente 30 minutos, até que as leveduras se tornem ativas (borbulhamento da solução).
3. Injetar subcutâneamente, na região dorso-lateral do animal, a suspensão de leveduras, na proporção de 1 ml/100g de peso do animal.
4. Manter o peixe em aquário bem aerado por cerca de 24 horas.
5. Seguir as técnicas descritas para preparação direta ou tratamento “*in vitro*”.

## **2.5.2- Caracterização das Regiões Organizadoras de Nucléolos (RONs)**

### **2.5.2.1- Coloração com Nitrato de Prata**

As Regiões Organizadoras de Nucléolos foram evidenciadas através de coloração com nitrato de prata segundo a técnica de HOWELL & BLACK (1980), conforme descrita a seguir.

1. Sobre uma lâmina preparada conforme a técnica utilizada para obtenção de cromossomos mitóticos, pingar 1 gota de solução aquosa de gelatina comercial (sem sabor) a 2%, acrescida de ácido fórmico a 50% na proporção de 1:100 de solução.
2. Sobre a gota de gelatina, adicionar 2 gotas de solução aquosa de nitrato de prata a 50%. Misturar bem e cobrir com uma lamínula.
3. Incubar em estufa a 60°C, por um período de 3 a 8 minutos ou monitorando ao microscópio óptico até que a lâmina e os cromossomos tenham atingido a coloração ideal (RONs e nucléolos assumem uma coloração preta ou marrom e os cromossomos e núcleos um tom amarelado).
4. Lavar a lâmina em água destilada ou deionizada, possibilitando que a lamínula seja retirada pela própria água.

5. Caso a coloração com nitrato de prata tenha ficado fraca, pode-se corar com Giemsa diluído a 2% em tampão fosfato, pH 6,8, durante 20 a 30 segundos, lavando em seguida com água destilada ou deionizada.
6. Secar ao ar.

#### **2.5.2.2- Coloração com Fluorocromo GC- Específico (Mitramicina A)**

A coloração com mitramicina, evidenciando as regiões organizadoras de nucléolos, foi realizada basicamente de acordo com as técnicas descritas por SCHWEIZER (1980) e adaptada para peixes por GALETTI & RASCH (1993) e SCHMID (1980), que se seguem:

1. Sobre uma lâmina com cromossomos colocar cerca de 150 $\mu$ l da solução de distamicina 0.3 mg/ml, cobrir com lamínula e deixar agindo por 15 minutos.
2. Escorrer a lamínula e lavar em tampão McIlvaine ( $C_6H_8O_7 + H_2O + Na_2HPO_4$ ) pH=7,0, durante 20-30 segundos.
3. Lavar com água destilada durante aproximadamente 3 minutos e deixar secar por poucos minutos.
4. Sobre a lâmina, colocar 120  $\mu$ l de solução de mitramicina 0.1 mg/ml, cobrir com lamínula e deixar por 60 minutos no escuro.
5. Lavar em tampão McIlvaine.
6. Lavar com água destilada durante aproximadamente 3 minutos.

7. Secar e montar com uma nova laminula utilizando meio de solução de sacarose saturada, filtrada antes do uso.
8. Deixar a lâmina guardada a temperatura ambiente, no escuro, por no mínimo 15 dias antes de analisar (para aumentar a estabilidade do fluorocromo).

### **2.5.3- Detecção da Heterocromatina Constitutiva (Bandas C)**

O padrão de distribuição da heterocromatina constitutiva foi caracterizado segundo a técnica de SUMNER (1972), com algumas modificações, conforme descrita abaixo.

1. Tratar o material preparado segundo a técnica de preparação de cromossomos mitóticos com HCl 0.2N em temperatura ambiente, por 15 minutos.
2. Lavar em água deionizada e secar ao ar.
3. Incubar a lâmina em solução 2xSSC, a 60°C, por 15 minutos.
4. Lavar em água deionizada e secar ao ar.
5. Incubar a lâmina, a 42°C, por 1 minuto e 30 segundos a 2 minutos em solução de hidróxido de bário ( $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8 \text{H}_2\text{O}$ ) a 5%, recém-preparada e filtrada.
6. Lavar várias vezes em água deionizada e secar ao ar.
7. Incubar a lâmina, novamente, em solução 2xSSC, a 60°C, durante 20 minutos.
8. Lavar várias vezes e secar ao ar
9. Corar com Giemsa diluído em tampão fosfato a 2%, pH 6,8, por 20 a 30 minutos.
10. Lavar em água deionizada e secar ao ar.

## **2.5.4- Estudos Cariotípicos**

### **2.5.4.1- Análises Microscópicas**

As análises microscópicas para coloração Giemsa, Ag-RONs e bandas C, foram realizadas em microscópio óptico comum, usando-se objetiva de imersão. Após a análise e a contagem das metáfases coradas com Giemsa, estabeleceu-se o valor modal nas diferentes espécies estudadas.

As melhores metáfases foram fotografadas em fotomicroscópio Apophot Nikon, em campo claro, com objetiva de imersão e filme preto e branco Agfa Copex Pan A.H.U - TRI 13, regulado para 25 ASA. A revelação foi processada com revelador Dektol (Kodak) e as cópias dos negativos foram feitas em papel Kodabromide Print RC - F3, da Kodak.

As análises de fluorescência foram realizadas em fotomicroscópio de epifluorescência, com filtro 450-490 nm (zona de excitação do azul) e filtro de barreira 530 nm e, as melhores metáfases fotografadas com filme T-max 100 ASA, revelado em D-76.

#### **2.5.4.2- Montagem dos Cariótipos**

As fotografias dos cromossomos foram recortadas e os prováveis homólogos pareados, sendo dispostos em grupos de acordo com a posição do centrômero e em ordem decrescente de tamanho.

O pareamento e a ordenação dos cromossomos foram baseados, principalmente, na observação visual, auxiliada por medições diretas com paquímetro que permitiram um melhor ajuste na montagem dos cariótipos.

#### **2.5.4.3- Medidas Cromossômicas**

As medições cromossômicas foram realizadas apenas nas metáfases escolhidas para a montagem final dos cariótipos de cada espécie.

Após a ordenação visual dos cromossomos homólogos, foram feitas medições com o auxílio de compasso de ponta seca e paquímetro para o acerto final do cariótipo. No caso de cromossomos acrocêntricos, onde a visualização dos braços cromossômicos menores é muito difícil, podendo causar erros na tomada das medidas, optou-se por considerar uma medida do comprimento total dos cromossomos (CT) e considerou-se a média de cada par. Nos demais tipos cromossômicos, determinou-se o comprimento do braço menor (Bm), do braço maior (BM) e o comprimento total de cada cromossomo (CT), calculando-se então os valores médios para cada par.

Os cromossomos foram classificados de acordo com os critérios de relação de braços (RB), segundo LEVAN *et al.* (1964): metacêntricos ( $M \rightarrow RB = 1,00$  a  $1,70$ ), submetacêntricos ( $SM \rightarrow RB = 1,71$  a  $3,00$ ), subtelocêntricos ( $ST \rightarrow RB = 3,01$  a  $7,00$ ) e acrocêntricos ( $A \rightarrow RB > 7,01$ ). Como já foi dito anteriormente, no caso dos cromossomos acrocêntricos não foram tomadas as medidas dos braços menores e a classificação destes foi feita pela observação direta da morfologia cromossômica.

Para a determinação do número fundamental (NF) das espécies estudadas, os cromossomos subtelocêntricos e acrocêntricos foram considerados como cromossomos de um único braço e os cromossomos metacêntricos e submetacêntricos como cromossomos de dois braços, de acordo com a maioria dos pesquisadores que trabalham com peixes marinhos (BRUM, 1994).

### 3- RESULTADOS

#### 3.1- *Scorpaena brasiliensis*

##### 3.1.1- Cariótipo Analisado

De 10 exemplares de *Scorpaena brasiliensis*, em apenas 2 (1 macho e 1 fêmea) obtiveram-se resultados positivos, sendo que, das técnicas utilizadas para a obtenção de cromossomos mitóticos, as que apresentaram melhores resultados foram as de preparação direta e de tratamento *in vitro* com meio de cultura (vide apêndice).

A análise do cariótipo de *S. brasiliensis*, através da coloração convencional Giemsa, evidenciou um número diplóide modal de 46 cromossomos, para ambos os sexos, conforme é mostrado nas Tabelas 1 e 2 e na Figura 5, que indicam as frequências de números diplóides encontrados nas metáfases mitóticas.

O cariótipo da espécie é caracterizado por apresentar 7 pares de cromossomos metacêntricos-submetacêntricos e 16 pares de cromossomos subtelocêntricos-acrocêntricos, caracterizando desta forma um número fundamental (NF) igual a 60, tanto para machos quanto para fêmeas, como pode ser observado na Figura 6.

As medidas cromossômicas médias de cada par, entre o cariótipo masculino e feminino, permitiram a classificação dos cromossomos de acordo com o critério de relação de braços e encontram-se na Tabela 3.

### **3.1.2- Regiões Organizadoras de Nucléolos**

#### **3.1.2.1- Análises com Nitrato de Prata**

As análises das regiões organizadoras de nucléolos, feitas à partir da impregnação pelo nitrato de prata (Ag-RONs), em 1 exemplar de *S. brasiliensis*, revelaram a presença de dois cromossomos portadores das RONS, no complemento cromossômico diplóide (Figura 7). Estas regiões estão localizadas nos telômeros do braço curto de um par de cromossomos submetacêntricos. Este par cromossômico foi identificado como o segundo par do cariótipo.

Neste exemplar, as RONS apresentaram um heteromorfismo de tamanho entre os homólogos. Estas regiões mostraram uma variação grande, onde um dos cromossomos do par apresentou a RON quase com o dobro do tamanho da outra (Figuras 7 e 9).

### 3.1.2.2- Análises com Mitramicina A (Sigma)

As análises das RONS feitas pela coloração com mitramicina A (fluorocromo GC-específico), no mesmo exemplar analisado pela técnica do nitrato de prata, desta espécie, mostraram uma marcação mais intensa em apenas um par de cromossomos. Esta marcação mais brilhante foi observada na região telomérica do braço curto de um cromossomo submetacêntrico, que corresponde ao segundo par do complemento cromossômico.

Esta marcação é coincidente com a região evidenciada pela técnica de impregnação com nitrato de prata e também mostrou-se heteromórfica entre os dois homólogos, com uma RON apresentando quase o dobro do tamanho da outra (Figuras 8 e 9).

### 3.1.3- Distribuição da Heterocromatina Constitutiva

As análises do padrão de distribuição da heterocromatina constitutiva (bandas C), em 1 exemplar de *S. brasiliensis*, revelaram a presença de pequenos blocos centroméricos de heterocromatina constitutiva em praticamente todos os cromossomos do complemento.

Além dessas marcações, blocos heterocromáticos mais conspícuos foram observados em 2 cromossomos médios. Estes grandes segmentos heterocromáticos, localizados no braço curto de um par de cromossomos submetacêntricos de tamanho

intermediário, são coincidentes com a localização das RONS evidenciadas pelo nitrato de prata e pela mitramicina A, como descrito anteriormente. Desta forma, as RONS desta espécie são caracterizadas como bandas C-positivas (Figura 10).

Tabela 1- Números diplóides encontrados para fêmea de *Scorpaena brasiliensis*.

número do exemplar	números diplóides								total de células
	41	42	43	44	45	46	47	48	
443		2	3	3	4	21	1		34
total		2	3	3	4	21	1		34
%	0	5,88	8,82	8,82	11,76	61,76	2,94		100

Tabela 2- Números diplóides encontrados para macho de *Scorpaena brasiliensis*

número do exemplar	números diplóides								total de células
	41	42	43	44	45	46	47	48	
352	1		1	4	4	18	2	1	31
total	1		1	4	4	18	2	1	31
%	3,23	0	3,23	12,90	12,90	58,06	6,45	3,23	100

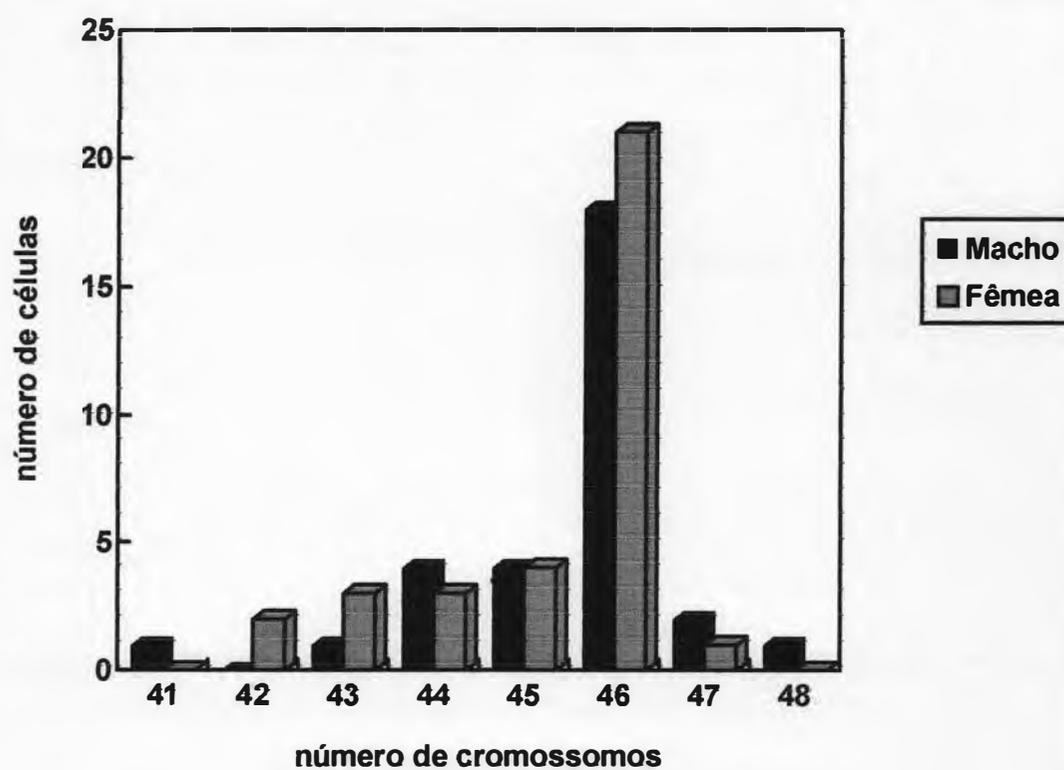


Figura 5 - Gráfico de freqüência evidenciando a distribuição modal dos números diplóides encontrados para a espécie *Scorpaena brasiliensis*

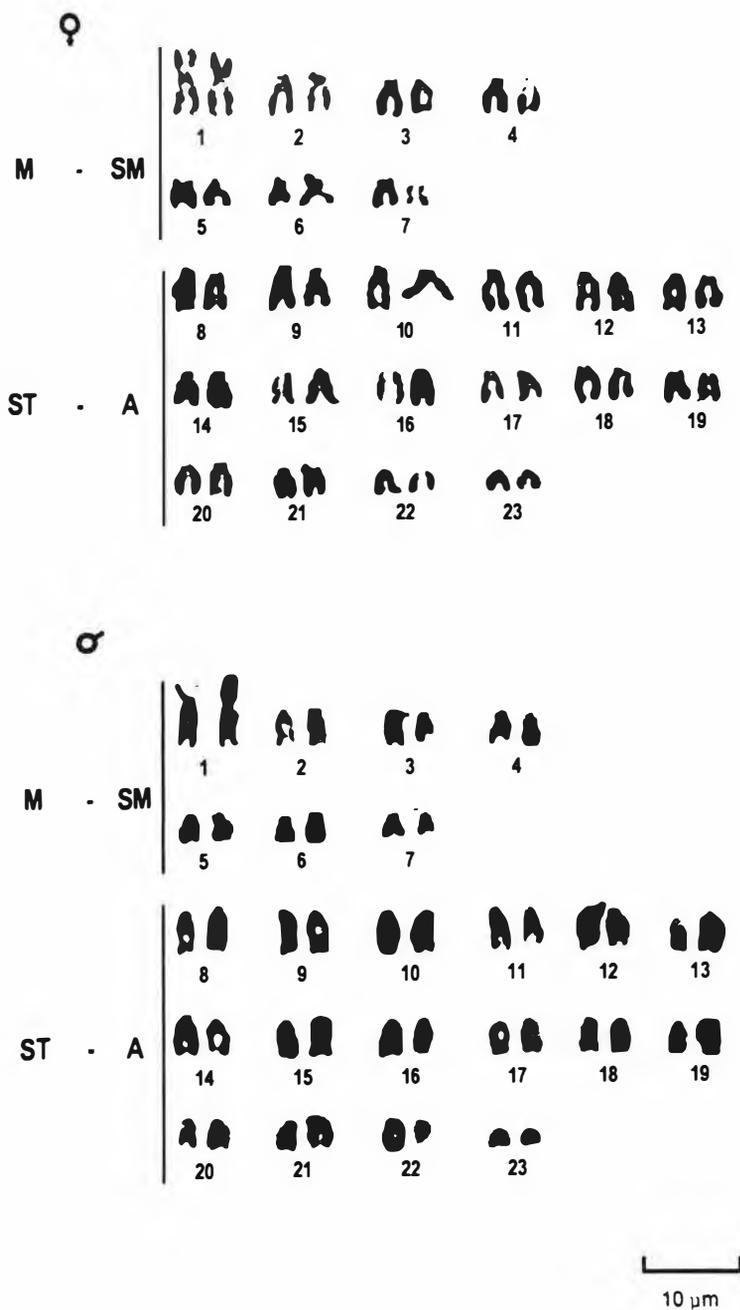


Figura 6- Cariótipos de fêmea e macho de *Scorpaena brasiliensis*.

Tabela 3- Valores cromossômicos médios em *Scorpaena brasiliensis*. BM = braço maior; Bm = braço menor; CT = comprimento total, CR = comprimento relativo; RB = relação de braços; M = metacêntrico; SM = submetacêntrico; ST = subtelocêntrico; A = acrocêntrico.

nº do par cromossômico	Valores Médios					Tipos Cromossômicos
	BM	Bm	CT(mm)	CR(%)	RB	
1	7,03	5,19	12,22	7,68	1,35	M
2	5,65	2,18	7,83	4,92	2,59	SM
3	5,03	1,86	6,89	4,33	2,70	SM
4	4,58	1,99	6,57	4,13	2,30	SM
5	4,29	2,03	6,32	3,97	2,11	SM
6	3,69	2,04	5,73	3,60	1,81	SM
7	3,72	1,63	5,35	3,36	2,28	SM
8	7,04	1,59	8,63	5,42	4,43	ST
9	6,43	1,70	8,13	5,11	3,78	ST
10	6,33	1,57	7,90	4,96	4,03	ST
11	5,92	1,83	7,75	4,87	3,23	ST
12	6,10	1,42	7,52	4,72	4,30	ST
13	5,99	1,42	7,41	4,66	4,22	ST
14	5,78	1,47	7,25	4,55	3,93	ST
15	6,93	-	6,93	4,35	-	A
16	6,67	-	6,67	4,19	-	A
17	6,60	-	6,60	4,15	-	A
18	5,10	1,37	6,47	4,06	3,72	ST
19	6,15	-	6,15	3,86	-	A
20	5,10	1,00	6,10	3,83	5,10	ST
21	4,79	1,23	6,02	3,78	3,89	ST
22	5,14	-	5,14	3,23	-	A
23	3,60	-	3,60	2,26	-	A

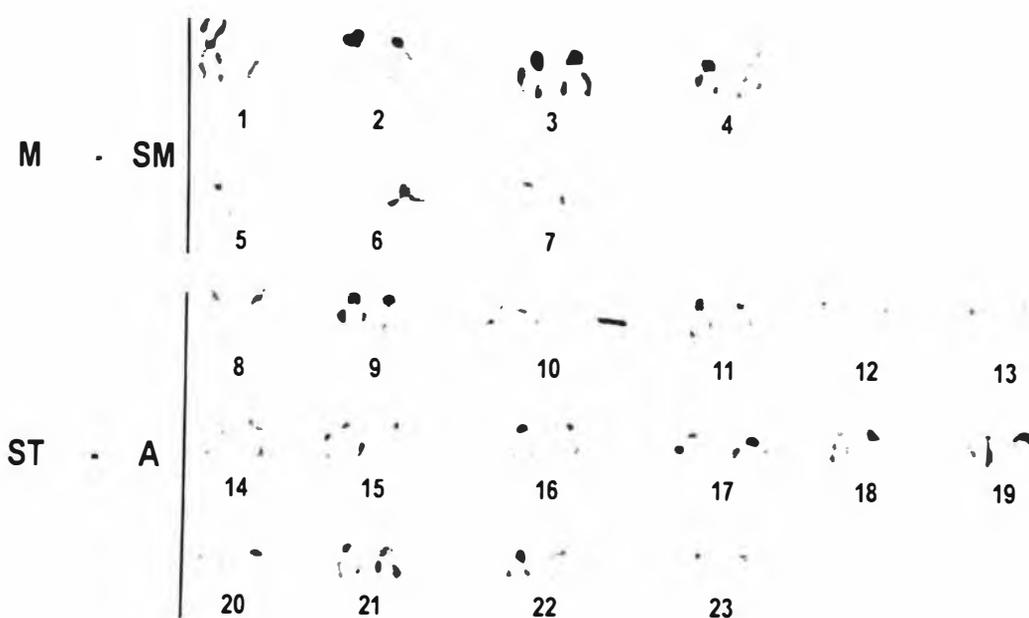


Figura 7- Regiões organizadoras de nucléolos em *S. brasiliensis* (par cromossômico número 2); análises com nitrato de prata. Observar o heteromorfismo de tamanho entre as RONS.

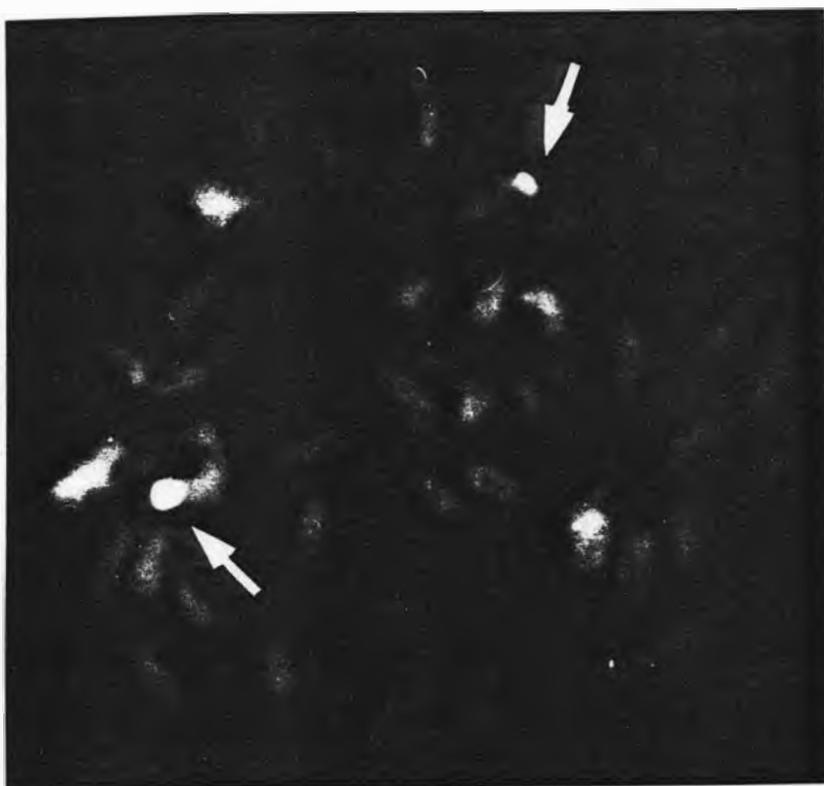


Figura 8- Regiões organizadoras de nucléolos em *S. brasiliensis*: análises com mitramicina A (setas). Observar o heteromorfismo de tamanho entre as RONS.

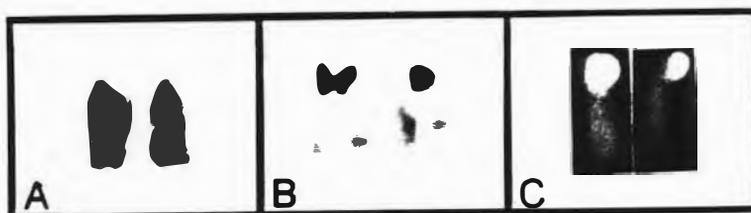


Figura 9- Par cromossômico portador das regiões organizadoras de nucléolos em *S. brasiliensis*. a) coloração Giemsa; b) coloração com nitrato de prata e c) coloração com mitramicina A.

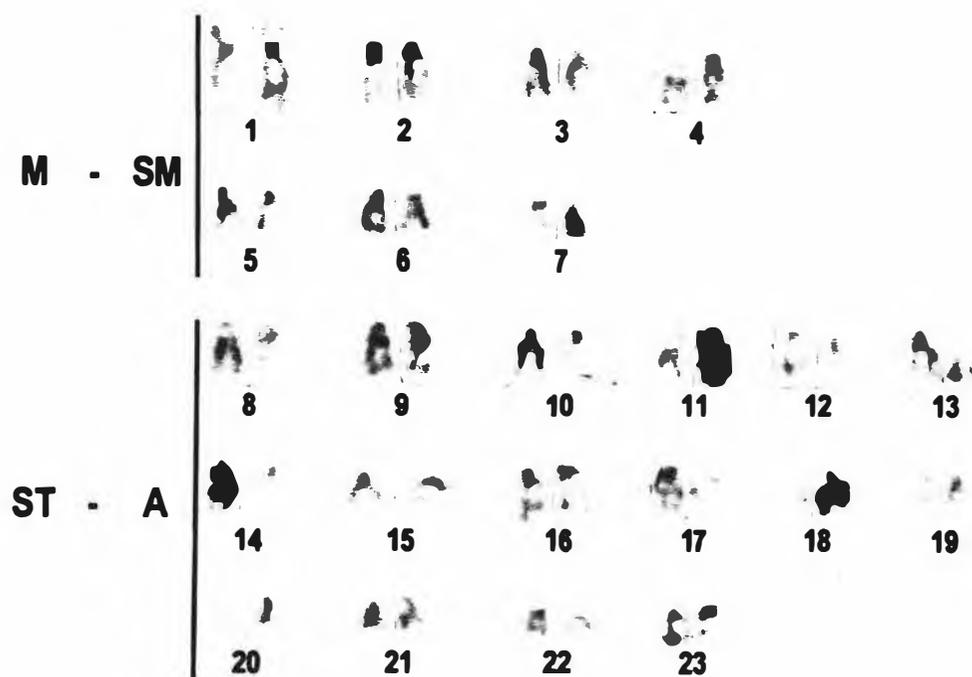


Figura 10- Distribuição da heterocromatina constitutiva em *S. brasiliensis*. Observar o par cromossômico número 2 com as RONS bandas C-positivas.

## 3.2- *Scorpaena isthmensis*

### 3.2.1- Cariótipo Analisado

Dos 33 exemplares estudados de *Scorpaena isthmensis*, 21 (8 fêmeas, 12 machos e um indivíduo de sexo indeterminado) apresentaram resultados satisfatórios. Todas as técnicas de preparação de cromossomos mitóticos utilizadas com essa espécie apresentaram resultados, exceto o tratamento *in vitro* com KCL (vide apêndice).

Nesta espécie foi evidenciado um número diplóide modal de 40 cromossomos, tanto para machos quanto para fêmeas, como é apresentado nas Tabelas 4, 5 e 6. A Figura 11 indica as frequências de números diplóides encontrados nas metáfases mitóticas dos exemplares analisados.

O cariótipo da espécie é representado na Figura 12. Foi evidenciada, através da coloração convencional Giemsa, a ocorrência de 7 pares de cromossomos metacêntricos-submetacêntricos e 13 pares de cromossomos subtelocêntricos-acrocêntricos, o que caracteriza um número fundamental (NF) igual a 54, em ambos os sexos.

Na Tabela 7 encontram-se as medidas cromossômicas médias de cada par, entre o cariótipo de macho e de fêmea, possibilitando a classificação destes, através da obtenção dos valores de relação de braços.

### **3.2.2- Regiões Organizadoras de Nucléolos**

#### **3.2.2.1- Análises com Nitrato de Prata**

As análises das regiões organizadoras de nucléolos, pelo nitrato de prata (Ag-RONs), em 1 exemplar de *S. isthmensis*, revelaram a presença de um único par cromossômico portador das RONS. Estas regiões estão localizadas nos telômeros do braço menor de um par de cromossomos submetacêntricos, que foi identificado como o quinto par do complemento cromossômico.

Nesta espécie, não foi observado nenhum heteromorfismo entre os dois homólogos portadores das RONS (Figuras 13 e 15).

#### **3.2.2.2- Análises com Mitramicina A (Sigma)**

As análises realizadas pela coloração com mitramicina A, em 1 exemplar desta espécie, evidenciaram uma marcação mais brilhante em apenas 1 par cromossômico. A marcação com maior fluorescência encontra-se na região terminal do braço menor do quinto par cromossômico do cariótipo. Esta marcação, assim como na espécie anterior, também é coincidente com a região marcada pelo nitrato de prata.

Da mesma forma como na técnica de impregnação pelo nitrato prata, a coloração com mitramicina A também não evidenciou nenhum heteromorfismo entre as RONS (Figuras 14 e 15).

### **3.2.3- Distribuição da Heterocromatina Constitutiva**

Em *S. isthmensis*, as análises da distribuição da heterocromatina constitutiva (bandas C), em 3 exemplares, evidenciaram a presença de pequenos blocos heterocromáticos centroméricos em praticamente todos os cromossomos do complemento.

Além dessas pequenas marcações, nenhum segmento maior foi observado. Nesta espécie não se observou blocos de heterocromatina constitutiva associados às regiões organizadoras de nucléolos (Figura 16).

Tabela 4- Números diplóides encontrados para fêmeas de *Scorpaena isthmensis*.

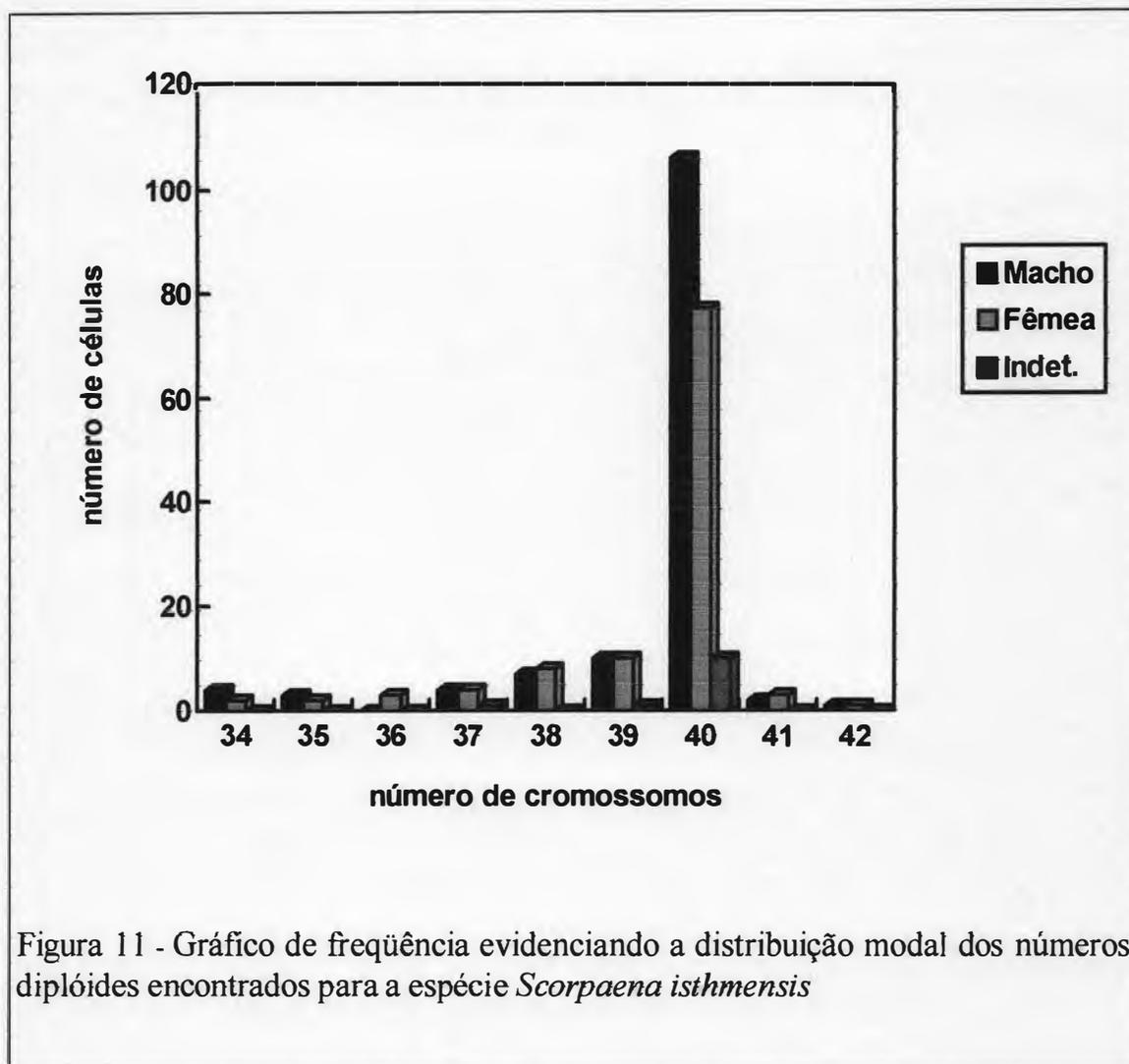
números dos exemplares	números diplóides									total de células
	34	35	36	37	38	39	40	41	42	
288							5			5
328	1				1	3	8			13
330		2	1	1		1	19			24
332			2		1	1	7	1		12
333				2	3	2	18	2	1	28
432	1			1	1	1	5			9
433					1	2	13			16
444					1		2			3
total	2	2	3	4	8	10	77	3	1	110
%	1,82	1,82	2,73	3,64	7,27	9,09	70,00	2,73	0,91	100

Tabela 5- Números diplóides encontrados para machos de *Scorpaena isthmensis*

números dos exemplares	números diplóides									total de células
	34	35	36	37	38	39	40	41	42	
322						1	6			7
327							6			6
329	1			1	4	4	31	1	1	43
355	2	1				1	10			14
389						1	6			7
405		1				1	2			4
409							3			3
411				1	1	1	13			16
426							6			6
434					1		7	1		9
442		1					9			10
445	1			2	1	1	4			9
<b>total</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>4</b>	<b>7</b>	<b>10</b>	<b>106</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>137</b>
<b>%</b>	<b>2,92</b>	<b>2,19</b>	<b>0</b>	<b>2,92</b>	<b>5,11</b>	<b>7,30</b>	<b>77,37</b>	<b>1,46</b>	<b>0,73</b>	<b>100</b>

Tabela 6- Números diplóides encontrados para indivíduo de sexo indeterminado de *Scorpaena isthmensis*.

número do exemplar	números diplóides									total de células
	34	35	36	37	38	39	40	41	42	
265				1		1	10			12
total				1		1	10			12
%				8,33		8,33	83,33			100



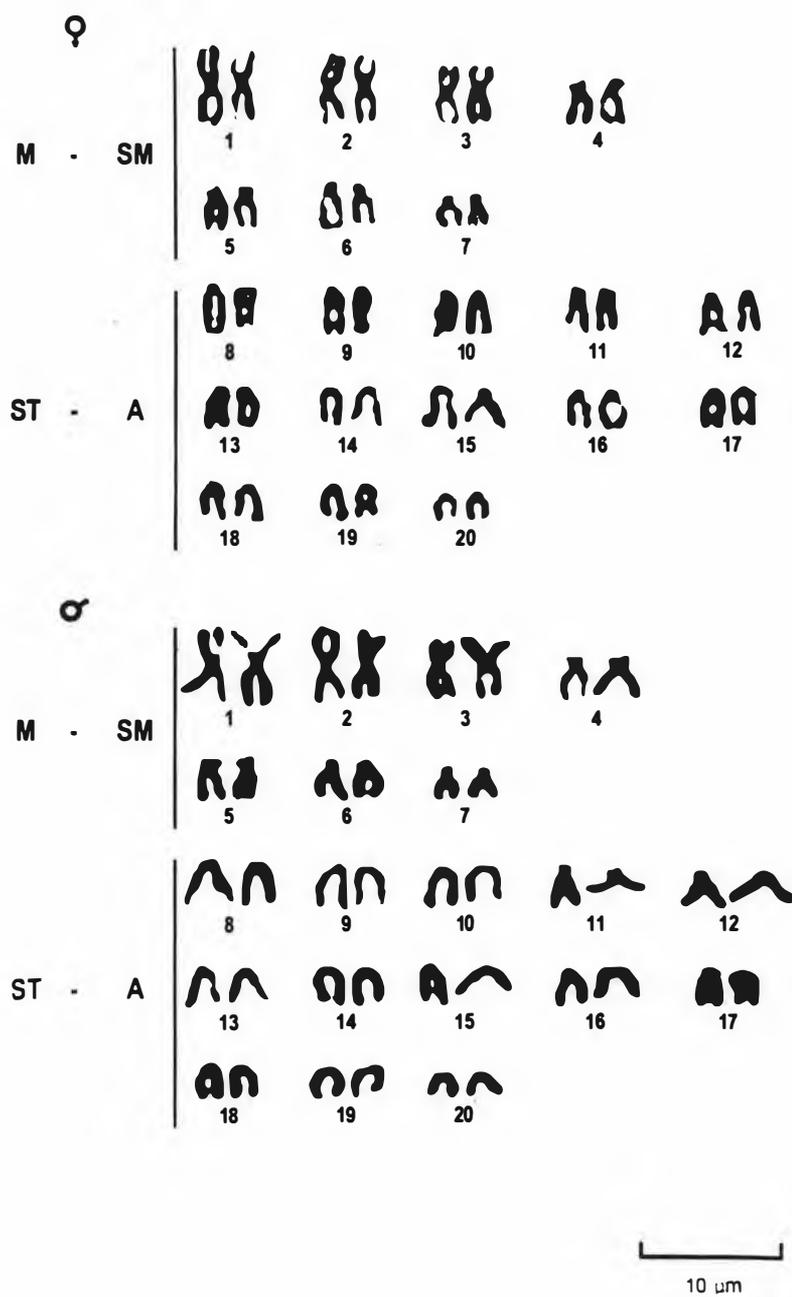


Figura 12- Cariótipos de fêmea e macho de *Scorpaena isthmensis*

Tabela 7- Valores cromossômicos médios em *Scorpaena isthmensis*. BM = braço maior; Bm = braço menor; CT = comprimento total, CR = comprimento relativo; RB = relação de braços; M = metacêntrico; SM = submetacêntrico; ST = subtelocêntrico; A = acrocêntrico.

n° do par cromossômico	Valores Médios					Tipos Cromossômicos
	BM	Bm	CT(mm)	CR(%)	RB	
1	8,31	7,74	16,05	8,89	1,07	M
2	7,61	6,93	14,54	8,05	1,10	M
3	6,76	6,07	12,83	7,11	1,11	M
4	7,05	2,67	9,72	5,38	2,64	SM
5	6,36	2,56	8,92	4,94	2,48	SM
6	6,30	2,21	8,51	4,71	2,85	SM
7	5,07	2,03	7,11	3,94	2,50	SM
8	9,27	-	9,27	5,14	-	A
9	9,10	-	9,10	5,04	-	A
10	8,73	-	8,73	4,84	-	A
11	6,58	1,97	8,56	4,74	3,34	ST
12	8,48	-	8,48	4,70	-	A
13	8,12	-	8,12	4,50	-	A
14	8,02	-	8,02	4,44	-	A
15	7,71	-	7,71	4,27	-	A
16	7,63	-	7,63	4,23	-	A
17	7,38	-	7,38	4,09	-	A
18	7,26	-	7,26	4,02	-	A
19	6,82	-	6,82	3,78	-	A
20	5,76	-	5,76	3,19	-	A

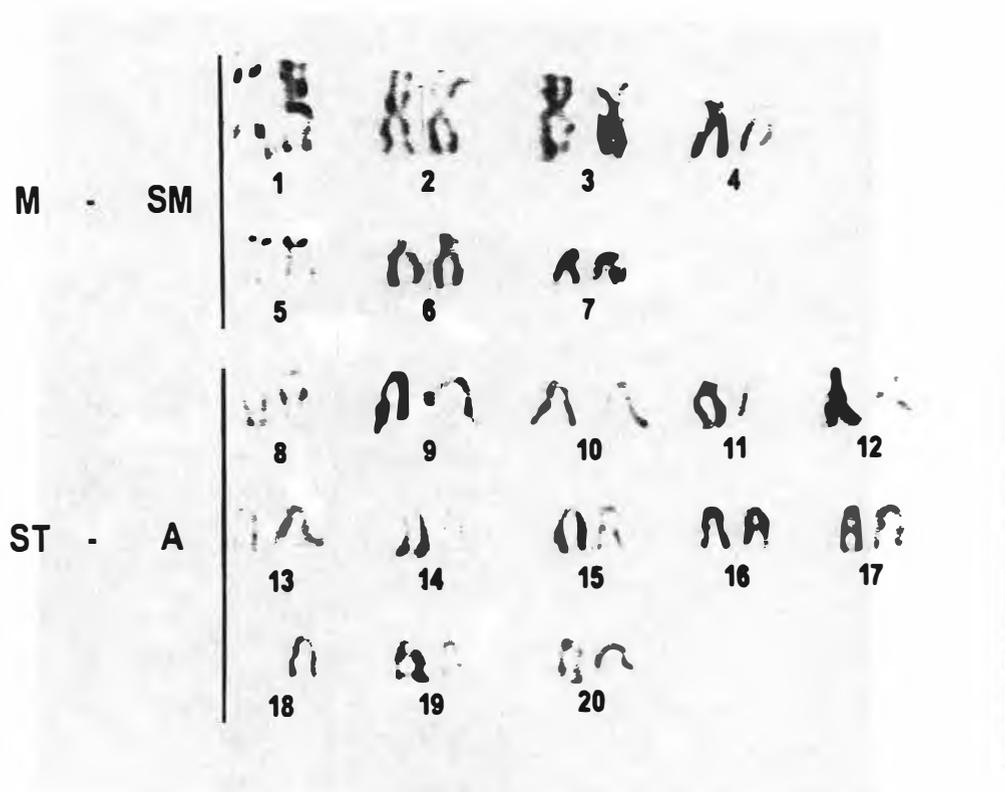


Figura 13- Regiões organizadoras de nucléolos em *S. isthmensis* (par cromossômico número 5); análises com nitrato de prata.

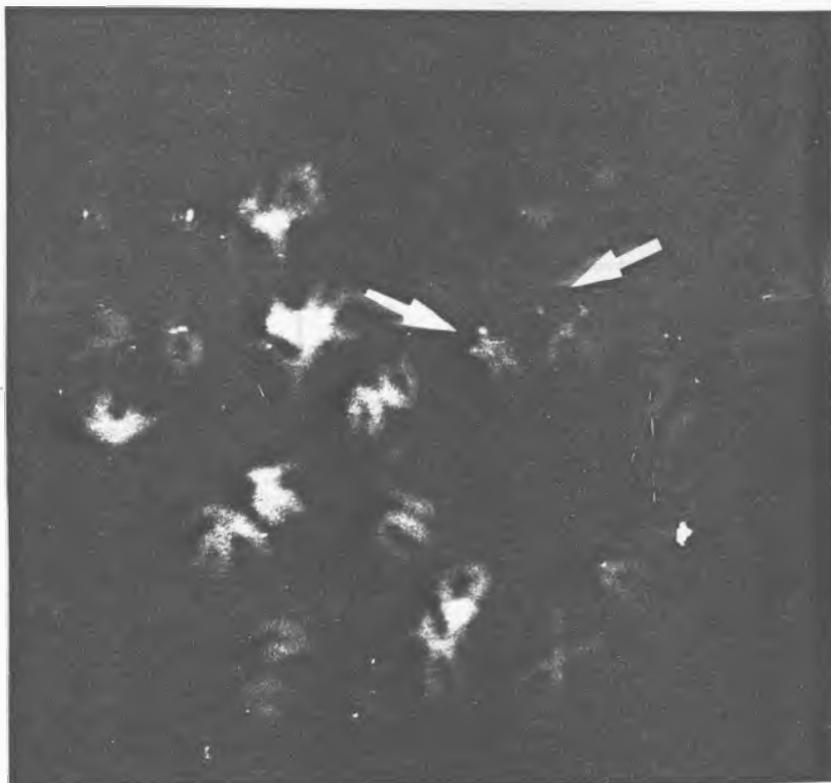


Figura 14- Regiões organizadoras de nucléolos em *S. isthmensis*: análises com mitramicina A (setas).

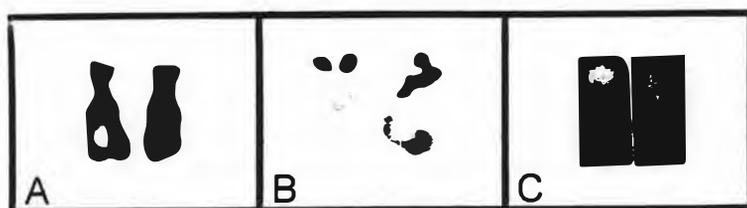


Figura 15- Par cromossômico portador das regiões organizadoras de nucléolos em *S. isthmensis*. a) coloração Giemsa; b) coloração com nitrato de prata e c) coloração com mitramicina A.

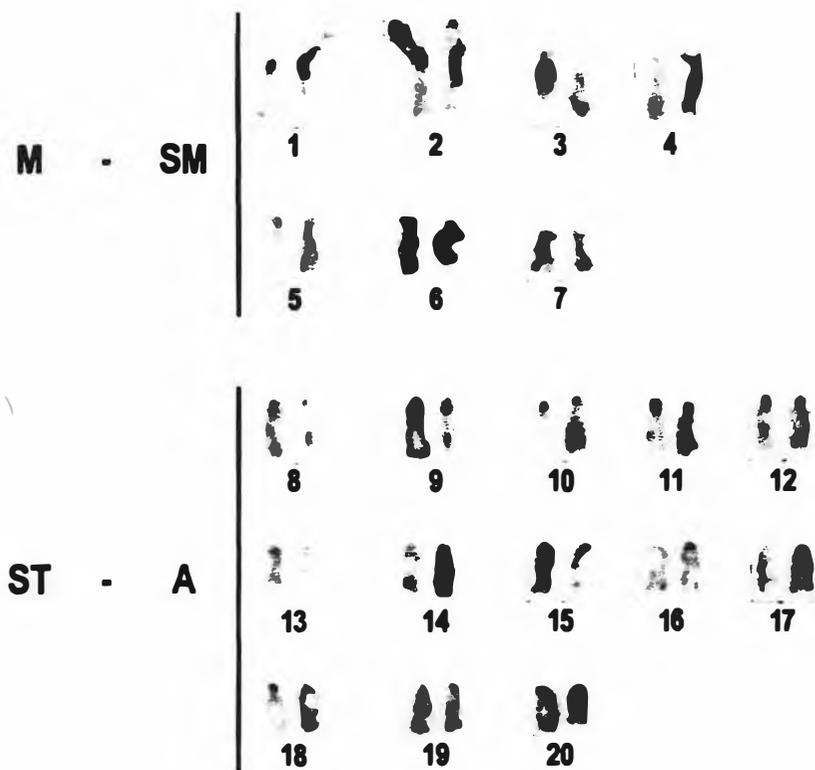


Figura 16- Distribuição da heterocromatina constitutiva em *S. isthmensis*.

### 3.3- *Prionotus punctatus*

#### 3.3.1- Cariótipo Analisado

De 22 exemplares de *Prionotus punctatus* analisados no presente trabalho, em apenas 4 (2 fêmeas, 1 macho e 1 indivíduo de sexo indeterminado) obtiveram-se resultados positivos. Nesta espécie, apenas com a técnica de cultura de curto termo obtiveram-se resultados satisfatórios, pois os animais não resistiam a nenhum tipo de injeção (vide apêndice).

Esta espécie apresentou um número diplóide modal de 100-101 cromossomos, com a presença de microcromossomos, tanto para machos quanto para fêmeas, como é mostrado na Tabela 8 e na Figura 17, onde são indicadas as frequências de números diplóides encontrados nas metáfases mitóticas. A falta de uma maior definição no número diplóide desta espécie, deve-se ao grande número de cromossomos, muitos de tamanho bastante reduzido, e também à dificuldade de obtenção de um número grande de metáfases nestes peixes, optando-se por  $2n=100$  como o mais provável.

Embora a decisão sobre o tipo morfológico de alguns cromossomos seja bastante difícil, especialmente os pequenos, a comparação das diferentes metáfases leva a sugerir que todos os cromossomos do complemento são acrocêntricos (Figura 18).

As medidas cromossômicas médias de cada par do cariótipo estudado e a classificação dos cromossomos são mostradas na Tabela 10. Os cromossomos apresentam uma variação uniformemente gradativa de tamanho, desde aproximadamente 2,8  $\mu\text{m}$  para os maiores cromossomos até 0,8  $\mu\text{m}$  para os menores, não evidenciando portanto, uma variação brusca de tamanho entre os últimos macrocromossomos e os primeiros microcromossomos (Figura 19).

### **3.3.2- Distribuição da Heterocromatina Constitutiva**

Em relação ao padrão de distribuição da heterocromatina constitutiva em *P. punctatus*, as análises de bandas C, em 2 exemplares, evidenciaram a presença de blocos heterocromáticos principalmente centroméricos, na maioria dos cromossomos do complemento.

Além desses blocos centroméricos, constatou-se a presença de blocos heterocromáticos teloméricos bem conspicuos nos maiores pares de cromossomos. É importante ressaltar que os cromossomos pequenos não revelaram a presença de heterocromatina constitutiva abundante, exceto na região centromérica de alguns destes cromossomos (Figura 20).

Tabela 8- Números diplóides encontrados para a espécie *Prionotus punctatus*.

número do exemplar	números diplóides												total de células
	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	
406 (?)									2	7	6	1	16
425 (♂)								2		2			4
436 (♀)	1		1		1								3
439 (♀)						3							3
total	1	0	1	0	1	3	0	2	2	9	6	1	26
%	3,85	0	3,85	0	3,85	11,54	0	7,69	7,69	34,62	23,08	3,85	100

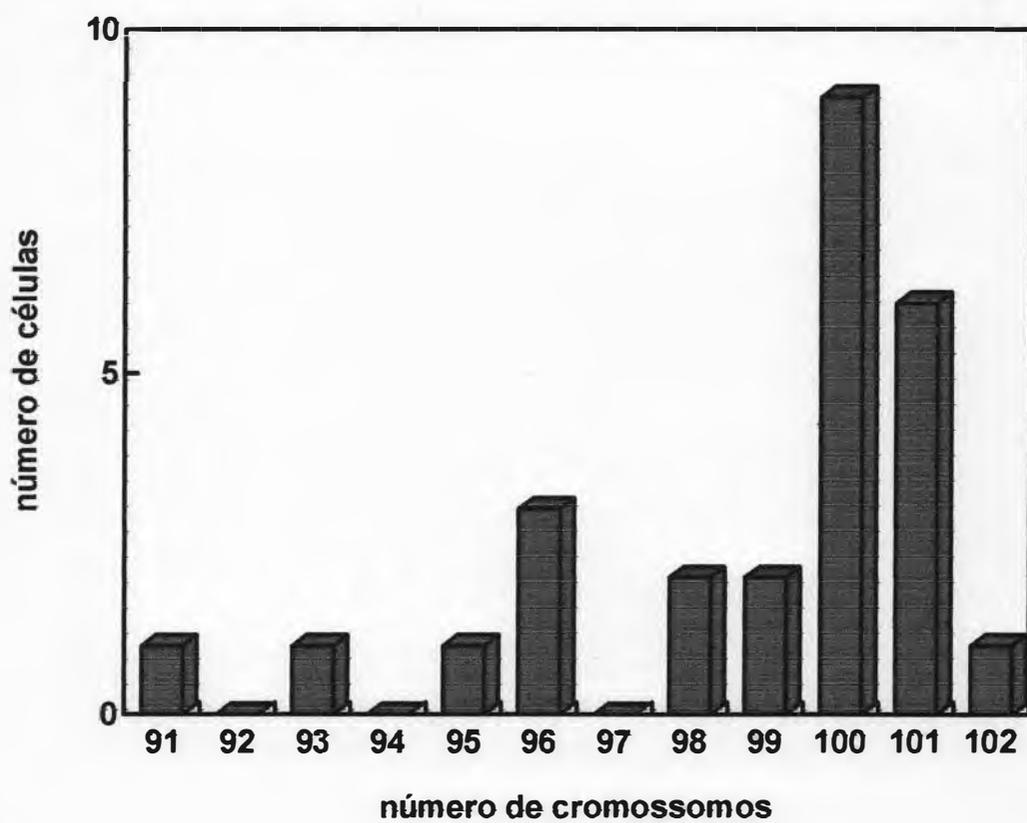


Figura 17- Gráfico de frequência evidenciando a distribuição modal dos números diplóides encontrados para a espécie *Prionotus punctatus*.

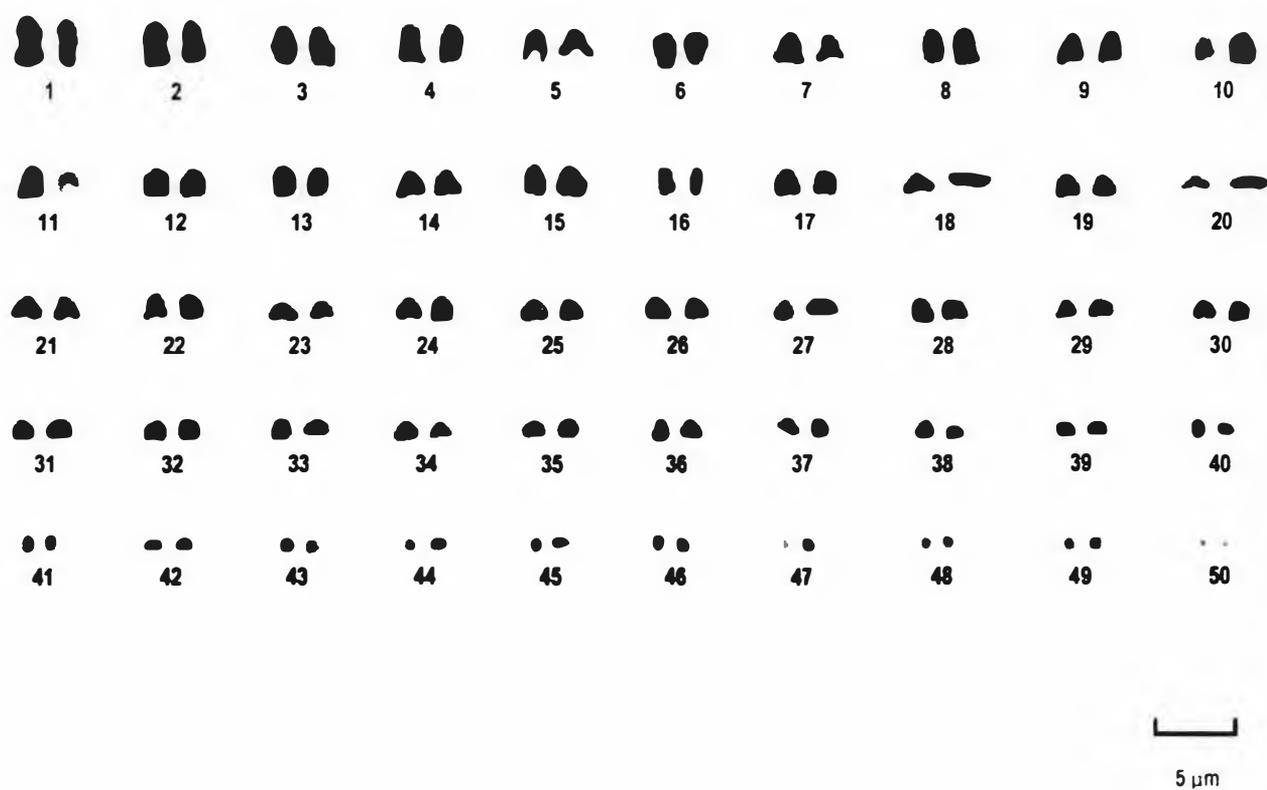


Figura 18- Cariótipo de *Prionotus punctatus* (individuo de sexo indeterminado).

Tabela 9- Valores cromossômicos médios em *Prionotus punctatus*.

CT = comprimento total, CR = comprimento relativo; A = acrocêntrico.

nº do par cromossômico	Valores Médios			Tipos Cromossômicos
	BM	CT(mm)	CR(%)	
1	9,60	9,60	3,73	A
2	9,20	9,20	3,58	A
3	8,40	8,40	3,27	A
4	8,17	8,17	3,18	A
5	7,85	7,85	3,05	A
6	7,82	7,82	3,04	A
7	7,02	7,02	2,73	A
8	7,02	7,02	2,73	A
9	6,75	6,75	2,62	A
10	6,60	6,60	2,57	A
11	6,42	6,42	2,50	A
12	6,00	6,00	2,33	A
13	5,97	5,97	2,32	A
14	5,75	5,75	2,24	A
15	5,55	5,55	2,16	A
16	5,55	5,55	2,16	A
17	5,50	5,50	2,14	A
18	5,47	5,47	2,13	A
19	5,32	5,32	2,07	A
20	5,27	5,27	2,05	A
21	5,10	5,10	1,98	A
22	5,07	5,07	1,97	A
23	5,02	5,02	1,95	A
24	4,97	4,97	1,93	A
25	4,92	4,92	1,91	A
26	4,87	4,87	1,89	A
27	4,75	4,75	1,85	A
28	4,72	4,72	1,84	A
29	4,72	4,72	1,84	A
30	4,70	4,70	1,83	A
31	4,52	4,52	1,80	A
32	4,45	4,45	1,73	A
33	4,45	4,45	1,73	A
34	4,22	4,22	1,64	A
35	4,07	4,07	1,58	A
36	4,07	4,07	1,58	A
37	4,07	4,07	1,58	A
38	3,85	3,85	1,50	A
39	3,67	3,67	1,43	A
40	3,65	3,65	1,42	A
41	3,57	3,57	1,39	A
42	3,55	3,55	1,38	A
43	3,50	3,50	1,36	A
44	3,37	3,37	1,31	A
45	3,30	3,30	1,28	A
46	3,20	3,20	1,24	A
47	3,02	3,02	1,17	A
48	2,95	2,95	1,15	A
49	2,82	2,82	1,10	A
50	2,70	2,70	1,05	A

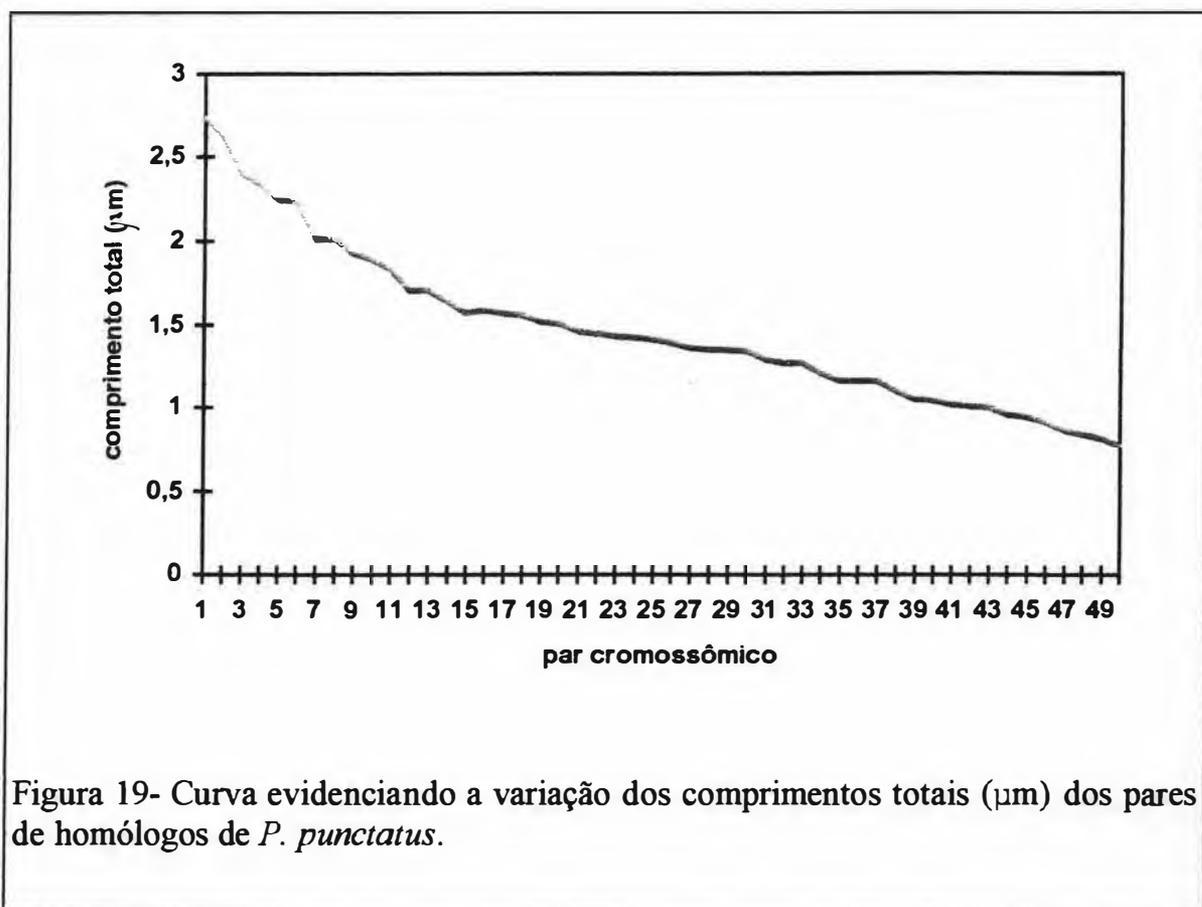


Figura 19- Curva evidenciando a variação dos comprimentos totais ( $\mu\text{m}$ ) dos pares de homólogos de *P. punctatus*.

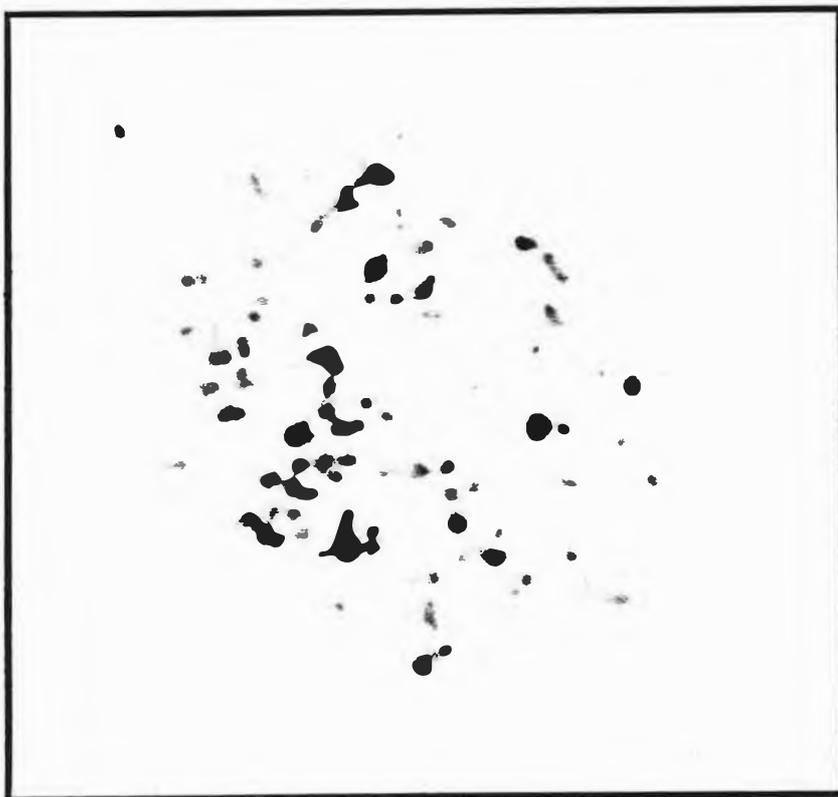


Figura 20- Distribuição da heterocromatina constitutiva em *P. punctatus*.

### 3.4- *Dactylopterus volitans*

#### 3.4.1- Cariótipo Analisado

Foram realizadas preparações cromossômicas com um total de 10 exemplares da espécie *Dactylopterus volitans*. Destes, somente 3 (2 machos e 1 indivíduo de sexo indeterminado) apresentaram resultados positivos, também utilizando a técnica de cultura de curto termo, pois assim como a espécie anterior, os animais não resistiam a nenhum tipo de injeção (vide apêndice).

Os exemplares analisados apresentaram um complemento cromossômico diplóide modal igual a 48 cromossomos, como é mostrado nas Tabelas 10 e 11 e na Figura 21, que indicam as frequências de números diplóides encontrados nas metáfases mitóticas estudadas.

O provável cariótipo desta espécie, analisado através da coloração convencional Giemsa, é constituído por 15 pares de cromossomos metacêntricos-submetacêntricos e 9 pares de cromossomos subtelocêntricos-acrocêntricos, o que caracteriza um número fundamental (NF) igual a 78, como é observado na Figura 22.

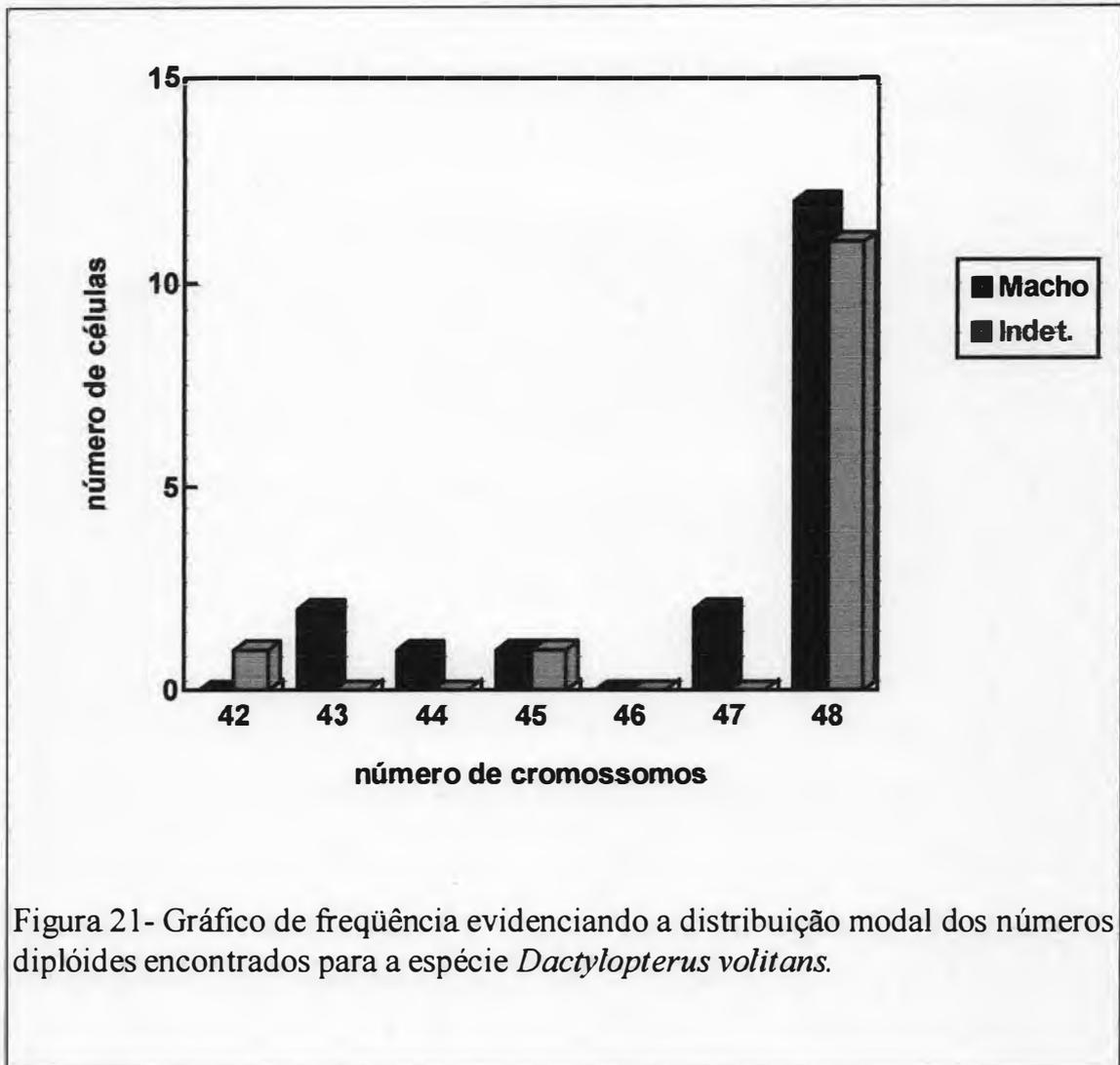
A Tabela 13 mostra as medidas cromossômicas médias de cada par, para machos e a classificação dos mesmos através dos valores encontrados de relação de braços.

Tabela 10- Números diplóides encontrados para machos de *Dactylopterus volitans*.

número do exemplar	números diplóides						total de células
	42	43	44	45	47	48	
407		1	1		1	4	7
410		1		1	1	8	11
total	0	2	1	1	2	12	18
%	0	11,11	5,56	5,56	11,11	66,67	100

Tabela 11- Números diplóides encontrados para indivíduo de sexo indeterminado de *Dactylopterus volitans*.

número do exemplar	números diplóides						total de células
	42	43	44	45	47	48	
412	1			1		11	13
total	1			1		11	13
%	7,69	0	0	7,69	0	84,62	100



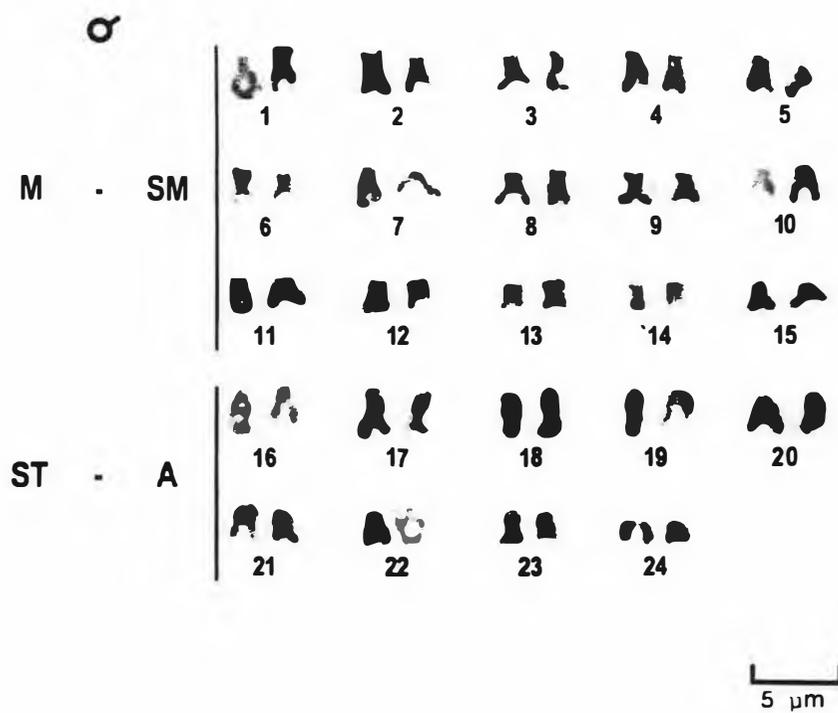


Figura 22- Cariótipo de macho de *Dactylopterus volitans*.

Tabela 12- Valores cromossômicos médios em *Dactylopterus volitans*. BM = braço maior; Bm = braço menor ; CT = comprimento total, CR = comprimento relativo; RB = relação de braços; M = metacêntrico; SM = submetacêntrico; ST = subtlocêntrico; A = acrocêntrico

n° do par cromossômico	Valores Médios					Tipos Cromossômicos
	BM	Bm	CT	CR(%)	RB	
1	5,97	3,42	9,39	5,06	1,74	SM
2	5,05	3,95	9,00	4,85	1,28	M
3	5,67	3,15	8,82	4,76	1,80	SM
4	5,82	2,67	8,49	4,58	2,18	SM
5	4,70	3,75	8,45	4,55	1,25	M
6	4,87	3,50	8,37	4,51	1,39	M
7	5,67	2,60	8,27	4,46	2,18	SM
8	4,67	3,48	8,15	4,39	1,34	M
9	4,55	3,52	8,07	4,35	1,29	M
10	5,17	2,45	7,62	4,11	2,11	SM
11	4,71	2,67	7,38	3,98	1,76	SM
12	4,45	2,85	7,30	3,93	1,56	M
13	3,85	3,00	6,85	3,69	1,28	M
14	3,72	3,05	6,77	3,65	1,22	M
15	4,02	2,15	6,17	3,33	1,87	SM
16	7,92	1,67	9,59	5,17	4,74	ST
17	8,17	-	8,17	4,40	-	A
18	6,92	1,85	8,77	4,73	3,74	ST
19	7,65	-	7,65	4,12	-	A
20	6,87	-	6,87	3,70	-	A
21	7,32	-	7,32	3,95	-	A
22	6,75	-	6,75	3,64	-	A
23	4,55	1,4	5,95	3,21	3,25	ST
24	5,27	-	5,27	2,84	-	A

## **4- DISCUSSÃO**

### **4.1- Evolução Cromossômica na Ordem Scorpaeniformes**

Das vinte e cinco famílias da ordem Scorpaeniformes, apenas quatro tiveram espécies estudadas citogeneticamente. No presente trabalho foram estudadas espécies pertencentes a três famílias: Scorpaenidae, Triglidae e Dactylopteridae, sendo que, esta última foi estudada pela primeira vez sob o ponto de vista citogenético (Quadro 1).

#### **4.1.1- Diversidade Cromossômica em Scorpaenidae**

##### **4.1.1.1- Análise da Macroestrutura Cariotípica**

A família Scorpaenidae apresenta um significativo número de espécies estudadas até o momento, embora concentradas nas subfamílias Sebastinae e Scorpaeninae. As demais subfamílias (Pteroinae, Choridactylinae e Apistinae) tiveram, cada uma delas, apenas uma espécie estudada citogeneticamente.

As 20 espécies estudadas, mostram uma grande variabilidade cariotípica inter e intragenérica, tanto no número diplóide, que varia de 34 a 50, quanto na morfologia dos cromossomos, com o NF variando de 34 a 86 (Quadro 1), além de

apresentarem variações nos valores de ADN e na distribuição de heterocromatina constitutiva, como pode ser observado no Quadro 2.

As espécies *Scorpaena brasiliensis* e *Scorpaena isthmensis*, estudadas no presente trabalho, apresentaram respectivamente,  $2n=46$  (NF=60) e  $2n=40$  (NF=54). Estes resultados reforçam a grande variabilidade cariotípica observada na família, principalmente no que concerne à subfamília Scorpaeninae (Quadro 1). Neste caso, os dados cariológicos das espécies são distintos quanto a sua morfologia.

Analisando separadamente as subfamílias Scorpaeninae e Sebastinae, observa-se que das 9 espécies estudadas da primeira, 3 apresentam  $2n=48$ , e valores de NF muito distintos e elevados, mostrando que esta subfamília sofreu muitos rearranjos cromossômicos ao longo de sua evolução, ainda que mantendo, em algumas espécies, o número diplóide de 48 cromossomos (Quadro 1). No caso da subfamília Sebastinae, a evolução cromossômica parece ter sido mais conservativa, com 90% das espécies apresentando um cariótipo constituído por 48 cromossomos. Destas, 80% apresentam um NF=50, o que representa quase a totalidade dos cromossomos do tipo acrocêntrico (Quadro 1).

Num trabalho clássico em citogenética de peixes, OHNO (1974) propôs um cariótipo ancestral, para todos os Teleostei, constituído por 48 cromossomos acrocêntricos (NF=48). Recentemente, BRUM (1994) sugeriu que este cariótipo, na verdade, seria uma novidade evolutiva que teria surgido nos Clupecocephala,

sendo compartilhada pelos Euteleostei. Dentre os grupos de Euteleostei que teriam mantido esta estrutura básica do cariótipo, parecem estar os Scorpaeniformes (NOGUSA, 1960; ARAI & FUJIKI, 1978; YOKOYAMA *et al.*, 1992; presente estudo, entre outros), bem como os Perciformes (DENTON, 1973; OHNO 1974; SOLA *et al.*, 1981; CANO *et al.*, 1982; OLIVEIRA *et al.*, 1988; BRUM, 1994; entre outros).

Alguns autores acreditam que os Scorpaeniformes e Perciformes, juntamente com os Pleuronectiformes, Tetraodontiformes e os Smegmamorpha, formem o grupo monofilético denominado Percomorpha (JOHNSON & PATTERSON, 1993; entre outros). Alguns estudos com larvas da ordem Scorpaeniformes indicam que peixes com a forma parecida com a de um Scorpaenidae seriam os ancestrais da ordem e que estes seriam derivados de um perciforme generalizado (WASHINGTON *et al.*, 1984a). Segundo REGAN (1913), a família Scorpaenidae, a mais generalizada da ordem, não estaria muito distante dos Perciformes generalizados, tais como Serranidae. Além disso, estudos do sistema nervoso craniano indicam semelhanças entre Scorpaenidae e Serranidae (Perciformes), sugerindo que as duas famílias teriam tido um ancestral comum (FREIHOFER, 1963).

Segundo AGUILAR (1993) entre outros autores, o cariótipo primitivo dos Serranidae é constituído por 48 cromossomos acrocêntricos (NF=48), com algumas espécies apresentando  $2n=48$  e NF=50. Assim, até o momento, parece uma hipótese consistente a de que o cariótipo  $2n=48$  e NF=50, encontrado em Scorpaenidae e no

grupo externo Serranidae, seja ancestral para todos os Scorpaeniformes. Este cariótipo teria se mantido quase inalterado em Sebastinae e mais modificado em Scorpaeninae corroborando, de certa maneira, a idéia de que os primeiros representariam um grupo mais generalizado dentro da família, enquanto Scorpaeninae seria mais especializado ou derivado (MATSUBARA, *apud* WASHINGTON *et al.*, 1984b). Entretanto, outros marcadores cromossômicos, que não somente o número diplóide ( $2n$ ) e o de braços cromossômicos (NF), devem ser ainda investigados, antes de se excluir totalmente a possibilidade deste cariótipo ser uma convergência entre Serranidae e Scorpaenidae.

A diversidade cromossômica observada em Scorpaeninae poderia ser facilitada por alguns fatores ecológicos, como o depósito dos ovos em balões gelatinosos (WASHINGTON *et al.*, 1984a), além de uma vida sedentária ou com movimentação limitada (HARTMAN, 1987), verificados em alguns escorpenídeos. Estes fatores podem favorecer o isolamento de diferentes espécies num ambiente praticamente sem barreiras, permitindo sua diferenciação cromossômica. Por outro lado, a subfamília Scorpaeninae pode não representar um grupamento natural de espécies (WASHINGTON *et al.*, 1984b) e isto poderia implicar numa falsa diversidade de números cromossômicos e morfologia do cariótipo neste grupo.

Já a subfamília Sebastinae se apresenta mais estável cariotipicamente, mesmo com a maioria de seus representantes sendo vivíparos. Este fato poderia ser explicado por uma maior capacidade de deslocamento à grandes distâncias destas

espécies, conforme sugerido por HARTMAN (1987), o que poderia estar favorecendo uma maior homogeneização cariotípica nesta subfamília.

Independentemente disto, levando-se em conta o provável cariótipo primitivo dos Scorpaeniformes ( $2n=48$ ,  $NF=50$ ), as espécies do gênero *Scorpaena*, estudadas no presente trabalho, devem ter sofrido vários rearranjos cromossômicos, reduzindo o número e modificando a estrutura dos cromossomos. Em *S. brasiliensis* devem ter ocorrido pelo menos uma fusão cêntrica e seis inversões pericêntricas. Já em *S. isthmensis*, provavelmente ocorreram cerca de 3 fusões cêntricas e pelo menos 3-4 inversões pericêntricas.

O desenvolvimento de técnicas mais precisas de bandeamentos cromossômicos poderá não só confirmar a ocorrência de tais rearranjos, como também indicar quais os cromossomos envolvidos nestas modificações, nas diferentes espécies.

As demais espécies da família Scorpaenidae com cariótipos estudados são *Pterois lunulata* (Pteroinae) com  $2n=48$  e  $NF=78$ , *Inimicus japonicus* (Choridactylinae) com  $2n=48$  e  $NF=64$  e *Hypodytes rubripinnis* (Apistinae) com  $2n=48$  e  $NF=52$ . A discrepância de resultados citada para *I. japonicus* com  $2n=48-50$  (Quadro 1), pode ser devido a erros metodológico ou mesmo a uma variação interpopulacional.

Desta forma, se o cariótipo  $2n=48$  é ancestral para estes peixes, a ocorrência de várias inversões pericêntricas explicaria a diversidade de fórmulas cromossômicas ( $NF=52-78$ ) observada entre estas subfamílias.

Estas três subfamílias são também consideradas mais especializadas em relação a Sebastinae (WASHINGTON *et al.*, 1984b), o que mais uma vez corrobora a hipótese de derivação dos valores de NF encontrados entre elas.

A recente citação de ocorrência de cromossomos sexuais na espécie *H. rubripinnis* (UENO & KANG, 1992), é mais uma evidência de derivação cariotípica em representantes destas subfamílias mais especializadas. Entretanto, devido ao pequeno número de espécies examinadas, não é possível ainda fazer inferências mais conclusivas nesta direção.

Quadro 1- Dados Cariotípicos da Ordem Scorpaeniformes

Espécie	2n	2 braços	1 braço	NF	Referências
<b>Dactylopteridae</b>					
<i>Dactylopterus volitans</i>	48	30	18	78	26
<b>Scorpaenidae</b>					
<b>Sebastinae</b>					
<i>Helicolenus dactylopterus</i>	48	2	46	50**	14
“ “	48/47	-	-	-	20
<i>H. hilgendorfi</i>	48	4	44	52	23
<i>Sebastes hubbsi</i>	46	4	42	50	11
“ “	46	4	42	50	17
<i>S. inermis</i>	48	2	46	50	11
“ “	48	2	46	50	23
<i>S. joyneri</i>	48	2	46	50	17
<i>S. longispinis</i>	48	2	46	50	11
<i>S. matsubarse</i>	48	2	46	50	23
<i>S. oblongus</i>	48	2	46	50	17
<i>S. pachycephalus nudus</i>	48	2	46	50	17
<i>S. schlegeli</i>	48	2	46	50	11
“ “	48	2	46	50	24
“ “	48	2	46	50	17
<i>S. taczanowskii</i>	48	2	46	50	12
<i>S. thompsoni</i>	48	2	46	50	17
<i>S. trivittatus</i>	48	2	46	50	17
<i>S. vulpes</i>	48	2	46	50	17
<i>Sebasticus marmoratus</i>	48	2	46	50	11
“ “	48	2	46	50	23
<i>S. albofasciatus</i>	48	4	44	52	23
<b>Scorpaeninae</b>					
<i>Scorpaena brasiliensis</i>	46	14	32	60	26
<i>S. isthmensis</i>	40	14	26	54	26
<i>S. izensis</i>	48	8	40	56	23
<i>S. neglecta neglecta</i>	48	38	10	86	11
“ “ “	48	8	40	56	23
<i>S. neglecta miostroma</i>	48	24	34	82	23
<i>S. notata</i>	34	-	34	34**	14

Quadro 1- Dados Cariotípicos da Ordem Scorpaeniformes (Continuação)

Espécie	2n	2 braços	1 braço	NF	Referências
<b>Scorpaenidae</b>					
<b>Scorpaeninae</b>					
<i>S. porcus</i>	42	6	36	48**	9
" "	42	6	36	48**	14
<i>S. scrofa</i>	46	-	46	46**	14
<i>Scorpaenodes littoralis</i>	36	32	4	68	8
<b>Pteroinae</b>					
<i>Pterois lunulata</i>	48	30	18	78	11
<b>Choridactylinae</b>					
<i>Inimicus japonicus</i>	50	-	-	-	3
" "	48	16	32	64	11
<b>Apistinae</b>					
<i>Hypodytes rubripinnis</i>	48	4	44	52	8
" "	48/47	2/3	46/44	50/50	25
<b>Triglidae</b>					
<b>Triglinae</b>					
<i>Triglya lucerna</i>	48/47	-	-	-	20
<i>Prionotus punctatus</i>	100-102	-	100-102	100-102	26
<b>Hexagrammidae</b>					
<i>Agrammus agrammus</i>	48	34	14	96(82)**	16
<i>Hexagrammus lagocephalus</i>	48	8	40	84(56)**	16
<i>H. octagrammus</i>	48	-	-	-	2
<i>H. otakii</i>	48	-	-	-	3
" "	48	18	30	88(66)**	18
" "	48	22	26	70	24
<i>H. stelleri</i>	48	16	32	76(64)**	16
<i>Pleurogrammus azonus</i>	48	26	22	86(74)**	16

Quadro 1- Dados Cariotípicos da Ordem Scorpaeniformes (Continuação)

Espécie	2n	2 braços	1 braço	NF	Referências
<b>Cottidae</b>					
<i>Alcichthys alcicornis</i>	48	-	-	-	22
<i>Artedius fenestralis</i>	48	20	28	68	19
<i>A. lateralis</i>	48	20	28	68	19
<i>Clinocottus analis</i>	48*	-	-	-	5
<i>Cottus bairdii</i>	36-38	-	-	-	1
<i>C. gobio</i>	48	-	-	-	4
" "	52	6	46	58	6
" "	52	20	32	72**	15
" "	48	10	38	58	21
<i>C. poecilopus</i>	48	8	40	56	6
<i>C. hangiongensis</i>	48	6	42	54	7
<i>C. nozawae</i>	48	10	38	58	7
<i>C. pollux</i>	48	-	-	-	3
" "	48	10	38	58	10
" "	48	10	38	58	19
<i>C. reinii</i>	48	12	36	60	10
<i>C. kazika</i>	40	18	22	58	10
<i>Gymnocanthus intermedius</i>	44	-	-	-	22
<i>Icelus cataphractus</i>	40	-	-	-	22
<i>Ocynectes maschalis</i>	46	10	36	56	13
<i>Oligocottus snyderi</i>	48*	-	-	-	5
<i>O. maculosus</i>	48	28	20	76	19
<i>Pseudobleennius cottoides</i>	46	12	34	58	13
<i>P. marmoratus</i>	46	10-12	34-36	56-58	13
<i>Trachidermus fasciatus</i>	40	24	16	64	10

\*Calculado pelo número haplóide; \*\*Calculado no presente trabalho;

1- HANN, 1927; 2- MAKINO, 1937; 3- NOGUSA, 1960; 4- POST (*apud* ARAI & FUJIKI, 1978); 5- CHEN (*apud* ARAI & FUJIKI, 1978); 6- STARMACH, 1967; 7- ABE, 1972; 8- ARAI & KATSUYAMA, 1973; 9- CATAUDELLA *et al.*, 1973; 10- ABE, 1976; 11- NISHIKAWA *et al.* (*apud* ARAI & FUJIKI, 1978); 12- SASAKI & SAKAMOTO, 1977; 13- ARAI & FUJIKI, 1978; 14- SOLA *et al.*, 1978; 15- CUCCHI & BARUFFALDI, 1980; 16- MATSUMIYA *et al.*, 1980; 17- IDA *et al.*, 1982; 18- NISHIKAWA & SAKAMOTO, 1982; 19- IDA *et al.*, 1989; 20- VITTURI *et al.*, 1989; 21- VITTURI & RASOTTO, 1990; 22- TERASHIMA & IDA, 1991; 23- YOKOYAMA *et al.*, 1992; 24- YU *et al.*, 1992; 25- UENO *et al.*, 1992; 26- Presente estudo.

#### 4.1.1.2- Análise da Microestrutura do Cariótipo

A família Scorpaenidae teve espécies estudadas tanto ao nível da macroestrutura quanto da microestrutura cariotípica, com análises das regiões organizadoras de nucléolos, da distribuição da heterocromatina constitutiva e de bandas de replicação.

Pequenas modificações ao longo do complemento cromossômico que podem não acarretar alterações no número ou na morfologia dos cromossomos, caracterizam mudanças na microestrutura do cariótipo. Algumas variações de localização e distribuição das regiões organizadoras de nucléolos, bem como da heterocromatina constitutiva, podem muitas vezes manter a estrutura maior do cariótipo invariável (GALETTI *et al.*, 1991; entre outros).

Estudos de THODE *et al.* (1985) e YOKOYAMA *et al.* (1992), através da impregnação pelo nitrato de prata, num total de 10 espécies da família Scorpaenidae, demonstraram que as regiões organizadoras de nucléolos podem estar presentes em 1 ou 2 pares de cromossomos, podendo estar localizadas em diferentes cromossomos do complemento, nas diferentes espécies. Todas as espécies estudadas da subfamília Scorpaeninae apresentam 1 par de RONS por complemento, localizadas na região telomérica do braço menor de um par de cromossomos. Já a maioria das espécies da subfamília Sebastinae apresentam 2 pares de cromossomos portadores das RONS e todas localizadas em cromossomos acrocêntricos (Quadro 2).

As espécies do gênero *Scorpaena*, aqui estudadas, revelaram que as RONS estão localizadas nos telômeros do braço menor de 1 par de cromossomos submetacêntricos, identificado como o par número 2 em *S. brasiliensis*, e como o par número 5 em *S. isthmensis*. Estes resultados estão de acordo com os descritos na literatura para as demais espécies da subfamília (Quadro 1). Em *S. brasiliensis* observou-se um heteromorfismo de tamanho entre as RONS (presente estudo), também descrito para *Scorpaena porcus* e *Scorpaena notata* (THODE *et al.*, 1985). Esta variação de tamanho das RONS evidenciada entre homólogos, é muito comum em peixes (FORESTI *et al.*, 1981) e em outros grupos animais (THODE *et al.*, 1985). Estas variações podem ser interpretadas como diferenças na atividade transcritiva entre os homólogos, já que as proteínas coradas pelo nitrato de prata tem sido relacionadas a atividade transcritiva nucleolar durante o ciclo celular (HERNÁNDEZ- VERDUN, *et al.*, 1982) ou por diferenças no número de cópias dos genes ribossômicos nessa região, devido à duplicações ou deleções. Entretanto, nas espécies aqui estudadas, estas variações devem estar relacionadas ao número de cistrons ribossômicos já que foi utilizada também a técnica de coloração com fluorocromo base-específico.

O estudo de padrões de bandeamento de cromossomos utilizando fluorocromos base-específicos tem sido muito utilizado atualmente, especialmente em peixes (MAYR *et al.*, 1985; 1986; entre outros). Muitos fluorocromos têm sido usados para corar e produzir padrões de fluorescência característicos. Estes fluorocromos podem ser de dois tipos de acordo com a sua afinidade com os pares

de bases AT ou GC do ADN, podendo, nos cromossomos humanos, produzir padrões básicos similares a bandas-Q e bandas-R (VERMA, 1989).

Em peixes, a coloração com mitramicina A, bem como com a cromomicina A<sub>3</sub>, ambos com fluorescência preferencial nos segmentos cromossômicos ricos em bases GC, cora as regiões organizadoras de nucléolos e/ou a heterocromatina a ela associada (MAYR *et al.*, 1985; PHILLIPS *et al.*, 1988; AMEMIYA & GOLD, 1990; GALETTI & RASCH, 1993; entre outros). Esta coloração é independente da atividade das RONS, já que ela cora diretamente o ADN e não as proteínas associadas (SCHMID & GUTTENBACH, 1988).

As espécies aqui estudadas através da coloração com mitramicina A, conforme esperado, apresentaram as mesmas marcações evidenciadas pela técnica da impregnação pelo nitrato de prata. Nenhuma outra banda fluorescente pela mitramicina pôde ser verificada no complemento cromossômico de ambas as espécies de *Scorpaena*, corroborando a idéia de que a condição de RONS simples é conservada neste grupo de peixes. Isto é, nenhum outro possível sítio RON foi identificado nestes peixes, mesmo inativos.

Assim, ao contrário das demais características cariológicas da família Scorpaenidae, dados das RONS mostram uma similaridade entre as diferentes espécies, principalmente quanto ao seu número por complemento e posição no cromossomo. Uma translocação da porção terminal, envolvendo dois pares de cromossomos, poderia explicar as diferenças de localização destes sítios nas espécies de *Scorpaena* aqui estudadas. Por outro lado, tendo em vista que a

morfologia cromossômica em *Scorpaena* tem sido vista como bastante diversa entre as espécies (Quadro 1), não se pode eliminar a hipótese de homeologia entre os cromossomos transportadores das RONS em *S. brasiliensis* e *S. isthmensis*. Neste caso, uma pequena deleção ou duplicação poderia modificar a estrutura de tal cromossomo, ou ainda, a possível ocorrência de fusões cêntricas de outros cromossomos acrocêntricos poderia deslocar o par portador das RONS para uma posição mais avançada no cariótipo.

Em relação aos padrões de distribuição de bandas C, nas espécies *S. brasiliensis* e *S. isthmensis*, estudadas no presente trabalho, foram observados blocos centroméricos pequenos de heterocromatina constitutiva na maioria dos cromossomos do cariótipo. Em *S. brasiliensis*, além desses pequenos blocos, foram encontrados também blocos mais conspícuos no par cromossômico número 2, coincidentes com as RONS. Segundo THODE *et al.* (1985), durante a evolução da família Scorpaenidae teria havido perda de heterocromatina constitutiva acompanhada de perda de ADN (Quadro 2). Entre as espécies *Scorpaena notata* e *Scorpaena porcus*, por exemplo, a primeira apresenta um cariótipo com menor número de cromossomos, conteúdo reduzido de ADN e escassez de heterocromatina comparada com a segunda. Segundo aqueles autores, *S. notata* seria mais especializada sob o ponto de vista ecológico e etológico. Estes achados estariam, de certa forma, concordantes com as idéias de HINEGARDNER & ROSEN (1972), que sugerem uma redução do genoma nos peixes, acompanhando sua especialização.

Interessantemente, em algumas espécies de *Scorpaena* a redução dos segmentos heterocromáticos parece ser bastante acentuada, chegando a verificar-se somente 1 par de cromossomos no complemento com alguma indicação de bandas C positivas (YOKOYAMA *et al.*, 1992).

Mesmo tendo sido detectada uma diferença significativa no número e morfologia dos cromossomos, não se verificam diferenças acentuadas no padrão heterocromatínico das espécies aqui estudadas, exceto que em *S. isthmensis* não se observam blocos heterocromáticos associados às RONS, como visto em *S. brasiliensis*.

Considerando-se todas estas características e a morfologia e o tamanho dos cromossomos, pode-se inferir que a evolução cromossômica na família Scorpaenidae parece apresentar uma redução do número cromossômico, possivelmente, através de rearranjos Robertsonianos, muitas vezes acompanhados por inversões pericêntricas.

Quadro 2 - Dados relativos as RONS, bandas C e conteúdo de ADN da família Scorpaenidae.

Espécie	Ag-RONs				Bandas C			ADN (pg)	Refs.		
	nº	par	braço cromos.	posição	técnica	par	posição cromos.				
<b>Sebastinae</b>											
<i>Helicolenus hilgendorfi</i>	4	-	menor	Λ	1	ΛgNO <sub>3</sub>	mais de 8	-	Λ	-	3
<i>Sebastes inermis</i>	4	-	menor	Λ	1	ΛgNO <sub>3</sub>	mais de 8	-	Λ	-	3
<i>S. matsubarse</i>	2	-	menor	Λ	1	ΛgNO <sub>3</sub>	mais de 8	-	Λ	-	3
<i>Sebasticus albofasciatus</i>	2	-	menor	Λ	1	ΛgNO <sub>3</sub>	mais de 8	-	Λ	-	3
<i>S. marmoratus</i>	4	-	menor	Λ	1	ΛgNO <sub>3</sub>	mais de 8	-	Λ	-	3
<b>Scorpaeninae</b>											
<i>Scorpaena brasiliensis</i>	2 (Ht)	2	menor	SM	1	ΛgNO <sub>3</sub> e MM	todos (+ conspicua par 2)	e	-	1,4*	1* e 4
<i>S. isthmensis</i>	2	5	menor	SM	1	ΛgNO <sub>3</sub> e MM	todos	e	-	-	4
<i>S. izensis</i>	2	-	menor	M	1	ΛgNO <sub>3</sub>	1	-	ST	-	3
<i>S. neglecta neglecta</i>	2	-	menor	M	1	ΛgNO <sub>3</sub>	1	-	ST	-	3
<i>S. neglecta miostroma</i>	2	-	menor	M	1	ΛgNO <sub>3</sub>	1	-	ST	-	3
<i>S. notata</i>	2 (Ht)	13	menor	Λ	1	ΛgNO <sub>3</sub>	11, 13 e 17	pc	-	0,56	2
<i>S. porcus</i>	2 (Ht)	18	menor	ST	1	ΛgNO <sub>3</sub>	todos (+ conspicua par 2)	pc	-	0,92	2

1- HINEGARDNER & ROSEN\*, 1972; 2- THODE *et al.*, 1985; 3- YOKOYAMA *et al.*, 1992; 4- Presente estudo.

M- metacêntrico; SM- submetacêntrico; ST-subtelocêntrico; A- acrocêntrico; c-centromérica; pc- paracentromérica; t- telomérica; pg- picogramas; Ht- heteromorfismo entre as RONS; AgNO<sub>3</sub> - nitrato de prata; MM- mitramicina.

#### 4.1.2- Relações Citotaxonômicas em Scorpaeniformes

Segundo PIESTCH (1978), os peixes da família Dactylopteridae estão relacionados à família Syngnathidae, da ordem Gasterosteiformes. Das espécies de Gasterosteiformes estudadas citogeneticamente, seis apresentam  $2n=42$  e duas  $2n=46$  (MAKINO, *apud* CHIARELLI & CAPANNA, 1973; SWARUP, 1959; CHEN & REISMAN, *apud* CHIARELLI & CAPANNA, 1973). Infelizmente, nenhuma destas espécies pertencem à família Syngnathidae e a hipótese de PIESTCH (*op. cit.*) não pode ser assim testada.

A espécie *Dactylopterus volitans*, estudada no presente trabalho, apresenta o cariótipo constituído por 48 cromossomos e um NF igual a 78. Este cariótipo constitui-se numa sinapomorfia entre Dactylopteridae e os demais Scorpaeniformes (Quadro 1).

Na família Hexagrammidae (Scorpaeniformes), por exemplo, das seis espécies estudadas citogeneticamente, todas apresentam  $2n=48$ , com os valores de NF distintos e elevados, variando entre 70 e 96 (cromossomos subtelocêntricos considerados como de dois braços) ou entre 56 e 82 (subtelocêntricos considerados com apenas um braço).

Os primeiros trabalhos realizados no gênero *Hexagrammus* reportaram  $2n=48$  e NF=48 para *H. octagrammus* e *H. otakii*. Segundo NOGUSA (1960), esta correspondência poderia ser devido as relações taxonômicas entre as duas espécies. Entretanto, devido ao fato destes estudos serem muito antigos e as metodologias

serem muito diferentes das utilizadas atualmente, estes resultados devem ser reavaliados antes de comparados com estudos mais recentes.

A espécie *H. otakii* foi estudada recentemente (NISHIKAWA & SAKAMOTO, 1982; YU *et al.*, 1992) e embora apresente os mesmos valores de números diplóides,  $2n=48$ , os valores de NF apresentam-se diferentes (66 e 70). Desta forma, a menos que se trate de polimorfismos, este fato reforça a idéia da necessidade de reavaliações de antigos resultados.

De qualquer maneira, um número bem reduzido de espécies da família Hexagrammidae apresenta resultados cariológicos até o momento, impedindo qualquer interpretação filogenética baseada exclusivamente em cariótipos; entretanto, pode-se concluir que as inversões pericêntricas são importantes fontes de diversificação cromossômica nestes peixes. Segundo FREIHOFER (1963) e QUAST (1965), a família Hexagrammidae, juntamente com Cottidae e Cyclopteridae, formam uma linhagem evolutiva entre os Scorpaeniformes. Já MATSUBARA (*apud* WASHINGTON *et al.*, 1984b) acredita que haja uma relação mais estreita entre Hexagrammidae, Anoplopomatidae e Scorpaenidae generalizados de um lado e entre Cottidae e Agonidae, do outro. Estudos com larvas da subordem Cottoidei indicam que a família Cottidae é derivada de escorpenídeos e hexagramídeos (WASHINGTON *et al.*, 1984a) e segundo QUAST (1965) é considerada a mais especializada entre os Scorpaeniformes.

Na família Cottidae os complementos cromossômicos de 20 espécies estudadas até o momento variam de 36 a 52, e os números fundamentais variam de

54 a 76. Também nesta família o cariótipo com 48 cromossomos pode ser basal e, até o momento, já foi verificado em 12 das espécies estudadas (Quadro 1). O gênero *Cottus*, o mais estudado desta família, apresenta números cromossômicos variando de 36 a 52, com 6 espécies apresentando  $2n=48$ . As variações observadas em *Cottus gobio* podem ser reflexos de diferenças populacionais dentro da espécie ou simplesmente um erro devido à técnica utilizada (IDA *et al.*, 1989). VITTURI & RASOTTO (1990), analisando duas populações separadas de *C. gobio*, não encontraram nenhuma variação entre elas e questionam a validade dos resultados de STARMACH (1967), apresentados no Quadro 1.

Sendo assim, em linhas gerais, pode-se inferir que a evolução cromossômica da ordem Scorpaeniformes tem se dado através de inúmeros rearranjos cromossômicos. Estes rearranjos são, principalmente, inversões pericêntricas, onde se mantém o número diplóide mas varia-se o número fundamental, mas também translocações Robertsonianas como fusões e fissões cêntricas, onde varia-se o número diplóide.

Os resultados em *Prionotus punctatus*, obtidos no presente estudo, talvez se constituam num dos melhores exemplos extremos do papel das fissões cêntricas na evolução cromossômica dos Scorpaeniformes.

Na família Triglididae, a qual pertence *P. punctatus*, somente uma espécie teve o cariótipo estudado anteriormente. VITTURI *et al.* (1989) encontraram um número diplóide de 48 e 47 cromossomos para *Triglya lucerna*. Este cariótipo apresenta um polimorfismo devido a uma fusão Robertsoniana. A espécie *Prionotus*

*punctatus*, estudada no presente trabalho, apresenta um cariótipo bem diferente do encontrado para a espécie anterior. O número diplóide de *P. punctatus* é de 100-101 cromossomos, todos acrocêntricos (NF=100-101), com vários pares de tamanho bem diminuto (menor par com 0,8  $\mu\text{m}$ ).

Os cariótipos que contêm microcromossomos, geralmente apresentam-se como bimodais onde existe uma diferença de tamanho bem marcante entre os macro e os microcromossomos, como ocorre em aves, por exemplo (LUCCA *et al.*, 1991). Embora os menores pares de cromossomos de *P. punctatus* possam ser considerados como microcromossomos, não há, neste caso, a caracterização de um cariótipo bimodal, pois o tamanho dos cromossomos diminui gradualmente do primeiro ao último par.

Um cariótipo com um número elevado de cromossomos e de tamanho tão pequeno, não só difere do encontrado em *T. lucerna* como também dos demais cariótipos da ordem, caracterizando-se, até o momento, como único dentro do grupo.

Há duas formas de um cariótipo deste tipo se originar. A partir de um cariótipo com cerca de 48 cromossomos, como ocorre em 70% das espécies da ordem Scorpaeniformes, poderia ter ocorrido (1) um processo de poliploidização, com a duplicação de todo o complemento cromossômico ou (2) a ocorrência de inúmeras quebras, do tipo fissões cêntricas, também levando a um aumento no número cromossômico. Esta última hipótese parece ser a mais provável, já que, aparentemente, não houve um aumento do genoma, o que seria esperado no caso de poliploidia. Além disso, várias espécies do grupo apresentam NF com valores muito

altos, podendo chegar a 86 (Quadro 1), o que poderia explicar o cariótipo de *P. punctatus* se originando através de várias fissões cêntricas.

Assim, parece evidente que uma frequência elevada de rearranjos levou a uma grande diversidade cromossômica em Scorpaeniformes, fato este que discorda do encontrado para a maioria dos peixes marinhos, onde há uma estabilidade cariotípica grande, com a maioria das espécies mantendo o cariótipo básico sugerido para cada grupo (BRUM *et al.*, 1994; entre outros).

Entretanto, não se pode deixar de levar em consideração que alguns autores acreditam que a ordem Scorpaeniformes tenha uma origem polifilética e que compartilham semelhanças com os Gadiformes e Batrachoidiformes, além dos Perciformes (GREENWOOD *et al.*, 1966). Dados citogenéticos com peixes da ordem Batrachoidiformes são ainda inexistentes. Trabalhos recentes com Gadiformes (FAN & FOX, 1991; KLINKHARDT, 1994) indicam que há semelhanças entre os cariótipos encontrados para este grupo e os Scorpaeniformes, sendo comum inclusive, rearranjos do tipo Robertsoniano. Foi encontrada, também neste grupo, uma espécie com  $2n=48$  e  $NF=78$ , com a presença de microcromossomos (KLINKHARDT, 1994).

Toda a diversidade cromossômica dos Scorpaeniformes os colocam como um grupo de peixes onde a caracterização cromossômica, mesmo que ao nível da macroestrutura cariotípica, pode ser um importante diagnóstico taxonômico.

Assim, resumidamente, pode-se estabelecer as seguintes diagnoses citotaxonômicas para as espécies aqui estudadas:

***Scorpaena brasiliensis*** - número diplóide ( $2n$ ) de 46 cromossomos, sendo 7 pares de cromossomos metacêntricos-submetacêntricos e 16 pares de cromossomos subtelocêntricos-acrocêntricos, caracterizando um número fundamental (NF) igual a 60, tanto para machos quanto para fêmeas. Regiões organizadoras de nucléolos (RONs) localizadas nos telômeros do braço curto de 1 par de cromossomos submetacêntricos que correspondem ao par número 2 do cariótipo. Padrão de distribuição da heterocromatina constitutiva (bandas C) com a presença de pequenos blocos centroméricos em praticamente todos os pares do complemento cromossômico, além de blocos heterocromáticos mais conspícuos localizados no braço curto de um par de cromossomos submetacêntricos, coincidentes com as RONs (bandas C-positivas).

***Scorpaena isthmensis*** - número diplóide ( $2n$ ) de 40 cromossomos, com 7 pares de cromossomos metacêntricos-submetacêntricos e 13 pares de cromossomos subtelocêntricos-acrocêntricos, caracterizando um número fundamental (NF) igual a 54, para ambos os sexos. Regiões organizadoras de nucléolos (RONs) localizadas nos telômeros do braço curto de 1 par de cromossomos submetacêntricos, identificado como o par número 5 do complemento cromossômico. Padrão de distribuição da heterocromatina constitutiva (bandas C) com a presença de pequenos blocos heterocromáticos centroméricos em praticamente todos os cromossomos do complemento. Não há heterocromatina constitutiva associada às RONs.

*Prionotus punctatus* - número diplóide ( $2n$ ) provável de 100 cromossomos, todos acrocêntricos, com a presença de microcromossomos, para ambos os sexos. Padrão de distribuição da heterocromatina constitutiva (bandas C) com a presença de blocos heterocromáticos principalmente centroméricos, na maioria dos cromossomos do complemento, além de blocos heterocromáticos teloméricos bem conspícuos nos maiores pares de cromossomos. Pequenos cromossomos (microcromossomos) sem a presença de heterocromatina constitutiva abundante, exceto na região centromérica de alguns destes.

*Dactylopterus volitans* - provável número diplóide ( $2n$ ) de 48 cromossomos, sendo 15 pares de cromossomos metacêntricos-submetacêntricos, 9 pares de cromossomos subtelocêntricos-acrocêntricos, caracterizando um número fundamental (NF) igual a 78.

## 5- CONCLUSÕES

1. As análises cariotípicas da ordem Scorpaeniformes evidenciam, até o momento, uma significativa diversidade cromossômica ínter e intragenérica, principalmente em relação à morfologia dos cromossomos, devido a rearranjos cromossômicos provavelmente do tipo inversões pericêntricas.
2. Dentro da ordem, o grupo que apresenta uma diversidade mais acentuada quanto a morfologia dos cromossomos é a família Scorpaenidae, sendo que a subfamília Scorpaeninae apresenta uma grande diversidade também em relação aos números cromossômicos, demonstrando que os dados cariológicos são muito importantes para a taxonomia do grupo.
3. Um cariótipo de  $2n=48$  e  $NF=50$  pode ser considerado como ancestral para os Scorpaeniformes, uma vez que este cariótipo é encontrado em espécies de Serranidae e na maioria das espécies da subfamília Sebastinae.
4. A evolução cromossômica na família Scorpaenidae apresenta uma redução do número de cromossomos através de rearranjos Robertsonianos, acompanhados de inversões pericêntricas.
5. Neste caso, a subfamília Sebastinae seria cariotipicamente mais primitiva em relação às demais subfamílias e, opostamente, à subfamília Scorpaeninae, a mais derivada, de acordo com estudos osteológicos e larvais realizados anteriormente.

6. Ao contrário das demais características cariológicas da família Scorpaenidae, as análises das regiões organizadoras de nucléolos mostram uma similaridade entre as diferentes espécies, principalmente quanto ao seu número por complemento e à sua posição nos cromossomos. Em relação ao padrão de bandas C , não se verificam diferenças acentuadas das espécies aqui estudadas, ainda que haja diferenças significativas no número e morfologia dos cromossomos.
7. Os dados cariotípicos com espécies da família Triglidae sugerem que o cariótipo de *P. punctatus*, semelhante a 100 cromossomos acrocêntricos, pode ter se originado de um processo envolvendo várias fissões cêntricas à partir de um cariótipo com valor de NF alto.
8. A espécie *Dactylopterus volitans* da família Dactylopteridae apresenta um cariótipo semelhante ao encontrado nos demais representantes da ordem Scorpaeniformes, embora a sua posição filogenética seja incerta.
9. Apesar de ser um grupo essencialmente marinho, os Scorpaeniformes apresentam uma grande diversidade cariotípica, diferentemente dos outros grupos marinhos já estudados cromossômicamente, que, contrariamente, mostraram uma alta estabilidade cariotípica.

## 6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- ABE, S., 1972. Notes on the chromosomes of two fresh-water cottid fishes. CIS, 13: 25-27.
- ABE, S., 1976. A cytotaxonomical study in some freshwater cottoid fishes (Cottidae, Pisces). Cytologia, 41: 323-329.
- AGUILAR, C. T., 1993. Estudos citogenéticos em peixes da família Serranidae (Osteichthyes- Perciformes) ocorrentes na Baía de Guanabara-RJ. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro - RJ, 95 p.
- ALMEIDA-TOLEDO, L. F.; F. FORESTI & C. OLIVEIRA, 1993. A Citogenética de peixes no Brasil. 347-376. **In:** X Encontro Brasileiro de Ictiologia, São Paulo - SP.
- AMEMIYA, C. T. & J. R. GOLD, 1990. Chromosomal NOR phenotypes of seven species of North American Cyprinidae, with comments on cytosystematic relationships of the *Notropis volucellus* species-group, *Opsopoeodus emiliae*, and the genus *Pteronotropis*. Copeia, 1990 (1): 68-78.
- ARAI, R. & A. FUJIKI, 1978. Chromosomes of three species of cottid fishes from Japan. Bull. natn. Sci. Mus. Ser. A (Zool.) 4 (3): 233-239.
- ARAI, R. & I. KATSUYAMA, 1973. Notes on the chromosomes of three species of shore-fishes. Bull. natn. Sci. Mus. Tokyo 16 (3): 405-409.

- BENAZZI, M., 1973. Cytotaxonomy and evolution: General remarks. 3-14. In: A. B. Chiarelli & E. Capanna, Cytotaxonomy and Vertebrate Evolution. Academic Press, New York, 782 p.
- BERTOLLO, L. A. C., 1978. Estudos citogenéticos no gênero *Hoplias* Gill, 1903 (Pisces, Ervthrinidae). Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto - SP, 164 p.
- BERTOLLO, L. A. C., 1986. Estimulação de mitoses em peixes. 30. In: I Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais. São Carlos - SP.
- BERTOLLO, L. A. C.; O. MOREIRA-FILHO & P. M. GALETTI JR., 1986. Cytogenetics and taxonomy: considerations based on chromosome studies of freshwater fish. J. Fish Biol. 28:153-159.
- BÖHLKE, J. E. & C. C. G. CHAPLIN, 1993. Fishes of the Bahamas and adjacent tropical waters. Austin: University of Texas Press (USA). Second Edition, 771p.
- BREDER Jr., C. M., 1963. Defense behavior and venom in *Scorpaena* and *Dactylopterus*. Copeia, 1963 (4): 698-700.
- BRUM, M. J. I., 1994. Evolução cariotípica dos Teleósteos marinhos e suas correlações com a filogenia deste grupo (com especial ênfase aos Clupeiformes, Perciformes e Tetraodontiformes). Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos - SP, 184 p.

- BRUM, M. J. I. ; P. M. GALETTI JR.; M. M. O. CORRÊA & C. T. AGUILAR, 1992. Multiple sex chromosomes in South Atlantic fish, *Brevoortia aurea*, Clupeidae. Revta bras. Gen. 15 (3): 547-533.
- CANO, J. ; G. THODE & M.C. ALVAREZ, 1982. Karyoevolutive considerations in 29 Mediterranean Teleost fishes. Vie Milieu 32 (1): 21-24.
- CATAUDELLA, S.; M. V. CIVITELLI & E. CAPANNA, 1973. The chromosomes of some Mediterranean Teleosts: Scorpaenidae, Serranidae, Labridae, Blenniidae, Gobiidae (Pisces- Scorpaeniformes, Perciformes). Boll. Zool. 40: 385-389.
- CERVIGÓN, M. F., 1966. Los peces marinos de Venezuela. Estación de Investigaciones Marinas de Margarita- Fundación La Salle de Ciencias Naturales: Caracas. 2 tomos, 951p.
- CERVIGÓN, M. F.; R. CIPRIANI; W. FISHER; L. GARIBALDI; M. HENDRICKX; A. J. LEMUS; R. MÁRQUEZ; J. M. POUTIERS; G. ROBAINA & B. RODRIGUEZ, 1992. Guia de campo de las especies comerciales marinas v de aguas salobres de la costa septentrional de Sur America. Fichas FAO de identificación de especies para los fines de la pesca. Organización de Las Naciones Unidas para La Agricultura y La Alimentación, Roma, 513p.
- CHIARELLI, A. B. & E. CAPANNA, 1973. Checklist of fish chromosomes. 205-232. In: A. B. Chiarelli & E. Capanna, Cytotaxonomy and Vertebrate Evolution. Academic Press, New York, 782 p.

- CHRISMAN, C. L.; K. H. BLACKLIDGE & P. K. RIGGS, 1990. Chromosomes of fish. In: Advances in Veterinarian science and comparative medicine. Vol. 34. Academic Press, inc.
- CUCCHI, C. & A. BARUFFALDI, 1980. Il cariotipo di *Cottus gobio* (Teleosteo, Cottidae). Atti Acad. Sci. Ist. Bologna, Serie XIII, Tomo 7: 1-4.
- DENTON, T. E., 1973. Fish chromosome methodology. Charles C. Thomas Publ., Illinois, 166 p.
- ELDREDGE, N. & J. CRACRAFT, 1980. Phylogenetic Patterns and the Evolutionary Process. Columbia University Press, New York, 349 p.
- ESCHMEYER, W. N., 1969. A systematic review of the scorpionfishes of the Atlantic Ocean (Pisces: Scorpaenidae). Occ. Pap. Calif. Acad. Sci. 79: 1-143.
- ESCHMEYER, W. N., 1990. Catalog of the genera of recent fishes. Scientific Publications, California Academy of Sciences, San Francisco, i-v, 697 p.
- FAN, Z. & D. P. FOX, 1991. Robertsonian polymorphism in plaice, *Pleuronectes platessa* L., and cod, *Gadus morhua* L., (Pisces, Pleuronectiformes and Gadiformes). J. Fish. Biol. 38 (5): 635-640.
- FENOCCHIO, A. S.; P. C. VÊNERE; A. C. G. CESAR; A. L. DIAS & L. A. C. BERTOLLO, 1991. Short term culture from solid tissues of fishes. Caryologia, 44 (2): 161-166.
- FIGUEIREDO, J. L. & N. A. MENEZES, 1980. Manual de Peixes Marinhos do Sudeste do Brasil. III. Teleostei (2). São Paulo, Museu de Zoologia da USP, 90 p.

- FORESTI, F., L. F. ALMEIDA-TOLEDO & S. A. TOLEDO-FILHO, 1981. Polymorphic nature of nucleolus organizer regions in fishes. Cytogenet. Cell Genet. 31: 137-144.
- FORESTI, F.; C. OLIVEIRA & L. F. ALMEIDA-TOLEDO, 1992. Método para preparações cromossômicas em peixes usando tratamento “*in vitro*” de curta duração com colchicina. 1. In: IV Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais, Rio de Janeiro -RJ.
- FREIHOFER, W. C., 1963. Patterns of the ramus lateralis accessorius and their systematic significance in teleostean fishes. Stanford ichthyol. Bull. 8 (2): 80-189.
- GALETTI Jr., P. M., 1994. Tendências da evolução cromossômica dos nossos peixes. Uma síntese. 31. In: V Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais, Botucatu - SP.
- GALETTI Jr., P. M.; C. A. MESTRINER; P.C. VÊNERE & F. FORESTI, 1991. Heterochromatin and karyotype reorganization in fish of the family Anostomidae (Characiformes). Cytogenet. Cell. Genet. 56: 116- 121.
- GALETTI Jr., P. M. & E. M. RASCH, 1993. NOR variability in diploid and triploid forms of the Amazon Molly *Poecilia formosa* as shown by silver nitrate and chromomycin A<sub>3</sub> staining. Revta. brasil. Gen. 16 (4): 927- 938.

- GALETTI Jr., P. M. & E. M. RASCH, 1993. Chromosome studies in *Poecilia latipunctata* with NOR polymorphism as shown by silver nitrate and chromomycin A<sub>3</sub> (Teleostei: Poecilidae). Ichthyol. Explor. Freshwaters. 4: 269-277.
- GILES, V., G. THODE & M. C. ALVAREZ, 1988. Early replication bands in two scorpion fishes, *Scorpaena porcus* and *S. notata* (order Scorpaeniformes). Cytogenet. Cell Genet. 47: 80-83.
- GINSBURG, I., 1950. Review of the Western Atlantic Triglidae (Fishes). Tex. J. Sci. 4: 489-527.
- GOLD, J. R., 1979. Cytogenetics. In: Fish Physiology. 353-405. Vol. VII. Academic Press, inc.
- GOLD, J. R., J. D. JENKIN & P. K. POWERS, 1990. Cytogenetics studies in North American minnows (Cyprinidae). XVIII. Chromosomal NOR variation among eight species. Cytologia, 55: 483-492.
- GOSLING, E. M., 1994. Speciation and wide-scale genetic differentiation. 1-15 In: A. R. Beaumont, Genetics and Evolution of Aquatic Organisms. Published by Chapman & Hall. 2-6 Boundary Rou. London.
- GREENWOOD, P. H.; D. E. ROSEN; S. H. WEITZMAN & G. S. MYERS, 1966. Phyletic studies of Teleostean fishes, with a provisional classification of living forms. Bull. Am. Mus. nat. Hist. 131 (4): 341-455.
- HANN, H. W., 1927. The history of the germ cells of *Cottus bairdii* Girard. J. Morph. 43: 427-498.

- HART, J. L., 1973. Pacific fishes of Canada. Bull. Fish. Res. Board Can. 180: 1- 740 p.
- HARTMANN, A. R., 1987. Movement of scorpionfishes (Scorpaenidae: *Sebastes* and *Scorpaena*) in the southern California Bight. Calif. Fish. Game 73 (2): 68-79.
- HERNANDEZ- VERDUN, D., M. DERENZINI & M. BOUTEILLE, 1982. The morphological relationships in electron microscopy between NOR-silver proteins and intranucleolar chromatin. Chromosoma, 85: 461- 473.
- HILLIS, D. M., 1987. Molecular versus morphological approaches to systematics. A. Rev. Ecol. Syst. 18: 23-42.
- HINEGARDNER, R. & D. E. ROSEN, 1972. Cellular DNA content and the evolution of teleostean fishes. Am. Nat. 106 (951): 621-644.
- HOWELL, W. M. & BLACK, D. A., 1980. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. Experientia, 36: 1014 -1015.
- HUREAU, J. C., 1971. Notes sur la famille des Congiopodidae (Téléostéens, Perciformes): redécouverte de *Zanclorhynchus spinifer* Günther, 1880, aux îles Kerguelen et réhabilitation de *Congiopodus kieneri* (Sauvage, 1878). Bull. Mus. Natl. Hist. Nat. Ser. 2, 42 (5): 1019-1026.
- IDA, H.; T. IWASAWA & M. KAMITORI, 1982. Karyotypes in eight species of *Sebastes* from Japan. Jap. J. Ichthyol. 1982. 29 (2): 162- 168.

- IDA, H.; H. TERASHIMA & T. FUJIMI, 1989. Karyotypes in four species of the family Cottidae. Jap. J. Ichthyol. 36 (1):135-140.
- JOHNSON, G. D., 1993. Percomorph phylogeny: progress and problems. Bull. mar. Sci. 52 (1): 3-28.
- JOHNSON, G. D. & C. PATTERSON, 1993. Percomorph phylogeny: a survey of Acanthomorph and a new proposal. Bull. Mar. Sci. 52 (1): 554-626.
- KLINKHARDT, M. B., 1994. Karyotypic divergence between species of Gadidae (Pisces, Gadiformes). Cytobios. 77(3): 207-214.
- LAUDER, G. V. & K. F. LIEM, 1983. The Evolution and Interrelationships of the Actinopterygean Fishes. Bull. Mus. comp. Zool. 150 (3): 95-197.
- LEE, M. R. & F. F. B. ELDER, 1980. Yeast stimulation of bone marrow mitosis for cytogenetic investigations. Cytogenet. Cell Genet. 26: 36-40.
- LEVAN, A.; K. FREDGA & A. A. SANDBERG, 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, 52: 201-220.
- LUCCA, E. J.; L. R. SHIRLEY & C. LANIER, 1991. Karyotype studies in twenty-two species of Parrots (Psittaciformes: Aves). Revta. brasil. Gen. 14 (1): 73-98.
- MAKINO, S., 1937. Notes on the chromosomes of some teleost fishes. Zool. Mag. (Japan) 49: 75-76.
- MATSUMIYA, T., K. SAKAMOTO & S. NISHIKAWA, 1980. Chromosomes of four species of the family Hexagrammidae (Scorpaeniformes). Jap. J. Ichthyol. 27 (3): 273-276.

- MAYR, B., P. RAB & M. KALAT, 1985. Localisation of NORs and counterstain-enhanced fluorescence studies in *Perca fluviatilis* (Pisces, Percidae). Genetica, 67: 51-56.
- MAYR, B., P. RAB & M. KALAT, 1986. NORs and counterstain-enhanced fluorescence studies in Cyprinidae of different ploidy level. Genetica, 69: 111-118.
- MILLER, G. C. & W. J. RICHARDS, 1991. Revision of the western atlantic and eastern pacific genus *Bellator* (Pisces: Triglidae). Bull. Mar. Sci. 48 (3): 635-656.
- MOREIRA-FILHO, O. & L. A. C. BERTOLLO, 1990). Uma técnica alternativa para preparações cromossômicas em peixes. 42. **In:** III Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais, Botucatu - SP.
- MORITZ, C. & D. M. HILLIS, 1990. Molecular systematics: context and controversies. 1- 10. **In:** D. M. HILLIS & C. MORITZ, Molecular Systematics. Edited by Sinauer Associates Inc., Massachusetts, U.S.A.
- NELSON, J. S., 1994. Fishes of the World. John Wiley & Sons Inc., New York, U.S.A., 523 p.
- NISHIKAWA, S. & K. SAKAMOTO, 1982. The Karyotype of a hexagrammid, *Hexagrammus otakii* (Pisces: Scorpaeniformes). CIS 33: 17-18.
- NOGUSA, S., 1960. A comparative study of the chromosomes in fishes with particular considerations on taxonomy and evolution. Mem. Hyogo Univ. Agric. (Biol. Ser.) 3: 1-62.

- OHNO, S., 1974. Protochordata, Cyclostomata and Pisces. John, B. (Ed.) Anim. Cytogenet. 4 (1): 1-92.
- OJIMA, Y., 1983. Fish Cytogenetics. 111- 145. In: A. K. SHARMA & A. SHARMA, Chromosomes in evolution of eukaryotic groups., vol. 1, Boca Raton, Fla. CRC Press.
- OLIVEIRA, C., 1994. Citotaxonomia de peixes. 2. In: V Simpósio de Citogenética Evolutiva e Aplicada de Peixes Neotropicais, Botucatu - SP.
- OLIVEIRA, C.; L. F. de ALMEIDA-TOLEDO; F. FORESTI; H. A. BRITSKI, & S. A. TOLEDO-FILHO, 1988. Chromosome formulae of Neotropical freshwater fishes. Brazil. J. Genet. 11 (3): 577-624.
- PATTON, J. L. & S. W. SHERWOOD, 1983. Chromosome evolution and speciation in rodents. A. Rev. Ecol. Syst. 14: 139-158.
- PHILLIPS, R. B.; K. A. PLEYTE & S. E. HARTLEY, 1988. Stock-specific differences in the number and chromosome positions of the nucleolar organizer regions in arctic char (*Salvelinus alpinus*). Cytogenet. Cell. Genet. 48: 9-12.
- PIESTSCH, T. W., 1978. Evolutionary relationships of the sea moths (Teleostei: Pegasidae) with a classification of Gasterosteiform families. Copeia 1978 (3): 517- 529.

- PINHO-FILHO, P.; C. F. FERREIRA & S. M. TAVARES, 1990. Relatório do projeto de recuperação gradual do ecossistema da Baía de Guanabara. Indicadores de degradação, obras e projetos de recuperação. Fundação Estadual de Engenharia do Meio Ambiente (FEEMA), Secretaria Estadual do Meio Ambiente, Governo do Estado do Rio de Janeiro, 365p.
- QUAST, J. C., 1965. Osteological characteristics and affinities of the hexagrammid fishes, with a synopsis. Proc. Calif. Acad. Sci. 4th Ser. Vol. XXXI, No. 21: 563-600.
- REGAN, C. T., 1913. The osteological and Classification of the Teleostean Fishes of the order Scleroparei. Ann. Mag. nat Hist. Ser. 8, 11: 169-184.
- SASAKI, T. & K. SAKAMOTO, 1977. Karyotype of the rockfish, *Sebastes taczanowski* Steindachner. CIS 22: 7-8.
- SCHMID, M., 1980. Chromosome banding in Amphibia IV. Differentiation of GC- and AT-rich chromosome regions in Anura. Chromosoma, 77:83-103.
- SCHMID, M. & M. GUTTENBACH, 1988. Evolutionary diversity of reverse (R) fluorescent chromosome bands in vertebrates. Chromosoma, 97: 101-114.
- SCHWEIZER, D., 1980. Simultaneous fluorescent staining of R bands and specific heterochromatic regions (DA-DAPI bands) in human chromosomes. Cytogenet. Cell Genet. 27: 190-193.
- SESSIONS, S. K., 1990. Chromosomes: molecular cytogenetics. 156- 203. **In:** HILLIS, D. M. & C. MORITZ, Molecular Systematics. Edited by Sinauer Associates Inc., Massachusetts, U.S.A.

- SOLA, L.; S. CATAUDELLA & A. STEFANELLI, 1978. I cromosomi di quattro specie di Scorpaenidae Mediterranei (Pices, Scorpaeniformes). Acc. Lincei-Rend. Sc. fis. mat. e nat. LXIV:393-397.
- SOLA, L.; S. CATAUDELLA & E. CAPANNA, 1981. New developments in vertebrate cytotaxonomy. III- Karyology of bony fishes: a review. Genetica, 54: 288-328.
- STARMACH, J., 1967. Die chromosomen von *Cottus poecilopus* Heckel und *Cottus gobio* L. Acta hydrobiol. 9 (3-4): 301-307.
- SUMNER, A. T., 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterocromatin. Experim. Cell Res. 75: 304 -306.
- SWARUP, H., 1959. Production of triploid in *Gasterosteus aculeatus*. J. Genet. 56: 129-142.
- TERASHIMA, H. & H. IDA, 1991. Karyotypes of three species of the family Cottidae (Scorpaeniformes). Jap. J. Ichthyol. 1991, 37 (4): 358-362.
- THODE, G., M. C. ALVAREZ, E. GARCIA & V. GILES, 1985. Variation in C-banding patterns and DNA values in two scorpion-fishes (*Scorpaena porcus* and *S. notata*, Teleostei). Genetica, 68: 69-74.
- UENO, K. & J. H. KANG, 1992. Multiple sex chromosomes in the redfin velvetfish, *Hypodytes rubripinnis*. Jap. J. Ichthyol. 39 (2): 170-173.
- UYENO, T.; K. MATSUURA & E. FUJII, 1983. Fishes Trawled of Suriname and French Guiana. Japan Marine Fishery Resource Research Center: Tokyo. 519p.

- VERMA, R. S., 1989. Human Chromosomes- Manual of Basic Techniques. Arvind Babu- New York.
- VITTURI, R.; E. CATALANO & M. MACALUSO, 1989. Chromosome polymorphism due to robertsonian fusion in *Helicolenus dactylopterus* (Delar.) and in *Triglya lucerna* L. Oealia, 15-2: 827-829.
- VITTURI, R. & B. RASOTTO, 1990. Karyotypes analysis of *Cottus gobio* L. (Pisces, Cottidae). Cytobios, 62: 81-86.
- WASHINGTON, B. B.; H.G. MOSER; W. A. LAROCHE & W. J. RICHARDS, 1984a. Scorpaeniformes: development. 405-428. **In:** MOSER, H. G.; RICHARDS, W. J.; COHEN, D. M.; FHAY, M. P.; KENDALL Jr., A. W. & S. L. RICHARDSON (ed). Ontogeny and Systematics of Fishes. Am. Soc. Ichthyol. Herpt. Special Publ. no. 1.
- WASHINGTON, B. B.; W. N. ESCHMEYER & K. M. HOWE, 1984b. Scorpaeniformes: relationships. 438-447. **In:** MOSER, H. G.; RICHARDS, W. J.; COHEN, D. M.; FHAY, M. P.; KENDALL Jr., A. W. & S. L. RICHARDSON (ed). Ontogeny and Systematics of Fishes. Am. Soc. Ichthyol. Herpt. Special Publ. no. 1.
- WILSON, A. C.; V. M. SARICH & L. R. MAXSON, 1974. The importance of gene rearrangement in evolution: evidence from studies on rates of chromosomal, protein and anatomical evolution. Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A. 71 (8): 3028-3030.

YOKOYAMA, T.; N. EBITANI & T. KUBO, 1992. Karyotypes and banding patterns in eight species of the scorpionfish (Scorpaenidae). Zool. Scie. (9): 1210.

YU, Z.; X. KONO; D. FENG & Z. XIE, 1992. Studies on the Karyotypes of *Sebastes schlegeli* (Hilgendorf) and *Hexagrammus otakii* Jordan et Starks. J. Ocean. Univ. Qingdao Haiyang Daxue Xuebao, 22 (2): 118-124.

# APÊNDICE

Quadro 1- Dados de coleta e de laboratório da espécie *Scorpaena brasiliensis*. Cc- Canal central; U- Urca; PV- Praia Vermelha; D- Preparação direta; Ti- Tratamento *in vitro* e C- Cultura de curto termo.

no. UFRJ	no. MNRJ	data de coleta	local de coleta	sexo	técnica utilizada	injeção de fermento	resultado
352	13566	11/11/93	Cc	♂	Ti(TC199)	+	+
359		02/12/93	Cc	♂	Ti(TC199)	+	-
377		24/12/93	Cc	♀	Ti(TC199)	+	-
388		13/01/94	Cc	♂	Ti(KCL)	-	-
393		30/03/94	Cc	?	D	+	-
404		28/05/94	Cc	♂	C	-	-
418		30/08/94	Cc	♀	D	-	-
443	13567	16/12/94	Cc	♀	D	+	+
449		25/01/95	Cc	♀	D	+	-
451		30/01/95	Cc	♀	D	+	-

Quadro 2- Dados de coleta e de laboratório da espécie *Scorpaena isthmensis*. Cc- Canal central; U- Urca; PV- Praia Vermelha; D- Preparação direta; Ti- Tratamento *in vitro* e C- Cultura de curto termo.

no. UFRJ	no. MNRJ	data de coleta	local de coleta	sexo	técnica utilizada	injeção de fermento	resultado
265	13568	11/02/93	U	?	D	-	+
285		29/03/93	PV	♂	D	-	-
286		30/03/93	PV	♀	Ti (RPMI)	-	-
287		30/03/93	PV	♀	Ti (RPMI)	-	-
288	13569	30/03/93	PV	♀	D	-	+
322	13570	16/06/93	U	♂	D	-	+
327	13571	28/06/93	PV	♂	Ti (RPMI)	-	+
328	14263	01/07/93	PV	♀	Ti (RPMI)	+	+
329	13572	23/07/93	PV	♂	Ti (RPMI)	+	+
330	13572	23/07/93	PV	♀	Ti (RPMI)	+	+
331		23/07/93	PV	♀	D	+	-
332	13573	27/07/93	PV	♀	Ti (RPMI)	+	+
333	13573	27/07/93	PV	♀	Ti (RPMI)	+	+
355	13574	18/11/93	Cc	♂	Ti (TC199)	+	+
389	13575	13/01/94	Cc	♂	Ti (TC199)	+	+
397		27/04/94	Cc	♂	Ti (KCL)	+	-
402		16/05/94	Cc	♀	D	-	-
405	13576	29/05/94	Cc	♂	C	-	+
409	13577	10/06/94	Cc	♂	D	-	+
411	14264	11/06/94	Cc	♂	D	-	+
419		19/09/94	Cc	♂	D	-	-
420		19/09/94	Cc	♂	D	-	-
421		19/09/94	Cc	♀	D	-	-
422		19/09/94	Cc	♂	D	-	-
426	13578	23/09/94	Cc	♂	D	+	+
427		23/09/94	Cc	♀	D	+	-
432	13579	31/10/94	Cc	♀	D	-	+
433	14265	01/11/94	Cc	♀	D	+	+
434	14265	01/11/94	Cc	♂	D	+	+
442	13580	16/12/94	Cc	♂	D	+	+
444	14266	17/12/94	Cc	♀	D	+	+
445	14266	17/12/94	Cc	♂	D	+	+
446		20/12/94	Cc	♀	D	+	-

Quadro 3- Dados de coleta e de laboratório da espécie *Dactylopterus volitans*. Cc- Canal central; U- Urca; PV- Praia Vermelha; D- Preparação direta; Ti- Tratamento *in vitro* e C- Cultura de curto termo.

no. UFRJ	no. MNRJ	data de coleta	local de coleta	sexo	técnica utilizada	injeção de fermento	resultado
302		12/05/93	U	♂	D	-	-
303		12/05/93	U	♂	Ti (RPMI)	-	-
306		13/05/93	U	♂	Ti (RPMI)	-	-
407	13581	10/06/94	Cc	♂	C e D	-	+
410	14267	11/06/94	Cc	♂	C	-	+
412	14267	11/06/94	Cc	?	C	-	+
415		22/06/94	Cc	♂	C	-	-
424		22/09/94	Cc	♂	C	-	-
428		05/10/94	Cc	?	C	-	-
447		24/01/95	Cc	♀	C	-	-

Quadro 4- Dados de coleta e de laboratório da espécie *Prionotus punctatus*. Cc- Canal central; U- Urca; PV- Praia Vermelha; D- Preparação direta; Ti- Tratamento *in vitro* e C- Cultura de curto termo.

no. UFRJ	no. MNRJ	data de coleta	local de coleta	sexo	técnica utilizada	injeção de fermento	resultado
366		14/12/93	Cc	♂	Ti(KCL)	-	-
367		14/12/93	Cc	♂	Ti(KCL)	-	-
368		14/12/93	Cc	♂	D	-	-
370		16/12/93	Cc	♂	D	-	-
371		16/12/93	Cc	♂	D	-	-
392		25/03/94	Cc	?	Ti(KCL)	-	-
398		27/04/94	Cc	?	Ti(KCL)	-	-
401		16/05/94	Cc	?	Ti(KCL)	-	-
406	13582	29/05/94	Cc	?	C	-	+
408		10/06/94	Cc	♂	D	-	-
423	13583	22/09/94	Cc	♀	C	-	-
425	13583	22/09/94	Cc	♂	C	-	+
429		05/10/94	Cc	?	C	-	-
430		05/10/94	Cc	?	C	-	-
431		05/10/94	Cc	?	C	-	-
436	13584	08/11/94	Cc	♀	C	-	+
437		08/11/94	Cc	♂	Ti(TC199)	-	-
438		08/11/94	Cc	♀	C	-	-
439	14268	10/11/94	Cc	♀	C	-	+
440		11/11/94	Cc	♀	Ti(TC199)	-	-
448		24/01/95	Cc	♂	C	-	-
450		30/01/95	Cc	♀	C	-	-