

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E EVOLUÇÃO

CITOGENÉTICA DE ESPÉCIES DE SILURIFORMES DA REGIÃO DE
TRANSPOSIÇÃO DO RIO PIUMHI (MG)

DANIEL LUIS ZANELLA KANTEK

SÃO CARLOS

2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E EVOLUÇÃO

**CITOGENÉTICA DE ESPÉCIES DE SILURIFORMES DA REGIÃO DE
TRANSPOSIÇÃO DO RIO PIUMHI (MG)**

Tese de doutorado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Genética e Evolução do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para a obtenção do título de doutor em Genética e Evolução. (Campo de Pesquisa: Citogenética)

DANIEL LUIS ZANELLA KANTEK

SÃO CARLOS

2010

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

K16ce

Kantek, Daniel Luis Zanella.

Citogenética de espécies de siluriformes da região de
transposição do Rio Piumhi (MG) / Daniel Luis Zanella
Kantek. -- São Carlos : UFSCar, 2011.

116 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos,
2010.

1. Citogenética de peixes. 2. Heptapteridae. 3.
Transposição de águas - Piumhi, Rio. 4. São Francisco, Rio.
I. Título.

CDD: 597.087322 (20^a)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E EVOLUÇÃO

CITOGENÉTICA DE ESPÉCIES DE SILURIFORMES DA REGIÃO DE
TRANSPOSIÇÃO DO RIO PIUMHI (MG).

Tese de Doutorado de Daniel Luis Zanella Kantek

Banca Examinadora

Prof. Dr. Orlando Moreira Filho


.....

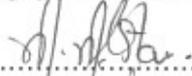
Prof. Dr. Alberto Sergio Fenocchio


.....

Profa. Dra. Ana Cláudia Swarça


.....

Profa. Dra. Marta Margarete Cestari


.....

Profa. Dra. Ana Lucia Dias


.....

Orientador

Prof. Dr. Orlando Moreira Filho

Agradecimentos

Deixo aqui meus agradecimentos a todos que contribuíram com a realização desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Orlando Moreira Filho por ter me confiado uma importante parcela de seu projeto de pesquisa.

Ao Prof. Dr. Luis Antônio Carlos Bertollo, pelas colaborações durante todo o doutorado.

Ao Dr. Paulo Andreas Buckup pelo auxílio nas identificações e pelas colaborações nos papers.

Ao Profa. Dra. Marta Margarete Cestari, pelo apoio incondicional durante meu início na atividade científica.

Ao Prof. Dr. Alberto Sérgio Fenocchio, pelas colaborações, conversas, e publicações no começo do meu interesse por praticar ciência.

Aos técnicos Galo e Piau pela colaboração nas coletas e manutenção dos peixes nos aquários.

Ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Evolução da Universidade Federal de São Carlos e ao Departamento de Genética e Evolução.

A CNPq e CAPES pelo apoio financeiro.

Aos colegas do Laboratório: Daniel Blanco, Beto, Ernani, Celeste Nakayana, Wellington Adriano Moreira Peres, Débora Diniz, Elisangela Bellafronte, Gustavo, Karina Padua, Liano Centofante, Marcelo Vicari, Marcelinho, Maressa e Rosângela.

Aos colegas do departamento (Allysson, Ana Karina, Artur, Iderval, Júlia, Luiz Fernando, Michelle, Fábio, Rodrigo e Thiago) pela companhia e amizade.

Aos colegas do ICMBio: Jair, Magela, Selma e Marcelo.

E os meus pais e irmãos pela contribuição em todas minhas conquistas.

“Entre os constituintes da célula, os cromossomos atraíram, da atenção dos pesquisadores, a parte do leão”
Th. Dobzhansky, 1941

Resumo

No início dos anos 60 foi concluída a construção da represa de Furnas sobre o rio Grande, bacia do rio Paraná. Quando as comportas da usina hidrelétrica foram fechadas, um dique foi construído para conter as águas da represa, a fim de evitar o alagamento da cidade de Capitólio (MG). Entretanto, esse dique represou as águas do rio Piumhi que, naquela época, era um dos afluentes do rio Grande. O rio Piumhi foi então desviado para a bacia do rio São Francisco. O presente trabalho teve como objetivo caracterizar, com base na citogenética clássica e molecular, algumas espécies de Siluriformes atualmente encontradas na região do canal de transposição do rio Piumhi, com o intuito de verificar a ocorrência de possíveis inter-relações entre faunas de bacias distintas, além de realizar análises citotaxonômicas. Foram analisadas as espécies: *Imparfinis schubarti* com 18m + 34 sm + 6st e RON simples intersticial, *Cetopsorhamdia iheringi* com 28m + 26sm + 4st e RON simples intersticial, *Pimelodella vittata* com 16m + 22sm + 8st e RON simples terminal, *Rhamdia* sp. A aff. *R. quelen* com 26m + 16sm + 14st + 2a e RON simples terminal, *Rhamdia* sp. B aff. *R. quelen* com 28m + 20sm + 10st e RON simples intersticial, *Rhamdiopsis* sp. cf. *R. microcephala* 12m + 30sm + 14st e RON simples intersticial, *Trichomycterus brasiliensis* com 34m + 18sm + 2sm e RON simples intersticial, *Pimelodus pohli* com 28m + 16sm + 10st + 2a com RON simples terminal e *Parauchenipterus galeatus* com 26m + 16sm + 14st + 8a. Os dados citogenéticos clássicos e moleculares (rDNA 18S e 5S) obtidos para as espécies *Imparfinis schubarti*, *Cetopsorhamdia iheringi*, *Pimelodella vittata*, *Rhamdia* sp. A aff. *R. quelen*, *Rhamdia* sp. B aff. *R. quelen* e *Rhamdiopsis* sp. cf. *R. microcephala*, em análise comparativa com outros resultados disponíveis na literatura, corroboram com a

literatura taxonômica tradicional da família Heptapteridae, inclusive com a formação do subclado *Nemuroglanis*. Os resultados obtidos permitiram tecer considerações sobre aspectos taxonômicos das espécies estudadas, bem como as possíveis relações destas com a transposição do rio Piumhi.

Palavras chave: citogenética de peixes; transposição do rio Piumhi; rio São Francisco; Siluriformes.

Abstract

At the beginning of the 60's was concluded the building of the Furnas dam over the Rio Grande, which belongs to Parana river watershed. When the gates of the hydroelectric were closed, a dike was built to contain the waters of the dam, in order to prevent the flooding of the city of Capitólio – MG. However, this dike has dammed the river Piumhi, which, at that time, was an affluent of the Rio Grande. The Piumhi River was then diverted to São Francisco watershed. The present work aimed to characterize, based on classic and molecular cytogenetic, some species of Siluriforms, actually found in the region of the transposition channel of the Piumhi River, to verify the occurrence of possible interrelationships between faunas of different watersheds, also realizing cytotaxonomic analysis. Were analysed the following species: *Imparfinis schubarti* with 18m + 34sm + 6st and RON simple interstitial, *Cetopsorhamdia iheringi* with 28m + 26sm + 4st and RON simple interstitial, *Pimelodella vittata* with 16m + 22sm + 8st and RON simple terminal, *Rhamdia* sp. A aff. *R. quelen* with 26m + 16sm + 14st + 2a and RON simple terminal, *Rhamdia* sp. B aff. *R. quelen* with 28m + 20sm + 10st and RON simple interstitial, *Rhamdiopsis* sp. cf. *R. microcephala* 12m + 30sm + 14st and RON simple interstitial, *Trichomycterus brasiliensis* with 34m + 18sm + 2sm and RON simple interstitial, *Pimelodus pohli* with 28m + 16sm + 10st + 2a with RON simple terminal and *Parauchenipterus galeatus* with 26m + 16sm + 14st + 8a. Classical and molecular cytogenetic data (rDNA 18S e 5S) obtained to the species *Imparfinis schubarti*, *Cetopsorhamdia iheringi*, *Pimelodella vittata*, *Rhamdia* sp. A aff. *R. quelen*, *Rhamdia* sp. B aff. *R. quelen* and *Rhamdiopsis* sp. cf. *R. microcephala*, in comparative analysis with other results available in literature, corroborates with the traditional taxonomic literature of

Heptapteridae family, including the formation of subclade *Nemuroglanis*. The results led to considerations about aspects of the taxonomic species, as well as possible relations of these with the transposition of the river Piumhi.

Key words: fish cytogenetics, Piumhi river transposition, São Francisco river, Siluriforms.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. MAPA PARCIAL DAS BACIAS DO SÃO FRANCISCO E DO PARANÁ	14
FIGURA 2. DIQUE DE CAPITÓLIO. NA MARGEM ESQUERDA ESTÁ O LAGO DE FURNAS E NA DIREITA O LAGO DO RIO PIUMHI.....	17
FIGURA 3. REGIÃO DE TRANSPOSIÇÃO DO RIO PIUMHI. A: SITUAÇÃO ANTERIOR À CONSTRUÇÃO DA HIDRELÉTRICA DE FURNAS. B: SITUAÇÃO ATUAL. 1 = RIBEIRÃO ÁGUA LIMPA; 2 = RIBEIRÃO SUJO; 3 = RIBEIRÃO DAS ARARAS; 4 = RIBEIRÃO DOS PATOS; 5 = CANAL DE TRANSPOSIÇÃO; 6 = DIQUE DE CAPITÓLIO; 7 = USINA HIDRELÉTRICA DE FURNAS.	18
FIGURA 4. ESPÉCIES ANALISADAS: (A) <i>IMPARFINIS SCHUBARTI</i> , (B) <i>CETOPSORHAMDIA IHERINGI</i> , (C) <i>PIMELODELLA VITTATA</i> , (D) <i>RHAMDIA</i> SP. A AFF. <i>R. QUELEN</i> , (E) <i>RHAMDIA</i> SP. B AFF. <i>R. QUELEN</i> , (F) <i>RHAMDIOPSIS</i> SP. CF. <i>R. MICROCEPHALA</i> , (G) <i>TRICHOMYCTERUS BRASILIENSIS</i> , (H) <i>PARAUCHENIPTERUS GALEATUS</i> E (I) <i>PIMELODUS POHLI</i>	26
FIGURA 5. REGIÃO DE TRANSPOSIÇÃO DO RIO PIUMHI. (A) RIO PIUMHI, (B) CANAL DE TRANSPOSIÇÃO (LINHAS PRETAS), (C) ANTIGO CANAL DO RIO PIUMHI (LINHA TRACEJADA), ANTES DA TRANSPOSIÇÃO, (D) LOCAL DE COLETA, (E) PORÇÃO REPRESADA DO RIO PIUMHI APÓS A CONSTRUÇÃO DO DIQUE DE CAPITÓLIO, (F) CIDADE DE CAPITÓLIO, (G) DIQUE DE CAPITÓLIO, (H) LAGO DE FURNAS, (I) RIO GRANDE E (H) RESERVATÓRIO DA HIDROELÉTRICA DE FURNAS.....	49
FIGURA 6. CARIÓTIPOS EM COLORAÇÃO GIEMSA DE <i>IMPARFINIS SCHUBARTI</i>	50
FIGURA 7. CARIÓTIPO DE <i>IMPARFINIS SCHUBARTI</i> APÓS BANDAMENTO C. NA CAIXA, AG-NOR INSTERSTICIAL NO MAIOR PAR CROMOSSÔMICO.....	50
FIGURA 8. DISTRIBUIÇÃO CROMOSSÔMICA DO SÍTIO DE rDNA 18S EM <i>IMPARFINIS SCHUBARTI</i>	51
FIGURA 9. DISTRIBUIÇÃO CROMOSSÔMICA DO SÍTIO DE rDNA 5S EM <i>IMPARFINIS SCHUBARTI</i>	51
FIGURA 10 REGIÃO DA TRANSPOSIÇÃO DO RIO PIUMHI: A) RIO PIUMHI, B) CANAL DE TRANSPOSIÇÃO (LINHA PRETA), C) ANTIGO CANAL DO RIO PIUMHI (LINHA PONTILHADA), ANTES DA TRANSPOSIÇÃO, D) LOCAL DE COLETA, E) PORÇÃO DO RIO PIUMHI REPRESADA APÓS A CONSTRUÇÃO DO DIQUE, F) CIDADE DE CAPITÓLIO, G) DIQUE DE CAPITÓLIO, H) LAGO DE FURNAS, I) RIO GRANDE, À JUSANTE DO RESERVATÓRIO DA HIDROELÉTRICA DE FURNAS, E J) LOCAL DE COLETA NO RIBEIRÃO DOS PATOS.	74
FIGURA 11. CARIÓTIPOS CORADOS DE FORMA SEQUÊNCIAL COM COLORAÇÃO GIEMSA CONVENCIONAL (A, C), BANDAMENTO C (B, D) E AG-NORS (A, CAIXA) DE <i>CETOPSORHAMDIA IHERINGI</i> (A, B) E <i>PIMELODELLA VITTATA</i> (C, D).	75
FIGURA 12. CARIÓTIPOS CORADOS DE FORMA SEQUÊNCIAL COM COLORAÇÃO GIEMSA CONVENCIONAL (A, C), BANDAMENTO C (B, D) E AG-RON (A, CAIXA) DE <i>RHAMDIA</i> SP. A AFF. <i>R. QUELEN</i> (A, B) E <i>RHAMDIA</i> SP. B AFF. <i>R. QUELEN</i> (C, D).	76
FIGURA 13. CARIÓTIPOS CORADOS DE FORMA SEQUÊNCIAL COM COLORAÇÃO GIEMSA CONVENCIONAL (A), BANDAMENTO C (B) E AG- RON (A, CAIXA) DE <i>RHAMDIOPSIS</i> SP. CF. <i>R. MICROCEPHALA</i>	77
FIGURA 14. METÁFASE DO EXEMPLAR TRIPLÓIDE DE <i>RHAMDIA</i> SP. A AFF. <i>R. QUELEN</i>	78
FIGURA 15. METÁFASES DE <i>CETOPSORHAMDIA IHERINGI</i> (A, B, C) E <i>PIMELODELLA VITTATA</i> (D, E, F) SUBMETIDAS À HIBRIDAÇÃO FLUORESCENTE IN SITU COM SONDAS DE rDNA 18S (A, D) E rDNA 5S (B, E). AS METÁFASES SUBMETIDAS À AG-RON (C, F) SÃO AS MESMAS DA FISH COM 5S.	79
FIGURA 16. METÁFASES DE <i>RHAMDIA</i> SP. A AFF. <i>R. QUELEN</i> (A, B, C, D) E <i>RHAMDIA</i> SP. B AFF. <i>R. QUELEN</i> (E, F) E <i>RHAMDIOPSIS</i> SP. CF. <i>R. MICROCEPHALA</i> (G, H) SUBMETIDAS À HIBRIDAÇÃO FLUORESCENTE IN SITU COM SONDAS DE rDNA 18S (A, C, E, G) E rDNA 5S (B, D, F, H). METÁFASES C E D SÃO DO EXEMPLAR TRIPLÓIDE.....	80
FIGURA 17. REGIÃO DA TRANSPOSIÇÃO DO RIO PIUMHI: A) RIO PIUMHI, B) CANAL DE TRANSPOSIÇÃO (LINHA PRETA), C) ANTIGO CANAL DO RIO PIUMHI (LINHA PONTILHADA), ANTES DA TRANSPOSIÇÃO, D) LOCAL DE COLETA DE <i>PARAUCHENIPTERUS GALEATUS</i> (PANTANAL DO RIO PIUMHI), E) PORÇÃO DO RIO PIUMHI REPRESADA APÓS A CONSTRUÇÃO DO DIQUE, F) CIDADE DE CAPITÓLIO, G) DIQUE DE CAPITÓLIO, H) LAGO DE FURNAS, I) RIO GRANDE, À JUSANTE DO RESERVATÓRIO DA HIDROELÉTRICA DE FURNAS, J) LOCAL DE COLETA DE <i>TRICHOMYCTERUS BRASILIENSIS</i> (RIBEIRÃO DAS ARARAS) E, K) LOCAL DE COLETA DE <i>PIMELODUS POHLI</i> (FOZ DO RIO PIUMHI).	105
FIGURA 18. CARIÓTIPOS ANALISADOS DE FORMA SEQUÊNCIAL POR COLORAÇÃO GIEMSA CONVENCIONAL (A), BANDAMENTO C (B) E AG-NORS (A, CAIXA) DE <i>TRICHOMYCTERUS BRASILIENSIS</i>	106
FIGURA 19. CARIÓTIPOS ANALISADOS POR COLORAÇÃO GIEMSA CONVENCIONAL (A), BANDAMENTO C (B) E AG-NORS (A, CAIXA) DE <i>PARAUCHENIPTERUS GALEATUS</i>	107
FIGURA 20. CARIÓTIPOS ANALISADOS POR COLORAÇÃO GIEMSA CONVENCIONAL (A), BANDAMENTO C (B) E AG-RON (A) DE <i>PIMELODUS POHLI</i>	108
FIGURA 21. METÁFASES DE <i>TRICHOMYCTERUS BRASILIENSIS</i> (A), <i>PARAUCHENIPTERUS GALEATUS</i> (B, C, D E) E <i>PIMELODUS POHLI</i> (F, G) SUBMETIDAS À HIBRIDAÇÃO FLUORESCENTE IN SITU COM SONDAS DE rDNA 18S (A, B, D, F) E rDNA 5S (E, G). COLORAÇÃO COM CROMOMICINA A3 (C).....	109

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
1.1 BACIA DO RIO PARANÁ	12
1.2 BACIA DO RIO SÃO FRANCISCO.....	13
1.3 O RESERVATÓRIO DE FURNAS	15
1.4 REPRESAMENTOS	15
1.5 TRANSPOSIÇÃO DE FAUNA	16
1.6 INVASÃO BIOLÓGICA	19
1.7 SILURIFORMES – ASPECTOS GERAIS	20
1.8 ESTUDOS CITOGENÉTICOS - SILURIFORMES.....	21
2. OBJETIVOS	24
3. MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1 MATERIAL BIOLÓGICO	25
3.2 METODOLOGIA	27
3.2.1 <i>Indução de metáfase</i>	27
3.2.2 <i>Preparação de cromossomos mitóticos</i>	27
3.2.3. <i>Bandamento C</i>	28
3.2.4 <i>Deteção das regiões organizadoras de nucléolo (Ag-NORs)</i>	28
3.2.5 <i>Montagem dos cariótipos</i>	29
3.2.6 <i>Hibridação in situ fluorescente (FISH)</i>	29
4. RESULTADOS.....	32
CAPÍTULO I - CITOGENÉTICA DE <i>IMPARFINIS SCHUBARTI</i> (SILURIFORMES: HEPTAPTERIDAE) DA REGIÃO DE TRANSPOSIÇÃO DO RIO PIUMHI, ESTADO DE MINAS GERAIS, BRASIL.	33
CITOGENÉTICA DE <i>IMPARFINIS SCHUBARTI</i> (SILURIFORMES: HEPTAPTERIDAE) DA REGIÃO DE TRANSPOSIÇÃO DO RIO PIUMHI, ESTADO DE MINAS GERAIS, BRASIL.	35
CAPÍTULO II - ESTUDO CITOGENÉTICO DE HEPTAPTERÍDEOS (TELEOSTEI, SILURIFORMES) DA REGIÃO DE TRANSPOSIÇÃO DO RIO PIUMHI, ESTADO DE MINAS GERAIS, BRASIL.....	52
CAPÍTULO III – CITOGENÉTICA CLÁSSICA E MOLECULAR DE ESPÉCIES DE SILURIFORMES DA REGIÃO DE TRANSPOSIÇÃO DO RIO PIUMHI, ESTADO DE MINAS GERAIS, BRASIL.	81
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES	110
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	113

1. INTRODUÇÃO

1.1 Bacia do rio Paraná

Principal formador da bacia do Prata, o rio Paraná é o décimo maior do mundo em descarga, e o quarto em área de drenagem, drenando todo o centro-sul da América do Sul, até a Serra do Mar, nas proximidades da costa atlântica (IBAMA, 2007). De sua nascente, no planalto central, até a foz, no estuário do Prata, percorre 4.695 km. Em território brasileiro, drena uma área de 891.000 km². Os principais tributários do rio Paraná são o Grande e o Paranaíba (formadores), Tietê, Paranapanema e Iguaçu (Figura 1). A ictiofauna desse sistema hidrográfico é representada por 250 espécies, sendo 107 Characiformes, 91 Siluriformes, 20 Perciformes, 3 Rajiformes, 1 Cipriniformes, 1 Pleuronectiformes, 2 Clupeiformes, 5 Cyprinodontiformes e 1 Synbranchiformes (AGOSTINHO; GOMES, 2002).

O rio Grande nasce na Serra da Mantiqueira, nas regiões limítrofes dos Estados de São Paulo e Minas Gerais, a aproximadamente 1.500 m de altitude (22° 15'S 44° 34'W). Apresentando extensão total de 1.050 km (ZIESLER; ARDIZZONE, 1979), é uma área de drenagem de aproximadamente 143 mil km² (CEMIG/CETEC, 2000) que deságua no Rio Paraná, na confluência com o Rio Paranaíba, sendo seus maiores tributários os Rios Sapucaí e Pardo (ZIESLER; ARDIZZONE, 1979). Levantamentos da ictiofauna feitos em riachos da bacia do rio Grande evidenciaram a presença de 18 famílias, 44 gêneros e 64 espécies (CEMIG/CETEC, 2000; CASTRO et al., 2003)

1.2 Bacia do rio São Francisco

Abrangendo as regiões Nordeste, Sudeste e Centro-Oeste, e cortando seis estados brasileiros mais o distrito federal, a bacia do rio São Francisco (Figura 1) é a quarta em importância entre as bacias brasileiras, ocupando 7,4% do território nacional (PAIVA, 1982). O rio São Francisco estende-se por superfícies de altitude variável (entre 400 e 1000 m), sendo caracterizado como um típico rio de planalto, com algumas corredeiras, quedas e cascatas.

A citada bacia é dividida em três regiões: (I) o vale superior, o qual compreende as áreas de cabeceira do rio até a corredeira de Pirapora, (II) o vale médio, que começa na corredeira de Pirapora e desce até a cachoeira Paulo Afonso e o vale inferior, que vai desta última cachoeira citada até a foz.

A bacia do São Francisco possui cerca de 159 espécies de peixes, muitas delas caracterizadas pelo endemismo (BRITSKI; SATO; ROSA, 1988), tornando-as mais susceptíveis a extinção. Sobre a distribuição de peixes ao longo do rio São Francisco devem ser levadas em consideração algumas características, tais como: (I) o São Francisco é um rio perene e que cruza o Brasil de oeste para leste; (II) na região do vale superior, as águas são torrenciais, frias e com pouco material em suspensão; (III) no vale médio, as águas possuem pequena velocidade com temperaturas mais elevadas e com um pouco mais de material orgânico em suspensão, e (IV) no vale inferior, nas proximidades do estuário, as lagoas marginais são verdadeiros criadouros de peixes, com água sedimentada, rica em nutrientes (PAIVA, 1982).

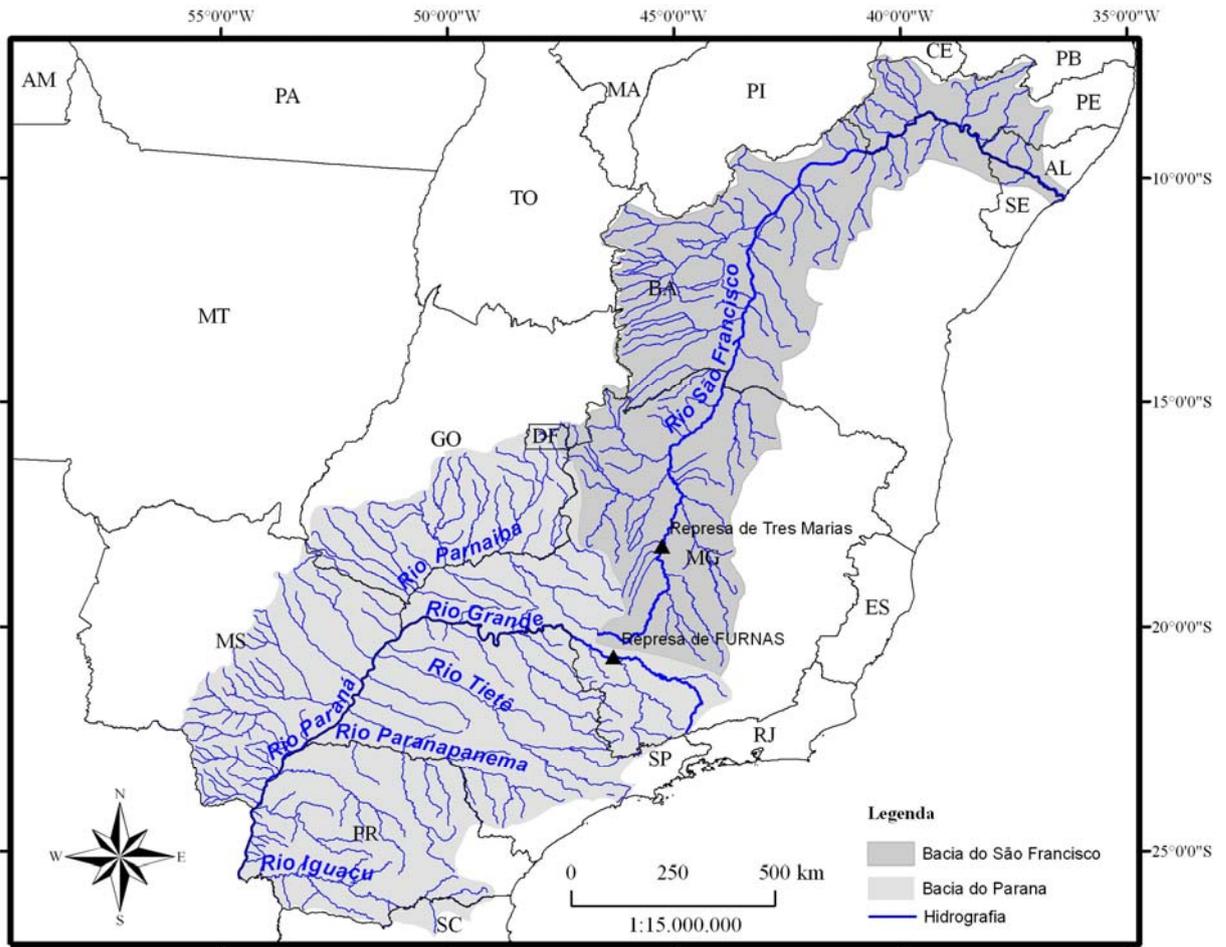


Figura 1. Mapa parcial das Bacias do São Francisco e do Paraná

1.3 O reservatório de Furnas

A Usina Hidrelétrica de Furnas foi a primeira a ser construída pela Empresa, da qual herdou o nome. Está localizada no curso médio do rio Grande (Figura 1), no trecho denominado "Corredeiras das Furnas", entre os municípios de São José da Barra e São João Batista da Glória, em Minas Gerais e possui uma potência nominal de 1.216 MW (8 X 152 MW). Sua construção começou em julho de 1958 e em 1963 a primeira unidade entrou em operação. O reservatório, um dos maiores do Brasil, com 1.440 km² e 3.500 km de perímetro, banha 34 municípios de Minas Gerais e é alimentado pelos rios Grande e Sapucaí (FURNAS, 2006). Além dos impactos comumente associados à implantação das grandes represas, a construção de FURNAS trouxe outro ainda pouco conhecido, a transposição de fauna (MOREIRA-FILHO; BUCKUP, 2005).

1.4 Represamentos

Devido à alteração profunda e definitiva da dinâmica da água, os represamentos determinam consideráveis modificações das comunidades bióticas nas suas áreas de influência, constituindo um dos maiores impactos em ambientes de água doce (DUDGEON, 2000). Para a comunidade de peixes, o resultado é a alteração na abundância das espécies com a eventual eliminação de algumas delas. Assim, espécies de peixes naturalmente em baixa densidade, podem encontrar condições favoráveis e proliferar, enquanto outras, que não tenham, no novo ambiente, as condições adequadas para satisfazerem suas necessidades ecológicas, podem ter sua abundância reduzida.

Além disso, os represamentos podem causar diminuição de habitats, mudanças no ambiente de reprodução, interrupção de rotas de migração, o que pode resultar na perda de biodiversidade (DYNESIUS; NILSSON, 1994; DUDGEON, 2000). Dependendo das características da bacia hidrográfica, o represamento pode, também, eliminar barreiras geográficas à dispersão de determinadas espécies e realizar introduções nos trechos à montante. Por outro lado, pode constituir uma barreira intransponível para populações de peixes localizadas à jusante da barragem.

1.5 Transposição de fauna

Após o fechamento das comportas da hidrelétrica de Furnas as águas da bacia do rio Grande escoavam até a bacia do rio São Francisco alagando o município de Capitólio. Esse problema foi contornado pela construção de um dique (dique de Capitólio) nessa cidade (Figura 2). Entretanto, o dique represou também o rio Piumhi, um dos afluentes do rio Grande. Posteriormente, foi construído um sistema de drenagem alterando o curso do rio Piumhi, o qual foi desviado para o leito do córrego Água Limpa, que deságua no ribeirão Sujo, um dos afluentes da margem direita do rio São Francisco. Desse modo, os peixes da bacia do Alto rio Paraná que habitavam as águas do rio Piumhi passaram a conviver com espécies da bacia do rio São Francisco (Figura 3). O contato dessas duas importantes bacias passou despercebido por mais de 40 anos pela comunidade científica (MOREIRA-FILHO; BUCKUP, 2005).



Figura 2. Dique de Capitólio. Na margem esquerda está o lago de FURNAS e na direita o lago do rio Piumhi.

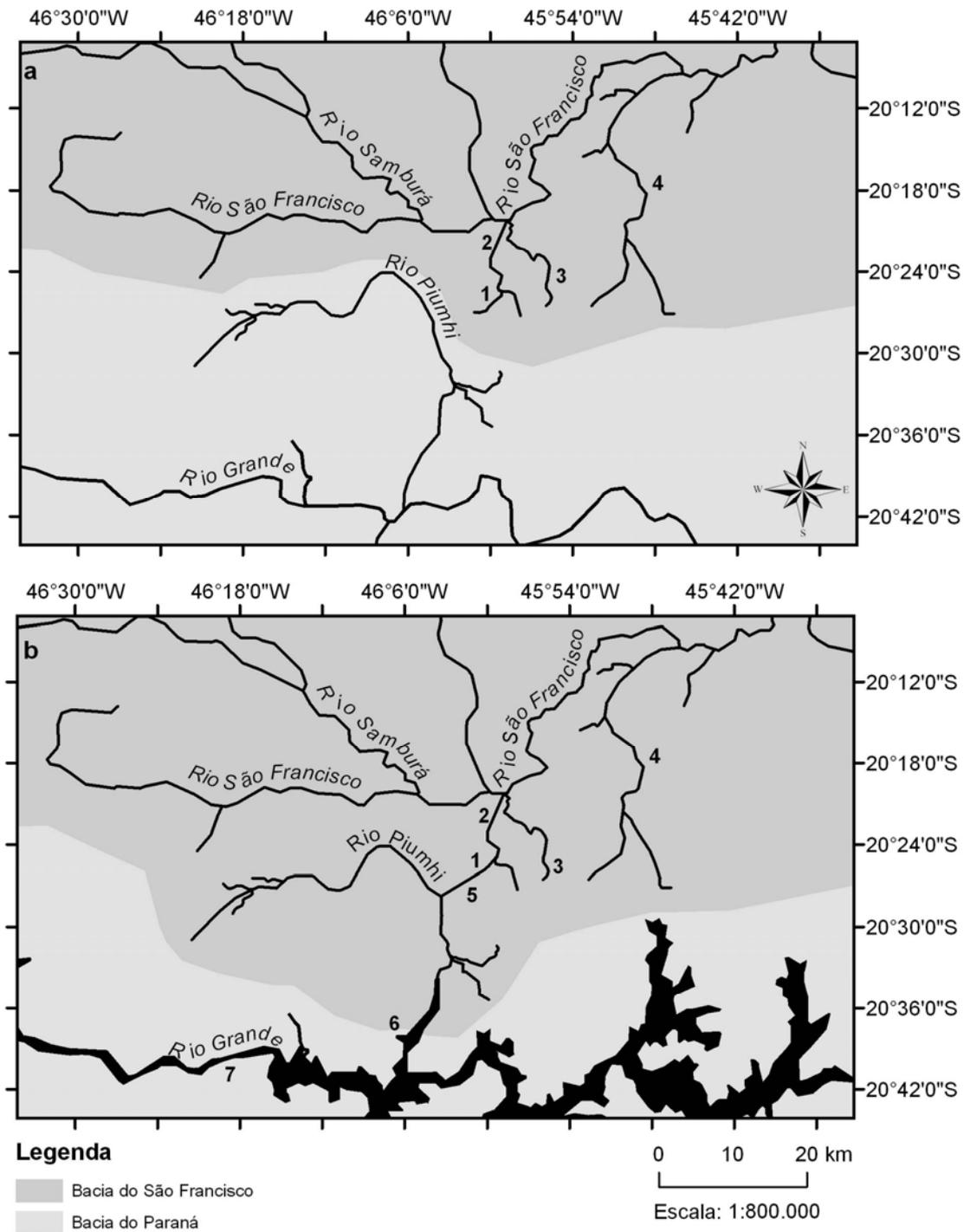


Figura 3. Região de transposição do rio Piumhi. a: Situação anterior à construção da hidrelétrica de FURNAS. b: Situação atual. 1 = ribeirão Água Limpa; 2 = ribeirão Sujo; 3 = ribeirão das Araras; 4 = ribeirão dos Patos; 5 = canal de transposição; 6 = dique de Capitólio; 7 = usina hidrelétrica de Furnas.

1.6 Invasão Biológica

As Invasões biológicas vem aumentando em freqüência no cenário mundial e podem produzir danos ecológicos irreparáveis, incluindo a perda de espécies nativas (MACK, 2000). Os efeitos ecológicos da introdução de espécies alienígenas incluem competição, predação das espécies nativas e a introdução de parasitas e doenças (KRUEGER; MAY, 1991; RICKLEFS, 1993). Já os efeitos genéticos podem ser causados pela hibridação de espécies invasoras com espécies nativas, bem como pela diminuição do tamanho efetivo das populações residentes (MILLS et al., 2004). Entre as espécies de peixes, a hibridação não é um evento raro e pode ocorrer até entre gêneros distintos (BRINN; PORTO; FELDBERG, 2004).

Nos rios e lagos, os efeitos de introduções de espécies podem ser mais acentuados em decorrência do isolamento evolutivo entre organismos de diferentes bacias (RICCIARDI; ATKINSON, 2004). No lago Gatún, Panamá, foi introduzido o ciclídeo *Cichla ocellaris* acarretando a extinção de diversas outras espécies de peixes do local (ZARET; PAINE 1973). O mesmo aconteceu no lago Victoria na África, onde a perca do Nilo, *Lates niloticus*, foi introduzida, a qual contribuiu para a extinção de mais de 200 espécies endêmicas por causa da predação e competição por alimentos (OGUTU-OHWAYO, 1990).

No Brasil a introdução de *Cichla cf. monoculus*, *Astronotus ocellatus* e *Pygocentrus nattereri* em lagos da bacia do rio Doce em Minas Gerais, afetou a comunidade nativa, causando o desaparecimento de algumas espécies e a redução na abundância de indivíduos jovens de outras, bem como a redução do peso médio dos indivíduos (SUNAGA; VERANI, 1991; LATINI; PETRERE Jr., 2004). Por outro lado, a introdução de parte da fauna da bacia do rio Alto Paraná, que habitava o rio

Piumhi, para a bacia do rio São Francisco ainda não foi estudada (MOREIRA-FILHO; BUCKUP, 2005), o que torna relevante o atual projeto.

1.7 Siluriformes – aspectos gerais

Os Siluriformes compreendem um grupo de peixes formado por 3093 espécies válidas (FERRARIS, 2007), popularmente conhecidas como peixes-de-couro, cascudos, acarís, etc. A maioria de seus representantes habita as águas doces das regiões tropicais (América, África e Ásia), embora exista também uma família cuja ocorrência é predominante na América do Norte, Ictaluridae (GREENWOOD et al., 1966), e outras duas cujos representantes são marinhos, Ariidae e Plotosidae (LOWE-MCCONNEL, 1975). Na Região Neotropical ainda ocorrem algumas famílias, como Auchenipteridae e Aspredinidae, que apresentam espécies estuarinas, ou seja, que ocasionalmente podem ocupar o ambiente marinho (PINNA, 1998).

Os Siluriformes podem ser facilmente identificados por possuírem características morfológicas distintivas. São peixes de corpo nu, o qual encontra-se envolto por pele espessa ou coberto por placas ósseas (total ou parcialmente) (BRITSKI et al., 1988). As nadadeiras são bem separadas, sendo o primeiro raio das nadadeiras peitorais e dorsal, portador de um acúleo forte e pungente. A nadadeira adiposa encontra-se presente, e é, em geral, bem desenvolvida, já a nadadeira caudal assume formato variável. Há geralmente três pares de barbilhões sensitivos (MEES, 1974).

1.8 Estudos citogenéticos - Siluriformes

Estudos citogenéticos em populações naturais de peixes Neotropicais de água doce têm gerado importantes informações a cerca de modificações da estrutura cromossômica e cariotípica em algumas espécies, possivelmente favorecidas por isolamento geográfico em diferentes bacias hidrográficas e microbacias de uma região (MOREIRA-FILHO; BERTOLLO, 1991; SOUZA, MOREIRA-FILHO; BERTOLLO, 1995)

Garcia (2005), através de uma revisão dos dados citogenéticos das principais famílias de Siluriformes, obteve uma relação de 73 espécies. Os números haplóides e/ou diplóides compreendem uma variação de $2n=42$ (*Pariolius hollandi*, ROMAN; MARGARIDO, 2002) até $2n=60$ cromossomos (*Conorhynchus conirostris*, GARCIA, 2003).

Espécies que possuem uma macroestrutura cariotípica conservada podem ser diferenciadas por técnicas de bandamento cromossômico, bem como pela localização *in situ* de seqüências de DNA. Dentre essas técnicas destacam-se o bandamento C, para evidenciar as regiões ricas em heterocromatina e a coloração com Nitrato de Prata, para evidenciar as regiões organizadoras de nucléolo que estiveram funcionalmente ativas na interfase anterior à mitose (Ag-NORs).

A distribuição de heterocromatina vem se mostrando como um ótimo marcador na distinção de espécies e de populações. *A. altiparanae* e *A. lacustris*, por exemplo, são morfologicamente semelhantes e possuem cariótipos na coloração convencional em Giemsa bem similares, mas podem ser facilmente separadas pela distribuição da banda C (ALMEIDA-TOLEDO et al., 2002; PERES, 2005). No mesmo sentido, *Pimelodus maculatus* provenientes de diferentes localidades podem

apresentar padrões heterocromáticos distintos (SOUZA; GIULIANO-CAETANO; DIAS, 2003).

A localização das RONS, através da impregnação por nitrato de prata vem sendo utilizada como marcador para populações de algumas espécies. Em *Pseudoplatystoma corruscans* existe divergência entre o padrão Ag-RON dos indivíduos do rio Pananá quando comparados com exemplares do rio Paraguai (SWARÇA et al., 2005)

Recentemente, o mapeamento físico de seqüências de DNA pela hibridação fluorescente *in situ* (FISH) deu um novo impulso à citogenética de peixes. Tem sido descrito principalmente o número e a localização de seqüências de DNAr 45S e 5S, além de seqüências teloméricas e de DNA satélite. A técnica de FISH com sonda de rDNA 18S vem se mostrando uma ferramenta poderosa, com relação a outras técnicas citogenéticas clássicas, na detecção das RONS ao longo do complemento cromossômico, pois podem identificá-las independente de terem estado ativas ou não na interfase anterior. Assim, é relativamente comum a ocorrência de um número maior de sítios de RONS que os identificados pela técnica de coloração pela Prata em peixes neotropicais, como observado em *Hoplias malabaricus* (BORN; BERTOLLO, 2000) e *A. scabripinnis* (FERRO et al., 2001; KAVALCO; MOREIRA-FILHO, 2003), *Prochilodus lineatus* (JESUS; MOREIRA-FILHO, 2003).

Os dados disponíveis com relação ao uso da sonda de DNAr 5S demonstram, até o momento, o predomínio da ocorrência de apenas um par cromossômico portador deste gene ribossômico em Siluriformes (KAVALCO et al., 2004). Em alguns casos, a quantidade e a localização dos sítios 5S podem ser utilizadas para diferenciar espécies próximas (GARCIA, 2005).

Os estudos citogenéticos mostram-se como uma fonte importante de informações para a taxonomia e para o entendimento das relações filogenéticas entre as espécies, uma vez que apresentam grande diversidade (OLIVEIRA et al., 1988; AREFJEV, 1990; GALETTI JR.; BERTOLLO; MOREIRA-FILHO, 1994; DANIEL-SILVA; ALMEIDA-TOLEDO, 2005). Assim, desde o final dos anos 70 a citogenética vem auxiliando a taxonomia e a identificação de espécies crípticas de peixes através de estudos citotaxonômicos (BERTOLLO; TAKAHASHI; MOREIRA-FILHO, 1978, MOREIRA-FILHO; BERTOLLO, 1991; CENTOFANTE et al., 2003, entre outros).

2. Objetivos

- Caracterizar com ferramentas da citogenética clássica e molecular algumas espécies de Siluriformes atualmente encontradas na região do canal de transposição do rio Piumhi, através da utilização da coloração em Giemsa e montagem dos cariótipos, bandamento C, detecção das Regiões Organizadoras de Nucléolo (Ag-RON), e hibridização *in situ* com sondas de rDNA 18S e 5S.
- Discutir os resultados obtidos, comparando-os com os trabalhos de citotaxonomia e sistemática existentes na literatura para peixes neotropicais.
- Verificar a ocorrência de possíveis inter-relações entre as espécies estudadas e a transposição do rio Piumhi.

3. Material e Métodos

3.1 Material biológico

Foram coletadas várias espécies (Figura 4) da Ordem Siluriformes da região de transposição do rio Piumhi, de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1. Amostras analisadas.

Espécie	N	Local de Coleta	Coordenadas geográficas	Tombamento
<i>Imparfinis schubarti</i>	11	Ribeirão Minhoca	20°31'55.2" S 046°02'42.1" W	MNRJ 29336
<i>Cetopsorhamdia iheringi</i>	9	Ribeirão Minhoca	20°31'55.2" S 046°02'42.1" W	MNRJ 31477
<i>Pimelodella vittata</i>	6	Ribeirão Minhoca	20°31'55.2" S 046°02'42.1" W	MNRJ 29330
<i>Rhamdia</i> sp. A aff. <i>R. quelen</i>	10	Ribeirão Minhoca	20°31'55.2" S 046°02'42.1" W	MNRJ 29329 MNRJ 29326
<i>Rhamdia</i> sp. B aff. <i>R. quelen</i>	2	Ribeirão dos Patos	20°26'10.6" S 045°47'31.1" W	MNRJ 29332
<i>Rhamdiopsis</i> sp. cf. <i>R. microcephala</i>	18	Ribeirão Minhoca	20°31'55.2" S 046°02'42.1" W	MNRJ 29325
<i>Trichomycterus brasiliensis</i>	9	Ribeirão das Araras	20°26'16.4"S 045°55'39.8"W	MNRJ 2933
<i>Parauchenipterus galeatus</i>	5	Pantanal Rio Piumhi	20°26'16.4"S 045°55'39.8"W	MNRJ 31408
<i>Pimelodus pohli</i>	17	Foz do rio Piumhi, Rio São Francisco	20°20'31.0"S; 045°59'03.4"W	MNRJ26378

Após as coletas, os animais foram transportados ao Laboratório de Citogenética da Universidade Federal de São Carlos, onde foram feitas as preparações cromossômicas. Foram retiradas amostras de tecidos para futuras análises de DNA mitocondrial (mtDNA) e acondicionados em freezer -80°C. Em seguida, os peixes foram fixados em formol 10% por no mínimo 24h, sendo posteriormente guardados em etanol 70%.

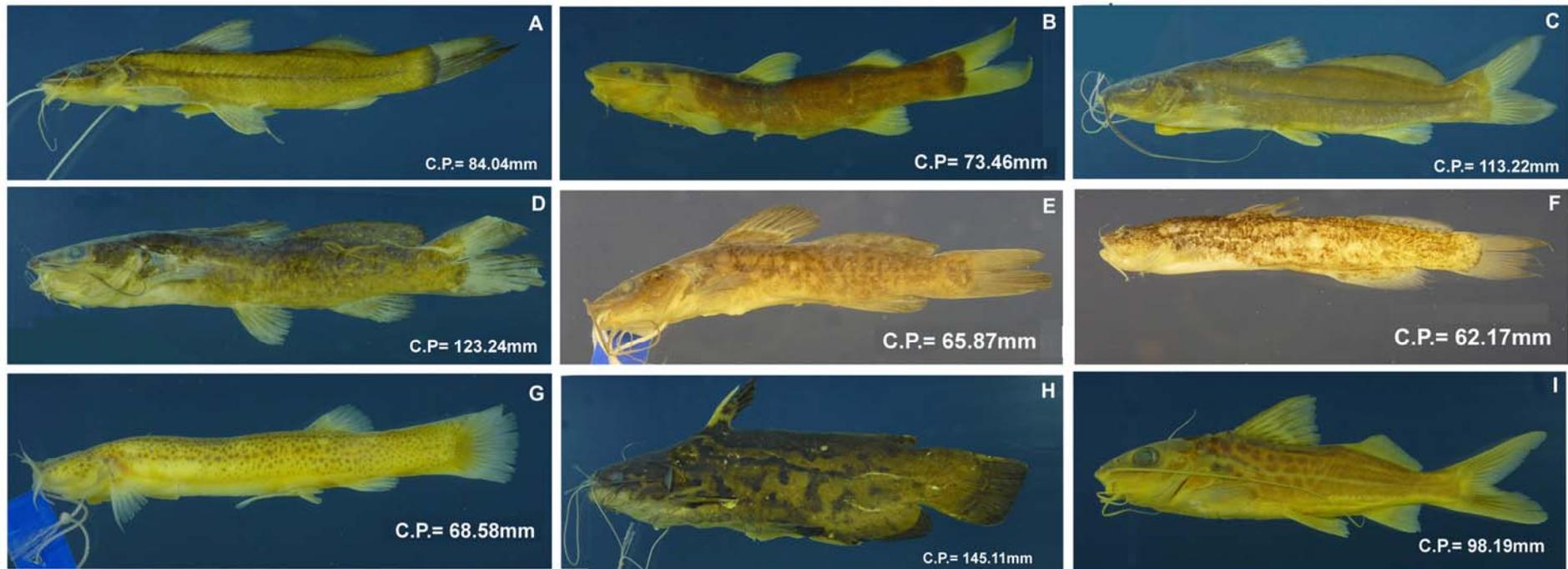


Figura 4. Espécies analisadas: (A) *Imparfinis schubarti*, (B) *Cetopsorhamdia iheringi*, (C) *Pimelodella vittata*, (D) *Rhamdia* sp. A aff. *R. quelen*, (E) *Rhamdia* sp. B aff. *R. quelen*, (F) *Rhamdiopsis* sp. cf. *R. microcephala*, (G) *Trichomycterus brasiliensis*, (H) *Parauchenipterus galeatus* e (I) *Pimelodus pohli*.

3.2 Metodologia

3.2.1 Indução de metáfase

Foi utilizada a técnica de indução do aumento na frequência mitótica nas células de defesa através da injeção de suspensão de levedura (LEE; ELDER, 1980).

3.2.2 Preparação de cromossomos mitóticos

Os cromossomos mitóticos foram obtidos de células do renais, por meio da técnica de preparação direta (BERTOLLO; TAKAHASHI; MOREIRA-FILHO, 1978), com pequenas modificações:

1. Injetar intraperitonealmente colchicina 0,025% na proporção de 1mL para cada 100g do animal.
2. Após aproximadamente 30 min sacrificar o animal, retirar o rim e dissociar em solução hipotônica de KCl 0,075mol/L.
3. Incubar a suspensão celular por 20 min em estufa a 37°C.
4. Pingar seis gotas de fixador (metanol/ácido acético-3:1) homogeneizar o material e centrifugar a 900rpm/10 min.
5. Descartar o sobrenadante e acrescentar 10mL de fixador, homogeneizar e centrifugar a 900rpm/10 min.
6. Repetir o passo 5 por mais duas vezes.

7. Após desprezar o sobrenadante da última centrifugação, adicionar 200 a 1000 μ L de fixador homogeneizar e guardar o material a -20°C .

Para a análise cromossômica, três gotas de suspensão celular foram pingadas sobre uma lâmina de vidro e coradas com Giemsa 5% em tampão fosfato (pH=6,8) por 7 min.

3.2.3. Bandamento C

A identificação das regiões de heterocromatina constitutiva seguiu a metodologia descrita por Sumner (1972): Mergulhar a lâmina em HCl 0,2 mol/L a 42°C por 15 min.

1. Lavar a lâmina e mergulhar em $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 5% a 42°C por 30" a 2'.
2. Em seguida mergulhar três vezes em HCl 0,2 mol/L.
3. Lavar a lâmina com água destilada e encubar em 2xSSC a 60°C por 30 min.
4. Lavar a lâmina, secar ao ar e corar com Giemsa 5% em tampão fosfato (pH=6,8) por 7 min.

3.2.4 Detecção das regiões organizadoras de nucléolo (Ag-NORs)

A identificação das regiões organizadoras de nucléolo pelo nitrato de prata (Ag-NORs) seguiu a técnica descrita por Howell e Black (1980), com algumas adaptações:

1. Mergulhar a lâmina em HCl 0,2 mol/L a 42°C por 3min.
2. Lavar em água corrente e secar ao ar.

3. Pingar na lâmina três gotas de solução aquosa de gelatina (2%) com ácido fórmico (1%).
4. Pingar seis gotas de AgNO_3 (50%), cobrir com uma lamínula e incubar na estufa a 60°C.
5. Quando a lâmina apresentar coloração castanha lavar em água corrente e secar ao ar.

3.2.5 Montagem dos cariótipos

Após análise em microscópio óptico as melhores metáfases foram capturadas em campo claro no microscópio Olympus BX50 utilizando o software ImagePro Plus Media Cybernetics. Os cariótipos foram montados com o software Adobe Photoshop 7.0. Os cromossomos foram classificados em metacêntricos (m), submetacêntricos (sm), subtelocêntricos (st) e acrocêntricos (a), de acordo com a razão de braços (LEVAN; FREGDA; SANDBERG, 1964) e arranjados em ordem decrescente em cada grupo cromossômico.

3.2.6 Hibridação in situ fluorescente (FISH)

A localização dos sítios de rDNA 18S e 5S foi obtida pela hibridação fluorescente *in situ* (FISH), com sondas de *Prochilodus lineatus* (Teleostei, Prochilodontidae), obtidas por Hatanaka e Galetti Jr. (2004) e de *Leporinus elongatus* (Teleostei, Anostomidae) por Martins e Galetti JR. (2001b), respectivamente. A FISH seguiu a metodologia descrita por Pinkel, Straume e Gray (1996):

1. As sondas foram marcadas com biotina através de “Nick Translation” com o kit Bionick™ Labeling System, seguindo-se as recomendações do fabricante (Invitrogen™).
2. Desidratar a lâmina em série alcoólica (etanol 70, 80 e 100%) por 5 min cada. Incubar as lâminas com RNase (40µg/mL em 2xSSC) em câmara úmida a 37°C por 1h.
3. Fixar os cromossomos com formaldeído 1%, PBS 1X, MgCl₂ 50mM por 10 min a temperatura ambiente.
4. Desidratar a lâmina em série alcoólica.
5. Desnaturar o DNA cromossômico com formamida 70% em 2xSSC a 70°C por 5 min.
6. Desnaturar a sonda em solução de hibridação (formamida 50%, sulfato dextrano 10%, 2xSSC, DNA de placenta humana 200µg/µL, sonda 3,75 ng/µL, volume final de 400µL) a 100°C por 10 min.
7. Colocar 50µL da solução de hibridação em cada lâmina e incubar em câmara umedecida com formamida 60% overnight.
8. Lavar com formamida 50% em 2xSSC a 42°C por 20 min e com 0,1xSSC a 60°C por 15 min.
9. Incubar as lâminas em tampão 5% NFDM (No Fat Dry Milk 5%, 4xSSC).
10. Incubar as lâminas com 90µL de FITC 2,5ng/µL em NFDM por 30 min.

11. Incubar as lâminas com 90 μ L de anti-avidina 1% em NFDM por 30 min.
12. Repetir o passo 10.
13. Repetir o passo 11.
14. Repetir o passo 10.
15. Desidratar em série alcoólica.
16. Montar a lâmina com 25 μ L de antifading e 1 μ L Iodeto de Propídio (50 μ g/ml) ou dapi (0.2 mg/ml).

4. Resultados

Os resultados estão organizados em três capítulos correspondentes a artigos científicos.

**Capítulo I - Citogenética de *Imparfinis schubarti* (Siluriformes: Heptapteridae)
da região de transposição do rio Piumhi, Estado de Minas Gerais, Brasil.**

Capítulo I

Cytogenetics of *Imparfinis schubarti* (Siluriformes: Heptapteridae) from the Piumhi drainage, a diverted river in Minas Gerais State, Brazil

ZOOLOGIA, v.26(4), p. 733-738, 2009.

Citogenética de *Imparfinis schubarti* (Siluriformes: Heptapteridae) da região de transposição do rio Piumhi, Estado de Minas Gerais, Brasil.

Daniel Luis Zanella Kantek¹⁻³; Wellington Adriano Moreira Peres¹, Paulo Andreas Buckup² & Orlando Moreira-Filho¹

¹ Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Genética e Evolução. Rodovia Washington Luís, Km 235, C.P. 676, CEP 13565-905, São Carlos, SP, Brasil

² Departamento de Vertebrados, Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Quinta da Boa Vista, CEP 20940-040, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

³ Corresponding author.

Abstract

Specimens of *Imparfinis schubarti* (Gomes, 1956) collected in the Piumhi river drainage, state of Minas Gerais, Brazil, were studied cytogenetically. The river was diverted from the Rio Grande Basin into the São Francisco basin in the early 1960s. All individuals presented $2n = 58$ chromosomes, including 18 metacentric, 34 submetacentric and six subtelocentric chromosomes. A secondary constriction was observed in the interstitial region of the long arm of the largest chromosome pair, coinciding with the NOR. A single conspicuous heterochromatic block located in the largest pair of metacentric chromosomes was observed, adjacent to the secondary constriction. A detectable 18S rDNA probe hybridization region occurs in only one chromosome pair and is syntenic with the marking obtained with 5S rDNA probe. These results fit the cytogenetic pattern previously described for the genus *Imparfinis* Eigenmann & Norris, 1900.

Keywords: Transposed river; subclade *Nemuroglanis*; FISH; São Francisco River Basin.

Resumo

Foram estudados citogeneticamente espécimes de *Imparfinis schubarti* (Gomes, 1956) coletados no rio Piumhi, Estado de Minas Gerais. Esse rio foi transposto da bacia do rio Grande para a bacia do rio São Francisco no início da década de 1960. Todos os indivíduos apresentaram $2n=58$ cromossomos, incluindo 18 metacêntricos, 34 submetacêntricos e seis subtelocêntricos. Uma constrição secundária foi visualizada na região intersticial do braço longo do maior par de cromossomos, o qual é coincidente com a RON. Apenas um bloco heterocromático conspícuo foi observado, localizado no primeiro par de cromossomos metacêntricos, adjacente à constrição secundária. O sinal proveniente da hibridação da sonda de rDNA 18S está presente em apenas um par cromossômico e é sintênico à marcação obtida com sonda de rDNA 5S. Os resultados obtidos neste trabalho se enquadram com o padrão citogenético descrito para o gênero *Imparfinis*.

Palavras chave: transposição de rio; subclado *Nemuroglanis*; FISH; bacia do rio São Francisco.

Introdução

Lundberg e colaboradores (1991a, b) dividiram a família Pimelodidae em dois presumíveis grupos monofiléticos, Pseudopimelodinae e Rhamdiinae, sugerindo que esta família não é monofilética em sua definição tradicional. A hipótese da polifilia da família Pimelodidae foi corroborada por Pinna (1998), o qual se baseou em estudos filogenéticos da ordem Siluriformes. Pinna (1998) também demonstrou a prioridade do nome Heptapterinae sobre Rhamdiinae. Bockmann e Guazzelli (2003) elevaram Heptapterinae à categoria de família, incluindo 190 espécies e 24 gêneros. Baseados em dados morfológicos, são reconhecidos na literatura alguns subclados de Heptapteridae (FERRARIS, 1998; LUNDBERG; BORN BUSH; MAGO-LECCIA, 1991; BOCKMANN, 1994). O gênero *Imparfinis* está incluído no subclado *Nemuroglanis*, juntamente com outros treze gêneros: *Acentronichthys*, *Cetopsorhamdia*, *Chasmocranus*, *Heptapterus*, *Horiomyson*, *Imperales*, *Medemichthys*, *Nannorhamdia*, *Nemuroglanis*, *Pariolius*, *Phenacorhamdia*, *Phreatobius* e *Rhamdiopsis*.

Imparfinis, com 18 espécies válidas (BOCKMANN; GUAZZELLI, 2003), é, filogeneticamente, um dos menos resolvidos grupos de Heptapteridae (BOCKMANN, 1994). Habitam as cabeceiras de rios desde a América Central até as áreas tropicais da América do Sul. As espécies deste gênero são de pequeno porte e possuem hábito bentônico e noturno (CASTRO; CASSATI, 1997).

Até o momento, seis espécies deste gênero foram estudadas citogeneticamente: *Imparfinis mirini* Haseman, 1911, com $2n=58$; *I. borodini* Mees & Cala, 1989, com $2n=52$; *I. piperatus* Eigenmann & Norris, 1900, com $2n=58$; *Imparfinis* sp. cf. *I. piperatus* com $2n=56$; *Imparfinis* sp. aff. *I. schubarti* com $2n=58$; e

I. hollandi Haseman, 1911 com $2n=42$ (Tabela I). Nestas espécies existe predominância de cromossomos do tipo metacêntricos e submetacêntricos e presença de RON simples intersticial.

Neste artigo é descrito o cariótipo de uma população de *Imparfinis schubarti* da bacia do rio Piumhi. Este rio, um tributário do rio Grande no estado de Minas Gerais, Brasil, foi transposto da bacia do rio Paraná para a Bacia do rio São Francisco na década de 1960. Durante a construção da barragem da hidroelétrica de Furnas no rio Grande, um dique secundário foi construído para evitar a inundação da cidade de Capitólio. Essa barragem secundária obrigou o desvio do rio Piumhi da bacia do rio Grande, para a bacia do rio São Francisco (MOREIRA-FILHO; BUCKUP 2005) (Figura 5). Este estudo faz parte de uma investigação abrangente sobre a mistura das faunas das bacias citadas.

Material e Métodos

Dez espécimes (4 machos and 6 fêmeas) coletados no ribeirão Minhoca ($20^{\circ}31'55.2''S$; $46^{\circ}02'42.1''W$), um pequeno tributário do rio Piumhi (MG) (Figura 5), foram citogeneticamente estudados neste trabalho. Os indivíduos espécimes foram depositados na coleção ictiologica do Museu Nacional do Rio de Janeiro (voucher MNRJ 29336 e MNRJ 32759). As metáfases mitóticas foram obtidas de acordo com Bertollo e colaboradores (1978) e Foresti e colaboradores (1993). A morfologia cromossômica foi determinada de acordo com a relação entre o tamanhos de braços, proposta por Levan e colaboradores (1965). O número fundamental (NF) foi estabelecido através da soma do número de braços cromossômicos, sendo dois braços para cromossomos metacêntricos (m), submetacêntricos (sm) e

subtelocêntricos (st) e um braço para cromossomos acrocêntricos (a). A heterocromatina constitutiva foi identificada com o método do hidróxido de bário (SUMNER, 1972) e as regiões organizadoras de nucléolos foram detectadas através da coloração com nitrato de prata (HOWELL; BLACK, 1980). As mesmas metáfases analisadas em coloração convencional Giemsa foram sequencialmente submetidas ao bandamento C.

A localização dos sítios de rDNA 18S e 5S nos cromossomos foi realizada utilizando a técnica de fluorescent *in situ* hibridization (FISH) (PINKEL; STRAUME; GRAY, 1986), com estrigência de 77%, e sondas obtidas de *Prochilodus argenteus* (HATANAKA; GALETTI Jr, 1994) e *Leporinus elongatus* (MARTINS; GALETTI Jr, 1999), respectivamente. As sondas foram marcadas com 14-dATP-biotin através de nick translation de acordo com as instruções do fabricante (Bionick Labelling System - Invitrogen). Os cromossomos foram corados com DAPI (0.2 mg/ml) e analisados em microscópio de epifluorescência Olympus BX50. O software Image-Pro Plus (Media Cybernetics) foi usado para a captura das imagens.

Resultados

Os exemplares apresentaram $2n=58$ cromossomos com $20m + 32sm + 6st$ (Figura 6) e número fundamental (NF=número de braços cromossômicos) 116. Não foram observadas diferenças cromossômicas entre os sexos. Uma constrição secundária coincidente com a RON foi observada em região intersticial do braço longo do primeiro par de cromossomos submetacêntricos. Diferenças nas marcações obtidas pela prata entre os cromossomos homólogos do par 10 foram frequentemente observadas (Figura 7). Os cromossomos possuem pouca

quantidade de heterocromatina constitutiva, exceto pelo par de cromossomos submetacêntricos, o qual possui bastante heterocromatina adjacente à constrição secundária (Figura 7).

A hibridização *in situ* com sondas de rDNA 18S evidenciou sinais fluorescentes coincidentes com as Ag-RONs localizadas na constrição secundária do primeiro par de cromossomos submetacêntricos. Estas marcas são heteromórficas entre os cromossomos homólogos (Figura 8). Os sinais produzidos pelo FISH 5S rDNA revelou um único *locus* sintênico ao rDNA 18S (Figura 9).

Discussão

O número diplóide de $2n=58$ identificado em *Imparfinis schubarti* é o mais comum descrito para *Imparfinis* (Tabela I), bem como para a ordem Siluriformes (OLIVEIRA et al., 1988). Espécies de *Imparfinis*, como a maioria dos Siluriformes, são caracterizadas pela predominância de cromossomos metacêntricos e submetacêntricos, e por altos valores de NF. Estas características correspondem a uma condição pleisiomórfica largamente distribuída nesta ordem (OLIVEIRA & GOSZTONYI, 2000). O NF=116 encontrado para *Imparfinis schubarti* é o mais comum para o gênero, sendo observado em *Imparfinis piperatus* (VISSOTTO; FORESTI; OLIVEIRA, 2001), *I. mirini* (VISSOTTO; FORESTI; OLIVEIRA, 1997; VISSOTTO, 2000) e *Imparfinis* sp. aff. *I. schubarti* (STOLF et al., 2004).

Regiões organizadoras de nucléolo simples localizadas no primeiro par de cromossomos metacêntricos e coincidentes com constrições secundárias intersticiais são características presentes em *I. schubarti*, *I. mirini*, *I. piperatus*-citótipos A e B, e *Imparfinis* sp. aff. *I. schubarti* (Tabela I). Se $2n=58$ é uma condição pleiomórfica

como sugerido por Oliveira e colaboradores (1988) e Fenocchio e colaboradores (2003), a redução do número de cromossomos pode ser considerada uma sinapomorfia, a qual agruparia *Imparfinis* sp. cf. *I. piperatus* do rio Juquiá (VISSOTTO; FORESTI; OLIVEIRA, 2001; FENOCCHIO et al., 2003), *I. borodini* (MARGARIDO; MOREIRA-FILHO, 2008) e *I. hollandi* (VISSOTTO; FORESTI; OLIVEIRA, 1999). Esta hipótese é corroborada pela não localização da região organizadora de nucléolo no maior par cromossômico. Além disso, a migração da região organizadora de nucléolo para uma posição terminal pode representar uma sinapomorfia agrupando *I. hollandi* e *I. borodini*.

Deste modo, é possível supor que as espécies *I. schubarti*, *I. mirini*, *I. piperatus*-citótipos A e B, e *Imparfinis* sp. aff. *I. schubarti* (Tabela 1) formam um grupo natural e podem ser diferenciadas citogeneticamente das demais espécies da família Heptapteridae, pois essas características estão ausentes em quase todas as outras espécies da família já estudadas citogeneticamente. *Imparfinis piperatus* estudado por Vicente, Jesus e Moreira-Filho (1994), *Imparfinis* sp. cf. *I. piperatus* de Vissoto, Foresti e Oliveira (2001) e *Imparfinis* sp. cf. *I. piperatus* de Fenocchio e colaboradores (2003) formam um outro grupo, dentro do gênero *Imparfinis*, de espécies/populações que apresentam $2n=56$ e RONS não localizadas no primeiro par de metacêntricos. Vissoto, Foresti e Oliveira (2001) também sugerem a formação destes grupos.

Segundo Fenocchio e colaboradores (2003), *Cetopsorhamdia* sp. coletado no rio Canta Galo (Município de Itirapina, SP, Brasil) possui RON localizada no maior par de cromossomos metacêntricos e $2n=58$. Em *Cetopsorhamdia iheringhi* Schubart & Gomes, 1959 (VISSOTTO; FORESTI; OLIVEIRA, 1999) a Ag-RON também é intersticial e se encontra nos maiores cromossomos do complemento, entretanto

localiza-se em cromossomos submetacêntricos. Neste último estudo, um conspícuo bloco heterocromático foi observado adjacente à Ag-RON. Os gêneros *Imparfinis* e *Cetopsorhamdia* fazem parte de um subgrupo da família Heptapteridae denominado "sub-clado *Nemuroglanis*" (FERRARIS, 1998; LUNDBERG; BORN BUSH; MAGO-LECCIO, 1991; BOCKMANN, 1994). A ausência das características citadas em heptapterídeos que não são membros deste subclado, como *Rhamdia* Bleeker, 1858 e *Pimelodella* Eigenmann e Eigenmann, 1888, sugere que estas podem ser características apomórficas compartilhadas por pelo menos estes dois gêneros.

A aplicação da sonda de rDNA 18S confirmou os dados obtidos com a impregnação por nitrato de prata e revelou heteromorfismo no único par cromossômico portador de RONS em *Imparfinis schubarti*. Stolf e colaboradores (2004) identificaram em *Imparfinis* sp. aff. *I. schubarti* um padrão idêntico ao observado neste estudo, porém com ausência de heteromorfismo.

Em eucariotos superiores, os genes 5S e 18S estão freqüentemente dispostos em pares cromossômicos separados (LONG; DAVID, 1980; LUCCHINI et al., 1993; DROUIN; MONIZ DE SÁ, 1995). Esta é a condição mais frequente em peixes (MARTINS; GALETTI Jr, 2001) e representa uma situação ancestral em relação à organização e evolução cromossômica (MARTÍNEZ et al., 1996). A localização sintênica do rDNA 5S e 18S observada em *I. schubarti* é uma condição apomórfica, futuras investigações da distribuição destes rDNAs entre espécies de *Imparfinis* podem prover um bons dados filogenéticos.

A distribuição natural de *I. schubarti* compreende a bacia do Alto Rio Paraná (BOCKMANN; GUAZZELLI, 2003; BOCKMANN, 2007). Entretanto, devido à transposição do rio Piumhi no começo dos anos 60, várias espécies da bacia do alto Paraná foram introduzidas na bacia do rio São Francisco (Figura 5) (MOREIRA-

FILHO; BUCKUP, 2005). A presença de *I. schubarti* na região do canal de transposição do rio Piumhi, agora pertencente à bacia do rio São Francisco, enfatiza a importância de estudos citogenéticos e taxonômicos envolvendo espécies nativas da bacia do São Francisco, como *Imparfinis minutes* (Lütken, 1874). O presente estudo representa o ponto de partida para a avaliação da possibilidade de hibridização de outras espécies com *I. schubarti*.

Bibliografia

BERTOLLO, L. A. C.; TAKAHASHI, C. S.; MOREIRA-FILHO, O. Cytotaxonomic consideration on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). **Brazilian Journal of Genetic**, v. 1, p. 103-120, 1978.

BOCKMANN, F.A. Description of *Mastiglanis asopos*, a new pimelodid catfish from northern Brazil, with comments on phylogenetic relationships inside the subfamily Rhamdiinae (Siluriformes: Pimelodidae). **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v.107, p. 760-777. 1994.

BOCKMANN, F.A. Família Heptapteridae In: BUCKUP, P.A.; MENEZES, N.A.; GHAZZI, M.S. (Eds). **Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil**. Rio de Janeiro: Museu Nacional, 2007. p.104-109.

BOCKMANN, F.A; GUAZZELLI, G.M. Family Heptapteridae (Heptapterids) In: REIS, R.E.; KULLANDER, S.O.; FERRARIS JR, C.J. **Checklist of the freshwater fishes of South and Central America**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2003. p. 406-431.

DROUIN, G.; MONIZ DE SÁ, M. The concerted evolution of 5S ribosomal genes linked to the repeat units of other multigene families. **Molecular Biology and Evolution**, v.12, p. 481-493, 1995.

FENOCCHIO, A.S. et al. Cytogenetic Studies and Correlate Considerations on Rhamdiinae Relationships (Pisces, Siluroidei, Pimelodidae). **Cytologia**, v.68, p. 363-368, 2003.

FERRARIS Jr, C.J. Relationships of the neotropical catfish genus *Nemuroglanis*, with a description of a new species (Osteichthyes: Siluriformes: Pimelodidae). **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v.101, p. 509-516, 1988.

FERRARIS Jr, C.J. (Eds). **Checklist of the Freshwater Fishes of South and Central America**. Porto Alegre: Edipucrs, 1998. 729p.

CASTRO, R.N.; CASATTI. L. The fish fauna from a small forest stream of the upper Parana river basin, southeastern Brazil. **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, v.7, p. 337-352, 1997

FORESTI, F.; OLIVEIRA C.; ALMEIDA-TOLEDO. L.F. A method for chromosome preparations from large fish specimens using *in-vitro* short-term treatment with colchicines. **Experientia**, v.49, p. 810-813, 1993.

HATANAKA, T.E.; GALETTI Jr., P.M. Mapping of the 18S and 5S ribosomal RNA genes in the fish *Prochilodus argenteus*, Agassiz, 1829 (Characiformes, Prochilodontidae). **Genetica**, v. 122, p. 239-244, 2004.

HOWELL, W. M.; BLACK, D. A. Controlled silver staining of Nucleolus Organizer Regions with protective colloidal developer: a one-step method. **Experientia**, v. 36, p. 1014-1015, 1980.

LEVAN, A.; FREDGA, K. E.; SANDBERG, H. A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. **Hereditas**, v. 52, p. 201-220, 1964.

LONG, E.O.; DAVID, I.B. Repeated genes in eukaryotes. **Annual Review of Biochemistry**, v.49, p. 727-764, 1980.

LUCCHINI, S.; NARDI, I.; BARSACCHI, G.; BATISTONI, R.; ANDRONICO, F. Molecular cytogenetics of the ribosomal (18S + 28S and 5S) DNA loci in primitive and advanced urodele amphibians. **Genome** v. 36, p. 762-773, 1993.

LUNDBERG, J.G.; BORNBUH A.H.; MAGO-LECCIA, F. *Gladioglanis conquistador* n. sp. from Ecuador with Diagnoses of the Subfamilies Rhamdiinae Bleeker and Pseudopimelodinae n. subf. (Siluriformes: Pimelodidae). **Copeia**, v.1, p. 190-209, 1991a.

LUNDBERG, J.G.; MAGO-LECCIO F.; NASS. P.. *Exallondontus aguanai*, a new genus and species of Pimelodidae (Pisces, Siluriformes) from the deep river channels of South America, and delimitation of the subfamily Pimelodidae. **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v.104, p. 840-869, 1991b

MARGARIDO, V.P.; MOREIRA-FILHO, O. Karyotypic differentiation through chromosome fusion and number reduction in *Imparfinis hollandi* (Ostariophysi, Heptapteridae). **Genetics and Molecular Biology**, v.31 p. 235-238, 2008.

MARTÍNEZ, J.L. et al. Chromosomal localization of the major and 5S rRNA genes in the European eel (*Anguilla anguilla*). **Cytogenetics and Cell Genetics**, v.73, p. 149-152, 1996

MARTINS, C.; GALETTI Jr., P.M. Chromosomal localization of 5s rDNA genes in *Leporinus* fish (Anostomidae, Characiformes). **Chromosome Research**, v.7, p. 363-367, 1999.

MARTINS, C.; GALETTI Jr., P.M. Two 5S rDNA arrays in Neotropical fish species: is it a general rule for fishes? **Genetica**, v.111, p. 439-446, 2001.

MOREIRA-FILHO, O.; BUCKUP, P. A. A poorly known case of watershed transposition between the São Francisco and upper Paraná river basins. **Neotropical Ichthyology**, v. 3, p. 445-448, 2005.

OLIVEIRA, C. et al. Chromosome formulae of neotropical freshwater fishes. **Brazilian Journal of Genetics**, v. 11, p. 577-624, 1988.

OLIVEIRA, C.; GOSZTONYI, A.E. A cytogenetic study of *Diplomistes mesembrinus* (Teleostei, Siluriformes, Diplomystidae) with a discussion of chromosome evolution in siluriforms. **Caryologia**, v.53, p. 31-37, 2000.

PINNA, M.C.C. Phylogenetics relationships of Neotropical Siluriformes: historical overview and synthesis of hypothesis. In: MALABARBA, L.R.; REIS, R.E.; VARI, R.P.; LUCENA, Z.M.S.; LUCENA, C.A.S. (eds.). **Phylogeny and classification of Neotropical Fishes**. Porto Alegre: Edipucrs, 1988, p. 79-330.

PINKEL, D.; STRAUME, T.; GRAY, J. W. Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. **Proceedings of the National Academy of Science**, USA. v. 83, p 2934-2938, 1986.

STOLF, R. et al. Analyses of karyotype and nucleolar organizer regions of *Imparfinis* aff. *schubarti* (Siluriformes, Pimelodidae) of the Tibagi river basin, Paraná, Brazil. **Caryologia**, v.57, p. 348-352, 2004.

SUMNER, A. T. A simple technique for demonstrating centromeric heterocromatin. **Experimental Cell Research**, v. 75, p. 304-306, 1972.

VICENTE, V.E.; JESUS, C.M.; MOREIRA-FILHO, O. Chromosomal localization of 5S and 18S genes in three *Parodon* species (Pisces, Parodontidae). **Caryologia**, Firenze, v.54, p. 365-369, 2001.

VISSOTTO, P.C. **Análise citogenética no gênero *Imparfinis* (Pisces, Siluriformes, Pimelodidae)**. 2000. Dissertação, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2000.

VISSOTTO, P.C.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. A ZZ/ZW sex chromosome system in *Imparfinis mirini* (Pisces, Siluriformes). **Cytologia**, v.62, p. 61-66, 1997.

VISSOTTO, P.C.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. Karyotypic characterization of five species of Pimelodidae (Teleostei, Siluriformes). **Chromosome Science**, v.3, p. 1-7, 1999.

VISSOTTO, P.C.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. Karyotypic characterization of two species of the genus *Imparfinis* (Teleostei, Siluriformes, Haptapteridae). **Chromosome Science**, v.5, p. 97-103, 2001.

Tabela I. Dados citogenéticos existentes para o gênero *Imparfinis*.

Espécies de <i>Imparfinis</i>	Localidade– Estado*	2n	NF	Cariótipo	RON	Referências
<i>I. hollandi</i>	Rio Iguaçu - PR	42	84	22m+10sm+10st	par 18 - terminal – st	Margarido & Moreira-Filho, 2008
<i>I. borodini</i> [§]	Córrego da Quinta – SP	52	116	22m+26sm+4st	dois pares - terminal	Vissotto <i>et al.</i> , 1999
<i>I. piperatus</i> cit. A	Rio Araras – SP	58	116	32m+26sm	par 1 - intersticial – m	Vissotto <i>et al.</i> , 2001
<i>I. piperatus</i> cit. B	Rio Grande – SP	58	106	26m+22sm+8st+2a	par 1 - intersticial – m	Vissotto <i>et al.</i> , 2001
<i>I. sp. cf. I. piperatus</i>	Rio Juquiá – SP	56	108	22m+26sm+4st+4a	par 28 - intersticial - a	Vissotto <i>et al.</i> , 2001
<i>I. sp. cf. I. piperatus</i>	Rio quiá – SP	56	112	24m+12sm+20st	par 22 - intersticial I - st	Fenocchio <i>et al.</i> , 2003
<i>I. mirini</i>	Córrego Jacutinga – SP	58	116	24m+34sm	par 1 - intersticial – m	Vissotto <i>et al.</i> , 1997
<i>I. mirini</i>	Córrego Jacutinga – SP	58	116	24m+34sm	par 1 - intersticial – m	Vissotto 2000
<i>I. mirini</i>	Rio Alambarí – SP	58	116	24m+34sm	par 1 - intersticial – m	Vissotto 2000
<i>I. mirini</i>	Rio Capivari – SP	58	116	24m+34sm	par 1 - intersticial – m	Vissotto 2000
<i>I. mirini</i>	Córrego Três Barras – SP	58	116	24m+34sm	par 1 - intersticial – m	Vissotto 2000
<i>I. mirini</i>	Córrego da Quinta – SP	58	116	24m+34sm	par 1 - intersticial – m	Vissotto <i>et al.</i> , 1997
<i>I. mirini</i>	Córrego da Quinta – SP	58	116	24m+34sm	par 1 - intersticial – m	Vissotto 2000
<i>I. mirini</i>	Rio Novo – SP	58	116	24m+34sm	par 1 - intersticial – m	Vissotto 2000
<i>I. mirini</i>	Rio Pardo – SP	58	116	24m+34sm	par 1 - intersticial – m	Vissotto 2000
<i>I. mirini</i>	Córrego Canta Galo – SP	58	116	24m+34sm	par 1 - intersticial – m	Vissotto 2000
<i>I. sp. aff. I. schubarti</i>	Córrego Canta Galo – SP	58	108	22m+18sm+10st+8a	par 1 - intersticial – m	Fenocchio <i>et al.</i> , 2003
<i>I. sp. aff. I. schubarti</i>	Ribeirão Três Bocas – PR	58	108	22m+18sm+10st+8a	par 1 - intersticial – m	Fenocchio <i>et al.</i> , 2003
<i>I. sp. aff. I. schubarti</i>	Rio Tigabi – PR	58	116	28m+28sm+2st	par 1 - intersticial – m	Stolf <i>et al.</i> , 2004.
<i>I. schubarti</i>	Ribeirão das Minhocas – MG	58	116	18m+34sm+6st	par 10 - intersticial –sm	Presente estudo

*SP=São Paulo, PR=Paraná e MG=Minas Gerais. [§] Citado como *Heptapterus longicauda*.

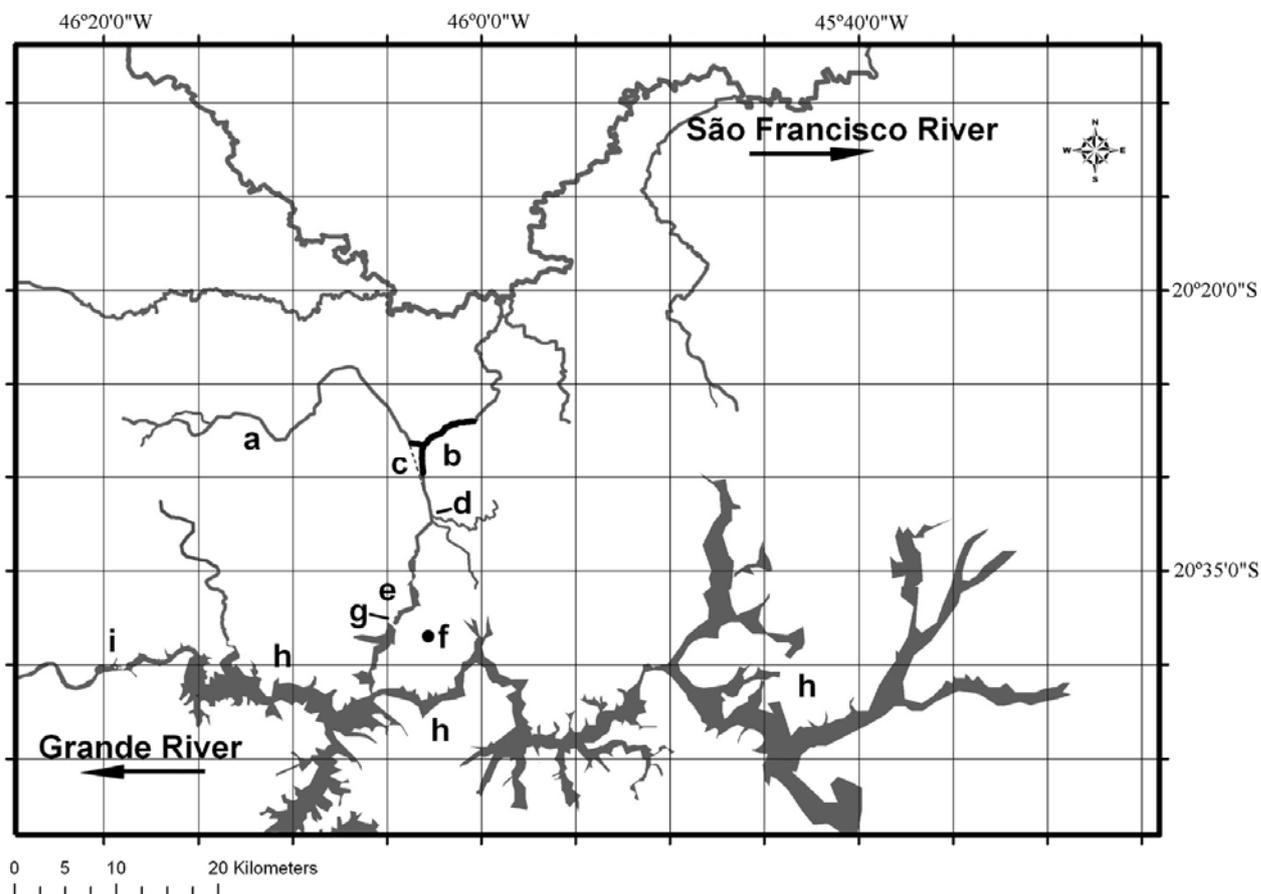


Figura 5. Região de Transposição do rio Piumhi. (a) rio Piumhi, (b) canal de transposição (linhas pretas), (c) antigo canal do rio Piumhi (linha tracejada), antes da transposição, (d) local de coleta, (e) porção represada do rio Piumhi após a construção do dique de Capitólio, (f) Cidade de Capitólio, (g) Dique de Capitólio, (h) Lago de Furnas, (i) rio Grande e (h) reservatório da Hidroelétrica de Furnas.

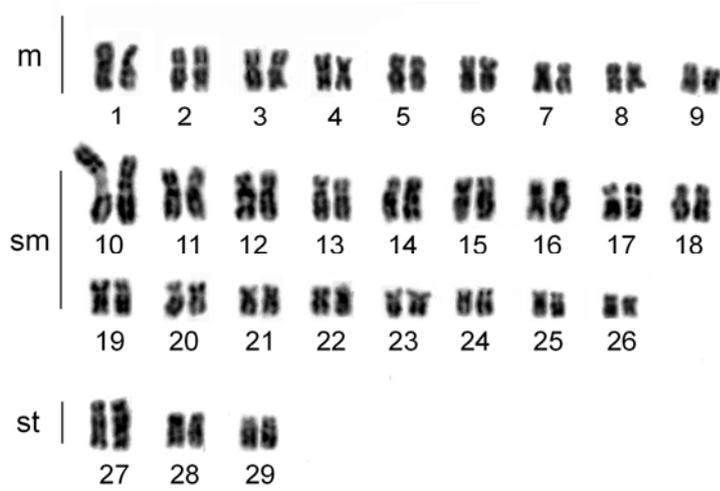


Figura 6. Cariótipos em Coloração Giemsa de *Imparfinis schubarti*.



Figura 7. Cariótipo de *Imparfinis schubarti* após bandamento C. Na caixa, Ag-NOR intersticial no maior par cromossômico.

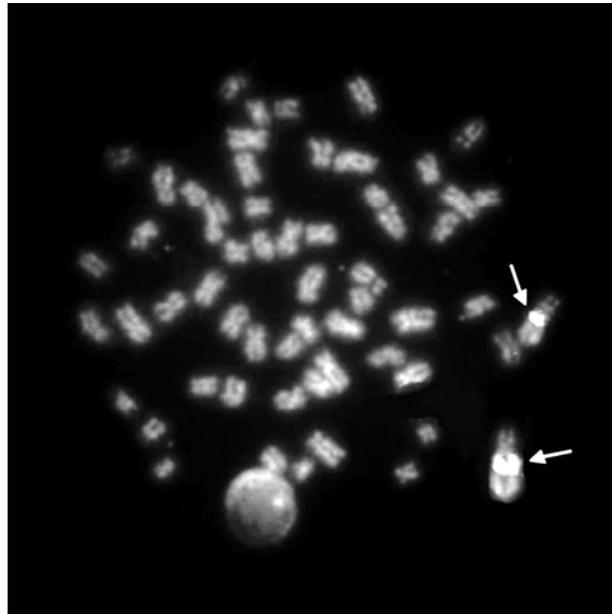


Figura 8. Distribuição cromossômica do sítio de rDNA 18S em *Imparfinis schubarti*.

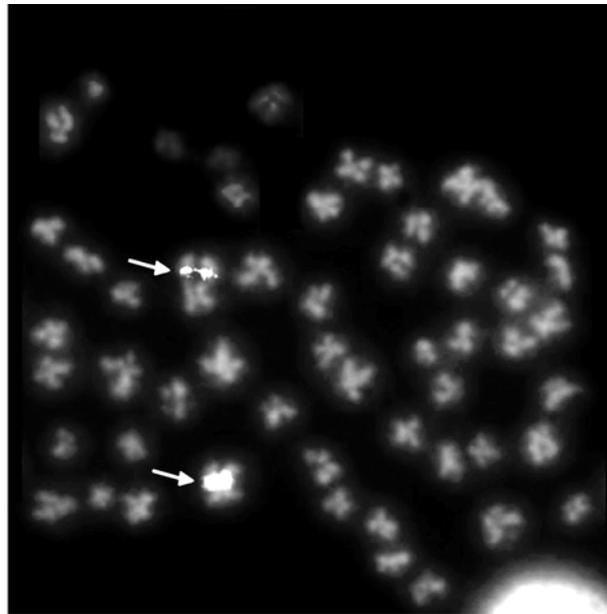


Figura 9. Distribuição cromossômica do sítio de rDNA 5S em *Imparfinis schubarti*.

Capítulo II - Estudo citogenético de heptapterídeos (TELEOSTEI, SILURIFORMES) da região de transposição do rio Piumhi, Estado de Minas Gerais, Brasil.

Estudo citogenético de heptapterídeos (TELEOSTEI, SILURIFORMES) da região de transposição do rio Piumhi, Estado de Minas Gerais, Brasil.

Resumo

Foram descritas citogeneticamente cinco espécies da família Heptapteridae: *Cetopsorhamdia iheringi* com 28m + 26sm + 4st, *Pimelodella vittata* com 16m + 22sm + 8st, *Rhamdia* sp. A aff. *R. quelen* com 26m + 16sm + 14st + 2a, *Rhamdia* sp. B aff. *R. quelen* com 28m + 20sm + 10st e *Rhamdiopsis* sp. cf. *R. microcephala* com 12m + 30sm + 14st. Todas as espécies estudadas possuem RONS simples. Os exemplares foram coletados na bacia do rio Piumhi, o qual foi transposto da bacia do rio Paraná para a Bacia do rio São Francisco na década de 1960. Os resultados obtidos através de técnicas convencionais e da utilização da FISH corroboram as hipóteses taxonômicas sobre a formação do subclado *Nemuroglanis* na família Heptapteridae. A análise dos dados obtidos permitiram elaborar algumas hipóteses sobre possíveis dispersões decorrentes da transposição do rio Piumhi.

Palavras chave: Heptapteridae; rDNA 5S; rDNA 18S, triploidia.

Introdução

A família Pimelodidae foi dividida por Lundberg e colaboradores (1991a, b) nas subfamílias Pimelodinae, Pseudopimelodinae e Rhamdiinae. Pinna (1998), baseado em estudos filogenéticos da ordem Siluriformes, elevou a subfamília Rhamdiinae à categoria de família. Recentemente, Bockmann e Guazzelli (2003) estabeleceram a família Heptapteridae no lugar de Rhamdiidae, a qual compreende 24 gêneros e 189 espécies (FERRARIS, 2007) de peixes de pequeno porte, vulgarmente conhecidos como bagres, mandis ou mandizinhos. Estes animais são caracterizados pela presença de uma longa nadadeira adiposa, três pares de barbilhões, corpo alongado e coloração acinzentada. São peixes endêmicos do neotrópico, possuem uma ampla distribuição em cursos d'água da América Central e do Sul, sendo que várias espécies estão distribuídas em áreas de endemismo ictiológico. Vivem no fundo de rios pequenos e médios, de profundidades médias e pequenas, normalmente solitários e de hábitos noturnos (BOCKMANN; GUAZZELLI, 2003).

Baseados em dados morfológicos, são reconhecidos na literatura alguns subclados de Rhamdiinae (=Heptapteridae) (FERRARIS, 1988; LUNDBERG; BORNBUUSH; MAGO-LECCIO, 1991; BOCKMANN, 1994), sendo que *Rhamdia* e *Pimelodella* pertencem a um grupo basal da família Heptapteridae, e *Cetopsorhamdia*, *Imparfinis* e *Rhamdiopsis* estão inseridos no subclado *Nemuroglanis*.

O número diplóide da família Heptapteridae varia de $2n=42$ em *Imparfinis hollandi* (MARGARIDO; MOREIRA-FILHO, 2008) até $2n=58$ em várias outras espécies da família, sendo este último o número diplóide mais freqüente (SWARÇA,

FENOCHIO; DIAS, 2007). Os cariótipos são formados principalmente por pares de cromossomos do tipo metacêntrico e submetacêntrico. As Regiões Organizadoras de Nucléolos normalmente estão presentes em apenas um par cromossômico, podendo ser terminais ou intersticiais.

O rio Piumhi (MG) foi transposto da bacia do rio Paraná para a Bacia do rio São Francisco na década de 1960. Para que não ocorresse o alagamento da cidade de Capitólio (MG) devido ao fechamento das comportas da represa de Furnas, foi erguido um dique separando o rio Piumhi da bacia do rio Grande. Posteriormente, foi construído um sistema de drenagem alterando o curso do rio Piumhi, o qual foi desviado para a bacia do rio São Francisco (MOREIRA-FILHO; BUCKUP, 2005) (Figura 10). Este estudo faz parte de uma investigação abrangente sobre a mistura das faunas das bacias citadas, bem como sobre as questões citogenéticas e taxonômicas referentes às espécies em estudo. Neste artigo são descritos os cariótipos de espécies dos gêneros *Cetopsorhamdia*, *Pimelodella*, *Rhamdia* e *Rhamdiopsis* da região do rio Piumhi.

Material e Métodos

Cinco espécies da família Heptapteridae foram coletadas no ribeirão das Minhocas (S 20°31'55.2", N 046°02'42.1"), afluyente do rio Piumhi (MG) (Figura 1): 9 exemplares (7 machos e duas fêmeas) de *Cetopsorhamdia iheringi* (MNRJ 31477), 6 exemplares (5 machos e uma fêmea) de *Pimelodella vittata* (MNRJ 29330), 10 exemplares (5 machos, 4 fêmeas e um de sexo indeterminado) de *Rhamdia* sp. A aff. *R. quelen* (MNRJ 29329, MNRJ 29326) e 18 exemplares (8 machos, 7 fêmeas e 3 de sexo indeterminado) de *Rhamdiopsis* sp. cf. *R. microcephala* (MNRJ 29325),

todos coletados no ribeirão das Minhocas, afluente do rio Piumhi (MG). Foram coletados também 2 exemplares machos de *Rhamdia* sp. B aff. *R. quelen* (MNRJ 29332) no Ribeirão dos Patos, Bacia do rio São Francisco (MG) (S 20°26'10.6", N 045°47'31.1")(Figura 10).

As metáfases mitóticas foram obtidas de acordo com Bertollo et al. (1978). A morfologia cromossômica foi determinada de acordo com a relação entre os tamanhos dos braços proposta por Levan et al. (1964), sendo categorizados em metacêntricos (m), submetacêntricos (sm) e subtelocêntricos (st). A heterocromatina foi identificada com o método do hidróxido de bário (SUMNER, 1972) e as regiões organizadoras de nucléolos foram detectadas através da coloração com nitrato de prata (HOWELL; BLACK, 1980). As mesmas metáfases que foram analisadas em coloração convencional (Giemsa) foram submetidas ao bandamento C, permitindo a montagem de cariótipos seqüenciais.

A localização dos sítios de rDNA 18S e 5S nos cromossomos foi realizada utilizando a técnica de hibridização fluorescente *in situ* (FISH)(PINKEL; STRAUME; GRAY, 1986), com estrigência de 77%, e sondas obtidas de *Prochilodus argenteus* (HATANAKA; GALETTI JR, 2004) e *Leporinus elongatus* (MARTINS; GALETTI Jr, 2001), respectivamente. As sondas foram marcadas com 14-dATP-biotin através de nick translation de acordo com as instruções do fabricante (Bionick Labelling System - Invitrogen). Os cromossomos foram corados com DAPI (0.2 mg/ml) e analisados em microscópio de epifluorescência Olympus BX50. O software Image-Pro Plus (Media Cybernetics) foi usado para a captura das imagens.

Resultados

Os resultados obtidos estão sumarizados na Tabela 2 e Figuras 11, 12 e 13.

Em todas as espécies analisadas não foram observadas diferenças cromossômicas entre os sexos, com exceção de *Rhamdia* sp. B aff. *R. quelen*, a qual não teve exemplares fêmeas analisadas e portanto não foi possível comparar os sexos.

Foi encontrado um exemplar triploide de *Rhamdia* sp. A aff. *R. quelen*, com $3n=87$ (Figura 14).

Em *C. iheringi* e *Rhamdiopsis* sp. cf. *R. microcephala* uma constrição secundária conspícua coincidente com a RON é facilmente observada em região intersticial do braço curto dos pares n°1 e n°16, respectivamente (Figuras 11A e 13A). O bandamento C evidenciou vários blocos heterocromáticos localizados próximos aos centrômeros de vários cromossomos das duas espécies (Figuras 11B e 13B). Em *C. iheringi* é possível visualizar vários blocos C⁺ presentes nos cromossomos do par portador da RON. Em *Rhamdiopsis* sp. cf. *R. microcephala* também existem blocos heterocromáticos localizados nos mesmos cromossomos das RONS.

Em *P. vittata* e *Rhamdia* sp. A aff. *R. quelen* e as RONS estão presentes em apenas um par cromossômico, sendo terminais nas duas primeiras e intersticial na última (Figuras 12A e 15F). Em *Rhamdia* sp. B aff. *R. quelen* não foi possível obter as RONS através da técnica por impregnação por nitrato de prata.

De maneira geral, os cromossomos de *Rhamdia* sp. A aff. *R. quelen*, *Rhamdia* sp. B aff. *R. quelen* e *P. vittata*, não apresentaram grande quantidade de heterocromatina, entretanto em *P. vittata* é possível visualizar marcações fracas localizadas próximas aos centrômeros (Figuras 11D, 12B e 12D).

A aplicação da sonda de rDNA 18S através da FISH confirmou os dados obtidos com a impregnação por nitrato de prata, existe apenas um único par cromossômico portador de RONS em todas as espécies analisadas (Figuras 15 e 16). Em *Rhamdia* sp. B aff. *R. quelen* a marcação obtida corresponde à constrição secundária presente no par 19 (Figura 16E).

A FISH com sondas ribossomais 5S, em *C. iheringi*, revelou a existência de grandes quantidades destas sequências no cromossomo portador da RON, cobrindo a maior parte do cromossomo e localizadas acima e abaixo dos sítios ribossômicos 18S (Figura 15B). As outras quatro espécies possuem marcações de tamanho reduzido, quando comparadas com as marcações obtidas *C. iheringi*. (Figuras 15 e 16)

Discussão

O $2n=58$ identificado em *C. iheringi* e *Rhamdia* sp. A aff. *R. quelen* e *Rhamdia* sp. B aff. *R. quelen* é o mais frequente para a família Heptapteridae, bem como para seus respectivos gêneros (TOLEDO; FERRARI, 1976; FENOCCHIO; BERTOLLO, 1990; VISSOTO; FORESTI; OLIVEIRA, 1999; VISSOTO; FORESTI; OLIVEIRA, 2001; STOLF et al., 2004; KANTEK et al., 2009). O $2n=46$ observado em *P. vittata* é o mesmo observado em *Pimelodella* sp. do rio Mogi-Guaçu (SP) (DIAS; FORESTI, 1993), *Pimelodella* sp.1 do rio Paraná (VASCONCELOS; MARTINS-SANTOS, 2000), em *Pimelodella avanhandavae* dos rios Araquá e Capivara (SP) (VISSOTO; FORESTI; OLIVEIRA, 1999) e em *Pimelodella meeki* da bacia do rio Tibagi (PR) (VIDOTTO et al., 2004), evidenciando uma possível proximidade evolutiva entre as espécies citadas. Outras espécies congêneres possuem números diplóides distintos (VASCONCELOS; MARTINS-SANTOS, 2000; SWARÇA; VIDOTTO; DIAS, 2003).

A ocorrência de um espécime triplóide, com $3n=87$ cromossomos, não representa uma novidade entre os peixes, principalmente em *Rhamdia*, onde três (03) casos já foram constatados, segundo revisão de Swarça, Fenocchio e Dias (2007). Possivelmente, a fecundação de um gameta não reduzido por outro gameta normal, como um óvulo ($2n$) por um espermatozóide (n), seja o evento mais provável que deu origem a estes exemplares (MORELLI; BERTOLLO; MOREIRA-FILHO, 1983; GIULIANO-CAETANO; BERTOLLO, 1990; KANTEK et al., 2007).

A presença de RON intersticial, normalmente localizada no maior cromossomo do complemento e adjacente à um bloco C+, e predominância de $2n=58$, são caracteres diagnósticos do subclado *Nemuroglanis*. Em todas as espécies de *Cetopsorhamdia* já estudadas, bem como na maioria das espécies do gênero *Imparfinis* estas características estão presentes. Entretanto, em *Imparfinis piperatus* (VICENTE. MARGARIDO; GALETTI JR., 1994) e *Imparfinis cf. piperatus* (VISSOTO; FORESTI; OLIVEIRA, 2001; FENOCCHIO et al., 2003) ocorre $2n=56$ e RON intersticial localizada em cromossomos não metacêntricos e não correspondentes aos maiores cromossomos do cariótipo, evidenciando a formação de dois grupos com relação aos dados citogenéticos disponíveis (KANTEK et al., 2009). Os resultados apresentados para *Rhamdiopsis* sp. cf. *R. microcephala* neste estudo permitem enquadrá-lo no segundo grupo, sugerindo que a relação de parentesco entre *Rhamdiopsis* sp. *R. microcephala* é mais íntima com *Imparfinis piperatus* do rio São João/SP (VICENTE. MARGARIDO; GALETTI JR., 1994) e *Imparfinis cf. piperatus* do rio Juquia/SP (VISSOTO; FORESTI; OLIVEIRA, 2001; FENOCCHIO et al., 2003) do que com as outras espécies do gênero *Imparfinis* que pertencem ao outro grupo. Isto significa que as populações/espécies de *Imparfinis*

com $2n=56$ são mais próximas de *Rhamdiopsis* do que do grupo de *Imparfinis* e *Cetopsorhamndia* com $2n=58$.

As duas espécies de *Rhamdia* deste trabalho e *P. vittata*, possuem padrões citogenéticos distintos dos táxons já estudados do subclado *Nemuroglanis*, corroborando com os dados taxonômicos da família. A existência de características citogenéticas que separam os grupos reconhecidos de Heptapteridae foi inicialmente proposta por Fenocchio et al. (2003). Até mesmo o padrão de marcas instresticiais C^+ é mais semelhante entre as espécies do subclado *Nemuroglanis*. *C. iheringi* e *Rhamdiopsis* sp. cf. *R. microcephala* apresentam o padrão citado. Outras espécies da família Heptapteridae não pertencentes ao referido subclado, como *Rhamdia* e *Pimelodella*, possuem padrões de distribuição da heterocromatina distintos. Todavia, a grande maioria das espécies desta família ainda não foi estudada citogeneticamente, e assim a ampliação destes estudos devem auxiliar na elaboração de propostas mais abrangentes.

Outra característica citogenética que aparentemente diagnostica o subclado *Nemuroglanis* é a sintenia entre o rDNA 5S e 18S. Até o momento, apenas *Imparfinis schubarti* (KANTEK et al., 2009) e *C. iheringi* (presente estudo) apresentam esta característica. Outros gêneros da família Heptapteridae, como *Pimelodella* e *Rhamdia* (presente estudo, GARCIA et al., 2003; GARCIA, 2005; GARCIA, 2009), não possuem a citada sintenia. Entretanto, *Rhamdiopsis* sp. cf. *R. microcephala*, apesar de estar incluída neste subclado, não possui esta característica, indicando que a associação entre rDNA 5S e 18S talvez seja uma apomorfia compartilhada pelo grupo de espécies do subclado *Nemuroglanis* que possuem $2n=58$ e RON intersticial localizada nos maiores cromossomos do cariótipo.

O gene ribossomal 5S consiste em múltiplas cópias de uma sequência de 150 pares de base altamente conservadas (LONG; DAVID, 1980), separadas por espaçadores não transcritos altamente variáveis (WILLIAMS; STROBECK, 1985). Estas variações causadas por inserções/deleções, mini-repetições e pseudogenes são úteis para estudos evolutivos e servem como marcadores populacionais em vários organismos, incluindo plantas (ZANKE et al., 1995), mamíferos (SUZUKI; MORIWAKI; SAKURAI, 1994) e peixes (MARTINS et al., 2002). Variações nestes espaçadores também foram detectadas em alguns peixes neotropicais, como *Leporinus* (MARTINS; GALETTI Jr., 2001) e *Brycon* (WASKO et al., 2001), sendo que a complexa organização destes genes está associada a alta taxa evolutiva dos espaçadores não transcritos. Ao comparar resultados de *I. schubarti* (KANTEK et al., 2009) e *C. iheringi*, nota-se que, apesar da relativa proximidade evolutiva (ambas as espécies pertencem ao subclado *Nemuroglanis*, e da provável localização em cromossomos homeólogos, existe uma diferença enorme na marcação através da FISH com sonda de rDNA 5S. Aparentemente, os grandes blocos de *C. iheringi* tiveram origem em eventos de duplicação da estrutura repetitiva do rDNA 5S em uma espécie ancestral próxima destas taxa. Outras espécies de heptapterídeos, como algumas pertencentes aos gêneros *Rhamdia* e *Pimelodella*, consideradas mais basais na família, possuem pequenas marcações, indicando que a presença do grande bloco de rDNA 5S de *C. iheringi* é um caráter apomórfico.

Marcações de FISH com rDNA 5S, como a observada em *C. iheringi*, é um fato inédito na literatura para os peixes. Futuros estudos, com outras ferramentas da genética, podem fornecer informações mais pertinentes sobre os mecanismos moleculares que deram origem a amplificação da região cromossômica portadora destes genes.

Entre os Siluriformes, até o momento, tem-se observado que existe uma grande variabilidade no que diz respeito ao número e a localização dos genes ribossomais 5S (KAVALKO et al., 2004, GARCIA, 2005), sendo que das espécies estudadas até o momento, as do gênero *Rhamdia* são uma das poucas que apresenta conservadorismo (GARCIA, 2009). As espécies estudadas neste trabalho confirmam a variabilidade observada por outros autores, e também o conservadorismo do rDNA 5S para os *Rhamdia*.

No presente trabalho foi observado o predomínio de clusters de rDNA 5S em posição intersticial. Segundo Martins e Galetti Jr. (1999), a localização destes sítios em posição interna estaria relacionada com um maior grau de proteção destas sequências, evitando eventos de transposição e crossing, mais freqüentes em áreas terminais.

Fonseca e colaboradores (2003) descrevem o padrão cariotípico de um heptapterídeo da espécie *Rhamdella microcephala*, coletada no rio Machado, tributário do rio Sapucaí, o qual desagua no lago de Furnas, bacia do rio Grande. Ocorre que a única espécie da família Heptapteridae que possui o epíteto específico *microcephala* é do gênero *Rhamdiopsis* (FERRARIS, 2007). Desta forma, acredita-se que, devido à dificuldade taxonômica da família, é possível que Fonseca et al. (2003) estivessem se referindo a *Rhamdiopsis microcephala*. A localidade tipo de *R. microcephala* é o rio das Velhas (Bacia do rio São Francisco), e foi descrita por Lütken em 1874. Entretanto, Langeani e colaboradores (2007) relatam a ocorrência desta espécie na bacia do alto rio Paraná. Apesar da semelhança morfológica encontrada entre *Rhamdiopsis* sp. cf. *R. microcephala* (presente estudo) e a descrição original de *R. microcephala*, optou-se por identificá-la até o nível genérico devido à possibilidade da existência de duas espécies distintas, pois não existem

revisões recentes para o gênero e a descrição original é muito antiga e abrangente. Além disso, possivelmente os indivíduos coletados na bacia do rio Piumhi são oriundos da bacia do rio Grande, devido à baixa capacidade de migração destes animais típicos de cabeceira.

Todavia, pode-se hipotetizar que a espécie estudada por Fonseca e colaboradores (2003) seja a mesma do presente artigo, pois as duas tem origem em comum, os rios Piumhi e Sapucaí faziam parte da mesma bacia, antes da transposição do Piumhi (Figura 10). Comparando os dados citogenéticos entre as populações dos dois rios citados nota-se semelhança entre os resultados ($2n=56$ e RON intersticial localizada em cromossomos não correspondentes aos maiores cromossomos do cariótipo), corroborando a suposta falha taxonômica. Estudos citogenéticos com outras populações deste táxon, bem como descrições mais precisas da espécie em questão, podem auxiliar na elucidação na taxonomia deste grupo.

A espécie *Cetopsorhamdia iheringi* têm ocorrência para as bacias do alto Paraná e São Francisco (FERRARIS, 2007). Existem descrições citogenéticas deste táxon para o rio Capivara e rio Pardo (Alto Paraná) (VISSOTO; FORESTI; OLIVEIRA, 1999) e para o reservatório de Três Marias (rio São Francisco) (FENOCCHIO et al., 2003). A população da bacia do rio Piumhi possui fórmula cariotípica muito semelhante à população descrita por Vissoto, Foresti e Oliveira (1999), diferindo apenas em alguns cromossomos sm e st. Por outro lado os indivíduos do reservatório de Três Marias possuem até cinco pares de cromossomos acrocêntricos, os quais estão ausentes nas populações dos rios Capivara e Pardo. Além disso, o cromossomo portador da RON na população do rio São Francisco é do tipo st, muito diferente da população da bacia do rio Piumhi (m). Sendo assim,

devido às similaridades citogenéticas, a hipótese mais viável é que a população de *C. iheringi* analisada neste estudo seja oriunda da bacia do rio Grande. Normalmente, espécies típicas de cabeceiras, como *C. iheringi*, não possuem grande capacidade de dispersão, fato que dificultaria um possível cruzamento entre as populações do Piumhi e São Francisco. Outros estudos podem fornecer dados mais conclusivos.

A espécie *Pimelodella vittata* é endêmica da bacia do São Francisco (FERRARIS, 2007) e, portanto, a presença de exemplares deste táxon na bacia do rio Piumhi é um indicativo de que esta espécie aumentou seu limite de distribuição após a transposição, através da migração de exemplares *P. vittata* para a bacia do rio Piumhi. A ausência, até o momento, de identificações de indivíduos desta espécie na bacia do rio Grande reforça esta hipótese. Se *P. vittata* estivesse distribuída em outros locais da bacia do alto Paraná que não sofreram com efeitos de transposição como a citada neste trabalho, seria possível que outros fatores, como captura de cabeceiras ou introdução antropogênica, fossem responsáveis pela dispersão desta espécie.

O mais profundo estudo taxonômico sobre o gênero *Rhamdia* foi realizado por Silfvergrip (1996) em sua tese de doutorado (dados não publicados). Este estudo sinonimizou em apenas 11 espécies as quase 100 espécies descritas para o gênero. Dentre estas destaca-se *Rhamdia quelen*, que passou a sinonimizar 47 espécies, sendo a única espécie de *Rhamdia* encontrada em toda extensão Neotropical (sul do México ao sul da Argentina), com distribuição nas principais bacias hidrográficas brasileiras. Alguns autores questionam o citado estudo (PERDICES et al., 2002; GARCIA, 2009), indicando que algumas espécies reconhecidas como válidas pelo autor na verdade não o são, enquanto que outras espécies que foram sinonimizadas

precisam ser reavaliadas. Diante dos fatos relatados, e apesar da possibilidade de nomeação dos exemplares de *Rhamdia* aqui estudados com *R. quelen* de Silfvergrip (1996), optou-se por nomeá-los como *Rhamdia* sp. A aff. *R. quelen* e *Rhamdia* sp. B aff. *R. quelen*. Além disso, a localidade tipo de *R. quelen* situa-se na região de várzea da Amazônia peruana, na região pré-andina, e não existem dados suficientes para identificar espécies de planalto ocorrentes em outras bacia (BUCKUP, comunicação pessoal). A divergência dos resultados citogenéticos entre as duas espécies de *Rhamdia* estudadas (fórmulas cariotípicas e localização do rDNA 18s distintas), que supostamente pertenceriam a uma única espécie segundo o estudo de Silfvergrip, reforça a necessidade de reavaliação taxonômica no gênero.

Os dados citogenéticos existentes envolvendo espécies do gênero *Rhamdia* tem, do ponto de vista taxonômico, pouco poder resolutivo. Os padrões cariotípicos são muito semelhantes, inclusive para os dados de rDNA 18S e 5S. Outro fator que dificulta as comparações é o pequeno tamanho dos cromossomos. Entretanto, no presente trabalho foram observados dois padrões inéditos para o gênero, RON e rDNA 18S localizado em um par cromossômico metacêntrico em *Rhamdia* sp. A aff. *R. quelen* e RON e rDNA 18S intersticial em um par st em *Rhamdia* sp. B aff. *R. quelen*. A existência destes padrões distintos podem auxiliar na detecção da distribuição destas taxa. A presença de somente um dos padrões (rDNA 18S localizado em um par cromossômico metacêntrico) na população do rio Piumhi indica que, provavelmente, a espécie de *Rhamdia* da bacia do São Francisco não foi capaz de invadir a bacia do rio Piumhi após a transposição. Entretanto, para que esta hipótese se confirme, é necessário estudar mais populações da região, a fim de verificar possíveis hibridizações. Amostras na bacia do rio São Francisco, em

locais próximos à foz da bacia do Piumhi podem ser muito elucidativas, visto que as populações possuem bons marcadores cromossômicos.

Do ponto de vista ecológico, os heptapterídeos estão habituados a vida bêntica, normalmente encontrados em pequenos e médios rios, ocupando baixas e médias profundidades. Muitas vezes associados a fendas de rochas, vegetações marginais ou enterrados na areia. Normalmente são carnívoros ou onívoros, consumindo principalmente artrópodes, peixes, nematódeos, algas e plantas vasculares (BOCKMANN; GUAZELLI, 2003). Estas características biológicas indicam que o canal no rio São Francisco pode representar uma barreira biológica à dispersão das populações de espécies desta família presentes no rio Piumhi, em direção à bacia do rio São Francisco. Os resultados e as hipóteses obtidas neste trabalho representam o ponto de partida para a compreensão das conseqüências da transposição do rio Piumhi sobre as espécies da família Heptapteridae. A similaridade citogenética entre as populações de *C. iheringi* da bacia do rio Piumhi e da bacia do alto Paraná, em contraste com as diferenças da população do rio São Francisco, apontam que a citada barreira biológica pode ser real para alguns taxa. Entretanto, a espécie *P. vittata*, aparentemente subiu para a bacia do Piumhi, fato que pode ser esclarecido pela constante observação de exemplares do gênero *Pimelodella* no meio da coluna d'água (BOCKMANN; GUAZELLI, 2003), comportamento não comum para heptapterídeos. Outras estratégias comportamentais, como a realizada pelas espécies piscívoras, tendem a colonizar com muito sucesso novos ambientes, muitas vezes levando à extinção de espécies locais (MOYLE; LIGHT, 1996). Blanco e colaboradores (2009), baseados em dados citogenéticos de *Hoplias malabaricus*, uma espécie piscívora (CARVALHO; FERNANDES; MOREIRA, 2007), concluem que os espécimes portadores de um dos

citótipos desta espécie, típico do rio Grande, foram capazes de, devido à transposição do rio Piumhi, invadir a bacia do São Francisco, competir com os espécimes portadores de outro citótipo na região da barragem de Três Marias, e por fim, possivelmente substituí-los.

Referências

- BERTOLLO, L. A. C.; TAKAHASHI, C. S.; MOREIRA-FILHO, O. Cytotaxonomic consideration on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). **Brazilian Journal of Genetic**, v. 1, p. 103-120, 1978.
- BLANCO, D.R. et al. Characterization of a invasive fish species in a river transposition: evolutionary chromosome studies in the genus *Hoplias* (Characiformes, Erythrinidae). **Rev Fish Biol Fisheries**, p.1-8, 2009
- BOCKMANN, F.A. Description of *Mastiglanis asopos*, a new pimelodid catfish from northern Brazil, with comments on phylogenetic relationships inside the subfamily Rhamdiinae (Siluriformes: Pimelodidae). **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v.107, p. 760-777. 1994.
- BOCKMANN, F.A; GUAZZELLI, G.M. Family Heptapteridae (Heptapterids) In: REIS, R.E.; KULLANDER, S.O.; FERRARIS JR, C.J. **Checklist of the freshwater fishes of South and Central America**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2003. p. 406-431.
- CARVALHO, N. L.; FERNANDES, C. H. V.; MOREIRA, V. E. S. Alimentação de *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) (Osteichthyes, Erythrinidae) no rio Vermelho, Pantanal Sul Mato-Grossense. **Revista de Brasileira de Zociências**, v4, p.227-236, 2002.
- DIAS, A.L.; FORESTI, F. Cytogenetic studies on fishes of the family Pimelodidae (Siluroidei). **Revista Brasileira de Genética**, v.16, p.585-600, 1993.
- FENOCCHIO, A.S.; BERTOLLO, L.A.C. Supranumerary chromosomes in a *Rhamdia hilarii* population (Pisces, Pimelodidae) **Genetica**, v.81, p. 193-198, 1990.
- FENOCCHIO, A.S. et al. Cytogenetic Studies and Correlate Considerations on Rhamdiinae Relationships (Pisces, Siluroidei, Pimelodidae). **Cytologia**, v.68, p. 363-368, 2003.
- FERRARIS Jr, C.J. Relationships of the neotropical catfish genus *Nemuroglanis*, with a description of a new species (Osteichthyes: Siluriformes: Pimelodidae). **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v.101, p. 509-516, 1988.
- FERRARIS, C.J., Jr. Checklist of catfishes, recent and fossil (Osteichthyes: Siluriformes), and catalogue of siluriform primary types. **Zootaxa**, 1418, pp. 628, 2007.
- FONSECA, Y.M.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F.; MAISTRO, E.L. First cytogenetic description of the species *Rhamdella microcephala* (Pisces, Heptapteridae). **Cytologia**, v.68, p. 31-34, 2003.
- GARCIA, C. **Contribuição aos estudos citogenéticos em algumas espécies de 5 famílias de siluriformes do rio São Francisco**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2005.

GARCIA, C. **Estudos cromossômicos e moleculares em *Rhamdia* (Pisces, Siluriformes, Heptapteridae): análise de relações evolutivas**. Tese de Doutorado, USP, São Paulo, 2009.

GARCIA, C.; MOREIRA-FILHO, O.; BERTOLLO, L.A.C.; CENTOFANTE, L. B. Chromosomes and Natural Triploidy in *Rhamdia* sp. (Pisces, Siluriformes, Heptapteridae). **Cytologia**, v.68, p. 403-311, 2003.

GIULIANO-CAETANO, L.; BERTOLLO, L. A. C. Karyotypic variability in *Hoplerytinus unitaeniatus* (Pisces, Characiformes, Erythrinidae). II Occurrence of Natural Triploidy. **Brazilian Journal of Genetics**, v. 13, p. 231-237, 1990.

HATANAKA, T.E.; GALETTI Jr., P.M. Mapping of the 18S and 5S ribosomal RNA genes in the fish *Prochilodus argenteus*, Agassiz, 1829 (Characiformes, Prochilodontidae). **Genetica**, v. 122, p. 239-244, 1994.

HOWELL, W. M.; BLACK, D. A. Controlled silver staining of Nucleolus Organizer Regions with protective colloidal developer: a one-step method. **Experientia**, v. 36, p. 1014-1015, 1980.

KANTEK, D.L.Z., et al. Cytotaxonomy, heterochromatic polymorphism and natural triploidy of a species of *Astyanax* (Pisces, Characidae) endemic to the Iguazu River Basin. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 50, p. 67-74, 2007.

KANTEK, D.L.Z. et al. Cytogenetics of *Imparfinis schubarti* (Siluriformes: Heptapteridae) from the Piumhi drainage, a diverted river in Minas Gerais State, Brazil. **Zoologia**, v.26, p. 733-738, 2009.

KAVALCO, K.F. et al. Gene mapping of 5S rDNA sites in eight fish species from the Paraíba do Sul river Basin, Brazil. **Cytogenet. Genome Res.**, v.106, p. 107-110, 2004.

LANGEANI, F. et al. Diversidade da Ictiofauna do Alto Rio Paraná: composição atual e perspectivas futuras. **Biota Neotropica**, v.7, p.181-197, 2007.

LEVAN, A.; FREDGA, K. E.; SANDBERG, H. A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. **Hereditas**, v. 52, p. 201-220, 1964.

LONG, E.O.; DAVID, I.D. Repeated genes in eukaryotes. **Ann Rev Biochem**, v.49, p.727-764, 1980.

LUNDBERG, J.G.; BORNBUUSH A.H.; MAGO-LECCIO, F. *Gladioglanis conquistador* n. sp. from Ecuador with Diagnoses of the Subfamilies Rhamdiinae Bleeker and Pseudopimelodinae n. subf. (Siluriformes: Pimelodidae). **Copeia**, v.1, p. 190-209, 1991a.

LUNDBERG, J.G.; MAGO-LECCIO F.; NASS. P.. *Exallondontus aguanai*, a new genus and species of Pimelodidae (Pisces, Siluriformes) from the deep river channels of South America, and delimitation of the subfamily Pimelodidae. **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v.104, p. 840-869, 1991b.

MARGARIDO, V.P.; MOREIRA-FILHO, O. Karyotypic differentiation through chromosome fusion and number reduction in *Imparfinis hollandi* (Ostariophysi, Heptapteridae). **Genetics and Molecular Biology**, v.31 p. 235-238, 2008.

MARTINS, C.; GALETTI Jr., P.M. Chromosomal localization of 5s rDNA genes in *Leporinus* fish (Anostomidae, Characiformes). **Chromosome Research**, v.7, p. 363-367, 1999.

MARTINS, C.; GALETTI JR., P. M. Organization of 5S rDNA in species of the fish *Leporinus*: two different genomic locations are characterized by distinct nontranscribed spacers. **Genome**, v. 44, p. 903-910, 2001.

MARTINS, C. et al. Dynamics of 5S rDNA in the tilapia (*Oreochromis niloticus*) genome: Repeat units, inverted sequences, pseudogenes and chromosome loci. **Cytogenetic and Genome Research**, v.98, p. 78-85, 2002.

MOREIRA-FILHO, O.; BUCKUP, P. A. A poorly known case of watershed transposition between the São Francisco and upper Paraná river basins. **Neotropical Ichthyology**, v. 3, p. 445-448, 2005.

MORELLI, S.; BERTOLLO, L. A. C.; MOREIRA-FILHO, O. Cytogenetic considerations on the genus *Astyanax* (Pisces, Characidae) II. Occurrence of natural triploidy. **Caryologia**, v. 36, p. 245-250, 1983.

MOYLE, P.B.; LIGHT, T. Biological invasions of freshwaters: empirical rules and assembly theory. **Biological Conservation**, v.78, p. 149-162, 1996

PERDICES, A.; BERMINGHAM, E.; MONTILLA, A.; DOADRIO, I. Evolutionary history of the genus *Rhamdia* (Teleostei: Pimelodidae) in central América. **Mol. Phylogenetic Mol**, v.25, p. 172-189, 2002.

PINKEL, D.; STRAUME, T.; GRAY, J. W. Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. **Proceedings of the National Academy of Science**, USA. v. 83, p 2934-2938, 1986.

PINNA, M.C.C. Phylogenetics relationships of Neotropical Siluriformes: historical overview and synthesis of hypothesis. In: MALABARBA, L.R.; REIS, R.E.; VARI, R.P.; LUCENA, Z.M.S.; LUCENA, C.A.S. (eds.). **Phylogeny and classification of Neotropical Fishes**. Porto Alegre: Edipucrs, 1988, p. 79-330.

SILFVERGRIP, A.M.C. **A systematic revision of the neotropical catfish genus *Rhamdia* (Teleostei, Pimelodidae)**. 1996. 156 f. Tese de Doutorado - Department of Zoology, Stockholm University and Department of Vertebrate Zoology, Swedish Museum of Natural History, 1996.

STOLF, R. et al. Analyses of karyotype and nucleolar organizer regions of *Imparfinis* aff. *schubarti* (Siluriformes, Pimelodidae) of the Tibagi river basin, Paraná, Brazil. **Caryologia**, v.57, p. 348-352, 2004.

SUMNER, A. T. A simple technique for demonstrating centromeric heterocromatin. **Experimental Cell Research**, v. 75, p. 304-306, 1972.

SUZUKI, H.; MORIWAKI, K.; SAKURAI, S. Sequences and evolutionary analysis of mouse 5S r DNAs. **Mol Biol Evol**, v.11, p.704-710, 1994.

SWARÇA, A.C.; FENOCCHIO, A.S.; DIAS, A.L. An update Cytogenetic Review for Species of the Families Pseudopimelodidae, Pimelodidae and Heptapteridae (Pisces, Siluriformes). Sugestion of a Cytotaxonomical Classification. **Caryologia**, v.60, p. 334-348, 2007.

SWARÇA, A.C.; VIDOTTO, A.P.; DIAS, A.L. Cytogenetic characterization of *Pimelodella* aff. *avanhandavae* (Siluriformes, Pimelodidae) from Tibagi River (Paraná State, Brazil). **Caryologia**, v.56, p. 421-425, 2003.

TOLEDO, V; FERRARI, I. Estudo citogenético de *Pimelodella* sp. e *Rhamdia hilarii* (Pimelodinae, Pimelodidae, Pisces): cromossomo marcador. **Científica**, v.4, p. 120-123, 1976.

VASCONCELOS, C.; MARTINS-SANTOS, I.C., Chromossome Polimorphism in species of the Pimelodidae family (Pisces, Siluriformes). **Hereditas**, v.132, p. 103-109, 2000.

VICENTE, M.R.R.; MARGARIDO, V.P.; GALETTI Jr. P.M. Estudos cromossômicos em *Imparfinis piperatus* (Pisces, Siluriformes) do Riacho São João (Bacia do Leste). In: RESUMOS V SIMPÓSIO DE CITOGENÉTICA EVOLUTIVA E APLICADA DE PEIXES NEOTROPICAIS, 1994, Botucatu. **Resumos**. Botucatu, 1994. p.17.

VIDOTTO, A.P.; SWARÇA, A.C.; FENOCCHIO, A.S.; DIAS, A.L. Cytogenetics Studies in Three *Pimelodella meeki* Populations (Pisces, Pimelodidae) from Tibagi River Basin (Brazil). **Journal of Heredity**, v.95, p.517-520, 2004.

VISSOTTO, P.C.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. Karyotypic characterization of five species of Pimelodidae (Teleostei, Siluriformes). **Chromosome Science**, v.3, p. 1-7, 1999.

VISSOTTO, P.C.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. Karyotypic characterization of two species of the genus *Imparfinis* (Teleostei, Siluriformes, Haptapteridae). **Chromosome Science**, v.5, p. 97-103, 2001.

WASKO, A.P.; MARTINS, C.; WRIGTH, J.M.; GALETTI Jr., P.M. Molecular organization of 5S rDNA in fishes of the genus *Brycon*. **Genome**, v.44, p. 893-902, 2001.

WILLIAMS, S.M.; STROBECK, C. Sistere chromatid exchange and the evolution of rDNA spacer length. **J Theor Biol**, v.116, p. 625-636, 1985.

ZANKE, C.; BORISJUK, N.; RUOSS, B.; SCHILDERENTSCHLER, L. A specific oligonucleotide of the 5S rDNA spacer anda species-specific elements identify

symmetrical somatic hybrids between *Solanum tuberosum* and *S. pinnatisecum*.
Theor Appl Genet, v.90, p. 720-726, 1995

Tabela 2 – Dados resumidos dos resultados obtidos

Espécie	2n	Fórmulas cariotípicas	NF	Ag-RON	rDNA 18S	rDNA 5S
<i>Cetopsorhamdia iheringi</i>	58	28m + 26sm + 4st	116	Intersticial Par 1 m	Intersticial Par 1 m	Grandes blocos Par 1
<i>Pimelodella vittata</i>	46	16m + 22sm + 8st	92	Terminal Par 17 sm	Terminal Par 17 sm	Terminal Par sm-st
<i>Rhamdia</i> sp. A aff. <i>R. quelen</i>	58	26m + 16sm + 14st + 2a	116	Terminal Par 10 m	Terminal Par 10 m	Intersticial Par 16 sm
<i>Rhamdia</i> sp. B aff. <i>R. quelen</i>	58	28m + 20sm + 10st 2a	116	Intersticial Par 19 st	Intersticial Par 19 st	Intersticial Par 15 sm
<i>Rhamdiopsis</i> sp. cf. <i>R. microcephala</i>	56	12m + 30sm + 14st	112	Intersticial Par 16 sm	Intersticial Par 16 sm	Intersticial Dois pares sm/st

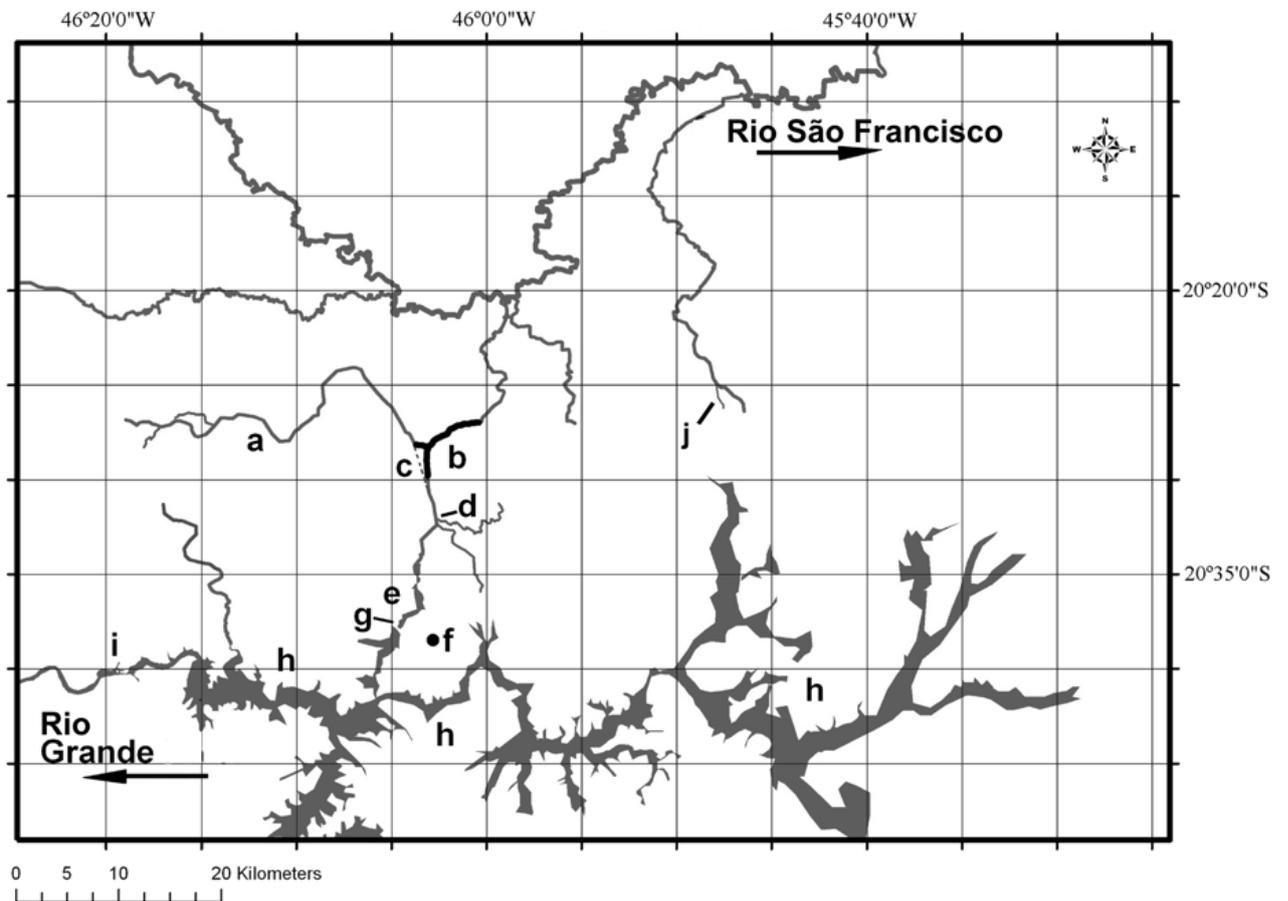


Figura 10 Região da transposição do rio Piumhi: a) rio Piumhi, b) canal de transposição (linha preta), c) antigo canal do rio Piumhi (linha pontilhada), antes da transposição, d) local de coleta, e) porção do rio Piumhi represada após a construção do dique, f) cidade de Capitólio, g) dique de Capitólio, h) lago de Furnas, i) rio Grande, à jusante do reservatório da hidroelétrica de Furnas, e j) local de coleta no Ribeirão dos Patos.

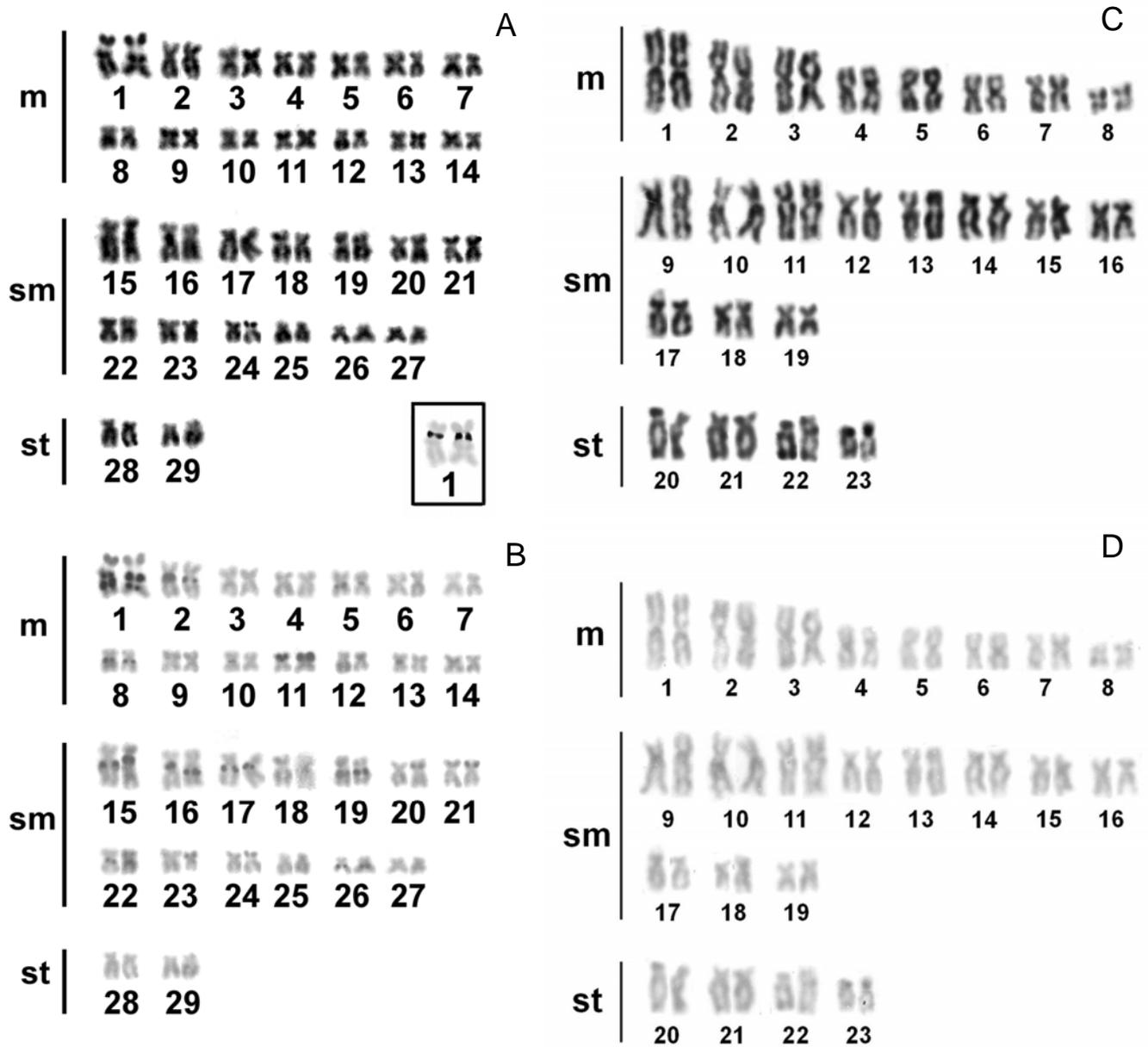


Figura 11. Cariótipos corados de forma seqüencial com coloração Giemsa convencional (A, C), Bandamento C (B, D) e Ag-NORs (A, caixa) de *Cetopsorhamdia iheringi* (A, B) e *Pimelodella vittata* (C, D).

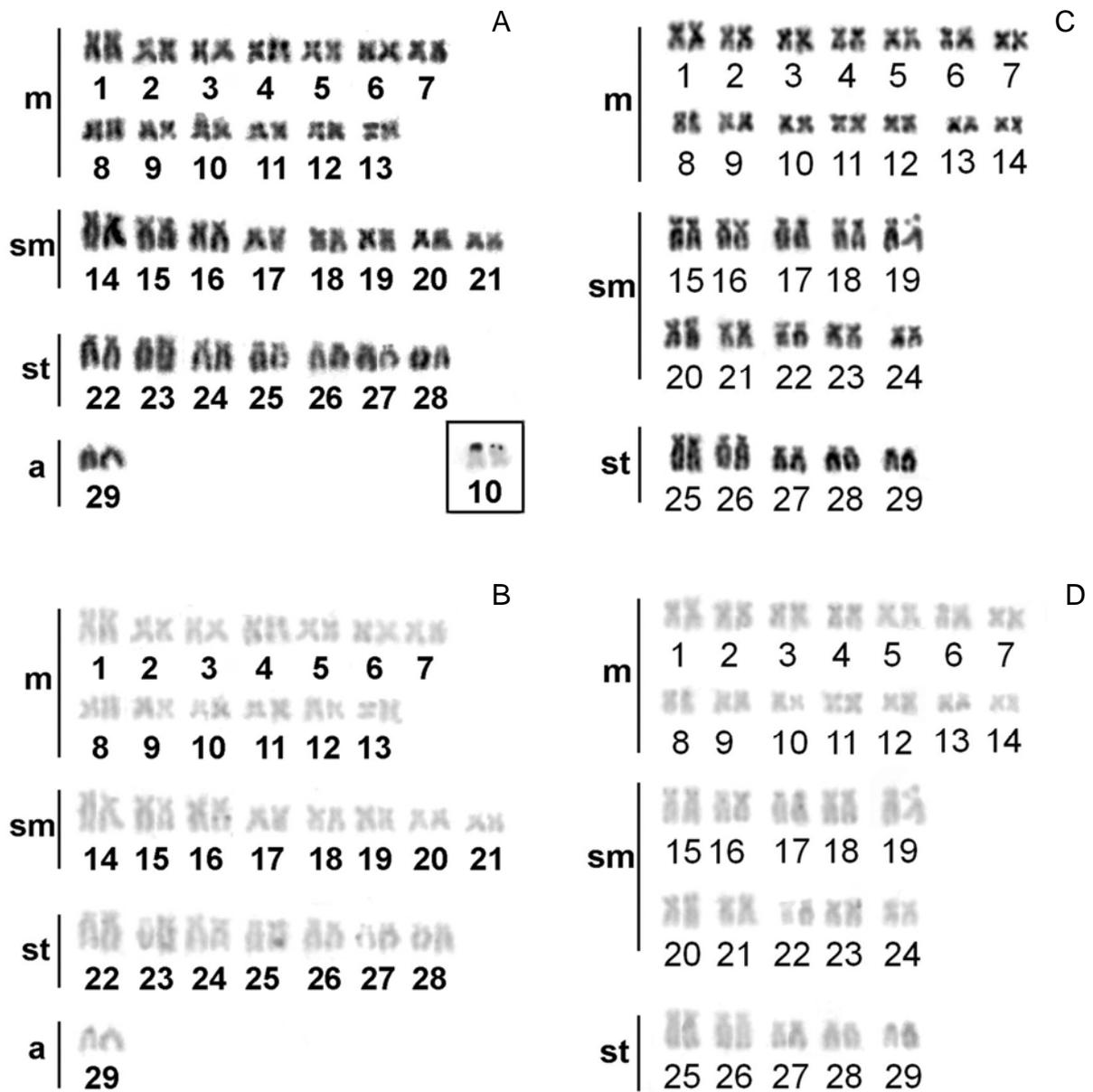


Figura 12. Cariótipos corados de forma sequencial com coloração Giemsa convencional (A, C), Bandamento C (B, D) e Ag-RON (A, caixa) de *Rhamdia* sp. A aff. *R. quelen* (A, B) e *Rhamdia* sp. B aff. *R. quelen* (C, D).

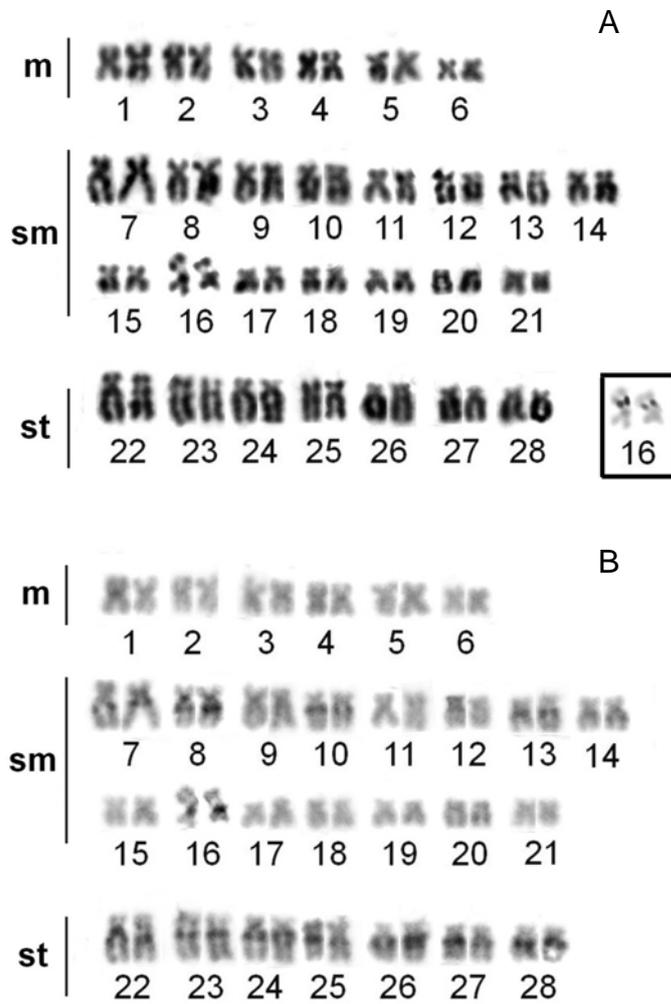


Figura 13. Cariótipos corados de forma seqüencial com coloração Giemsa convencional (A), Bandamento C (B) e Ag-RON (A, caixa) de *Rhamdiopsis* sp. cf. *R. microcephala*.



Figura 14. Metáfase do exemplar triplóide de *Rhamdia* sp. A aff. *R. quelen*.

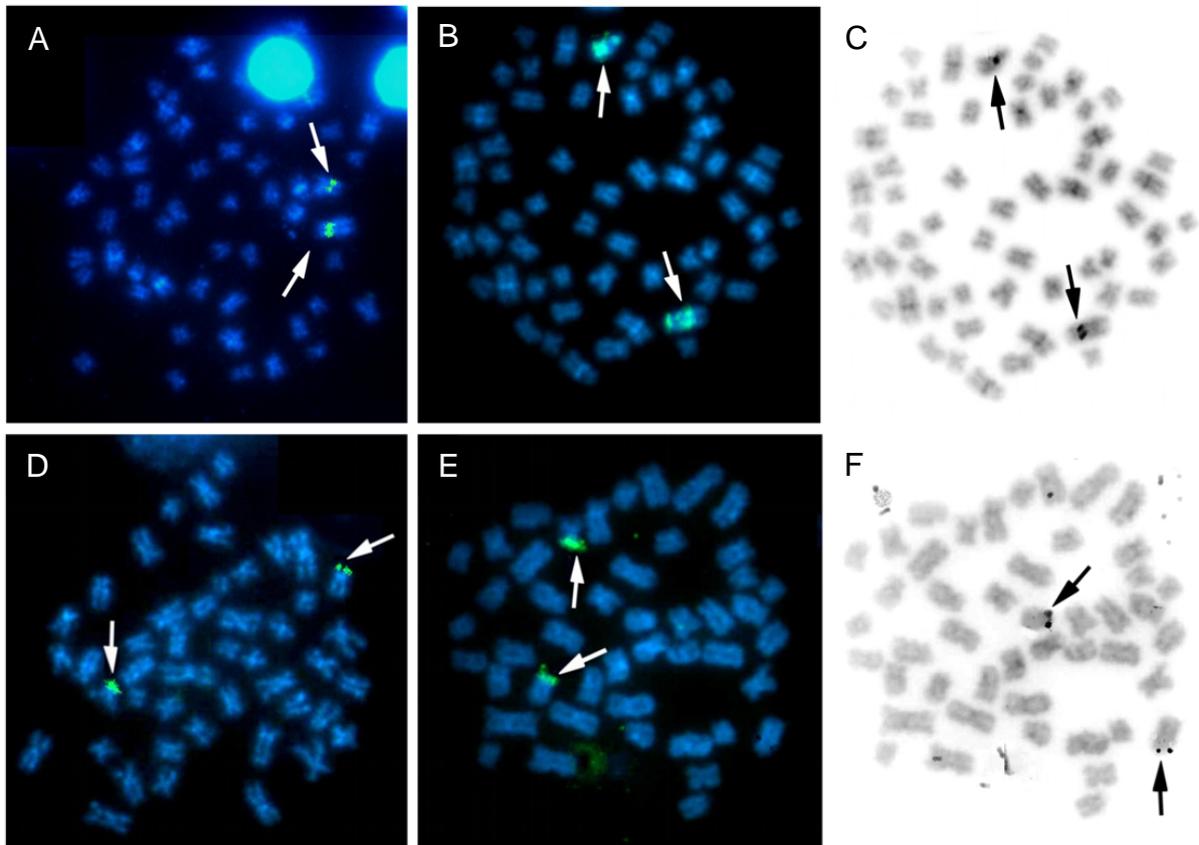


Figura 15. Metáfases de *Cetopsorhamdia iheringi* (A, B, C) e *Pimelodella vittata* (D, E, F) submetidas à hibridação fluorescente in situ com sondas de rDNA 18S (A, D) e rDNA 5S (B, E). As metáfases submetidas à Ag-RON (C, F) são as mesmas da FISH com 5S.

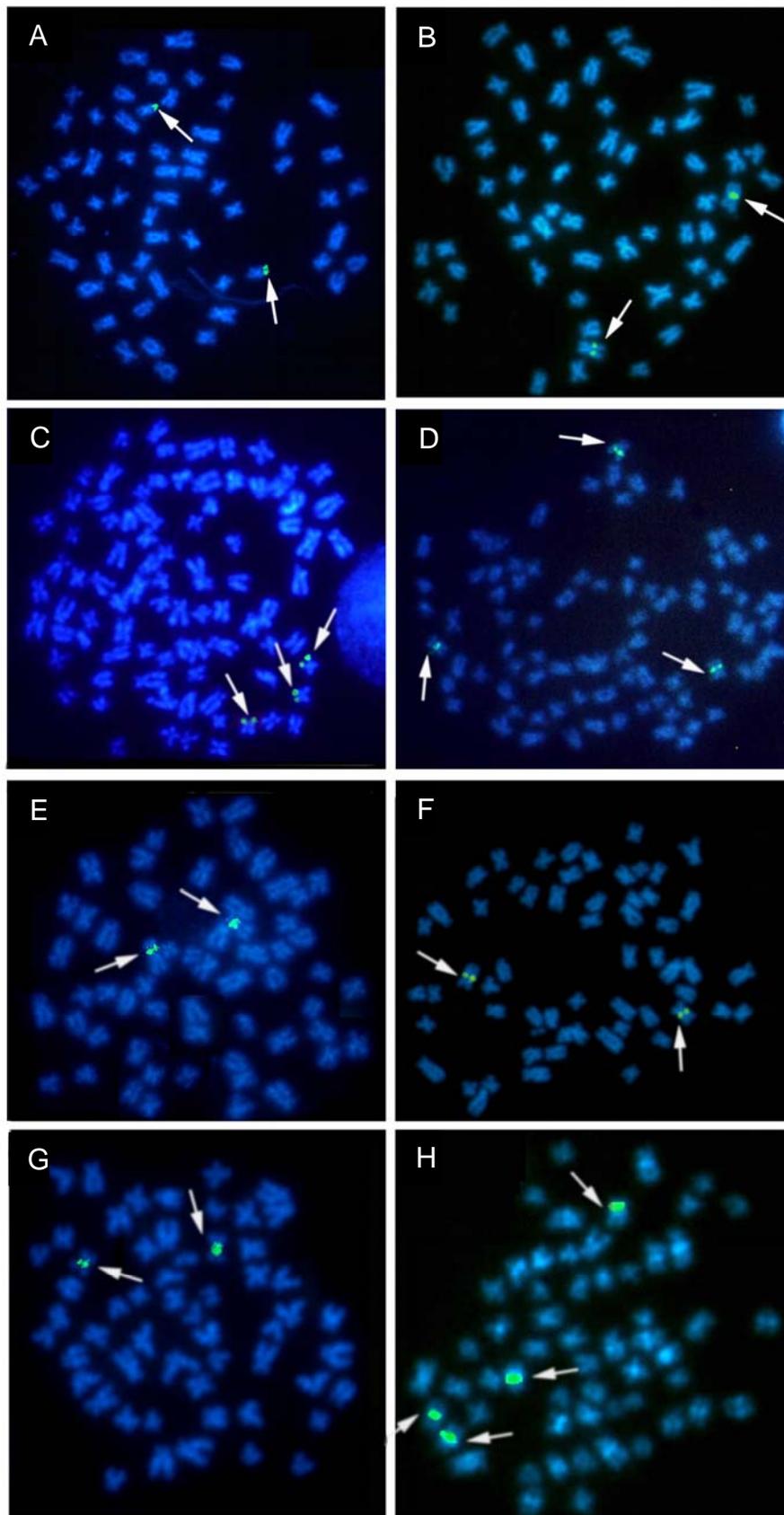


Figura 16. Metáfases de *Rhamdia* sp. A aff. *R. quelen* (A, B, C, D) e *Rhamdia* sp. B aff. *R. quelen* (E, F) e *Rhamdiopsis* sp. cf. *R. microcephala* (G, H) submetidas à hibridação fluorescente in situ com sondas de rDNA 18S (A, C, E, G) e rDNA 5S (B, D, F, H). Metáfases C e D são do exemplar triploide.

Capítulo III – Citogenética Clássica e Molecular de espécies de Siluriformes da região de Transposição do rio Piumhi, Estado de Minas Gerais, Brasil.

Citogenética Clássica e Molecular de espécies de Siluriformes da região de Transposição do rio Piumhi, Estado de Minas Gerais, Brasil.

Resumo

Foram descritas citogeneticamente três espécies de peixes de diferentes famílias da Ordem Siluriformes: *Trichomycterus brasiliensis*, coletado no ribeirão das Araras/MG, possui $2n=54$, incluindo $34m + 18sm + 2st$ (NF=108), da família Trichomycteridae; *Parauchenipterus galeatus*, coletado no rio Piumhi/MG, possui $2n=58$, incluindo $20m + 16sm + 14st + 8a$ (NF=108), da família Parauchenipteridae e *Pimelodus pohli*, coletado na foz do rio Piumhi, com $2n=56$, incluindo $28m + 16sm + 6st + 6a$ (NF=106), da família Pimelodidae. Todas as espécies estudadas possuem RONs simples. O Bandamento C, nas três espécies, evidenciou porções de heterocromatinas reduzidas. Através da FISH foram observados sítios simples de rDNA 18S e maior variabilidade nos sítios de rDNA 5S. Os exemplares foram coletadas na região do rio Piumhi, o qual foi transposto da bacia do rio Paraná para a Bacia do rio São Francisco na década de 1960. Os resultados obtidos permitiram tecer considerações sobre aspectos taxonômicos das espécies estudadas, bem como elaborar hipóteses sobre as distribuições das espécies e as possíveis relações destas com a transposição do rio Piumhi.

Palavras chave: FISH; rio São Francisco; Ag-RON.

Introdução

A Ordem Siluriformes é um grupo incrivelmente diverso com mais de 3000 espécies válidas (ESCHMEYER, 2009), e mais 1750 espécies estimadas a serem descritas (SABAJ et al., 2006). Nos primeiros seis anos do século 21, 332 espécies novas foram descritas, sendo que nove espécies foram representantes de novos gêneros e uma destas de uma nova família (ESCHMEYER, op. cit.). Os organismos desta ordem estão distribuídos em todos os continentes, incluindo a Antártica com fósseis (GRANDE; EASTMAN, 1986). Como a maioria dos grupos de organismos, a maior diversidade dos Siluriformes ocorre na região tropical, especialmente na América do Sul, África sub-saariana, e sudeste da Ásia. Na Região Neotropical são reconhecidos oito grandes grupos taxonômicos da Ordem Siluriformes: Diplomystidae, Cetopsidae, Loricarioidea, Doradoidea, Aspredinidae, Pimelodidae, Heptapteridae e Pseudopimelodidae (FERRARIS, 2007).

A superfamília Loricarioidea é o maior grupo de Siluriformes Neotropicais e inclui as famílias Nematogenyidae, Trichomycteridae, Callichthyidae, Scoloplacidae, Astroblepidae e Loricariidae (FERRARIS, 2007).

Trichomycteridae é um grupo monofilético composto por oito subfamílias, 41 gêneros e aproximadamente 173 espécies (PINNA; WOSIACKI, 2003). Dentre as várias subfamílias, Trichomycterinae é a que possui a maior diversidade, sendo considerada polifilética. O gênero *Trichomycterus*, apontado como não monofilético (PINNA, 1989), é o mais rico e amplamente distribuído da família Trichomycteridae, com aproximadamente 86 espécies válidas espalhadas pela América do Sul e Central, em ambos os lados da cordilheira dos Andes (PINNA; WOSIACKI, op. cit.).

O grupo referido como Doradoidea é composto pelas famílias Doradidae, Auchenipteridae, Ageneiosidae e Mochokidae. Os Auchenipteridae compreendem um grupo de peixes endêmicos da região Neotropical. Estes peixes estão largamente distribuídos pela América do Sul e compreendem 20 gêneros e cerca de 90 espécies (FERRARIS, 2007). Os representantes desta família são particularmente interessantes, por serem talvez os únicos silurídeos com fertilização interna (PINNA, 1998). Esta família está dividida em duas subfamílias: Centromochlinae, com quatro gêneros e Auchenipterinae, a qual compreende *Parauchenipterus* e vários outros gêneros (FERRARIS 2007).

Bockmann e Guazzelli (2003), Lundberg e Littman (2003) e Shibatta (2003) propõem elevar as três subfamílias de Pimelodidae (Heptapterinae, Pimelodinae, e Pseudopimelodinae) ao nível de família. Neste rearranjo, Pimelodidae corresponde à subfamília Pimelodinae de Lundberg e colaboradores (1991) e agrupa atualmente 93 espécies, distribuídas em 29 gêneros (FERRARIS, 2007). No entanto, estima-se que existam ainda cerca de 45 espécies não-descritas (REIS et al., 2003). Seus representantes são exclusivos de água doce e se distribuem pela América do Sul e Panamá. O gênero *Pimelodus*, aparentemente parafilético, possui um antigo e complexo histórico taxonômico, mesmo com suas espécies, antes distribuídas por quase todo o mundo, estando agora restritas à América do Sul (LUNDBERG & LITTMANN, 2003).

Em decorrência da construção da usina hidrelétrica de Furnas durante a década de 1960, o do rio Piumhi (um dos locais de coleta), antigo afluente do rio Grande, bacia do Alto Paraná, foi transposto para a bacia do São Francisco (Figura 17). No processo de transposição, o rio Piumhi foi conectado por um canal ao ribeirão Água Limpa que deságua no ribeirão Sujo, afluente da margem direita do rio

São Francisco. Conseqüentemente, a transposição do rio Piumhi ocasionou a introdução de diversas espécies aquáticas na bacia do alto rio São Francisco. Assim, espécies como *Leporinus octofasciatus*, que era restrita a bacia alto rio Paraná, encontra-se agora presente na bacia do rio São Francisco (MOREIRA-FILHO; BUCKUP, 2005).

Nesse cenário a Citogenética pode fornecer informações relevantes para a melhor compreensão das relações entre os grupos citados, bem como fornecer informações relevantes para uma melhor compreensão dos efeitos da transposição. Deste modo, o presente artigo teve como objetivo descrever cariótipos de espécies de *Trichomycterus*, *Parauchenipterus* e *Pimelodus* coletados na região do rio Piumhi.

Materiais e Métodos

Neste trabalho foram analisados citogeneticamente 9 exemplares (5 machos e 4 fêmeas) de *Trichomycterus brasiliensis* Lütken 1874 (MNRJ29331) coletados no ribeirão das Araras (20°26'16.4"S; 045°55'39.8"W), cabeceira da bacia do alto rio São Francisco (MG), 5 exemplares (2 machos e 3 fêmeas) de *Parauchenipterus galeatus* (Linnaeus 1766) (MNRJ29331) coletados em um pequeno pantanal do rio Piumhi (20°33'56.5"S; 045°02'53.8"W) e 17 exemplares (3 machos, 13 fêmeas e um de sexo indeterminado) de *Pimelodus pohli* Ribeiro & Lucena 2006 (MNRJ26378) coletados na foz do rio Piumhi (antiga foz do Ribeirão Sujo) (20°20'31.0"S; 045°59'03.4"W).

As metáfases mitóticas foram obtidas de acordo com Bertollo et al. (1978). A morfologia cromossômica foi determinada de acordo com a relação entre o tamanho dos braços, proposta por Levan et al. (1964), sendo dois braços para cromossomos

metacêntricos (m), submetacêntricos (sm) e subtelocêntricos (st) e um braço para cromossomos acrocêntricos (a). A heterocromatina foi identificada com o método do hidróxido de bário (SUMNER, 1972) e as regiões organizadoras de nucléolos (RONs) foram detectadas através da coloração com nitrato de prata (HOWELL; BLACK, 1980). As mesmas metáfases que foram analisadas em coloração convencional foram submetidas ao bandamento C, permitindo a montagem de cariótipos seqüenciais. A coloração com cromomicina A₃ (CMA₃) foi realizada segundo Schmid (1980).

A localização dos sítios de rDNA 18S nos cromossomos foi realizada utilizando a técnica de FISH - fluorescent *in situ* hybridization (PINKEL; STRAUME; GRAY, 1986), com sondas obtidas de *Prochilodus argenteus* (HATANAKA; GALETTI Jr, 2004). As sondas foram marcadas com biotina-14-dATP por *nick translation* segundo as instruções do fabricante (Bionick Labelling System - Invitrogen). Os cromossomos foram contracorados com DAPI (0,2mg/ml) e analisados em microscópio de epifluorescência Olympus BX50. Para a captura das imagens foi utilizado o software Image-Pro Plus (Media Cybernetics).

Resultados

Os exemplares de *Trichomycterus brasiliensis* apresentaram $2n=54$ cromossomos com $34m + 18sm + 2st$ (Figura 18A) e Número Fundamental (NF) = 108. Uma constrição secundária conspícua é facilmente observada em região intersticial do braço curto do par cromossômico n°20, a qual é coincidente com a RON (Figura 18A). De maneira geral, os cromossomos de *Trichomycterus brasiliensis* não apresentaram grande quantidade de heterocromatina, apenas o par

portador da RON e o par nº4 possuem marcas C⁺ conspícuas (Figura 18B). A hibridização *in situ* com sondas de rDNA 18S evidenciou sinais simples localizados na constrição secundária (FIGURA 21A), sendo portanto coincidentes com a RON.

Os exemplares de *Parauchenipterus galeatus* apresentaram $2n=58$ cromossomos com $20m + 16sm + 14st + 8a$ (Figura 19A) com $NF=108$. A impregnação pelo Nitrato de Prata, a hibridação *in situ* com sondas 18S e a coloração CMA₃ permitiram identificar RON simples, localizada na região terminal do braço curto do par 23 (Figuras 19A, 21B e 21C), detectando em alguns exemplares heteromorfismo de tamanho entre os segmentos homólogos (Figura 21D). O bandamento C revelou fracas marcações distribuídas principalmente em regiões próximas aos telômeros, sendo que no par 23 é possível observar um fraco bloco C⁺, coincidente com a RON (Figura 19B). A análise dos genes ribossomais 5S no genoma de *P. galeatus* através da FISH revelou um único *locus* localizado no braço curto de um cromossomo submetacêntrico (Figura 21E).

Os espécimes de *Pimelodus pohli* possuem $2n=56$ cromossomos com $28m + 16sm + 6st + 6a$ (Figuras 20A) e $NF=106$. A impregnação pelo Nitrato de Prata e a hibridação *in situ* com sondas 18S permitiram identificar RON simples, localizada na região terminal do braço longo do par 20 (Figura 20A). O bandamento C, como nas outras duas espécies, evidenciou porções de heterocromatina muito reduzidas (Figura 20B). O rDNA 5S, localizado através da FISH, está presente em três pares cromossômicos, um metacêntrico, e dois cromossomos submetacêntricos (Figura 5G).

Em nenhuma das espécies estudadas foram observadas diferenças cromossômicas entre os sexos.

Discussão

As três espécies em estudo apresentaram número diplóide igual ao $2n$ mais freqüente para seus gêneros, evidenciando conservadorismo do número diplóide e do número fundamental. Segundo Oliveira e Gosztonyi (2000), o provável número diplóide ancestral para a ordem Siluriformes é $2n=56\pm 2$. *P. pohli* possui o $2n$ idêntico ao ancestral, enquanto que *T. brasiliensis* e *P. galeatus* estão muito próximos a este. Mesmo as espécies pertencendo a famílias tão distantes do ponto de vista filogenético, as mesmas conservam características ancestrais, indicando que os principais rearranjos cromossômicos envolvidos na evolução cromossômica, em muitas famílias da Ordem, são do tipo não robertsonianos.

Considerando o número de espécies da família Trichomycteridae, as aproximadamente 20 espécies já estudadas citogeneticamente representam apenas uma pequena fração do total de espécies do grupo. O número diplóide cromossômico varia de $2n = 50$ em *Trichomycterus* sp. a $2n = 64$ em *Vandellia cirrhosa*, sendo $2n = 54$ o mais freqüente (SATO; OLIVEIRA; FORESTI, 2004).

O número diplóide ($2n=54$) de *T. brasiliensis* foi observado em praticamente todas as espécies congêneres distribuídas na região Cis-Andina da América do Sul (SATO; OLIVEIRA; FORESTI, 2004), somente *Trichomycterus diabolus*, com $2n = 56$ (TORRES et al., 2004), apresentou outro número diplóide. A estabilidade cromossômica observada nestes taxa não era esperada devido às características biológicas das espécies deste gênero, as quais normalmente estão distribuídas em pequenas populações isoladas em riachos.

Comparando o tamanho relativo do primeiro par de cromossomos metacêntricos e também a localização das RONS, Sato et al. (2004) agruparam as espécies Cis-Andinas de *Trichomycterus* em dois grupos. A espécie *T. brasiliensis* se enquadra no grupo um, o qual é composto por espécies que possuem o primeiro par de metacêntricos consideravelmente maior do que o segundo par e RONS localizadas em uma posição pericentromérica do braço curto de um cromossomo submetacêntrico grande. Nas espécies do grupo dois, os dois primeiros pares de cromossomos metacêntricos são aproximadamente iguais em tamanho e as RONS pericentroméricas estão presentes nos braços longos de cromossomos metacêntricos. As espécies *T. reinhardti* (SATO; OLIVEIRA; FORESTI, 2004), *T. auroguttatus* (SATO; OLIVEIRA; FORESTI, 2004) e *T. spegazzini* (GONZO et al., 2000) também possuem as duas características do grupo um, indicando uma possível relação de parentesco entre estas taxa e *T. brasiliensis*.

A literatura taxonômica sobre *Trichomycterus* considera a existência do complexo de espécies *T. brasiliensis*, composto por *T. brasiliensis*, *T. iheringi*, *T. maracya*, *T. mimonha*, *T. poschi* e *T. vermiculatus* (BOCKMANN; SAZIMA, 2004). Os dados disponíveis na literatura para *T. brasiliensis* (presente trabalho) e *T. iheringi* (SATO, 2007), apontam algumas similaridades cromossômicas, como a presença de apenas um par de cromossomos do tipo subtelocêntrico, primeiro par cromossômico substancialmente maior que o segundo e RON intersticial em um cromossomo submetacêntrico. Entretanto, é importante notar que a RON está localizada nos braços cromossômicos curtos de *T. brasiliensis* e nos longos de *T. iheringi*. Diferença esta causada por uma possível inversão pericêntrica. Mesmo com a localização da RON de *T. iheringi* não sendo exatamente igual ao padrão do grupo um descrito por Sato et al. (2004) é possível enquadrar esta última no grupo

cromossômico do tipo um. Futuros estudos citogenéticos com as outras espécies do complexo poderão auxiliar na taxonomia deste grupo.

Trichogenes longipinnis (LIMA; GALETTI Jr, 1990) também possui o primeiro par de metacêntricos substancialmente maior que o segundo, e assim assemelha-se ao grupo um proposto por Sato et al. (2004), entretanto a RON de *Trichogenes longipinnis* é terminal, diferentemente dos dois padrões sugeridos para os *Trichomycterus cis-andinos*. O gênero *Trichogenes* é considerado um dos mais basais da família Trichomycteridae (PINNA, 1998), e assim, a diferença de tamanho entre os dois primeiros pares de metacêntricos seria um caráter ancestral. *Copionodon orthiocarinatus* (SATO, 2007), outra espécie de um gênero também considerado basal na família, possui os dois primeiros pares de cromossomos metacêntricos de tamanhos bem distintos. Rearranjos cromossômicos do tipo não robertsonianos, como inversões pericêntricas, devem ter sido responsáveis pelas mudanças cariotípicas entre os dois grupos de *Trichomycterus*.

O bandamento C observado em *Trichomycterus brasiliensis* do presente estudo difere dos resultados obtidos em *Trichomycterus davisii*, *T. stawiarski* e *Trichomycterus* sp. do rio Iguaçu (BORIN; MARTIN-SANTOS, 1999). Nestes últimos existe maior quantidade de heterocromatina. Duas outras espécies, *Trichomycterus paolence* (Citótipo a / TORRES, et al., 1998) e *Trichomycterus spegazzini* (GONZO et al., 2000) possuem um padrão heterocromático mais parecido com o bandamento C obtido em *Trichomycterus brasiliensis* do córrego Pimenta. Estes resultados corroboram os grupos criados por Sato et al. (2004), pois *T. davisii*, *T. stawiarski* e *Trichomycterus* sp. pertencem ao grupo dois, enquanto que *T. paolence*, *T. spegazzini* e *Trichomycterus brasiliensis* (presente estudo) são do grupo um.

O número diplóide $2n=58$ observado em *Parauchenipterus galeatus* é o mesmo identificado em outras populações provenientes do rio Solimões (FENOCCHIO, 1993), do rio Paraná (FENOCCHIO, 1993; RAVEDUTTI; JULIO Jr, 2001) e do rio São Francisco (GARCIA, 2005; LUI et al., 2009), bem como para a maioria das espécies da família Auchenipteridae já estudadas. Diferentemente, outras famílias de Siluriformes possuem maior variação, como Loricariidae com número diplóide variando de $2n=36$ a 80 (OLIVEIRA et al., 2006), ou Callichthyidae, onde foram observados desde $2n=40$ até $2n=132$ no gênero *Corydoras* (OLIVEIRA et al., 1988). Nos Auchenipteridae o número diplóide de $2n=56$ só foi observado até agora em *Ageneiosus atronases* e *A. brevifilis* (FENOCCHIO, 1993) e parece ser uma condição apomórfica para a família, visto que $2n=58$ esta amplamente distribuído na família Doradidae, considerado como grupo irmão dos Auchenipteridae (PINNA, 1998; DIOGO et al., 2003; SULLIVAN et al., 2006). Estas famílias possuem número diplóide semelhante, bem como predominância de cromossomos de dois braços. Entretanto, existe variação nos números fundamentais, características que podem indicar que rearranjos cromossômicos como inversões e translocações teriam desempenhado um papel importante na evolução cariotípica deste grupo.

Todas as populações de *Parauchenipterus galeatus* já estudadas apresentam RON simples terminal, e em quase todas a marcação da prata se localiza em um cromossomo subtelocêntrico. Porém, a população do rio Paraná (RAVEDUTTI; JULIO JR, 2001) com RON em cromossomos acrocêntricos e a população do rio Piumhi com RON em cromossomos submetacêntricos diferem do padrão citado. Em duas espécies, *Ageneiosus nuchalis* e *G. ribeiroi* (RAVEDUTTI; JULIO JR, 2001), foi identificada RON simples intersticial.

Com relação ao bandamento C, o padrão de regiões heterocromáticas discretas observado em *P. galeatus* se assemelha ao padrão dos peixes da família Auchenipteridae. Foi constatado coincidência entre a marcação da RON e uma leve banda C⁺ nos cromossomos do par 16, uma característica freqüente em peixes (ALMEIDA-TOLEDO et al., 1981). Esta mesma coincidência foi observada por Venere (1998) em *P. aff galeatus* do rio Araguaia e por Lui et al.(2009) em *P. galeatus* do rio São Francisco.

O uso de fluorocromos GC específicos, como CMA₃, tem demonstrado que, em peixes, as marcações cromossômicas positivas são geralmente coincidentes com os sítios de Ag-RON (AMEMIYA; GOLD, 1986) e com regiões heterocromáticas (GALETTI JR et al., 1991). Em *Parauchenipterus galeatus* do rio Piumhi é possível observar apenas dois cromossomos CMA₃⁺(Figura 21C), confirmando os resultados obtidos com Nitrato de Prata. Garcia (2005) e Lui et al. (2009) obtiveram resultados semelhantes em *P. galeatus* do rio São Francisco, bem como Venere (1998) analisando *P. aff galeatus* do rio Araguaia. Diferença entre o tamanho das RONs, como observado em *P. galeatus* do rio Piumhi, é um fenômeno muito freqüente em peixes (SANCHES et al., 1990; ALMEIDA-TOLEDO at al., 1996; SWARÇA et al. 2001, entre outros)

Dados referentes à técnica FISH na família Auchenipteridae ainda são escassos. Em *P. galeatus* do rio Piumhi (presente trabalho) e do rio São Francisco (LUI et al., 2009) existem resultados de rDNA 18S e 5S, sendo que os sítios 18S estão localizados no par cromossômico 23 (st), e sítios 5S em cromossomos submetacêntrico, nos dois estudos citados.

O número diplóide igual a 56 observado em *Pimelodus pohli* é o mais frequente observado para o gênero, o qual pode variar de 2n=54 em *Pimelodus fur*

(GARCIA; MOREIRA-FILHO, 2005) até $2n=58$ em *Pimelodus blochii* (DELLA-ROSA et al., 1980).

A presença de RONS localizadas na posição terminal dos braços longos de um par de cromossomos subtelocêntricos, como observada em *Pimelodus pohli*, é a condição plesiomórfica para o gênero *Pimelodus*. Somente algumas poucas espécies do gênero possuem RONS nos braços curtos de cromossomos subtelocêntricos (BORIN; MARTIN-SANTOS, 2002).

De acordo com Ribeiro e Lucena (2006), *Pimelodus pohli* é muito semelhante morfológicamente com *Pimelodus blochii*, a qual por sua vez, segundo MESS (1974) esta dentro do grupo *maculatus*. Entretanto, diferentemente da espécie em estudo e de *P. maculatus*, *P. blochii* possui $2n=58$ e RONS localizadas em braços cromossômicos curtos (DELLA ROSA et al., 1980) as quais constituem caracteres apomórficos para o gênero. Os dados citogenéticos confirmam os dados taxonomicos, *P. blochii* provavelmente é uma espécie diferente de *P. maculatus* e de *P. pohli*.

A heterocromatina no gênero *Pimelodus* está distribuída principalmente nas regiões centroméricas e teloméricas, com poucas marcações individuais. De fato, a espécie *P. pohli* se enquadra neste padrão

Comparando os dados citogenéticos de *P. pohli* com os resultados dos *Pimelodus* já estudados do rio São Francisco, nota-se que existe muita similaridade com os dados obtidos por Garcia e Moreira-Filho (2005 e 2008) para *Pimelodus* sp. Este último trabalho fornece dados citogenéticos das três espécies do gênero *Pimelodus* do rio São Francisco. Entretanto, na época da publicação do artigo, a espécie identificada como *Pimelodus* sp. por Garcia e Moreira-Filho (op cit.), de acordo com Britski et al. (1988), ainda não havia sido formalmente descrita. Somente

em 2006 a citada espécie foi descrita por Ribeiro e Lucena (2006), e nomeada *Pimelodus pohli*. Portanto, os dados citogenéticos de *Pimelodus* sp. informados por Garcia e Moreira-Filho (op cit.) podem ser considerados como sendo de *P. pohli*. Diante do exposto e das similaridades citogenéticas (cariótipo, RON, e hibridização *in situ*), conclui-se que as duas populações pertençam a uma única espécie. Considerando que as populações estudadas distam aproximadamente 200 quilômetros em linha reta (devido ao trajeto do rio, cheio de curvas, a distância pode duplicar), a conclusão aqui obtida se enquadra nos dados de Ribeiro e Lucena (2006), os quais informam que a distribuição da espécie vai do alto até o baixo rio São Francisco. A quantidade e localização dos sítios de rDNA 18S e 5S em *Pimelodus pohli* é idêntica para as duas populações já estudadas (presente estudo; GARCIA; MOREIRA-FILHO, 2005; GARCIA; MOREIRA-FILHO, 2008).

Dias e Foresti (1993) também analisaram *P. maculatus* e *Pimelodus* sp. do rio São Francisco, entretanto, a composição cariotípica de *Pimelodus* sp. (possivelmente *P. pohli* de Ribeiro e Lucena 2006) difere da observada neste trabalho, possivelmente em decorrência dos diferentes estágios de condensação cromossômica que as metáfases foram organizadas em cariogramas ou cariótipos.

As três espécies estudadas aqui, bem como os Siluriformes de um modo geral, apresentam RON simples (DIAS; FORESTI, 1993; OLIVEIRA; GOSZTOMYI, 2000; ARTONI; BERTOLLO, 2001; GARCIA; MOREIRA-FILHO, 2005). HSU e colaboradores (1975) consideram RON simples, quando comparada com a múltipla, um estado primitivo na distribuição destes sítios nos cromossomos. Em muitas famílias, observa-se que as RONs distribuem-se preferencialmente nas regiões terminais dos cromossomos.

A aplicação da sonda de rDNA 18S confirmou os dados obtidos com a impregnação por Nitrato de Prata, existe apenas um único par cromossômico portador de RONS em *Trichomycterus brasiliensis*, *Parauchenipterus galeatus* e *Pimelodus pohli*. A detecção de apenas um locus em *T. brasiliensis* coincide com a posição adotada por Lima e Galetti (1990), os quais postulam que a localização da região organizadora de nucléolo (RON) em apenas um par cromossômico seria uma condição simplesiomórfica da família Trichomycteridae. Os dados de hibridização *in situ* obtidos para esta família são inéditos, e portanto, na medida em que forem obtidos mais resultados de FISH em outras espécies da família, análises mais conclusivas poderão ser obtidas.

Os poucos dados disponíveis para a hibridação *in situ* com sondas rDNA 5S demonstram, até o momento, o predomínio da ocorrência de apenas um par cromossômico portador deste gene ribossômico nos Siluriformes (MARQUES et al., 2008; GARCIA et al., 2003; KAVALCO et al., 2004; SWARÇA et al., 2005; GARCIA; MOREIRA-FILHO, 2008; LUI et al., 2009). Nas espécies estudadas neste trabalho ocorrem clusters intersticiais e pericentroméricos, o que segundo Martins e Galetti Jr. (1999) diminuiria a probabilidade da ocorrência de transposições, crossing over, e outros eventos frequentes nas regiões terminais.

Dados referentes à técnica FISH (18S e 5S) na família Auchenipteridae ainda são escassos. Somente em *P. galeatus* do rio Piumhi (presente trabalho) e do rio São Francisco (GARCIA-MOREIRA-FILHO, 2005; LUI et al., 2009) existem resultados de rDNA 18S e 5S, os quais são muito semelhantes.

A espécie *T. brasiliensis* ocorre nas bacias do alto Paraná (LANGEANI et al., 2007) e São Francisco (BRITSKI et al., 1988), entretanto a descrição original para a espécie é para o rio das Velhas, na bacia do rio São Francisco, sendo considerada

endêmica desta bacia. Langeani et al. (2007) consideram a presença desta espécie na bacia do alto Paraná como alóctone, sendo que uma das possíveis causas da introdução desta espécie no rio Grande seria a transposição do rio Piumhi, visto que durante as obras de construção houve um momento que algumas espécies da bacia do rio São Francisco poderiam ter dispersado para a bacia do rio Grande através dos canais já construídos antes do fechamento do dique de Capitólio (Figura 17). Outra hipótese, mais plausível, seria a captura de cabeceiras, visto que a espécie em estudo é típica de cabeceiras de rios (BOCKMANN; CASATTI; PINNA, 2004). Eventos de captura de cabeceiras já foram descritos para a região em estudo (MONTROY-BURGOS, 2003). Além disso, Hupert e Renno (2006), através de um estudo biogeográfico dos peixes da América do Sul, sugerem que a região teria sido uma rota de dispersão entre as bacias citadas.

A espécie *Parauchenipterus galeatus* é citada para várias bacias brasileiras, inclusive para a bacia do rio Grande (AGOSTINHO et al., 2004) e do São Francisco (ROSA et al., 2003). As similaridades obtidas através da citogenética clássica e molecular, para as populações da bacia rio São Francisco (GARCIA, 2005; LUI et al., 2009) e do rio Piumhi (presente artigo), indicam que, aparentemente, as citadas populações pertencem a um mesmo taxon. Outras ferramentas taxonômicas mais resolutivas, bem como análises de outras populações, deverão auxiliar na elucidação desta questão.

A distribuição de *Pimelodus pohli* é restrita à bacia do rio São Francisco (RIBEIRO; LUCENA, 2006). Considerando que durante as várias coletas realizadas na região da sub-bacia do rio Piumhi, foram coletados indivíduos desta espécie somente na foz do ribeirão Sujo (afluente do São Francisco que atualmente recebe as águas do rio Piumhi), que os dados citogenéticos obtidos neste trabalho são

idênticos aos da população do reservatório de Três Marias (bacia do São Francisco), e que esta espécie nunca foi coletada na bacia do rio Grande, é possível que a transposição não tenha afetado esta espécie, ou seja, provavelmente não ocorreram híbridos deste taxon com outros vindos da bacia do rio Grande. Além disso, sua distribuição não foi afetada, pois a mesma é endêmica e está presente numa grande extensão da bacia do São Francisco.

Os dados deste trabalho não permitem supor que as três espécies estudadas tenham sofrido alguma consequência da transposição do rio Piumhi. Entretanto, até o momento já foram detectados alguns impactos decorrentes da transposição. Peres et al., (2009) descrevem dois padrões citogenéticos para populações de *Astyanax fasciatus* das bacias do rio Grande e São Francisco, e supõem uma provável expansão dos exemplares da primeira bacia para a segunda. Blanco et al. (2009), ao analisar *Hoplias malabaricus* das duas bacias sugere um processo semelhante ao detectado em *A. fasciatus*, porém com dispersão muito maior que a observada por PERES et al., (2009). PERES (2009) sugere que as populações de *Astyanax* do grupo "*bimaculatus*" do Alto Paraná estão estreitamente relacionadas às populações do São Francisco e que o polimorfismo encontrado no rio Piumhi tem provável origem na hibridação entre essas populações. Entre as espécies de peixes, a hibridação não é um evento raro e pode ocorrer até entre gêneros distintos (BRINN; PORTO; FELDBERG, 2004; CARVALHO et al., 2008). Mendes Neto (2008) postula que *Hypostomus regani* e *Rineloricaria* sp. cf. *R. latirostris* são, possivelmente, espécies invasoras estabelecidas no rio São Francisco, vindas do rio Grande através da transposição do rio Piumhi. Estes resultados demonstram a variedade de efeitos biológicos decorrentes de uma transposição.

Referências

AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C.; THOMAZ, S. M.; HAUN, N. S. The upper Paraná river and its floodplain: main characteristics and Perspectives for management and conservation . In: Sidinei M.T., A.A. Agostinho & N.S. Hahn. (Org.). **The Upper Paraná River and its Floodplain: Physical aspects, Ecology and Conservation**. Leiden, The Netherlands: Backhuys Publishers, pp. 381-393, 2004.

ALMEIDA-TOLEDO, L. F.; STOCKER, A. J.; FORESTI, F.; TOLEDO-FILHO, S. A. Fluorescence *in situ* hybridization with rDNA probe on chromosomes of two nucleolar organizer region phenotypes of a species of *Eigenmannia* (Pisces, Gymnotoidei, Sternopygidae). **Chromosome Research**, v. 4, p. 301-305, 1996.

ALMEIDA-TOLEDO, L. F., FORESTI, F.; TOLEDO-FILHO, S. A.. Constitutive heterochromatin and nucleolar organizer region in the knifefish, *Apteronotus albifrons* (Pisces, Apterontidae). **Experientia**, v. 37, p. 953-954, 1981.

AMEMIYA, C. T.; GOLD, R. Chromomycin A₃ stains nucleolar organizer regions of fish chromosomes. **Copeia**, v. 1, p. 226-231, 1986.

ARTONI, R. F.; BERTOLLO, L. A. C. Trends in the karyotype evolution of Locariidae fish (Siluriformes). **Hereditas**, v. 134, p. 201-210, 2001.

BERTOLLO, L. A. A.; TAKAHASHI, C. S.; MOREIRA-FILHO, O. Cytotaxonomic consideration on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). **Brazilian Journal of Genetics**, v. 1, p. 103-120, 1978.

BLANCO, D. R.; LUI, R. L.; BERTOLLO, L. A. C.; DINIZ, D.; MOREIRA-FILHO, O. Characterization of invasive fish species in a river transposition region: evolutionary chromosome studies in the genus *Hoplias* (Characiformes, Erythrinidae). **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, p. 1-8, 2009.

BOCKMANN, F.A.; GUAZZELLI, G.M. Family Heptapteridae (Heptapterids), p. 406-431. In: REIS, R.E., S.O. KULLANDER, & C.J. FERRARIS JR (EDS). **Checklist of the Freshwater Fishes of South and Central America**. Porto Alegre: Edipucrs, 729p, 2003.

BOCKMANN, F.A.; SAZIMA, I. *Trichomycterus maracaya*, a new catfish from the upper rio Paraná, southeastern Brazil (Siluriformes: Trichomycteridae), with notes on the *T. brasiliensis* species-complex. **Neotrop Ichthyol**, v. 2, p. 651-74, 2004

BOCKMANN, F.A.; CASATTI, L.; de PINNA, M. C. C. A new species of trichomycterid catfish from the Rio Parapanema basin, southeastern Brazil (Teleostei: Siluriformes), with comments on the phylogeny of the family. **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, v. 15, p. 225-242, 2004.

BORIN, L. A.; MARTINS-SANTOS, I. C. Karyotype characterization of three species of the genus *Trichomycterus* (Teleostei, Siluriformes) from Iguazu river basin. **Genetica**, v.106, p. 215-221, 1999.

BORIN, LA.; MARTINS-SANTOS, IC. Cytogenetics aspects in species of the genus *Pimelodus* (Pisces, Siluriformes, Pimelodidae) of the river Paraná basin. **Cytologia**, v. 67, p. 199-204, 2002.

BRINN, M. N. A.; PORTO, J. I. R.; FELDBERG, E. Karyological evidence for interspecific hybridization between *Cichla monoculus* and *C. temensis* (Perciformes, Cichlidae) in the Amazon. **Hereditas**, v. 141, p. 1-6, 2004.

BRITSKI, H.A.; SATO, Y.; ROSA, A.B.S. **Manual de identificação de peixes da região de Três Marias: com chave de identificação para os peixes da bacia do São Francisco**. 3. ed. Brasília: Câmara dos Deputados, Coordenação de Publicações, p.115, 1988.

CARVALHO, D.C. et al. Identificação molecular de peixes: o caso do Surubim (*Pseudoplatystoma* spp.). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.32, p.215-219, 2008.

DELLA-ROSA, VA.; BERTOLLO, L.A.C.; FERRARI, I.; MOREIRA-FILHO, O.; FORESTI F. Estudos citogenéticos de peixes da Amazônia. II Ordem Siluriformes. **Ciência e Cultura**, v.32, p. 735, 1980.

DIAS, A.L.; F. FORESTI. Cytogenetic studies on fishes of the family Pimelodidae (Siluroidei). **Revista Brasileira de Genética**, v.16, p.585-600, 1993.

DIOGO, R.; CHARDON, M.; VANDERWALLE, P. Osteology and myology of the cephalic region and pectoral girdle of *Centromochlus heckelii*, comparison with other auchenipterids, and comments on the synapomorphies and phylogenetic relationships of the Auchenipteridae (Teleostei: Siluriformes). **Animal Biology**, v.53, p.397-416, 2003.

ESCHMEYER, W. N. (ed.). **Catalog of Fishes**. Disponível em: <<http://research.calacademy.org/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>>. Acesso em: 25 Jan. 2010.

FENOCCHIO, A.S. **Cromossomos supranumerários no gênero *Rhamdia* (Pisces). Caracterização cromossômica e considerações sobre a evolução cariotípica nos Siluroidei**. Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP, 1993.

FERRARIS JR., C. J. Checklist of catfishes, recent and fossil (Osteichthyes: Siluriformes), and catalogue of siluriform primary types. **Zootaxa**, v.1418, p.1-628, 2007.

GALETTI JR, P.M.; CESAR A. C.G.; VENERE, P.C. Heterochromatin and NORs variability in *Leporinus* fish (Anostomidae, Characiformes). **Caryologia**, v.47, p. 289-297, 1991.

GARCIA, C. **Contribuição aos estudos citogenéticos em algumas espécies de 5 famílias de siluriformes do rio São Francisco**. Dissertação de Mestrado, UFSCar, São Carlos-SP, 2005.

GARCIA, C.; MOREIRA-FILHO, O.; BERTOLLO, L.A.C.; CENTOFANTE, L. B. Chromosomes and Natural Triploidy in *Rhamdia* sp. (Pisces, Siluriformes, Heptapteridae). **Cytologia**, v.68, p. 403-311, 2003.

GARCIA, C.; MOREIRA-FILHO, O. Cyogenetical analysis in three fish species of the genus *Pimelodus* (Siluriformes: Pimelodidae) from rio São Francisco: considerations about the karyotypical evolution in the genus. **Neotropical Ichthyology**, v.3, p.285-290, 2005.

GARCIA, C.; MOREIRA-FILHO, O. Localization of ribosomal genes in three *Pimelodus* species (Siluriformes, Pimelodidae) of the São Francisco river: 5S genes as species markers and conservation of the 18S rDNA site. **Genetics and Molecular Biology**, v. 31, p. 261-264, 2008.

GONZO, G.M.; FENOCCHIO, A.S.; PASTORI, C. Chromosome characterization of *Trichomycterus spegazzini* (Siluriformes, Trichomycteridae) from three hydrographic basins of the Northwest of Argentina. **Caryologia**, v.53, p.39-43, 2000.

GRANDE, L.; EASTMAN, J.T. A review of Antarctic ichtyofaunas in the light of new fossil discoveries. **Palaeontology**, v.29, p. 113-137, 1986.

HATANAKA, T. E.; GALETTI JR., P. M. Mapping of the 18S and 5S ribosomal RNA genes in the fish *Prochilodus argenteus*, Agassiz, 1829 (Characiformes, Prochilodontidae), **Genetica**, v.122, p. 239 – 244, 2004.

HOWELL, W. M.; BLACK, D. A. Controlled silver staining of Nucleolus Organizer Regions with protective colloidal developer: a one-step method. **Experientia**, v. 36, p. 1014-1015, 1980.

HSU, T.C.; SPIRITO, S.E.; PARDUE, L.M. Distribution of 18/28S ribosomal genes in mamalian genomes. **Chromosoma**, v.53, p.25-36, 1975.

HUPERT, N.; RENNO, J.F. Historical Biogeography of South America freshwater fishes. **Journal of Biogeography**, v.33, p.1414-1436, 2006.

KAVALCO, K.F.; PAZZA, R.; BERTOLLO, L.A.C.; MOREIRA-FILHO, O. Gene mapping of 5S rDNA sites in eight fish species from the Paraíba do Sul river Basin, Brazil. **Cytogenet. Genome Res.**, v.106, p. 107-110, 2004.

LANGANI, F. et al. Diversidade da Ictiofauna do Alto Rio Paraná: composição atual e perspectivas futuras. **Biota Neotropica**, v.7, p.181-197, 2007.

LEVAN, A.; FREDGA, K. E.; SANDBERG, H. A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. **Hereditas**, v. 52, p. 201-220, 1964.

LIMA, N. R. W. ; GALETTI JUNIOR, P. M. Chromosome characterization of the fish *Trichogenes longipinnis*. A possible basic karyotype of Trichomycteridae. **Brazilian Journal of Genetics**, v. 13, n. 2, p. 239-245, 1990.

LUI, R. L.; BLANCO, D.R.; MARGARIDO, V.P.; MOREIRA-FILHO, O. First description of B chromosomes in the family Auchenipteridae, *Parauchenipterus galeatus* (Siluriformes) of the São Francisco River basin (MG, Brazil). **Micron (Oxford)**, v. 40, p. 552-559, 2009.

LUNDBERG, J.G.; MAGO-LECCIO F.; NASS. P.. *Exallondontus aguanai*, a new genus and species of Pimelodidae (Pisces, Siluriformes) from the deep river channels of South America, and delimitation of the subfamily Pimelodidae. **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v.104, p. 840-869, 1991.

LUNDBERG, J. G.; LITTMANN, M. W. **Family Pimelodidae (Long-whiskered catfishes)**. In: REIS, R. E.; Kullander, S. O.; Ferraris, Jr., C. J. (eds). Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America. Edipucrs, Porto Alegre. p. 432-446, 2003.

MARQUES, M.B.A.; MOREIRA FILHO, O. ; GARCIA, C.; MARGARIDO, V.P. Cytogenetical analyses of two endemic fish species from the São Francisco river basin: *Conorhynchus conirostris* and *Lophiosilurus alexandri* (Siluriformes). **Genetics and Molecular Biology**, v. 31, p. 215-221, 2008

MARTINS, C.; GALETTI Jr., P.M. Chromosomal localization of 5s rDNA genes in *Leporinus* fish (Anostomidae, Characiformes). **Chromosome Research**, v.7, p. 363-367, 1999.

MEES, G.F. Auchenipteridae and Pimelodidae. **Zool Verh**, p.132, p. 115-246, 1974.

MENDES NETO, E.O. **Estudo citogenético em algumas espécies de Loricariidae (Teleostei, Siluriformes) da região de transposição do rio Piumhi para o rio São Francisco**. Dissertação de Mestrado, UFSCar, São Carlos-SP, 2008.

MONTOYA-BURGOS, J. I. Historical biogeography of the catfish genus *Hypostomus* (Siluriformes: Loricariidae), with implications on the diversification of Neotropical ichthyofauna. **Molecular Ecology**, v.12, p. 1855-1867, 2003.

MOREIRA-FILHO, O.; BUCKUP, P. A. A poorly known case of watershed transposition between the São Francisco and upper Paraná river basins. **Neotropical Ichthyology**, v. 3, p. 445-448, 2005.

OLIVEIRA, C.; L.F. ALMEIDA-TOLEDO; TOLEDO-FILHO, S.A. Supranumerary chromosomes, Robertsonian rearrangement and multiple NORs in *Corydoras paleatus* (Pisces, Siluriformes, Callichthidae). **Caryologia**, v.41, p. 227-236, 1988.

OLIVEIRA, C.; GOSZTONYI. A.E. A cytogenetic study of *Diplomistes mesembrinus* (Teleostei, Siluriformes, Diplomystidae) with a discussion of chromosome evolution in siluriforms. **Caryologia**, v.53, p. 31-37, 2000.

OLIVEIRA, R.R.; SOUZA, I.I.; VENERE, P.C. Karyotype description of three species of Locariidae (Siluriformes) and occurrence of the ZZ/ZW sex system in *Hemiancistrus spilomma* Cardoso & Lucinda, 2003. **Neotropical Ichthyology**, v.4(1), p.93-97, 2006.

PERES, W.A.M.; BUCKUP, P.A.; KANTEK, D.L.Z; BERTOLLO, L.A.C.; MOREIRA-FILHO, O. Chromosomal evidence of downstream dispersal of *Astyanax fasciatus* (Characiformes, Characidae) associated with river shed interconnection. **Genetica**, p.1773-6853, 2009.

PERES, W.A.M. **Análise citogenética de espécies de *Astyanax* (Characiformes) da região de transposição do rio Piumhi**. Tese de Doutorado, UFSCar, São Carlos-SP, 2009.

de PINNA, M. C. C. **Phylogenetic relationships of neotropical siluriforms (Teleostei: Ostariophysii): historical overview and synthesis of hypotheses**. In: MALABARBA, LR.; VARI, RE.; LUCENA, ZM.; LUCENA, CA. (Eds.). Phylogeny and classification of neotropical fishes. Porto Alegre: Edipucrs. p. 279-330, 1998.

de PINNA, M. C. C. A new Sarcoglanidine catfish, phylogeny of its subfamily, and an appraisal of the phyletic status of the Trichomycterinae (Teleostei, Trichomycteridae). **American Museum Novitates**, v. 2950, 1-39, 1989.

de PINNA, M.C.C.; WOSIACKI, W. **Family Trichomycteridae**. p. 270-290. In: REIS, R.E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS JR., C. J. (Eds) Check List of the Freshwater Fishes of South America. Porto Alegre, Edipucrs, p.729, 2003.

PINKEL, D.; STRAUME, T.; GRAY, J. W. Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 83, p 2934-2938, 1986.

RAVEDUTTI, C.G.; JÚLIO JR., H.F. Cytogenetic analysis of three species of the neotropical family *Auchenipteridae* (Pisces, Siluriformes) from the Paraná river basin, Brazil. **Cytologia**, v.66, p.65-70, 2001.

REIS, R. E.; KULLANDER, S. O. & FERRARIS, Jr., C. J. eds. **Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America**. Edipucrs, Porto Alegre. p.729, 2003.

RIBEIRO, F.R.V.; LUCENA, C.A.S. A New species of *Pimelodus* LaCépède, 1803 (Siluriformes: Pimelodidae) from the Rio São Francisco drainage, Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v.4(4), p. 411-418, 2006.

ROSA, R.S.; MENEZES, N.A.; BRITSKI, H.A.; COSTA, W.J.E.M.; GROTH, F. **Diversidade, padrões de distribuição e conservação dos peixes da caatinga**. In: Ecologia e conservação da caatinga. Leal I.R., M. Tabarelli, J.M.C. da Silva. (eds.). Ed. Universitária da UFPR, p. 135-181, 2003.

SABAJ, M.H.; PAGE, L.M.; LUNDBERG, J.G.; FERRARIS, C.J., JR.; ARMBRUSTER, J.W.; FRIEL, J.P.; MORRIS, P.J. **All Catfish Species Inventory Website**. Internet address: <http://clade.acnatsci.org/allcatWsh>. 2003-2006.

SANCHES, L.; MARTÍNEZ, P.; VIÑAS, A.; BOUZA, C. Analysis of the structure and variability of nucleolar organizer regions of *Salmo trutta* by C-, Ag-, and restriction endonucleases banding. **Cytogenetics and Cell Genetics**, v.54, p.6-9, 1990.

SATO, L.R.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Karyotype description of five species of *Trichomycterus* (Teleostei, Siluriformes, Trichomycteridae). **Genetics and Molecular Biology**, v.27(1): p. 45-50, 2004.

SATO, L.R. Estudo das relações filogenéticas de Trichomycteridae (Teleostei, Siluriformes) com base em evidências cromossômicas e moleculares. Tese de Doutorado, Unesp, Botucatu-SP, 2007.

SCHMID, M. Chromosome banding in Amphibia. IV. Differentiation of GC and AT-rich regions in Anura. **Chromosoma**, v.77, p. 83-103, 1980.

SHIBATTA, O.A. **Pseudopimelodidae (Bumblebee catfishes, dwarf marbled catfishes)**. p. 401-405. In: REIS, R.E., S.O. KULLANDER, & C.J. FERRARIS JR (EDS). Checklist of the Freshwater Fishes of South and Central America. Porto Alegre: Edipucrs, 729p, 2003.

SULLIVAN, J.P.; LUNDBERG, J.G.; HARDMAN, M. A phylogenetic analysis of the major groups of catfishes (Teleostei, **Siluriformes**) using rag1 and rag2 nuclear gene sequences. **Mol. Phylogenet Evol**, v41, p.636-662, 2006.

SUMNER, A. T. A simple technique for demonstrating centromeric heterocromatin. **Experimental Cell Research**, v. 75, p. 304-306, 1972.

SWARÇA, A.C.; FENOCCHIO, A.S.; CESTARI, M.M.; DIAS, A.L. Karyotype divergence among populations of giant catfish *Pseudoplatystoma corruscans* (Teleostei: Pimelodidae) indicates higher species diversity. **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, v.16, p.325-330, 2005.

SWARÇA, A.C.; GIULIANO-CAETANO, L.; VANZELA, A. L. L.; DIAS, A.L. Heteromorphism of rDNA Size in *Pirinampus pirinampu* (Pisces: Pimelodidae) Detected by *in situ* Hybridization. **Cytologia**, 275-278, 2001.

TORRES, R.A.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. Comparative cytogenetic studies in alopatric populations of *Trichomycterus paolence* Eigenmann, 1918 from Southeastern Brazil (Siluriformes, Trichomycteridae). **Cytologia**, v.63, p.107-114, 1998.

TORRES, R.A.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Cytotaxonomic diagnosis of *Trichomycterus diabolus* (Teleostei: Trichomycteridae) with comments about its evolutionary relationships with co-generic species. **Neotropical Ichthyology**, v.2, p.1679-6225, 2004

VENERE, P.C. **Diversificação cariotípica em peixes do médio rio Araguaia, com ênfase em Characiformes e Siluriformes (Teleostei, Ostariophysi)**. Tese de Doutorado, UFSCar, São Carlos-SP, 1998.

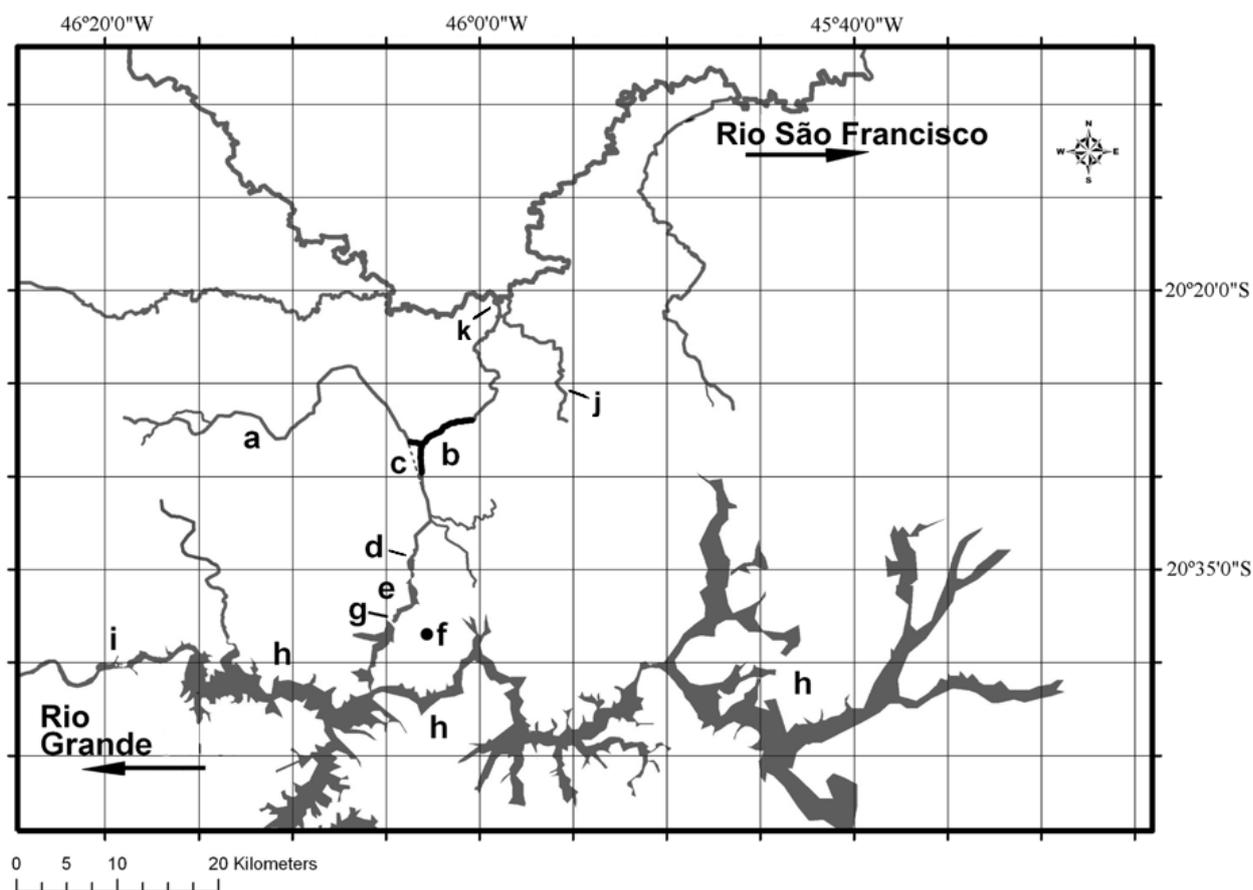


Figura 17. Região da transposição do rio Piumhi: a) rio Piumhi, b) canal de transposição (linha preta), c) antigo canal do rio Piumhi (linha pontilhada), antes da transposição, d) local de coleta de *Parauchenipterus galeatus* (Pantanal do rio Piumhi), e) porção do rio Piumhi represada após a construção do dique, f) cidade de Capitólio, g) dique de Capitólio, h) lago de Furnas, i) rio Grande, à jusante do reservatório da hidroelétrica de Furnas, j) local de coleta de *Trichomycterus brasiliensis* (Ribeirão das Araras) e, k) local de coleta de *Pimelodus pohli* (Foz do rio Piumhi).

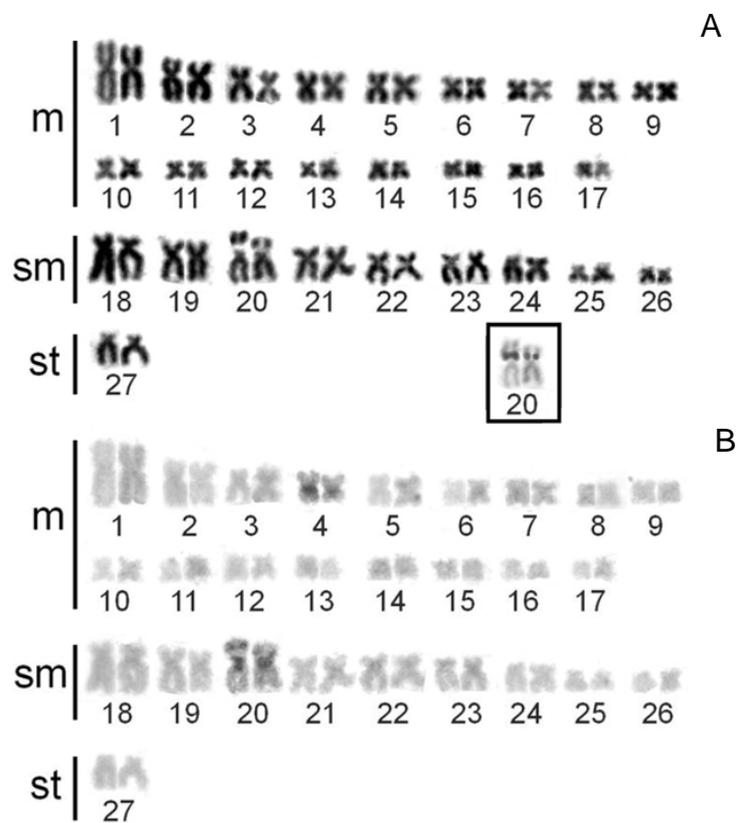


Figura 18. Cariótipos analisados de forma seqüencial por coloração Giemsa convencional (A), Bandamento C (B) e Ag-NORs (A, caixa) de *Trichomycterus brasiliensis*.

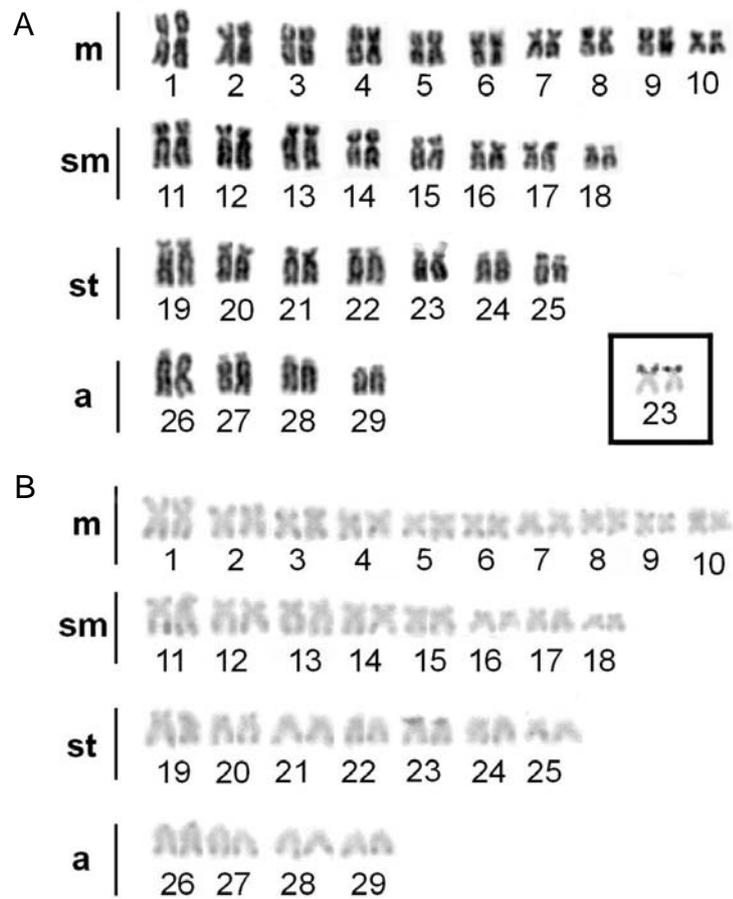


Figura 19. Cariótipos analisados por coloração Giemsa convencional (A), Bandamento C (B) e Ag-NORs (A, caixa) de *Parauchenipteus galeatus*.

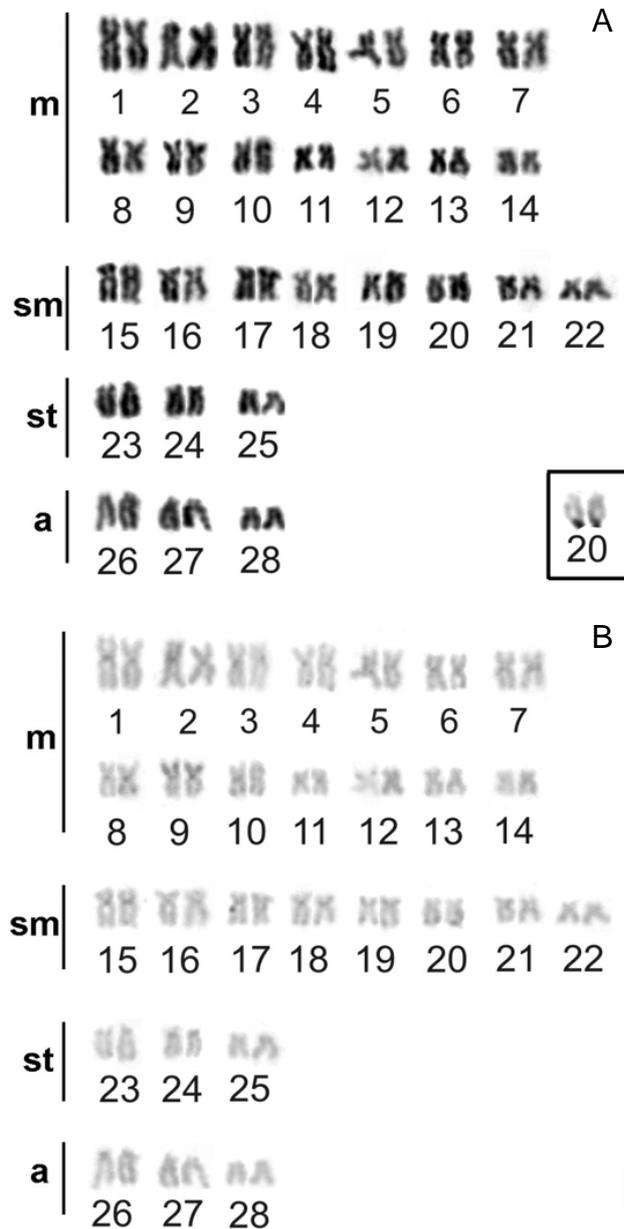


Figura 20. Cariótipos analisados por coloração Giemsa convencional (A), Bandamento C (B) e Ag-RON (A) de *Pimelodus pohli*.

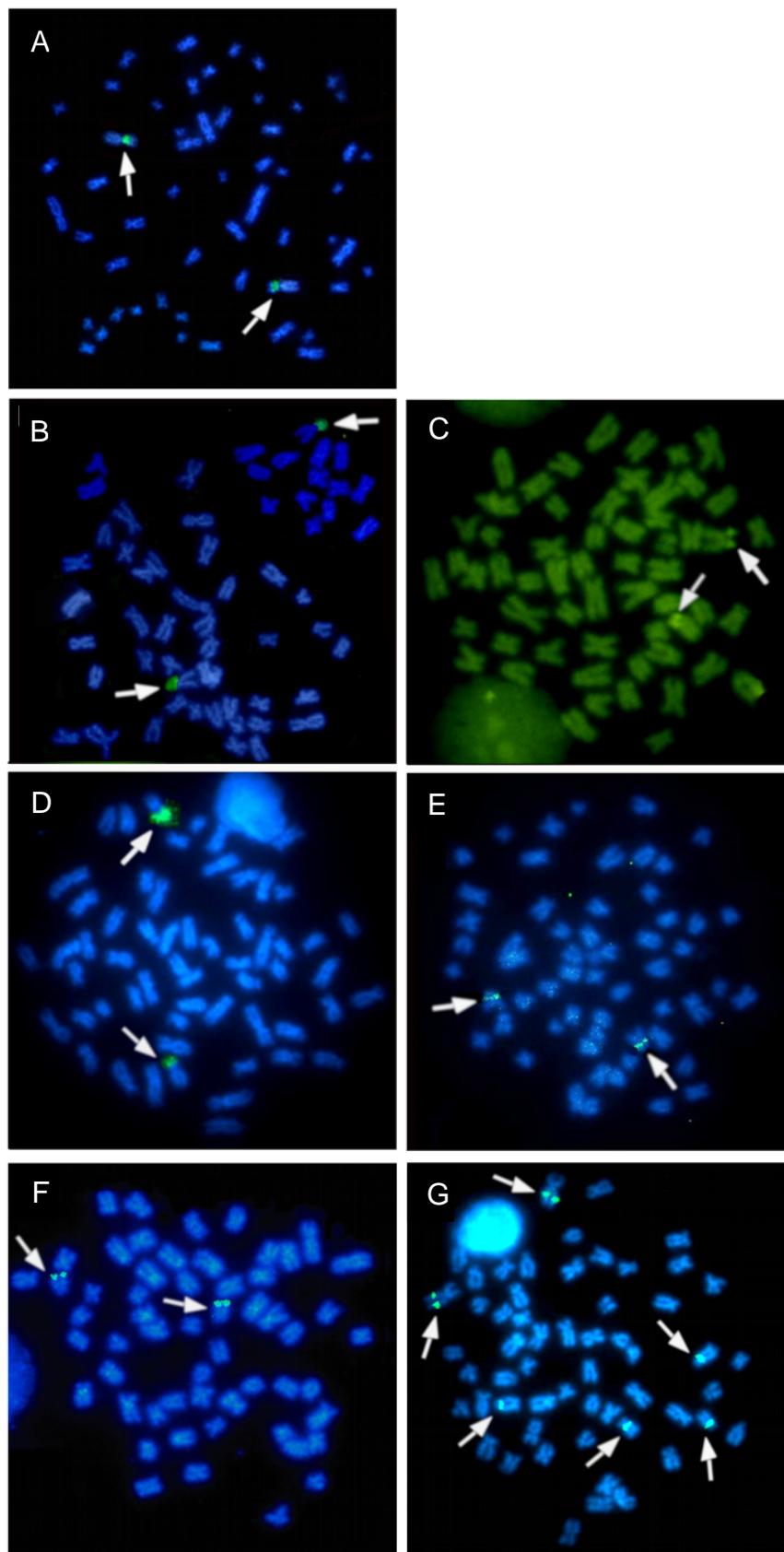


Figura 21. Metáfases de *Trichomycterus brasiliensis* (A), *Parauchenipterus galeatus* (B, C, D E) e *Pimelodus pohli* (F, G) submetidas à hibridação fluorescente *in situ* com sondas de rDNA 18S (A, B, D, F) e rDNA 5S (E, G). Coloração com cromomicina A3 (C)

5. Considerações finais e conclusões

- Os dados citogenéticos clássicos e moleculares obtidos para as espécies *Imparfinis schubarti*, *Cetopsorhamdia iheringi*, *Pimelodella vittata*, *Rhamdia* sp. A aff. *R. quelen*, *Rhamdia* sp. B aff. *R. quelen* e *Rhamdiopsis* sp. cf. *R. microcephala*, em análise comparativa com outros resultados disponíveis na literatura, corroboram com a literatura taxonômica tradicional da família Heptapteridae, inclusive com a formação do subclado *Nemuroglanis* (*I. schubarti*, *C. iheringi* e *Rhamdiopsis* sp. cf. *R. microcephala*). A presença de RON intersticial, normalmente localizada no maior cromossomo do complemento e adjacente à um bloco C+, e predominância de $2n=58$, são caracteres diagnósticos do subclado *Nemuroglanis*. As duas espécies de *Rhamdia* deste trabalho e *P. vittata*, possuem padrões citogenéticos distintos dos táxons já estudados do subclado *Nemuroglanis*. Entretanto, baseados em dados citogenéticos, podem ser mencionados dois grupos pertencentes ao citado subclado: um deles com as características apontadas acima, as quais estão presentes na maioria das espécies do subclado, e outro grupo com $2n=56$ e RON intersticial não localizada nos maiores cromossomos do cariótipo. Outra característica citogenética que, aparentemente, diagnostica o subclado *Nemuroglanis* é a sintonia entre o rDNA 5S e 18S. Outros gêneros da família Heptapteridae, como *Pimelodella* e *Rhamdia*, não possuem a citada sintonia.
- Através da análise de dados citogenéticos, foi possível relacionar *T. brasiliensis* às seguintes espécies: *Trichomycterus reinhardti*, *T. auroguttatus*, *T. spegazzini* e *T. iheringi*, indicando uma possível relação de parentesco entre estes taxa.

- A hipótese mais plausível para a distribuição de *Tricomycerus brasiliensis* nas bacias do rio Grande e São Francisco, seria a captura de cabeceiras, visto que a espécie em estudo é típica de cabeceiras de rios. Eventos de captura destes corpos d'água já foram descritos para a região em estudo.
- Os dados citogenéticos de *Pimelodus* sp. informados por Garcia e Moreira-Filho (2005, 2008) coincidem com os de *P. pohli*. Acredita-se que a população de *P. pohli* e a população de *Pimelodus* sp. (GARCIA; MOREIRA-FILHO; op. cit.) pertençam a uma única espécie.
- Provavelmente, os enormes blocos de rDNA 5S de *C. iheringi* tiveram origem em eventos de duplicação da estrutura repetitiva desta região do DNA em uma espécie ancestral próxima. Outras espécies de heptapterídeos, como algumas pertencentes aos gêneros *Rhamdia* e *Pimelodella*, consideradas mais basais na família, possuem pequenas marcações, indicando que a presença do grande bloco de rDNA 5S de *C. iheringi* é um caráter apomórfico. Marcações como estas são inéditas na literatura ictiológica.
- É provável que a espécie referida como *Rhamdella microcephala*, estudada por Fonseca et al. (2003) seja do gênero *Rhamdiopsis*. E possivelmente seja da mesma espécie do presente artigo, pois as duas têm origem comum. Os dados citogenéticos corroboram esta afirmativa
- A hipótese mais viável para a origem da população de *C. iheringi* da bacia do rio Piumhi analisada neste estudo é que esta seja oriunda da bacia do rio Grande (antes da transposição).
- No presente trabalho foram observados dois padrões citogenéticos inéditos para o gênero *Rhamdia*, RONS e rDNA 18S localizados em um par cromossômico metacêntrico e rDNA 18S intersticial.

- Os resultados e as hipóteses obtidas neste trabalho representam o ponto de partida para a compreensão das conseqüências da transposição do rio Piumhi sobre as espécies da família Heptapteridae. As características biológicas da família, como a distribuição em pequenos rios e vida bêntica, indicam que o canal de um grande rio pode representar uma barreira biológica à dispersão. Os dados obtidos ainda são insuficientes para corroborar ou não esta hipótese. Porém, os dados citogenéticos de *C. iheringi* indicam que a citada barreira biológica pode ser real para alguns taxa. Entretanto, a espécie *Pimelodella vittata*, aparentemente subiu para a bacia do Piumhi após a transposição, indicando como os efeitos de uma transposição são dependentes da biologia de cada espécie.
- O presente estudo contemplou um grupo de peixes de difícil identificação morfológica que habita as bacias do Alto Paraná e/ou São Francisco. Foram analisadas populações isoladas, de forma que as hipóteses aventadas neste estudo representam o início de uma análise comparativa entre populações de Siluriformes para que sejam elaboradas propostas mais abrangentes. Cabe aqui lembrar da dificuldade de coletar algumas das espécies estudadas, dificultando a obtenção de novas amostras para futuras análises.

6. Referências Bibliográficas

- ALMEIDA-TOLEDO, L. F. et al. Conservation of the 5S bearing chromosome pair and co-localization with major rDNA clusters in five species of *Astyanax* (Pisces, Characidae). **Cytogenetics and Cell Genetics**, v. 97, p. 229-233, 2002.
- AGOSTINO, A. A.; GOMES, L. C. **Biodiversity and fisheries management in the Paraná river basin: Successes and Failures**. In: World Fisheries Trust. (Org.). Canada: BLUE MILLENIUM., 2002, 28 p.
- AREFJEV, V. A. Karyotypic diversity of characid families (Pisces, Characidae). **Caryologia**, v. 43, p. 291-304, 1990.
- BERTOLLO, L. A. C.; TAKAHASHI, C. S.; MOREIRA-FILHO, O. Cytotaxonomic consideration on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). **Brazilian Journal of Genetic**, v. 1, p. 103-120, 1978.
- BORN, G. G.; BERTOLLO, L. A. C. An XX/XY sex chromosome system in a fish species, *Hoplias malabaricus*, with a polymorphic NOR-bearing X chromosome. **Chrom.Res.**, v.8, p. 111-118, 2000
- BRINN, M. N. A.; PORTO, J. I. R.; FELDBERG, E. Karyological evidence for interspecific hybridization between *Cichla monoculus* and *C. temensis* (Perciformes, Cichlidae) in the Amazon. **Hereditas**, v. 141, p. 1-6, 2004.
- BRITSKI, H. A.; SATO, Y.; ROSA, A. B. S. **Manual de Identificação de peixes da região de Três Marias**: com chave de identificação para os peixes da bacia do rio São Francisco. Brasília: CODEVASF, p.115, 1988.
- CASTRO, M. C. R.; CASATTI, L.; SANTOS, H.F.; FERREIRA, K.M.; RIBEIRO, A.C.; BENINE, R.C.; DARDIS, G.Z.P.; MELO, A.L.A.; STOPIGLIA, R.; ABREU, T.X.; BOCKMANN, F.A.; CARVALHO, M.; GIBRAN F.Z.; LIMA, F.C.T. (2003). Estrutura e composição da ictiofauna de riachos do rio Paranapanema, Sudeste e Sul do Brasil. **Biota Neotropica**, v. 3, p.1-31, 2003.
- CENTOFANTE, L. et al. Correlation of chromosomal and morphologic characters in two *Astyanax* species (Teleostei: Characidae). **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, v. 14, p. 361-368, 2003.
- CEMIG/CETEC. Companhia Energética de Minas Gerais, Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais. **Guia ilustrado de peixes da bacia do rio Grande**. Belo Horizonte, 2000. p. 144.
- DANIEL-SILVA, M. F. Z.; ALMEIDA-TOLEDO L. F. Chromosome evolution in fish: BrdU replication patterns demonstrate chromosome homeologies in two species of the genus *Astyanax*. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 109, p. 497-501, 2005.

DUDGEON, D. The ecology of tropical Asian rivers and streams in relation to biodiversity conservation. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 31, p. 239-263, 2000.

DYNESIUS, M.; NILSSON, C. Fragmentation and flow regulation of river systems in northern third of the world. **Science**, v. 266, p. 753-762, 1994.

FERRO, D.A.M.; NÉO, D.M.; MOREIRA-FILHO, O.; BERTOLLO, L.A.C. Nucleolar Organizing Regions, 18S and 5S rDNA in *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae): populations distribution and functional diversity. **Genetica**, v.110, p. 55-62, 2001.

FURNAS. Disponível em: <<http://www.furnas.com.br>>. acesso em: 20 agosto 2006.

GALETTI JR., P. M.; BERTOLLO, L. A. C.; MOREIRA-FILHO, O. Trends in chromosome evolution of neotropical characiform fishes. **Caryologia**, v. 47, p. 289-297, 1994.

GARCIA, C. **Contribuições aos estudos citogenéticos de representantes de três famílias de Siluriformes**. Monografia, UFSCar, São Carlos-SP, 2003.

GARCIA, C. **Contribuição aos estudos citogenéticos em algumas espécies de 5 famílias de siluriformes do rio São Francisco**. Dissertação de Mestrado, UFSCar, São Carlos-SP, 2005.

GREENWOOD, P. H.; ROSEN, D. E.; WEITZMAN, S. H.; MYERS, G. S. Phyletic studies of teleostean fishes, with a provisional classification of living forms. **Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.**, v.131, p.339-456, 1966.

HOWELL, W. M.; BLACK, D. A. Controlled silver staining of Nucleolus Organizer Regions with protective colloidal developer: a one-step method. **Experientia**, v. 36, p. 1014-1015, 1980.

HATANAKA, T. E.; GALETTI JR., P. M. Mapping of the 18S and 5S ribosomal RNA genes in the fish *Prochilodus argenteus*, Agassiz, 1829 (Characiformes, Prochilodontidae), **Genetica**, v.122, p. 239 – 244, 2004.

IBAMA. Disponível em: http://www.ibama.gov.br/pescaamadora/locais/b_doprata.htm>. Acesso em: 09 fev. 2007.

JESUS, C. M.; MOREIRA-FILHO, O. Chromosomal location of 5S and 18S rRNA genes in *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae). **Caryologia**, v. 56, p. 281-287, 2003.

KAVALCO, K.F.; PAZZA, R.; BERTOLLO, L.A.C.; MOREIRA-FILHO, O. Gene mapping of 5S rDNA sites in eight fish species from the Paraíba do Sul river Basin, Brazil. **Cytogenet. Genome Res.**, v.106, p. 107-110, 2004.

- KAVALCO, K.F.; MOREIRA-FILHO, O. Cytogenetical analysis in four species of the genus *Astyanax* (Pisces, Characidae) from Paraíba do Sul River Basin. **Caryologia**, v.56, p. 453-461, 2003.
- KRUEGER, C. C.; MAY, B. Ecological and genetic effects of salmonid introductions in North America. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 48, p. 66-77, 1991.
- LATINI, A. O.; PETRERE JR., M. Reduction of native fish fauna by alien species: an example from Brazilian freshwater tropical lakes. **Fisheries Management and Ecology**, v. 11, p. 71-79, 2004.
- LEE, M. R.; ELDER, F. F. B. Yeast stimulation of bone marrow mitosis for cytogenetic investigations. **Cytogenet Cell Genet**, v. 26, p. 36-40, 1980.
- LEVAN, A.; FREDGA, K. E.; SANDBERG, H. A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. **Hereditas**, v. 52, p. 201-220, 1964.
- LOWE-MCCONNELL, R. H. 1975. **Fish communities in tropical freshwaters: their distribution, ecology, and evolution**. Longman London, 337p.
- MACK, R. N. et al. Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. **Ecological Applications**, v.10, p. 689-710, 2000.
- MARTINS, C.; GALETTI JR., P. M. Organization of 5S rDNA in species of the fish *Leporinus*: two different genomic locations are characterized by distinct nontranscribed spacers. **Genome**, v. 44, p. 903-910, 2001.
- MEES, G.F. Auchenipteridae and Pimelodidae. **Zool. Verh.**, v.132, p.115-246, 1974.
- MILLS, E. L. et al. Exotic Species and the Integrity of the Great Lakes: Lessons from the Past. **BioScience**, v. 44, p. 666-676, 1994.
- MOREIRA-FILHO, O.; BERTOLLO, L. A. C. *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae): a species complex. **Brazilian Journal of Genetics**, v. 14, p. 331-357, 1991.
- MOREIRA-FILHO, O.; BUCKUP, P. A. A poorly known case of watershed transposition between the São Francisco and upper Paraná river basins. **Neotropical Ichthyology**, v. 3, p. 445-448, 2005
- OGUTU-OHWAYO, R., 1990. The decline of the native fishes of lakes Victoria and Kyoga (East Africa) and the impact of introduced species, especially the Nile perch, *Lates niloticus*, and the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Environmental Biology of Fisheries**, v. 27, p. 81-96, 1990.
- OLIVEIRA, C. ; ALMEIDA-TOLEDO, L.F.; FORESTI, F.; BRITSKI, H.A.; TOLEDO-FILHO, S.A. Chromosome formulae of neotropical freshwater fishes. **Brazilian Journal of Genetics**, v. 11, p. 577-624, 1988.

- PAIVA, M.P. **Grandes represas do Brasil**. Brasília: Editerra Editorial, 1982, 292p.
- PERES, W.A.M. **Análise da Diversidade Cariotípica de Peixes Characidae da Bacia do São Francisco**. Dissertação de Mestrado, UFSCar, São Carlos-SP, 2005.
- PINNA, M.C.C. **Phylogenetics relationships of Neotropical Siluriformes: historical overview and synthesis of hypothesis**. In: Phylogeny and classification of Neotropical Fishes. L.R. Malabarba, R.E. Reis, R.P. Vari; Z.M.S. Lucena; C.A.S. Lucena (eds.). Edipucrs, Porto Alegre, pp. 79-330. 1988.
- PINKEL, D.; STRAUME, T.; GRAY, J. W. Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. **Proceedings of the National Academy of Science**, USA. v. 83, p 2934-2938, 1996.
- RICCIARDI, A.; ATKINSON, S. K. Distinctiveness magnifies the impact of biological invaders in aquatic ecosystems. **Ecology Letters**, v. 7, p. 781–784, 2004.
- RICKLEFS, R. E. **The Economy of Nature**. Freeman, New York, 1993.
- ROMAN, M.P.; MARGARIDO, V.P. Análise citogenética em *Pariolius hollandi* (PISCES, SILURIFORMES, PIMELODIDAE) do rio Iguçu. In: IX Simpósio de Citogenética e Genética de Peixes, Maringá, PR, **Resumos**, 2002.
- SOUZA, I. L.; MOREIRA-FILHO, O.; BERTOLLO, L. A. C. Karyotypic characterization of *Aphyocharax difficilis* (Pisces, Characidae). C-banding, Ag-NORs and occurrence of diplochromosomes. **Cytobios**, v. 83, p. 273-281, 1995.
- SOUZA, L.; GIULIANO-CAETANO, L.; DIAS, A.L. Karyotypic Study of Three Species of *Pimelodus* (Pisces, Pmelodidae) from the Paraguai River Basin. **Caryologia**, v.68, p. 345-350, 2003.
- SUMNER, A. T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. **Experimental Cell Research**, v. 75, p. 304-306, 1972.
- SUNAGA, T.; VERANI, J. R. The fish communities of the lakes in the Rio Doce Valley, Northeast Brazil. **Verhandlungen der internationalen Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie**, v. 24, p. 2563-2566.
- SWARÇA, A.C.; FENOCCHIO, A.S.; CESTARI, M.M.; DIAS, A.L. Karyotype divergence among populations of giant catfish *Pseudoplatystoma corruscans* (Teleostei: Pimelodidae) indicates higher species diversity. **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, V.16, p. 325-330, 2005.
- ZARET, T. M.; PAINE, R. T. Species introduction in a tropical lake. **Science**, v. 182, p. 449-455, 1973.
- ZIESLER, R.; ARDIZZONE, G.D. The inland waters of Latin America. Roma; FAO; 1979. 171p.