



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

JUCELI GONZALEZ GOUVEIA

**“CITOGENÉTICA DE PEIXES DAS FAMÍLIAS
HEPTAPTERIDAE E PSEUDOPIMELODIDAE
(SILURIFORMES):
CONTRIBUIÇÃO PARA ESTUDOS COM DNAS REPETITIVOS”**

Londrina
2016



Universidade Estadual de Londrina

Instituto Agrônomo do Paraná

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

JUCELI GONZALEZ GOUVEIA

**“CITOGENÉTICA DE PEIXES DAS FAMÍLIAS
HEPTAPTERIDAE E PSEUDOPIMELODIDAE
(SILURIFORMES):**

CONTRIBUIÇÃO PARA ESTUDOS COM DNAS REPETITIVOS”

JUCELI GONZALEZ GOUVEIA

**“CITOGENÉTICA DE PEIXES DAS FAMÍLIAS
HEPTAPTERIDAE E PSEUDOPIMELODIDAE
(SILURIFORMES):
CONTRIBUIÇÃO PARA ESTUDOS COM DNAS REPETITIVOS”**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor.

Orientadora: *Dra. Ana Lúcia Dias*

Londrina
2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Gouveia, Juceli Gonzalez .

"Citogenética de peixes das famílias Heptapteridae e Pseudopimelodidae (Siluriformes): Contribuição para estudos com DNAs repetitivos" : Mapeamento físico de diferentes tipos de DNAs repetitivos no genoma de catfish: Caracterização de sequências de Tc1-mariner no gênero *Imparfinis* (Siluriforme: Heptapteridae). / Juceli Gonzalez Gouveia. - Londrina, 2016.
105 f. : il.

Orientador: Ana Lúcia Dias.

Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, 2016.

Inclui bibliografia.

1. Citogenética Animal - Teses. 2. Citogenética de Peixes - Teses. 3. Família Heptapteridae e Pseudopimelodidae - Teses. 4. Isolamento e caracterização de sequências de transposon Tc1-Mariner - Teses. I. Dias, Ana Lúcia . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular. III. Título.

JUCELI GONZALEZ GOUVEIA

**“CITOGENÉTICA DE PEIXES DAS FAMÍLIAS HEPTAPTERIDAE E
PSEUDOPIMELODIDAE (SILURIFORMES):
CONTRIBUIÇÃO PARA ESTUDOS COM DNAS REPETITIVOS”**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^a Dra. Ana Lúcia Dias
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof^o Dr. Alberto Sergio Fenocchio
Universidade Nacional de Misiones– UNAM

Dr. Carlos Roberto Maximiano da Silva
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof^a Dra. Lucia Giuliano Caetano
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof^o Dr. Marcelo Ricardo Vicari
Universidade Estadual de Ponta Grossa – UEPG

Londrina, 26 de fevereiro de 2016.

*Dedico esse trabalho as pessoas mais importantes da minha vida,
Meus pais, meus irmãos
e meus amigos
Minha força vem de vocês!*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me dar força para enfrentar os desafios da vida e por me proporcionar tantas realizações durante a concretização desse sonho.

À universidade Estadual de Londrina, em especial ao programa de pós-graduação em Genética e Biologia Molecular, pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

À minha orientadora prof^a Dra. Ana Lúcia Dias, por ter aceitado me orientar e ter me ensinado muitas coisas durante esses quatro anos, principalmente a ter paciência e fazer cada coisa na sua hora certa.

Aos professores, Dr. Alberto Sergio Fenocchio, Dr. Carlos Roberto Maximiano da Silva, Dra. Lucia Giuliano Caetano e Dr. Marcelo Ricardo Vicari, por aceitar fazer parte da minha banca examinadora e contribuir nas sugestões para melhorar este trabalho.

Ao professor Pat Heslop-Herrison, por me aceitar e colaborar com este trabalho em minha pesquisa como doutorado sanduiche na Universidade de Leicester.

Agradeço também as professoras: Dra. Lucia Giuliano Caetano e Dra. Renata da Rosa, pelo apoio e contribuição na elaboração deste trabalho, por todos os esclarecimentos durante esses anos.

À Sueli, secretária da Pós-Graduação da UEL, por ser prestativa e me auxiliar nas partes burocráticas da Pós durante boa parte do meu doutorado. Aos técnicos de laboratório, Dário e Melissa, pela ajuda no laboratório.

Aos colegas do laboratório de Citogenética Animal (LACA): Marceléia, Angélica de Paula, Natália, Angélica Rossoti, Larissa Pires, Tatiana, Larissa Lacerda, Jamille, Josivanda, Fabio, Laura e Vivian, Matheus, Ana Beatriz, Mariana, Raquel, Rachel, Jaqueline, todos os que passaram pelo LACA nesses seis anos em que estive na UEL. Obrigada a todos pela disposição de me ajudar quando necessário e também muito obrigada pela oportunidade de conviver com vocês nos momentos de descontração.

As amigas, Angélica, Mariana, Laura, Glauca e Vick, amigadas que construí em Londrina e que quero levar para o resto da vida. Obrigada meninas pela parceria, pelos momentos e conversas agradáveis durante as saídas, reuniões em casa e principalmente por serem amigas para todas as horas. Muito obrigada!

Em especial a minha família que é o meu porto seguro e a minha vida. Agradeço pelo carinho, apoio incondicional de meus pais Moisés e Digna, minha irmã Marta, meu irmão Jaime, por fazerem parte da minha vida e me ajudarem sempre que preciso, minimizando as dificuldades durante a caminhada. Obrigada aos meus sobrinhos Letícia, Gabriele e Vinícius, pelas alegrias que trazem a nossa família e por serem crianças maravilhosas. Obrigada a todos vocês e demais familiares por fazer valer a pena cada esforço que tenho. Amo vocês!

Enfim, obrigada amigos, colegas, professores, familiares, entre outros, por tornarem essa jornada mais fácil e possível devido ao apoio e dedicação de todos. Muito obrigada!

*“ A alegria está na luta, na tentativa, no sofrimento
envolvido e não na vitória propriamente dita”
(Mahatma Gandhi)*

*“Seja fiel nas pequenas coisas porque
é nelas que mora sua força”
(Madre Teresa de Calcutá)*

*“A humildade é a única base
sólida de todas as virtudes”
(Confúcio)*

GOUVEIA, Juceli Gonzalez. **Citogenética de peixes das famílias Heptapteridae e Pseudopimelodidae (Siluriformes):** contribuição para estudos com DNAs repetitivos. 2016. 105 f. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Estadual de Londrina, 2016.

RESUMO

Os Peixes das famílias Heptapteridae e Pseudopimelodidae, são peixes de couro, endêmicos dos neotrópicos e possuem uma ampla distribuição nos cursos d'água na América Central e do Sul. A família Heptapteridae apresenta cerca de 26 gêneros e 208 espécies válidas e Pseudopimelodidae com 5 gêneros e aproximadamente 37 espécies válidas. Os estudos citogenéticos são escassos nessas duas famílias diante da quantidade de espécies, sendo que apenas 41 espécies de Heptapteridae e 7 espécies de Pseudopimelodidae apresentam dados com este tipo de análise, até o momento. Em Heptapteridae os estudos estão voltados para os gêneros *Imparfinis*, *Pimelodella* e *Rhamdia*, e em Pseudopimelodidae apenas poucos gêneros possuem descrição cariotípica, onde a maioria dos estudos apresentam apenas dados de citogenética clássica, não possuindo muitas análises cito-moleculares como o mapeamento físico de DNAs repetitivos. Neste estudo foram descritos os primeiros dados com isolamento e caracterização de sequências de um elemento transponível Tc1-Mariner do genoma de *Imparfinis schubarti*, além do mapeamento cromossômico deste e de outros DNAs repetitivos como DNAr 18S, 5S e microssatélites em duas espécies do gênero *Imparfinis*, da família Heptapteridae, com o objetivo de discutir a composição genômica desse gênero, que é considerado o mais diversificado dentro de Heptapteridae. As sequências isoladas de Tc1-mariner mostraram similaridade de aproximadamente 70% com sequências não autônomas da superfamília Mariner, com domínios característicos deste transposon. O mapeamento físico de Tc1-mariner nos cromossomos de *Imparfinis borodini* e *I. schubarti*, mostrou que esse elemento ocorre em abundância no genoma dessas duas espécies, com localização em regiões heterocromáticas e com um padrão diferenciado de distribuição nos cromossomos entre essas duas espécies. Esse transposon também apresentou marcação nos cromossomos portadores de sítios ribossômicos 18S e 5S, assim como sequências curtas de microssatélites, o que pode ser um indício que a dispersão e evolução de genes de DNAs ribossômicos podem ser mediadas por DNAs repetitivos, devido a organização desses elementos no genoma de peixes. Entre essas duas espécies de *Imparfinis*, também foi observada diferente localização das AgRONS, sítios de DNAr 18S e 5S em seus genomas, além de apresentarem uma grande diferença no número diplóide, onde *I. borodini* mostrou o primeiro $2n=50$ entre os Heptapterídeos e *I. schubarti* com $2n=58$, que é o mais comum nas espécies desse gênero. Os dados sugerem que *I. borodini* e *I. schubarti* mostram uma evolução cromossômica mais divergente do que conservativa. Foi realizado também um estudo com diferentes gêneros e espécies de heptapterídeos e pseudopimelodídeos, com a utilização de diferentes marcadores cromossômicos, visando discutir as relações citogenéticas entre essas duas famílias, juntamente com dados da literatura. Foram analisadas três espécies de heptapterídeos (*Cetopsorhamdia iheringi*, *Phenacorhamdia tenebrosa* e *Pimelodella meeki*) e duas de pseudopimelodídeos (*Microglanis cibela* e *Microglanis cottoides*). Os resultados revelaram o primeiro $2n=48$ para a família Heptapteridae em *Phenacorhamdia tenebrosa* já em *Microglanis cibela* que apresenta o primeiro dado citogenético neste trapalho, mostrou o $2n=54$ que é característico de Pseudopimelodidae. Foram observadas características citogenéticas compartilhadas entre esses dois grupos como a presença de cromossomos com dois braços, a localização das RONS em região terminal de 1 par de cromossomos, na maioria das espécies estudadas, com uma variação de sítios de DNAr 18S e 5S em diferentes populações, inclusive da mesma espécie, como em *Microglanis cottoides*. Os dados

apresentados mais os da literatura confirmam a proximidade entre essas duas famílias por meio de diferentes marcadores citogenéticos e também revelam que existem características específicas de cada grupo, como a variabilidade cariotípica de Heptapteridae e o conservado $2n$ em Pseudopimelodidae. Este trabalho também corrobora com a hipótese de que rearranjos cromossômicos estão ocorrendo nas espécies de Heptapteridae e Pseudopimelodidae, podendo ser mediada por diferentes mecanismos, o que reflete a organização genômica dentro deste grupo.

Palavras-chaves: DNA repetitivo. DNA ribossômico. Diversidade cariotípica. Microssatélites. Tc1 Mariner. Pisces.

GOUVEIA, Juceli Gonzalez. **Fish cytogenetics of Heptapteridae and Pseudopimelodidae families (Siluriformes):** contribution to studies with repetitive DNAs. 2016. 105 p. Thesis (Doctorate in Genetics and Molecular Biology) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.

ABSTRACT

The Heptapteridae and Pseudopimelodidae families are endemic fish of the Neotropics and have a wide distribution in the water courses in Central and South America. The Heptapteridae family have about 26 genera and 208 valid species and Pseudopimelodidae with 5 genera and 37 valid species. Cytogenetic studies are very scarce in these two families, with only 41 Heptapteridae species and 7 of Pseudopimelodidae species, present studies with this kind of analysis to date. In Heptapteridae studies are closer on the *Imparfinis*, *Pimelodella* and *Rhamdia* genera, and Pseudopimelodidae only a few genera have karyotype description. Most studies have only classical cytogenetic studies, and scarce in cyto-molecular analyzes as the physical mapping of DNA repetitive. This study describes the first data with isolation and characterization of sequences of a transposable element (Tc1-Mariner) from the genome of *Imparfinis schubarti*, beyond the chromosomal mapping of this transposon and other repetitive DNA like 18S and 5S rDNA and microsatellites in two species *Imparfinis* genera of Heptapteridae family, in order to discuss the genomic composition of this kind, which is considered the most diverse genera in Heptapteridae. The isolated sequences of Tc1-mariner showed similarity to sequences of non-autonomous Mariner superfamily, with a distinctive domine of this transposon. The physical mapping of Tc1- mariner in the chromosomes of *Imparfinis borodini* and *I. schubarti* showed that this element occurs in abundance in the genome of these two species, with location in heterochromatic regions and with a different pattern of distribution in the chromosomes of these two species. This transposon also presented marking on chromosome bearing ribosomal sites 18S and 5S, so as short microsatellite sequences, which may be an indication that the dispersion and evolution of ribosomal DNA genes can be mediated by repetitive DNA, due to the arrangement of these elements into the genome of the fish. Between these two kinds of *Imparfinis* was also showed different location of AgRONS, 18S and 5S rDNA sites in their genomes, besides presenting a big difference in 2n where *I. borodini* showed the first 2n = 50 between heptapterídeos and *I. schubarti* with 2n = 58, which is the most common species in this genera. The data suggest that chromosomal evolution in *I. borodini* and *I. schubarti* are more divergent than conservative. It was also carried out a study with different genera and species of heptapterídeos and pseudopimelodídeos with the use of different chromosomal cytogenetic markers, in order to discuss relations between the two families, along with literature. Three species of heptapterídeos were analyzed (*Cetopsorhamdia iheringi*, *Phenacorhamdia tenebrosa* and *Pimelodella meeki*) and two pseudopimelodídeos (*Microglanis cibela* and *Microglanis cottoides*). The results revealed the first 2n=48 for Heptapteridae family in *Phenacorhamdia tenebrosa* and confirmed the 2n=54 characteristic of Pseudopimelodidae, including *Microglanis cibela*, with the first cytogenetic data presented in this study. Cytogenetic characteristics shared between these two groups were observed as the presence of chromosomes with two arms, the location of NORs in the terminal position of 1 pair of chromosomes in most species with a variation of rDNA 18S and 5S sites in different populations even the same species, as *Microglanis cottoides*. This study confirm the proximity between these two families with different cytogenetic markers and also show that there are specific characteristics of each group, such as karyotype variability in Heptapteridae and consevative 2n in Pseudopimelodidae. This work also corroborates the hypothesis that chromosomal rearrangements are important to evolution in Heptapteridae and Pseudopimelodidae species and may be mediated by different mechanisms, reflecting the genomic organization within this group.

Keywords: Microsatellite. Karyotype diversity. Repetitive DNA. Ribosomal DNA. Tc1-Mariner. Pisces.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Dados citogenéticos em espécies de peixes das famílias Heptapteridae e Pseudopimelodidae.....	27
Capítulo II:	Relações e tendências cariotípicas entre espécies de catfishes Neotropicais das famílias Heptapteridae e Pseudopimelodidae (Siluriformes).	
Tabela 1.	Dados citogenéticos (2n, cariótipo e DNAr) em espécies e populações das famílias Heptapteridae e Pseudopimelodidae	95
Tabela 2.	Locais de estudo e espécies estudadas.....	98

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Mapa evidenciando os locais de coleta e fotos representativas dos exemplares dos peixes estudados. (a) *Cetopsorhamdia iheringi*; (b) *Imparfinis schubarti*; (c) *Imparfinis borodini*; (d) *Phenacorhamdia tenebrosa*; (e) *Pimelodella meeki*; (f) *Microglanis cottoides* (foto obtida de CARVALHO et al. 2011) (g) *Microglanis cibela*e (foto de Juceli Gouveia) 38
- Capítulo I: Mapeamento físico de diferentes tipos de DNAs repetitivos no genoma de catfish: Caracterização de sequências de Tc1- mariner no gênero *Imparfinis* (Siluriforme: Heptapteridae).**
- Figura 1** - Mapa dos locais de coleta das espécies estudadas: Em (a) mapa representativo da América do Sul com destaque (em preto) do estado do Paraná. Em (b) os rios pertencentes à bacia do rio Paranapanema (1,2 e 3) e à bacia do rio Ivaí (4 e 5) 65
- Figura 2** - Cariótipos com coloração convencional de *Imparfinis schubarti* (a) e *Imparfinis borodini* com evidencia da assimetria no par 1 (c). No box, em (a) e (c), os pares com localização da AgRON, DNAr 18S (sinal verde) e 5S (sinal vermelho) e coloração com CMA₃ (sinal amarelo). Em (b) e (d) cariótipos de *I. schubarti* e *I. borodini*, respectivamente, com bandamento C, evidenciando os blocos heterocromáticos em alguns cromossomos das duas espécies 66
- Figura 3** - Cariótipos de *Imparfinis schubarti* (a) e *Imparfinis borodini* (b) com a hibridação *in situ* por fluorescência, mostrando a distribuição da sequência de Tc1-mariner. Nos boxes em (a) e (b), núcleos interfásicos de *I. schubarti* e *I. borodini*, respectivamente, mostrando a distribuição de Tc1-mariner 67
- Figura 4** - Metáfases somáticas de *Imparfinis borodini* (a,c,e,g) e *Imparfinis schubarti* (b,d,f,h), mostrando o padrão de hibridação *in situ* por fluorescência de sequências de microssatélites. (a, b) FISH com sonda do microssatélite (GAA)₇; (c, d) microssatélite (GACA)₄; (e, f) microssatélite (CAC)₅ e (g, h) microssatélite (CA)₈ 68
- Capítulo II: Relações e tendências cariotípicas entre espécies de catfishes Neotropicais das famílias Heptapteridae e Pseudopimelodidae (Siluriformes).**
- Figura 1** - Mapa evidenciando os locais de coletas. 1=Rio Maquiné pertencente a bacia hidrográfica do Tramandai/RS; 2= Rio das Antas, bacia hidrográfica do Tagaçaba/PR; 3= Rio Batatal e 4= Rio Iporanga, bacia hidrográfica do rio Ribeira do Iguape; 5= Rio Quexada, bacia hidrográfica do rio Ivaí; 6=Rio Vermelho e 7=Ribeirão Três Bocas, ambos da bacia hidrográfica do rio Paranapanema 99
- Figura 2** - Cariótipo representativo das espécies de peixes da família Heptapteridae. *Cetopsorhamdia iheringi* com 2n=58 (a); *Pimelodella meeki* com 2n=46 (b) e *Phenacorhamdia tenebrosa* com 2n=48 (c). No box em (a), (b), (c) os pares das RONS coradas com nitrato de prata e fluorocromo CMA₃ 100
- Figura 3** - Cariótipo representativo das espécies de peixes da família Pseudopimelodidae. *Microglanis cibela*e (a) e *Microglanis cottoides* (b), representando todas populações, com 2n=54. No box em (a) e (b) os pares das RONS coradas com nitrato de prata e fluorocromo CMA₃ 101
- Figura 4** - Metáfases somáticas com double FISH das espécies da família Heptapteridae e Pseudopimelodidae com sonda de DNAr 18S (sinal verde) e 5S (sinal vermelho) *Cetopsorhamdia iheringi* (a); *Pimelodella meeki* (b); *Phenacorhamdia tenebrosa* (c); *Microglanis cibela*e (d); *Microglanis cottoides* do rio das Antas (e); *Microglanis cottoides* do rio Batatal (f) e *Microglanis cottoides* do rio Iporanga (g) 102

SUMÁRIO

1	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	12
1.1	Considerações gerais sobre as famílias Heptapteridae e Pseudopimelodidae	12
1.2	Citogenética da família Heptapteridae e Pseudopimelodidae	14
1.3	DNA repetitivo: Considerações gerais	19
1.3.1	DNA repetitivo em Tandem	21
1.3.2	DNAs repetitivos dispersos	23
2	OBJETIVOS:	36
2.1	Objetivo geral	36
2.2	Objetivos específicos	36
3	LOCAIS DE ESTUDO E ESPÉCIES ESTUDADAS	37
4	REFERÊNCIAS	39
CAPÍTULO I - Mapeamento físico de diferentes tipos de DNAs repetitivos no genoma de catfish: Caracterização de sequências de Tc1- mariner no gênero <i>Imparfinis</i> (Siluriforme: Heptapteridae		
	Introdução	46
	Material e Métodos	48
	Resultados	50
	Discussão	53
	Referências	55
	ANEXOS	60
	69	
CAPÍTULO II- Relações e tendências cariotípicas entre espécies de catfishes Neotropicais das famílias Heptapteridae e Pseudopimelodidae (Siluriformes)		
	Introdução	80
	Material e Métodos	81
	Resultados	81
	Discussão	83
	Referências	85
	90	
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	103

1 – FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1 – Considerações gerais sobre as famílias Heptapteridae e Pseudopimelodidae

Os peixes das famílias Heptapteridae e Pseudopimelodidae pertencem à ordem Siluriformes, são peixes sem escamas que possuem uma ampla distribuição na região Neotropical em cursos d'água da América Central e do Sul (BOCKMANN; GUAZELLI, 2003; SHIBATTA, 2003a).

FERRARIS (2007), propôs que a família Heptapteridae é composta por 26 gêneros e 189 espécies válidas e Pseudopimelodidae por 5 gêneros e 29 espécies válidas. Nos últimos anos novas espécies foram descritas e, atualmente, Heptapteridae apresenta cerca de 208 espécies válidas e Pseudopimelodidae com, aproximadamente, 37 espécies válidas (ESCHMEYER; FONG, 2016).

A família Heptapteridae se distribui em 26 gêneros: *Acentronichthys*, *Brachyglanis*, *Brachrhamdia*, *Cetopsorhamdia*, *Chasmocranus*, *Gladioglanis*, *Goeldiella*, *Heptapterus*, *Horiomyzon*, *Imparales*, *Imparfinis*, *Leptorhamdia*, *Mastiglanis*, *Medemichthys*, *Myoglanis*, *Nannoglanis*, *Nemuroglanis*, *Pariolius*, *Phenacorhamdia*, *Phreatobius*, *Pimelodella*, *Rhamdella*, *Rhamdia*, *Rhamdioglanis*, *Rhamdiopsis* e *Taunaya* (BOCKMANN e GUAZELLI, 2003). No território brasileiro estão distribuídas, aproximadamente, 100 espécies pertencentes a 20 gêneros (BOCKMANN, 2007).

A família Pseudopimelodidae compreende 5 gêneros: *Batrochoglanis*, *Cephalosilurus*, *Lophiosilurus*, *Microglanis*, *Pseudopimelodus*. O gênero *Microglanis*, com 14 espécies, possui a maior distribuição, desde a vertente Ocidental dos Andes, no Peru, na bacia do rio La Plata e também na Argentina (SHIBATTA, 2003a).

A classificação sistemática dessas duas famílias sofreu alterações na última década. Anteriormente, elas pertenciam à família Pimelodidae, dividida em três

subfamílias monofiléticas: Pimelodinae, Heptapterinae e Pseudopimelodinae (SHIBATTA 2003b). Devido a características morfológicas diferenciadas, REIS et al. (2003), dividiram grande parte dos pimelodídeos em famílias distintas, sendo Heptapteridae, que foi descrita por BOCKMANN e GUAZZELLI (2003) e Pseudopimelodidae descrita por SHIBATTA (2003a). SULLIVAN et al. (2006) utilizando de dados filogenéticos como análise de genes nucleares Rag1 e Rag 2 realocaram essas duas famílias, em um grupo monofilético, considerando-as como grupos irmãos.

Além da complexa relação filogenética da família Heptapteridae e Pseudopimelodidae, existem muitos conflitos taxonômicos em relação aos seus gêneros e espécies. A classificação das espécies torna-se difícil, principalmente em relação às espécies crípticas, onde os caracteres morfológicos não são suficientes para sua distinção e, geralmente, estão associados a “complexos de espécie”, onde diferentes espécies biológicas são incluídas em uma mesma nomenclatura taxonômica, como ocorre no gênero *Rhamdia*, da família Heptapteridae (PERDICES et al., 2002) e *Microglanis*, da família Pseudopimelodidae (RUIZ e SHIBATTA 2011; MORI e SHIBATTA 2006).

Os Heptapterídeos e Pseudopimelodídeos, são conhecidos popularmente, como bagres, mandis e mandizinhos, onde algumas espécies de *Pseudopimelodus* e *Cephalosilurus* são conhecidas como bagre-sapo ou jáu-sapo, são peixes com hábitos noturnos e vivem escondidos na vegetação (SHIBATTA, 2003a). Em relação à morfologia, são peixes com uma coloração bonita e, algumas espécies são apreciadas por aquaristas como *Pimelodella* e *Brachyrhamdia*, da família Heptapteridae, e o gênero *Batrochoglanis* e *Microglanis* da família Pseudopimelodidae (BOCKMANN e GUAZZELLI 2003; SHIBATTA, 2003a).

Heptapterídeos possuem características anatômicas bem específicas como: corpo alongado, com uma pele espessa e lisa, com três pares de barbilhões, nadadeira adiposa sempre presente e bem definida, e também com uma nadadeira dorsal bem desenvolvida e os olhos podem ser pequenos ou grandes (BURGESS, 1989). São peixes de porte pequeno, em sua maioria, apresentando no máximo 20 cm (BOCKMANN; GUAZZELLI, 2003).

Os Pseudopimelodídeos se diferenciam de outros bagres, por apresentarem uma boca larga, olhos pequenos, que é uma característica bem marcante, margem orbital e barbilhões curtos (SHIBATTA, 2003a). Apesar de também serem considerados de porte pequeno, este grupo de peixes possui alguns exemplares com porte médio, variando de 5 a 40 cm (SHIBATTA, 2003b).

1.2- Citogenética da família Heptapteridae e Pseudopimelodidae

A primeira revisão citogenética nessas duas famílias foi realizada por SWARÇA et al. (2007), onde os autores mostraram dados para 28 espécies de Heptapteridae e 5 espécies de Pseudopimelodidae. Na tabela 1 foram compilados dados mais recentes nestas duas famílias, aumentando para um total de 41 espécies da família Heptapteridae e 7 espécies da família Pseudopimelodidae com cariótipo descrito até o momento. Nessa revisão cariotípica pode-se verificar que, tendo em vista o número de espécies pertencentes a essas duas famílias, os dados ainda continuam escassos, sendo acrescentadas 13 espécies de Heptapteridae e 2 de Pseudopimelodidae, desde o estudo de Swarça et al. (2007).

Apenas alguns gêneros de heptapterídeos foram acrescentados nos estudos citogenéticos desde a revisão de SWARÇA et al. (2007), como: *Heptapterus*, *Phenacorhamdia*, *Rhamdiopsis* e *Taunaya* e nos pseudopimelodídeos apenas o gênero

Cephalosilurus foi acrescentado nesse tipo de estudo. Como já mencionado acima, devido a confusão taxonômica que ocorre frequentemente nas espécies dessas duas famílias, muitas ainda não apresentam identificação definida nos estudos citogenéticos, sendo 25 populações de Heptapteridae, relativas aos gêneros *Imparfinis*, *Pimelodella* e *Rhamdia* e 1 população de Pseudopimelodidae, do gênero *Microglanis* sem identificação (Tabela 1).

Com os dados compilados da tabela 1, nota-se um número diploide variável da família Heptapteridae, onde destacam-se *Imparfinis*, *Rhamdia* e *Pimelodella* como os gêneros mais estudados, em diversas populações da mesma espécie. Nos gêneros *Cetopsorhamdia*, *Imparfinis* e *Rhamdia*, ocorre uma constância de $2n=58$ nas espécies analisadas sendo exceções apenas *I. hollandi* e *Imparfinis* cf. *piperatus*, com $2n=42$ e $2n=56$, respectivamente. Já no gênero *Pimelodella* ocorre uma prevalência de $2n=46$.

Em Pseudopimelodidae, apesar de poucas espécies com estudos cariotípicos, todas possuem $2n=54$ e *Pseudopimelodus* é o gênero que apresenta maior número de espécies analisadas como relacionado na tabela 1, sendo três espécies de quatro populações diferentes. Dentro dessas duas famílias pode-se notar que a composição dos cariótipos é constituída preferencialmente por cromossomos com dois braços, metacêntricos, submetacêntricos e subtelocêntricos, caracterizando um número fundamental elevado (>80).

Cromossomos sexuais foram identificados apenas na família Heptapteridae no gênero *Pimelodella* por DIAS e FORESTI (1993) e GARCIA e ALMEIDA- TOLEDO (2010). No entanto, GOUVEIA et al. (2013), evidenciaram um heteromorfismo de heterocromatina em *Imparfinis mirini*, que poderia estar relacionado com um provável sistema sexual do tipo XX/XY, observado após análises do comportamento meiótico e mitótico. VISSOTTO et al. (1997), analisando duas populações de *I. mirini*, observaram

um heteromorfismo semelhante apenas em indivíduos fêmeas, e os autores sugeriram um possível sistema sexual do tipo ZZ/ZW. Mais recentemente, FERREIRA et al. (2014) analisando espécies desse gênero, observaram diferentes cariomorfos em populações de *I. mirini*, confirmando a grande variabilidade dentro desse gênero.

Presença de cromossomos supranumerários ou cromossomos B são característicos das espécies do gênero *Rhamdia*, da família Heptapteridae, sendo encontrado em apenas uma população do gênero *Pimelodella* (Tabela 1). A presença de Bs em *Rhamdia* é uma característica do grupo, sendo encontrados em 72,98% das diferentes populações e/ou espécies analisadas, em diferentes tipos e tamanhos, mostrando variação intra e interindividual (MORAES et al., 2009). Esses cromossomos foram observados totalmente eucromáticos em *Rhamdia quelen*, coletada na serra da Bodoquena/MS (MORAES et al., 2007) e parcialmente ou totalmente heterocromáticos em outras populações desta espécie (MORAES et al., 2009; GARCIA et al., 2010). Em *Pimelodella* sp. analisada por GARCIA e ALMEIDA-TOLEDO (2010) os cromossomos B mostraram-se eucromáticos e apresentaram sinais após a coloração com cromomicina A₃ (CMA₃) e hibridação com sonda de DNAr 18S, em regiões não detectadas pela prata, sugerindo, segundo os autores, uma possível relação de homologia parcial desses cromossomos com sítios de DNAr 18S e uma ausência de atividade destas regiões.

Em Pseudopimelodidae cromossomo supranumerário foi evidenciado apenas em um indivíduo triploide de uma população do rio Forquetinha/RS, por Gouveia et al. (2015), os quais sugeriram que a presença deste cromossomo extra, poderia estar relacionada com a formação desse indivíduo triploide. Esse tipo de polimorfismo numérico, como triploidia, também já foi identificado em diversas populações do gênero *Rhamdia*, da família Heptapteridae (Tabela 1), sendo que, Em *Rhamdia quelen*

existem estudos relacionando triploidia com o maior crescimento em peixes de piscicultura, para uso comercial (SALHI et al. 2004).

As regiões organizadoras de nucléolos (RONs) mostram-se como um padrão simples em quase todas as espécies de Heptapteridae, onde RONs múltiplas foram evidenciadas apenas em: *Heptapterus mustelinus*, *Imparfinis borodini*, *Rhamdia branneri* e *Rhamdia voulezi* (Tabela 1). Em Pseudopimelodidae, as espécies parecem possuir uma maior tendência de RONs múltiplas sendo 3 espécies das 7 estudadas com este padrão: *Microglanis aff. cottoides* (uma das populações), *Pseudopimelodus bufonius* e *Pseudopimelodus pulcher* (Tabela1).

As RONs, geralmente, possuem marcação com fluorocromo cromomicina A₃ (CMA₃) que detecta regiões ricas em bases GC, observada em espécies de Heptapteridae como em diferentes espécies dos gêneros *Pimelodella* (GARCIA E ALMEIDA-TOLEDO 2010; GOUVEIA et al. 2013), *Rhamdia* (GARCIA et al. 2010) e *Imparfinis* (GOUVEIA et al. 2013) e em *Lophiosilurus alexandri* (MARQUES et al. 2008); *Microglanis cottoides* e *Pseudopimelodus pulcher* (GOUVEIA et al. 2015) da família Pseudopimelodidae.

A heterocromatina também se mostrou rica em pares de bases GC como evidenciado em espécies do gênero *Imparfinis*, *Pimelodella* (GOUVEIA et al. 2013). Em *Rhamdia quelen* a heterocromatina foi rica em bases GC e AT (SWARÇA et al. 2003). Já em Pseudopimelodidae, GOUVEIA et al (2015) após análise de banda C em *Microglanis cottoides* e *Pseudopimelodus pulcher*, mostraram que a heterocromatina é rica em bases AT, após coloração com o fluorocromo DAPI.

Apesar de apresentarem heterocromatina com diferente composição de bases, as espécies das famílias de Heptapteridae e Pseudopimelodidae apresentam um padrão de distribuição semelhante, sendo encontradas regiões heterocromáticas pericentroméricas

e terminais dos cromossomos, parecendo ser esta uma característica destes grupos de peixes (Tabela 1).

Na revisão de SWARÇA et al. (2007) ainda eram poucos os dados de citogenética molecular, utilizando a hibridação fluorescente *in situ* (FISH), sendo que a maioria das populações analisadas possuíam apenas dados de descrição cariotípica e análise das Ag-RONs. Recentemente, mais estudos sobre a localização de DNAs ribossômicos foram realizados sendo que, das 125 populações estudadas de Heptapteridae, 66 possuem hibridação com sonda de DNAr 18S e 47 com sonda de DNAr 5S, com maior concentração de dados em três gêneros: *Imparfinis*, *Rhamdia* e *Pimelodella* (Tabela 1). Entretanto, apesar do aumento deste tipo de análise os dados ainda são poucos em comparação com o número de espécies de heptapterídeos.

Em Pseudopimelodidae, hibridação com sonda de DNAr 18S foi realizada apenas em *Lophiosilurus alexandri*, *Microglanis cottoides* e *Pseudopimelodus pulcher* (Tabela 1) e a localização de sítios de DNAr 5S foi evidenciada, até o momento, somente em *L. alexandri* por MARQUES et al. (2008), em região terminal do braço longo de um par de cromossomos submetacêntricos.

Em Heptapteridae, sítios de DNAr 18S podem aparecer em sintenia com sítios de DNAr 5S em algumas espécies como: *Cetopsorhamdia iheringi*, *Imparfinis mirini*, *I. minutus*, *I. schubarti* e *Pimelodella gracialis* ou estarem localizados em diferentes cromossomos do complemento (Tabela 1). O DNAr 5S está normalmente localizado em regiões intersticiais dos cromossomos, ocorrendo uma variação no par cromossômico portador deste cístron entre as espécies e até mesmo em diferentes populações da mesma espécie dessa família (Tabela 1).

Algumas tendências evolutivas são consideradas dentro de Heptapteridae, para explicar, por exemplo, a maior prevalência do $2n=58$, observado em alguns gêneros,

sendo considerado uma característica ancestral na família por BORBA et al. (2012). No gênero *Imparfinis* e *Cetopsorhamdia*, a localização das RONS em região intersticial dos cromossomos é considerada uma condição sinapomórfica, pois a maioria das espécies de heptapterídeos possuem RONS na região terminal (FENOCCHIO et al. 2003a; BORBA et al. 2012; FERREIRA et al. 2014). Como relacionado na Tabela 1, mais dois gêneros, *Rhamdiopsis* e *Taunaya*, possuem espécies com RONS em regiões cromossômicas intersticiais. Já em Pseudopimelodidae, todas as espécies analisadas, até o momento, possuem RONS em regiões terminais dos cromossomos (Tabela 1).

Alguns autores relacionam a variação no $2n$ com rearranjos cromossômicos, como sugerido por MARGARIDO e MOREIRA-FILHO (2008) em estudo com *Imparfinis hollandi* que possui o menor número de cromossomos ($2n=42$), entre os heptapterídeos. Tais autores observaram quatro pares de cromossomos assimétricos (os maiores do complemento), sem marcação com sonda telomérica, e propuseram uma possível inativação do telômero, provavelmente devido à ocorrência de fusões cromossômicas na evolução cariotípica desta espécie.

1.3- DNA Repetitivo: considerações gerais

Devido ao maior número de sequenciamento de genomas e isolamento de sequências de DNAs repetitivos, houve uma constatação de que o genoma de eucariotos apresenta grande abundância de DNAs repetitivos (BIÉMONT E VIEIRA, 2006). Por muito tempo esse tipo de DNA foi considerado como DNA lixo (*junk DNA*) (DOOLITTLE e SAPIENZA, 1980). Atualmente, já se sabe que DNAs repetitivos apresentam diversas funções estruturais e organizacionais no genoma, como na regulação de genes, replicação, rearranjos cromossômicos, reparo do DNA ou até mesmo envolvidos na causa de algumas doenças (SUMMER, 2003).

Diante dos estudos que levaram ao conhecimento da estrutura desses DNAs, várias metodologias vêm sendo empregadas para o isolamento e localização cromossômica em eucariotos, como a digestão genômica com enzima de restrição (SCHMIDT e HESLOP-HARRISON, 1996), construção de primer específico para determinado tipo de DNA repetitivo (NANDI et al. 2007), cinética de reassociação (C_0t) (ZWICK et al. 1997). Esses DNAs repetitivos, quando utilizados no mapeamento cromossômico de diferentes organismos, podem ser importantes marcadores moleculares para o entendimento da estrutura e evolução no genoma de diferentes, ordens, famílias, gêneros ou espécies.

Existem vários estudos com DNAs repetitivos relacionados com o mapeamento cromossômico mostrando-se como um importante marcador nos estudos citogenéticos de peixes, podendo auxiliar na compreensão da evolução e identificação de rearranjos cromossômicos, diferenciação de cromossomos sexuais (VICARI et al. 2008), problemas taxonômicos (BLANCO et al. 2011), e de cromossomos B (SILVA et al. 2014).

Os DNAs repetitivos são divididos de acordo com sua função, tamanho e distribuição dentro dos genomas e nas famílias Heptapteridae e Pseudopimelodidae, são poucos os estudos com este tipo de DNA, sendo que a maioria está relacionada com os repetitivos em tandem, como citado anteriormente, em estudos com mapeamento de DNAs ribossômicos 18S e 5S; o isolamento e caracterização dessas sequências são ainda mais raros, sendo realizados, até o momento, apenas em uma espécie da família Heptapteridae, *Imparfinis schubarti*, com sequências de DNAr 5S (GOUVEIA et al., submetido para publicação).

1.3.1 - DNA repetitivo em tandem

Dentre os DNAs repetitivos em tandem (em sequência), estão inclusos os satélites, minissatélites e microssatélites que são divididos de acordo com sua unidade de repetição e de seu tamanho, podendo ser de 100pb, 10-100pb e de 2-6pb, respectivamente (SUMMER, 2003).

Os microssatélites (SSRs), apesar de serem sequências muito curtas, podem desempenhar diversas funções no genoma eucarioto, podendo ser encontrados tanto distribuídos em regiões codificantes como não codificantes (TÓTH et al. 2000). Estudos demonstram uma importância evolutiva e dinâmica da distribuição genômica de SSRs como: alterações genéticas que influenciam nas funções da expressão dos genes, organização da cromatina, do ciclo celular e contribuição relativa na replicação e mecanismos de reparo do DNA associados à mutação e recombinação (revisão de YOU-CHUN et al. 2002).

A maior abundância de microssatélites de 30-67% dos genomas incluem os dinucleotídeos (AC)_n e em segundo lugar os dinucleotídeos (AT)_n (TÓTH et al. 2000). Existem diversos trabalhos com microssatélites em peixes, que possuem um relativo grau de abundância nos diferentes genomas, sendo que muitas espécies apresentam polimorfismos relacionados a essas sequências em seu genoma, como o peixe amazônico *Pseudoplatystoma punctifer* (SAULO-MACHADO et al. 2011). No baiacu japonês cerca de 3.21% de seu genoma é constituído de microssatélites (CROLLIUS et al. 2000). Os estudos de caracterização de diferentes tipos de microssatélites nos genomas de peixes, torna-se uma importante ferramenta para o entendimento da estrutura e organização de genomas (CHISTIYAKOV et al. 2006).

Nessa classificação de DNA repetitivo em tandem estão inclusas também, as famílias multigênicas como as histonas e os DNAs ribossômicos (DNAr). Os DNAs

ribossômicos podem ser divididos em duas classes: a primeira representada pelo DNAr 45S, que compreende as regiões que transcrevem os genes RNAs 28S, 18S e 5,8S, além de espaçadores intergênicos; e a segunda, o DNAr 5S, consiste de uma sequência altamente conservada de 120 pares de base e espaçadores não transcritos (NTS) de tamanho variável (MARTINS e WASKO 2004; REBORDINOS et al. 2013). Esses RNAs interagem para formar as subunidades dos ribossomos que são responsáveis pela tradução de proteínas (LONG e DAWID, 1980).

Existem alguns modelos para explicar a evolução de famílias multigênicas, como o modelo chamado nascimento-e-morte, que foi considerado o mais adequado para explicar a evolução a longo prazo destas famílias. De acordo com este modelo, os novos genes originam-se por duplicações sucessivas, e estes novos genes ou são mantidos durante um longo período de tempo ou se perdem, ou então degeneram em pseudogenes (REBORDINOS et al. 2013). Os pseudogenes, possuem grande semelhança com os genes funcionais da mesma família, mas perderam sua capacidade de expressão devido a mutações adquiridas (MERLO et al. 2013).

Em peixes, muitos estudos citogenéticos estão voltados para o isolamento e caracterização de sequências de DNAs ribossômicos 45S, 18S e 5S, com enfoque na evolução dessas sequências, bem como no mapeamento físico, com a utilização de sondas que são hibridizadas nos cromossomos de diferentes grupos de peixes. GORNUNG (2013), em uma revisão dos estudos com mapeamento de sítios de DNAr 45 em peixes revela que, em espécies de diferentes grupos, 72% das espécies possuem 1 ou 2 pares de cromossomos portadores deste sítio, sendo que em 43% das espécies de teleósteos possuem este sítio na região terminal do braço curto dos cromossomos. E sítios de DNAr 5S estão geralmente localizados em um par de cromossomos em região intersticial (MARTINS e WASKO, 2004; REBORDINOS et al. 2013).

1.3.2 DNAs repetitivos dispersos

Neste grupo de DNAs estão os elementos transponíveis (TEs – “Transposable Elements”), que são fragmentos de DNA que possuem a capacidade de se mover em um determinado genoma, e já foi observado que a maioria dos genomas investigados até hoje, apresenta elementos transponíveis com relativo grau de abundância (BIÉMONT e VIEIRA, 2006). Com a evolução no conhecimento desses elementos, observou-se que eles poderiam influenciar o processo evolutivo do genoma de seu hospedeiro. A capacidade de mobilização pode estar relacionada com mudanças estruturais de larga escala, como: rearranjos cromossômicos, modificações nos padrões epigenéticos de regulação, além da geração de variabilidade genética e novos genes, conseqüentemente, inovações biológicas (FESCHOTTE e PHRITHAN, 2007).

A primeira classificação dos TEs foi feita por FINNEGAN em 1989, que propôs que TEs se dividiam em duas classes: classe I - retrotransposons e classe II - transposons, que diferem conforme o seu mecanismo de mobilização. Os elementos da Classe I possuem um mecanismo de mobilização baseado em um intermediário de RNA, que utiliza duas enzimas: transcriptase reversa (RT) e integrase (IN). Primeiro, o RNA mensageiro (RNAm) do TE é transcrito pela maquinaria de transcrição do hospedeiro; após, o RNAm é revertido para DNA pela enzima transcriptase reversa e, em seguida, o fragmento de DNA é inserido em outra região do genoma pela enzima integrase. Este sistema de mobilização é conhecido como "copiar e colar". Já os elementos da Classe II possuem o sistema de mobilização conhecido como "cortar e colar", além de alguns também possuírem o sistema de "copiar e colar". Esses elementos possuem um intermediário de DNA, onde somente uma enzima, chamada transposase, retira o elemento de uma região do genoma e insere em outra (WICKER et al. 2007).

Ao longo do tempo novas descrições de TEs foram feitas devido o sequenciamento de vários genomas. Neste sentido, um novo sistema de classificação foi proposto por WICKER et al. (2007), que mantiveram as duas Classes propostas por FINNEGAN (1989) no entanto, adicionaram novas características do mecanismo de mobilização, similaridade de sequências e relações estruturais, seguindo uma ordem hierárquica de taxonomia como: Subclasse; Ordem; Superfamília; Família e Subfamília.

Dentro da classificação de superfamília está incluso o transposon *Mariner* que pertence aos elementos de Classe II, Subclasse I e ordem TIR (Inverted Terminal Repeats). Este elemento se destaca por ser, provavelmente, a superfamília de transposon de DNA com maior distribuição na natureza (PLASTERK et al. 1999, WICKER et al. 2007).

Os elementos dessa superfamília (Tc1-Mariner) possuem, aproximadamente, de 1 a 5kb de comprimento que codifica uma transposase de 282 a 345 aminoácidos, que é ladeada por duas TIRs que podem variar entre 17 a 1100 pb de comprimento (PLASTERK et al. 1999; LEROY et al. 2003). A transposase é composta por três domínios: dois domínios de ligação - um Homeodomínio e uma região amino terminal contendo uma helix-turn-helix-(HTH), motivo necessário para o reconhecimento e ligação das TIRs; e um domínio catalítico como DDD (aspartato/aspartato/aspartato) ou DDE (aspartato/aspartato/glutamato). Os TEs da superfamília Tc1-mariner têm preferência por inserções, em regiões TA, gerando um sítio de duplicação (TSDs, do inglês Target Site Duplication) TA (MUÑOZ-LÓPEZ e GARCÍA-PÉREZ, 2010).

A estrutura, que é considerada simples, dos elementos dessa superfamília permite que sejam determinados alguns detalhes de seus mecanismos de transposição, como a estrutura tridimensional da transposase de alguns TEs ativos (RICHARDSON et

al. 2009) e muitos estudos *in vitro* com este transposon, tentam relacionar quais fatores influenciam a sua transposição (MUÑOS-LOPEZ et al. 2008; SINZELLE et al. 2008).

Dentro de um determinado genoma, os TEs são considerados "parasitas" e inúmeras vias tem demonstrado que TEs podem influenciar a regulação da expressão gênica tanto a nível transcricional como pós-transcricional (FESCHOTTE, 2008).

Esses elementos estão em constante processo de mutação, podendo ser autônomos, ou seja, possuem toda a maquinaria enzimática que é necessária para sua mobilidade; ou podem estar presentes como cópias não autônomas, em que necessitam das enzimas produzidas pelos autônomos para se transpor (FESCHOTTE e PRITHAM, 2007). Entre os não autônomos podemos destacar os MITEs (elementos transponíveis miniaturas), que são elementos curtos (100-600pb) de classe II e compostos por sequências terminais invertidas, que podem surgir por mutações sucessivas e degenerações de elementos autônomos (WICKER et al. 2007; FESCHOTTE e PRITHAM, 2007). Esses elementos miniaturas podem estar inseridos em regiões intergênicas e influenciar genes sendo que, em estudos com plantas como arroz, MITEs estão se diferenciando a partir do transposon Mariner-like (FESCHOTTE et al. 2003).

Existem poucos estudos com TEs em peixes, e a maioria está voltado para espécies com genoma já sequenciado, sendo mapeados apenas 15 tipos de TEs em 32 espécies estudadas (FERREIRA et al. 2011). Os estudos com TEs em peixes estão relacionados com evolução de genomas, diferenciação de cromossomos sexuais e cromossomos supranumerários ou Bs. A maioria se concentra na caracterização de retrotransposons, em especial a família REX (retrotransposn Non-LTR caracterizado do genoma do peixe *Xiphophorus*), sendo estudado em 28 espécies, das quais 11 possuem os REX localizados em regiões heterocromáticas e em 17 estão dispersos no genoma. Há alguns estudos que relacionam REX com Tc1- mariner contribuindo para o processo

de diferenciação de cromossomo sexual (Y) em *Chionodraco hamatus* (revisão de FERREIRA et al. 2011).

Mais recentemente, estudos com Tc1-mariner em espécies de Parodontidae, mostraram um acúmulo deste elemento no cromossomo W, sendo mais um indício que este transposon pode ser importante na evolução de cromossomos sexuais em peixes (SCHEMBERGER et al. 2014). Neste aspecto, devido à natureza desses elementos em contribuir para evolução de genes e rearranjos cromossômicos em peixes, a caracterização de TEs juntamente com estudos citogenéticos no mapeamento cromossômico dessas sequências é de suma importância para o entendimento da composição genômica de peixes Neotropicais.

Tabela I – Dados citogenéticos em espécies de peixes das famílias Heptapteridae e Pseudopimelodidae: *m* metacêntrico; *sm* submetacêntrico; *st* subtelocêntrico; *a* acrocêntrico; *p* braço curto; *q* braço longo; *2n* número diplóide; *Bs* cromossomo supranumerário; *crs* cromossomo; *NF* número fundamental; *BC* banda C; *AgRON* região organizadora de nucléolo; *Lg* lagoa; *R* rio; *Rb* ribeirão; *Rv* reservatório.

Família Heptapteridae										
Gênero/Espécie	Localidade	2n	Fórmula Cariotípica	Bs	NF	AgRON	rDNA 18S	rDNA 5S	BC	Referência
<i>Cetopsorhamdia</i>										
<i>C. iheringi</i>	R. Capivara/SP	58	28m+24sm+6st	-	110	Par 1 sm, q, intersticial	-	-	Centroméricas e teloméricas	Vissotto et al. (1999b)
<i>C. iheringi</i>	R.Pardo/SP	58	28m+24sm+6st	-	110	Par 1 sm, q, intersticial	-	-	Centroméricas e teloméricas	Vissotto et al. (1999b)
<i>C. iheringi</i>	R. São Francisco/MG	58	22m+16sm+10st+10a	-	96	Par 1 sm, q, intersticial	-	-	-	Fenocchio et al. (2003a)
<i>C. iheringi</i>	R. das Marrecas/PR	58	22m+16sm+10st+10a	-	96	Par 1 sm, q, intersticial	-	-	-	Fenocchio et al. (2003a)
<i>C. iheringi</i>	Rb. Minhocas /MG	58	28m+26sm+4st	-	110	Par 1 m, q, intersticial	Par 1 m, q, intersticial	Par 1 m, q, intersticial	Pericentromérica	Kantek et al. (2015)
<i>Cetopsorhamdia</i> sp.	Rb. Canta Galo/SP	58	22m+16sm+10st+10a	-	96	Par 1 m, q, intersticial	-	-	-	Fenocchio et al. (2003a)
<i>Heptapterus</i>										
<i>H. mustelinus</i>	Rb. Pindorama/PR	54	26m+18sm+4st+6a	-	98	Par 1 m, q, terminal, par 2 m, p, terminal, par 18 sm, q, terminal e par 25 a, p, terminal	-	-	Centroméricas	Yano e Margarido (2012)
<i>H. mustelinus</i>	Arroio Colombo/RS	54	32m+8sm+10st+4a	-	102	Par 18 sm,q, terminal e par 25a,p, terminal	Par 18 sm,q, terminal e par 25a,p, terminal	1 par st, p, terminal	Centroméricas e teloméricas	Moraes (2014)
<i>H. mustelinus</i>	R. Forquetinha/RS	58	32m+12sm+4st+10a	-	106	Par 18 sm,q, terminal e par 25a,p, terminal	Par 18 sm,q, terminal e par 25a,p, terminal	1 par st, p, terminal	Centroméricas e teloméricas	Moraes (2014)
<i>Imparfinis</i>										
<i>I. borodini</i> (citado como <i>H. longicauda</i>)	Rb. Quinta/SP	52	22m+26sm+4st	-	100	Par 1 m, p e 1 par st, p,terminal	-	-	Centromérica, intersticial e telomérica	Vissotto et al. (1999b)
<i>I. hollandi</i>	Salto Osório, R.	42	22m+10sm+10st	-	74	Par 18st terminal	-	-	Par 8m e 18st terminal e 12sm	Margarido e Moreira

<i>I. mirini</i>	Iguaçu/PR Rb. Jacutinga/ PR	58	36m + 22sm	-	116	Par 1 m, q, intersticial	Par 1 m, q, intersticial	-	intersticial Terminal e intersticial	Filho (2008) Gouveia et al. (2013)
<i>I. mirini</i>	R. Araras/SP	58	36m+18sm+4st	-	116	Par 1 m, q, intersticial	Par 1 m, q, intersticial	Intersticial. q do par 1 e um pequeno par m pericentromérica	Centromérica, intersticial e telomérica	Ferreira et al. (2014)
<i>I. mirini</i>	Pilar do Sul/SP	58	36m+18sm+4st	-	116	Par 1 m, q, intersticial	Par 1 m, q, intersticial	Intersticial q do par 1 e um pequeno par m pericentromérica	Centromérica, intersticial e telomérica	Ferreira et al. (2014)
<i>I. mirini</i>	R. Capivara/SP	58	42m+12sm+4st	-	116	Par 1 m, q, intersticial	Par 1 m, q, intersticial	Intersticial q do par 1 e um pequeno par m pericentromérica	Centromérica, intersticial e telomérica	Ferreira et al. (2014)
<i>I. mirini</i>	Conchas-SP	58	42m+12sm+4st	-	116	Par 1 m, q, intersticial	Par 1 m, q, intersticial	Intersticial q do par 1 e um pequeno par m pericentromérica	Centromérica, intersticial e telomérica	Ferreira et al. (2014)
<i>I. mirini</i>	R. Passa Cinco/SP	58	42m+12sm+4st	-	116	Par 1 m, q, intersticial	Par 1 m, q, intersticial	Intersticial q do par 1 e um pequeno par m pericentromérica	Centromérica, intersticial e telomérica	Ferreira et al. (2014)
<i>I. mirini</i>	R. Paraitinga/SP	58	42m+12sm+4st	-	116	Par 1 m, q, intersticial	Par 1 m, q, intersticial	Intersticial q do par 1 e um pequeno par m pericentromérica	Centromérica, intersticial e telomérica	Ferreira et al. (2014)
<i>I. minutus</i>	Rb. Jacuí/SP	58		-	116	Par 1 m, q, intersticial	-	-	Centroméricas e pericentroméricas	Garcia e Almeida-Toledo (2006)
<i>I. minutus</i>	Cunha/SP	58	42m+12sm+4st	-	116	Par 1 m, q, intersticial	Par 1, q, intersticial	Intersticial q do par 1 e um pequeno par m pericentromérica	Centromérica, intersticial e telomérica	Ferreira et al. (2014)
<i>Imparfinis</i> cf. <i>piperatus</i>	R. Juquiá /SP	56	24m+12sm+20st	-	92	Par 1 st, q, intersticial	-	-	-	Fenocchio et al. (2003a)
<i>Imparfinis</i> cf. <i>pipetarus</i>	R. Juquiá/SP	56	22m+26sm+4st+4a	-	104	Par 1 a, q, intersticial	-	-	Pericentroméricas e teloméricas	Vissotto et al. (2001)
<i>I. piperatus</i>	R. Araras/SP	58	32m+26sm	-	116	Par 1 m, q, intersticial	-	-	Pericentroméricas e teloméricas	Vissotto et al. (2001)
<i>I. piperatus</i>	R. Grande/SP	58	26m+22sm+8st+2a	-	106	Par 1 m, q, intersticial	-	-	Pericentroméricas e teloméricas	Vissotto et al. (2001)

<i>Imparfinis</i> aff. <i>schubarti</i>	Rb.Marrequinhas/ PR	58	28m+28sm+2st	-	114	Par 1 m, q, intersticial	Par 1 m, q, intersticial	-	Pericentroméricas e teloméricas	Stolf et al. (2004)
<i>Imparfinis</i> aff. <i>schubarti</i>	Rb Três Bocas/ PR	58	28m+28sm+2st	-	114	Par 1 m, q, intersticial	Par 1 m, q, intersticial	-	Pericentroméricas e teloméricas	Stolf et al. (2004)
<i>Imparfinis</i> aff. <i>schubarti</i>	R. Água da Floresta/PR	58	28m+28sm+2st	-	114	Par 1 m, q, intersticial	Par 1 m, q, intersticial	-	Pericentroméricas e teloméricas	Stolf et al. (2004)
<i>Imparfinis</i> aff. <i>schubarti</i>	R.Vinícius/PR	58	28m+28sm+2st	-	114	Par 1 m, q, intersticial	par 1 m, q, intersticial	-	Pericentroméricas e teloméricas	Stolf et al. (2004)
<i>Imparfinis</i> aff. <i>schubarti</i>	R. Taquari/PR	58	28m+28sm+2st	-	114	Par 1 m, q, intersticial	par 1 m, q, intersticial	-	Pericentroméricas e teloméricas	Stolf et al. (2004)
<i>Imparfinis</i> aff. <i>schubarti</i>	R.Jataizinho/PR	58	28m+28sm+2st	-	114	Par 1 m, q, intersticial	par 1 m, q, intersticial	-	Pericentroméricas e teloméricas	Stolf et al. (2004)
<i>Imparfinis</i> aff. <i>schubarti</i>	Rb. Canta Galo/SP	58	22m+18sm+10st+8a	-	98	Par 1 m, q, intersticial	-	-	-	Fenocchio et al. (2003a)
<i>Imparfinis</i> aff. <i>schubarti</i>	Rb. Três Bocas/PR	58	22m+18sm+10st+8a	-	98	Par 1 m, q, intersticial	-	-	-	Fenocchio et al. (2003a)
<i>I.cf. schubarti</i>	Ribeirões da Bacia do Alto Paraná	58	24m+22sm+12st	-	104	Par 14 sm, q, intersticial	Par 14 sm, q, intersticial	-	Pericentroméricas e teloméricas	Borba et al. (2012)
<i>I. schubarti</i>	Drenagem Piumhi/MG	58	18m+34sm+6st	-	110	Par 10, q, intersticial	Par 10, q, intersticial	Sintênica 18S Construção secundária,par 10, q, intersticial	Pericentroméricas e teloméricas	Kantek et al. (2009)
<i>I. schubarti</i>	Rb. Três Bocas/PR	58	30m + 28sm	-	116	Par 1, q, intersticial	par 1, q, intersticial	-	Pericentroméricas e teloméricas	Gouveia et al. (2013)
<i>I. schubarti</i>	Rio Laranjinha/PR	58	30m + 28sm	-	116	Par 1, q, intersticial	par 1, q, intersticial	-	Pericentroméricas e teloméricas	Gouveia et al. (2013)
<i>I. schubarti</i>	Rio Ivai/PR	58	28m + 28sm + 2st	-	116	Par 1, q, intersticial	Par 1, q, intersticial	-	Pericentroméricas e teloméricas	Barbosa et al.(2015)
<i>Phenacorhamdia</i>										
<i>P. tenebrosa</i>	Ribeirões da Bacia do Alto Paraná	58	30m+22sm+6st	-	110	Par 16 sm, q, terminal	-	-	Presentes em 4 pares de crs	Borba et al. (2012)
<i>Pimelodella</i>										
<i>P. avanhandavae</i>	R. Araquá/SP	46	20m+20sm+6st	-	86	1 par st, p, terminal	-	-	Centroméricas	Vissotto et al. (1999b)
<i>P.avanhandavae</i>	R.Capivara/SP	46	20m+20sm+6st	-	86	1 par st, p, terminal	-	-	Centroméricas	Vissotto et al. (1999b)
<i>Pimelodella</i> aff. <i>avanhandavae</i>	R. Tibagi/PR	52	30m+22sm	-	104	1 par m, p, terminal	-	-	Centromérica e telomérica	Swarça et al. (2003)
<i>P. australis</i>	Arroio Ribeiro/RS	58	34m+10sm+8st+6a	-	110	Par 20,p,terminal	Par 20,p,terminal	-	Centromérica e telomérica	Moraes (2014)

<i>P. boschmai</i>	Mogi-Guaçu Araras/SP	46	38m+8sm XY/XX	-	84	Par 21, sm, p terminal	Par 21, p terminal	Par 20 sm, p, terminal	Centromérica e telomérica	Garcia; Almeida-Toledo (2010)
<i>P. gracialis</i>	Paraná Mariápolis/SP	46	34m+12sm	-	92	Par 18, sm, p terminal	Par 18, p terminal	Pares 18 e 22 sm, p, terminal, 1 crs par 19, q, intersticial	Intersticial	Garcia; Almeida-Toledo (2010)
<i>P. griffini</i>	R. Miranda/MS	46	38 m-sm + 8 st-a	-	84	-	-	-	-	Souza-Shibatta et al. (2013)
<i>P. meeki</i>	R. Limoeiro/PR	46	30m+12sm+4st	-	88	1 par sm, p, terminal	1 par sm, p, terminal	-	-	Vidotto et al. (2004)
<i>P. meeki</i>	R. Couro de Boi/PR	46	30m+12sm+4st	-	88	1 par sm, p, terminal	1 par sm, p, terminal	-	-	Vidotto et al. (2004)
<i>P. meeki</i>	R. Gabriel da Cunha/PR	46	30m+12sm+4st	-	88	1 par sm, p, terminal	1 par sm, p, terminal	-	-	Vidotto et al. (2004)
<i>P. meeki</i>	São Miguel Arcanjo/SP	46	28m+12sm+6st	-	86	Par 20 sm, p, terminal	Par 20 sm, p, terminal	Par 19, sm, p terminal	Pericentroméricas	Garcia; Almeida-Toledo (2010)
<i>P. meeki</i>	Pilar doSul/SP	46	28m+12sm+6st	-	86	Par 20 sm, p, terminal	Par 20 sm, p, terminal	Par 19, sm, p terminal	Pericentroméricas	Garcia; Almeida-Toledo (2010)
<i>P. meeki</i>	Rb. Jacutinga/PR	46	26m + 14sm + 6st	-	92	Par 17 sm, p, terminal	Par 17 sm, p, terminal	-	Fracas marcações terminais e pericentroméricas	Gouveia et al (2013)
<i>P. meeki</i>	Ribeirões da Bacia do Alto Paraná	46	26m+16sm+4st	-	88	Par 15 sm, q, terminal	Par 15 sm, q, terminal	-	Presentes em 2 pares de crs	Borba et al (2012)
<i>P. lateristriga</i>	Paraíba do Sul Angra/RJ	58	36m+22sm	-	116	Par 20, p terminal	Par 20, sm, p terminal	Par 14, m, q, pericentromérica	Pericentroméricas e teloméricas	Garcia; Almeida-Toledo (2010)
<i>P. laurenti</i>	Cordisburgo/MG	46	28m + 14sm + 4st	-	88	1 par sm, p, terminal	1 par sm, p, terminal	1 par sm, p terminal	Pericentromérica	Dazzani et al. (2012)
<i>Pimelodella</i> sp.	R. Mogi-Guaçu/SP	46	40m-sm+6st-a XX/XY	-	86	1 par m-sm, p, terminal	-	-	-	Dias e Foresti (1993)
<i>Pimelodella</i> sp.	Rio Cuiabá/MT	46	26m + 10sm + 10st	-	92	Par 14 sm, p, terminal	Par 14 sm, p, terminal	-	Par 14 sm, q, intersticial	Barbosa et al. (2015)
<i>Pimelodella</i> sp.1	R. Paraná/PR	46	20m+20sm+6a	-	86	1 par sm, p, terminal, BC+	-	-	Centroméricas e teloméricas	Vasconcelos e Martins- Santos (2000)
<i>Pimelodella</i> sp.2	R. Paraná/PR	52	22m+22sm+8st	-	96	1 par sm, p, terminal, BC+	-	-	Centroméricas e teloméricas	Vasconcelos e Martins- Santos (2000)
<i>Pimelodella</i> sp.	Pardo Cardoso/SP	46	34m+12sm	4	92	Par 21, sm, p, terminal e supranumerários	Par 21, sm, p, terminal	Par 22, sm, p, terminal e crs par 6, m, q terminal	Pericentromérica	Garcia; Almeida-Toledo (2010)
<i>Pimelodella</i> sp.	Botucatu/SP	46	28m +12 sm + 6st	-	86	1 par sm, p, terminal	1 par sm, p, terminal	1 par sm, 1 par m, p terminal	Pericentromérica	Dazzani et al. (2012)

<i>Pimelodella</i> sp.	Colina/SP	46	28m+12 sm + 6st	-	86	1 par sm, p, terminal	1 par sm, p, terminal	1 par sm, p terminal	Pericentromérica	Dazzani et al. (2012)
<i>Pimelodella</i> sp.	Guapiara/SP	46	26m+16 sm + 4st	-	88	1 par sm, p, terminal	1 par sm, p, terminal	1 par sm, p terminal	Pericentromérica	Dazzani et al. (2012)
<i>Pimelodella</i> sp.	Pirassununga/SP	46	28m+14 sm + 4st	-	88	1 par sm, p, terminal	1 par sm, p, terminal	1 par sm, p terminal	Pericentromérica	Dazzani et al. (2012)
<i>P. spelaea</i>	S. Domingos/GO	46	28m+14 sm + 4st	-	88	1 par sm, p, terminal	1 par sm, p, terminal	2 pairs sm, p terminal	Pericentromérica	Dazzani et al. (2012)
<i>P. taenioptera</i>	R. Miranda/ MS	52	42 m-sm + 10 st-a	-	94	-	-	-	-	Souza-Shibatta et al. (2013)
<i>P. taenioptera</i>	Rio Aricá Mirim/MT	52	26m + 22sm + 4st	-	104	Par 14 sm, p, terminal	Par 14 sm, p, terminal	-	Pericentromérica, intersticial, terminal	Barbosa et al. (2015)
<i>P. vittata</i>	Rb. Minhocas/MG	46	16m+22sm+8st	-	92	Par 17 sm, q, terminal	Par 17 sm, q, terminal	Par sm, q, terminal	Pericentromérica	Kantek et al. (2015)
<i>Rhamdella</i>										
<i>R. microcephala</i>	R. Machado/MG	56	18m+30sm+8st-a	-	104	1 par sm, q, intersticial, BC+	-	-	Pericentromérica	Fonseca et al. (2003)
<i>R. eriarcha</i>	R. Forquetinha/RS	58	46m-sm+8st+4a	-	112	Par 6,q, terminal	Par 6,q, terminal	-	Centroméricas e teloméricas	Moraes (2014)
<i>Rhamdia</i>										
<i>R. branneri</i>	Us. Salto Segredo – R. Iguaçu/PR	58	36m+14sm+4st+4a	0-2	108	1 par a, p e 1 par st, q, terminal	-	-	Teloméricas, intersticial q, pares sm e st	Abucarma e Martins-Santos (2001)
<i>R. hilarii</i>	R. Onça/SP	58	36m+18sm+8a	-	116	-	-	-	-	Toledo e Ferrari (1976)
<i>R. hilarii</i>	Monjolinho/SP	58	-	0-5	>100	1 par, p terminal, BC+	-	-	Pericentroméricas e teloméricas	Fenocchio e Bertollo (1990)
<i>Rhamdia</i> cf. <i>hilarii</i>	Rv. Jurumirim/SP; Rb. Quinta/SP; Rb. Jacutinga/SP; Rb. Hortelã/ SP; R. Araquá/SP; R. Pardo/SP	58	30m+18sm+10st	0-3	106	1 par sm, p, terminal	-	-	Pericentroméricas e teloméricas	Vissotto et al. (1999a)
<i>R. hilarii</i>	Rv. Lobo/SP	58	-	0-3	~108	1 par st, p, terminal, BC+	-	-	Restringia-se a RON	Fenocchio et al. (2000)
<i>R. hilarii</i>	Rv. “29”/SP	58	-	0-5	~108	1 par st, p, terminal, BC+	-	-	Restringia-se a RON	Fenocchio et al. (2000)
<i>R. hilarii</i>	R. Mogi-Guaçu/SP	58	-	-	~108	1 par st, p, terminal, BC+	-	-	Restringia-se a RON	Fenocchio et al. (2000)
<i>R. hilarii</i>	R. São Francisco/MG	58	-	2	~108	1 par st, p, terminal, BC+	-	-	Restringia-se a RON	Fenocchio et al. (2000)

<i>R. hilarii</i>	R. Aguapey/Ar	58	-	-	~108	1 par st, p, terminal,	-	-	Restringia-se a RON	Fenocchio et al. (2000)
<i>R. hilarii</i>	R. Mogi-guaçu/SP	58	58m/sm	0-2	116	1 par m-sm, p, terminal, BC+	-	-	Teloméricas	Maistro et al. (2002)
<i>R. hilarii</i>	R. Aguapey/Ar	58	26m+16sm+8st+8a	-	100	1 par a, p, terminal	-	-	-	Fenocchio et al. (2003a)
<i>R. laticauda</i>	EUA	58	-	-	100±4	-	-	-	-	Le Grande (1981)
<i>Rhambdia prope quelen</i>	Rb. Minhocas/MG	58 + 3n=87	26m+16sm+14st+2a	-	74	Par 10m, q, terminal	Par 10m, q, terminal	sm, p, intersticial	-	Kantek et al. (2015)
<i>R. quelen</i>	R. Oeste – Cascavel/PR	58	36m+10sm+12st	-	104	Par 27, st, p terminal	Par 27, st, p terminal	1 par m,q, pericentromérica	Intersticial, centromérica e terminal	Garcia et al. (2010)
<i>R. quelen</i>	Sangão – Cascavel/PR	58	32m+8sm+12st+6a	0-1	98	Par 26, st, p terminal	Par 26, st, p terminal	1 par m,q, pericentromérica	Intersticial, centromérica e terminal	Garcia et al. (2010)
<i>R. quelen</i>	Angra dos Reis/RJ	58	40m+10sm+8st	-	108	Par 24, sm, p terminal	Par 24, sm, p terminal	1 par m,q, pericentromérica	Intersticial, centromérica e terminal	Garcia et al. (2010)
<i>R. quelen</i>	R. São José /RJ	58	36m+14sm+8st	0-1	108	Par 27, st, p terminal	Par 27, st, p terminal	1 par m,q, pericentromérica	Intersticial, centromérica e terminal	Garcia et al. (2010)
<i>R. quelen</i>	R. Paraíba do Sul/RJ	58	36m+14sm+8st	0-1	108	Par 27, st, p terminal	Par 27, st, p terminal	1 par m,q, pericentromérica	Intersticial, centromérica e terminal	Garcia et al. (2010)
<i>R. quelen</i>	Araras/SP	58	40m+10sm+8st	0-5	108	Par 24, sm, p terminal	Par 24, sm, p terminal	1 par m,q, pericentromérica	Intersticial, centromérica e terminal	Garcia et al. (2010)
<i>R. quelen</i>	R. Capivra- Botucatu/SP	58	44m+12sm+2st	0-1	114	Par 26, sm, p terminal	Par 26, sm, p terminal	1 par m,q, pericentromérica	Intersticial centromérica e terminal	Garcia et al. (2010)
<i>R. quelen</i>	Colina/SP	58	36m+10sm+12st	0-5	104	Par 27, st, p terminal	Par 27, st, p terminal	1 par m,q, pericentromérica	Intersticial, centromérica e terminal	Garcia et al. (2010)
<i>R. quelen</i>	Guapiara/SP	58	36m+10sm+12st	-	104	Par 27, st, p terminal	Par 27, st, p terminal	1 par m,q, pericentromérica	Intersticial, centromérica e terminal	Garcia et al. (2010)
<i>R. quelen</i>	Iguapé/SP	58	36m+10sm+12st	-	104	Par 27, st, p terminal	Par 27, st, p terminal	1 par m,q, pericentromérica	Intersticial, centromérica e terminal	Garcia et al. (2010)
<i>R. quelen</i>	R. Passa Cinco – Ipeúna/SP	58	34m+16sm+8st	0-4	108	Par 24, sm, p terminal	Par 24, sm, p terminal	1 par m,q, pericentromérica	Intersticial, centromérica e	Garcia et al. (2010)

<i>R. quelen</i>	Fortuna – Mariápolis/SP	58	40m+10sm+8st	0-1	108	Par 24, sm, p terminal	Par 24, sm, p terminal	Pericentromérica em 1 par m,q, e 1 par st, p	terminal Intersticial, centromérica e terminal	Garcia et al. (2010)
<i>R. quelen</i>	Piquete/SP	58	40m+10sm+8st	0-2	108	Par 24, sm, p terminal	Par 24, sm, p terminal	1 par m,q, pericentromérica	Intersticial, centromérica e terminal	Garcia et al. (2010)
<i>R. quelen</i>	Sto. Antônio do Pinhal/SP	58	30m+14sm+12st+2a	0-2	102	Par 27, a, p, terminal	Par 27, a, p, terminal	1 par m,q, pericentromérica	Intersticial, centromérica e terminal	Garcia et al. (2010)
<i>R. quelen</i>	Lg. dos Quadros/RS	58	52m/sm/st+6a	0-2	110	1 par a, p, terminal	-	-	-	Hochberg e Erdtmann (1988)
<i>R. quelen</i>	R.Guaíba/RS	58	52m/sm/st+6a	0-2	110	1 par a, p, terminal	-	-	-	Hochberg e Erdtmann (1988)
<i>R. quelen</i>	R. Mogi-Guaçu/SP	58	-	4	~108	1 par st, p, terminal, BC+	-	-	Restringia-se a RON	Fenocchio et al. (2000)
<i>R. quelen</i>	R.Iguaçu/SC	58	-	0-1	~108	1 par st, p, terminal, BC+	-	-	Restringia-se a RON	Fenocchio et al. (2000)
<i>R. quelen</i>	R.Paraná/Ar	58	-	-	~108	1 par st, p, terminal, BC+	-	-	Restringia-se a RON	Fenocchio et al. (2000)
<i>R. quelen</i>	R. Paraná/Ar	58	26m+16sm+8st+8a	-	100	1 par a, p, terminal	-	-	-	Fenocchio et al. (2003a)
<i>R. quelen</i>	R. Iguaçu/PR	58	32m+16sm+6st+4a	0-1	106	1 par st, p, terminal,	-	-	Teloméricas	Fenocchio et al. (2003b)
<i>R. quelen</i>	R.Iguaçu/PR	58	32m+16sm+6st+4a	-	106	1 par st, p, terminal, BC+	-	-	Teloméricas	Swarça et al. (2003b)
<i>R. quelen</i>	R.Taquarussu/PR	58	26m+20sm+6st+6a	1-4	104	1 par st, p, terminal	-	-	Teloméricas e centroméricas	Stivari e Martins-Santos (2004)
<i>R. quelen</i>	Rb. Maringá/PR	58	26m+22sm+6st+4a/ 26m+24sm+8st	-	106 108	1 par sm, p, terminal	-	-	Teloméricas e centroméricas	Stivari e Martins-Santos (2004)
<i>R. quelen</i>	Rb. Lindóia/PR	58	30m+14sm+10st+4a	-	102	1 par sm, p, terminal	-	-	Teloméricas e centroméricas	Tsuda et al. (2010)
<i>R. quelen</i>	Rb. Lindóia/PR	3n=87	45m+21sm+15st+6a	-	153	1 par sm, p, terminal	-	-	Teloméricas e centroméricas	Tsuda et al. (2010)
<i>R. quelen</i>	Serra da Bodoquena,MS	58	36m+16sm+6st	0-3	110	Par 20, p terminal	-	-	Pericentroméricas e teloméricas	Moraes et al. (2007)
<i>R. quelen</i>	Água dos Patos/SP	58	36m+16sm+6st	0-2	110	-	-	-	Terminais e Pericentroméricas	Moraes et al. (2009)
<i>R. quelen</i>	Água das Pedras/PR	58	36m+16sm+6st	0-2	110	-	-	-	Terminais e Pericentroméricas	Moraes et al. (2009)
<i>R. quelen</i>	Taquari/PR	58	36m+16sm+6st	0-2	110	-	-	-	Terminais e Pericentroméricas	Moraes et al. (2009)

<i>R. quelen</i>	FUNPIVI/SC	58	36m+16sm+6st	0-2	110	-	-	-	Terminais e Pericentroméricas	Moraes et al. (2009)
<i>R. quelen</i>	Mogi-Guaçu	58	22m+18sm+12st+6a	-	98	1 par a, p terminal	1 par a, p terminal	Par 14, sm, q intersticial	Terminais e pericentroméricas	Martinez et al. (2011)
<i>R. quelen</i>	Araguaia	58	18m+18sm+14st+8a	1-5	94	1 par a, p terminal	1 par a, p terminal	Par 10, sm, p, intersticial	Terminais e pericentroméricas	Martinez et al. (2011)
<i>R. quelen</i>	Lagoa da Usina Elétrica Ney Braga/PR	58	38m/sm+14st+6a	-	96	1 par st, p terminal	1 par st, p terminal	1 par, p terminal	Telomérica e bitelomérica	Silva et al. (2011)
<i>R. quelen</i>	Lagoa da Usina Elétrica Ney Braga/PR	3n=87	57m/sm+21st+9a	-	144	3 cromossomos st, p terminal	3 crs st, p terminal	3 crs , p terminal	Telomérica e bitelomérica	Silva et al. (2011)
<i>R. quelen</i>	Ribeirões da Bacia do Alto Paraná	58	32m+18sm+8st	2	116	Par 18 sm, q, terminal	Par 18 sm, q, terminal	-	Terminais e centroméricas e B heterocromático	Borba et al. (2012)
<i>R. sapo</i>	Buenos Aires/Ar	58	44 m/sm + 14st/a	0-1	102	-	-	-	-	Valcarcel et al. (1993)
<i>Rhamdia</i> sp.	EUA	58	-	-	100±4	-	-	-	-	Le Grande (1981)
<i>Rhamdia</i> sp.	Us. Salto Segredo–R.Iguaçu/PR	58	36m+14sm+4st+4a	0-2	108	1 par a, p, terminal	-	-	Teloméricas e centroméricas	Abucarma e Martins-Santos (2001)
<i>Rhamdia</i> sp.	Rb. Grande	58	46m/sm+12st/a	0-4	104	1 par st, p, terminal	1 par st, p, terminal	1 par m/sm, pericentromérica	Centroméricas e teloméricas	Garcia et al. (2003)
<i>Rhamdia</i> sp.	Rb. Grande/SP	3n=87	69m/sm+18st/a	-	156	1 par st, p, terminal	1 par st, p, terminal	1 par m/sm, pericentromérica	Centroméricas e teloméricas	Garcia et al. (2003)
<i>R. voulezi</i>	Us. Salto Segredo – R.Iguaçu/PR	58	36m+14sm+4st+4a	0-2	108	1 par a, p e 1 par st, q, terminal	-	-	Teloméricas e centroméricas	Abucarma e Martins-Santos (2001)
<i>Rhamdiopsis</i>										
<i>Rhamdiopsis prope microcephala</i>	Rb. Minhocas/MG	56	12m+30sm+14st	-	112	Par 16, p, intersticial	Par 16, p, intersticial	Múltipla, sm e st, p, terminal	Pericentromérica	Kantek et al. (2015)
<i>Taunaya</i>										
<i>T. bifasciata</i>	Ribeirões da Bacia do Alto Paraná	58	20m+18sm+20st	-	96	Par 23 sm, q, intersticial	Par 23 sm, q, intersticial	-	Terminais e centroméricas	Borba et al. (2012)
Família Pseudopimelodidae										
Gênero/Espécie	Localidade	2n	Fórmula Cariotípica	Bs	NF	RON	rDNA 18S	rDNA 5S	BC	Referência

<i>Cephalosilurus</i>										
<i>C. apurensis</i>	R. Orinoco/ Venezuela	54	6m+28sm+14st+6a	-	-	Par 19 st p terminal	-	-	Teloméricas, pericentromérica e centroméricas	Martinez et al. (2008)
<i>Lophiosilurus</i>										
<i>L. alexandri</i>	R. São Francisco	54	16m+18sm+10st+10a	-	-	1 par sm, p, terminal	1 par sm, p, terminal	1 par sm, q, terminal	Teloméricas, pericentromérica e centroméricas	Marques et al. (2008)
<i>Microglanis</i>										
<i>Microglanis</i> aff. <i>cottoides</i>	Rb. Cavallo, R. Jaraguá do Sul/SC	54	10m+32sm+10st+2a	-	-	Par 23st, p e par 22st, q, terminal	-	-	Teloméricas, pericentromérica e centroméricas	Martinez et al. (2008)
<i>M. cottoides</i>	R. Araquá e R. Capivara	54	22m+20sm+12st	-	96	Par 1m, q, terminal	-	-	Teloméricas, pericentromérica e centroméricas	Vissotto et al. (1999)
<i>M. cottoides</i>	R. Forquetinha/RS	54 + 3n=81	30m+14sm+6st+4a	-	104	Par 24 st, p, terminal	Par 24 st, p, terminal	-	Teloméricas, pericentromérica e centroméricas	Gouveia et al. (2015)
<i>Pseudopimelodus</i>										
<i>P. bufonius</i>	Aq. Trade/ Amazonia	54	12m+30sm+12st	-	-	Pares 9, 10 e 11 sm, p, terminal	-	-	Teloméricas, pericentromérica e centroméricas	Martinez et al. (2008)
<i>P. bufonius</i>	R. Capim/PR	54	18m+22sm+6st+8a	-	100	1 par m,p terminal	-	-	-	Souza et al. (2003)
<i>P. mangurus</i>	R. Mogi-Guaçu/SP	54	6m+26sm+12st+10a	-	-	Par 19st, p, terminal	-	-	Teloméricas, pericentromérica e centroméricas	Martinez et al. (2004)
<i>P. pulcher</i>	R. Laranjinha/PR	54	20m+16sm+10st+8a	-	90	Par 12 sm e par 23st, p, terminal	Par 12 sm e par 23st, p, terminal	-	Teloméricas, pericentromérica e centroméricas	Gouveia et al. (2015)

2 – OBJETIVOS

2.1- Objetivo Geral:

Caracterizar citogeneticamente espécies de peixes das famílias Heptapteridae e Pseudopimelodidae de diferentes bacias hidrográficas, bem como, utilizar de ferramentas como o isolamento e mapeamento físico de diferentes tipos DNAs repetitivos nos genomas dessas espécies e inferir sobre as tendências evolutivas desses grupos de peixes.

2.2- Objetivos Específicos:

- Estabelecer o número diplóide, fórmula cariotípica, localização das AgRONS e distribuição da heterocromatina de diferentes espécies das famílias Heptapteridae e Pseudopimelodidae.
- Identificar as regiões cromossômicas ricas em pares de bases GC e localizar sítios de DNAr 18S e 5S nos cromossomos das diferentes espécies das famílias Heptapteridae e Pseudopimelodidae.
- Isolar e caracterizar sequências de transposon Tc1-mariner no genoma de *Imparfinis schubarti* e fazer o mapeamento dessas sequências juntamente com outros DNAs repetitivos em *Imparfinis schubarti* e *Imparfinis borodini*, com uma breve discussão da composição genômica de alguns DNAs repetitivos das espécies desse gênero.
- Comparar os estudos citogenéticos entre espécies de peixes da família Heptapteridae e Pseudopimelodidae, do presente estudo e da literatura, para compreender melhor os processos de diferenciação cromossômica e evolução cariotípica dessas duas famílias.

3- LOCAIS DE ESTUDO E ESPÉCIES ESTUDADAS

3.1- Bacia do rio Ivaí:

- Rio Quexada/Borrazópolis/PR (23°56'9.65"S e 51°39'26.08"W): *Imparfinis schubarti*
- 6 espécimes (2 fêmeas e 4 machos) e *Pimelodella meeki* 10 indivíduos (4 fêmeas e 6 machos) (Fig. 1)

- Rio Pereira/Faxinal/PR (24°05'34.94"S e 51°17'15.86"W): *Imparfinis borodini*-4 indivíduos (2 sexo não identificado e 2 fêmeas) (Fig.1)

3.1.1- Bacia do rio Paranapanema:

- Rio Água das Araras/Santa Mariana/PR (23°10'26.1"S e 50°20'2.54"W): *Imparfinis schubarti* - 4 indivíduos (1 fêmea e 3 machos) (Fig.1)

- Rio Taquari/Jataizinho/PR (23°13'46.2"S e 50°56'30.9"W): *Imparfinis schubarti* -23 indivíduos (9 fêmeas e 14 machos) (Fig.1)

- Ribeirão Três Bocas/Londrina/PR (23°23'06.6"S e 51°04'35.8"W): *Cetopsorhamdia iheringi*- 5 espécimes de (3 fêmeas e 2 machos) (Fig.1)

- Rio Vermelho/Rolândia/PR (23°13'0.95"S e 51°20'0.88"W): *Imparfinis schubarti* -24 indivíduos (15 fêmeas e 9 machos) e *Phenacorhamdia tenebrosa* 6 espécimes (5 fêmeas e 1 macho) (Fig.1)

3.1.2- Bacia hidrográfica do rio Ribeira do Iguape/SP

-Rio Batatal (24° 36' 34,7''S e 48° 17' 14,2''W) *Microglais cottoides*- 5 espécimes (5 fêmeas) (Fig.1)

-Rio Iporanga (24° 34' 49'' S e 48° 35' 30,2'' W *Microglais cottoides*- 8 indivíduos (7 fêmeas e 1 macho) (Fig.1)

3.1.3- Bacia Hidrográfica de Taçaçaba/PR

-Rio das Antas (25° 13' 35,2''S e 48° 34' 03,9''W) *Microglanis cottoides*- 6 espécimes de (2 fêmeas e 4 machos) (Fig.1)

3.1.4- Bacia do Tramandaí/RS

-Rio Maquiné (29° 39' 10,4'' S e 50° 12' 31,8''W) *Microglanis cibela*- 6 espécimes (6 fêmeas) (Fig.1)

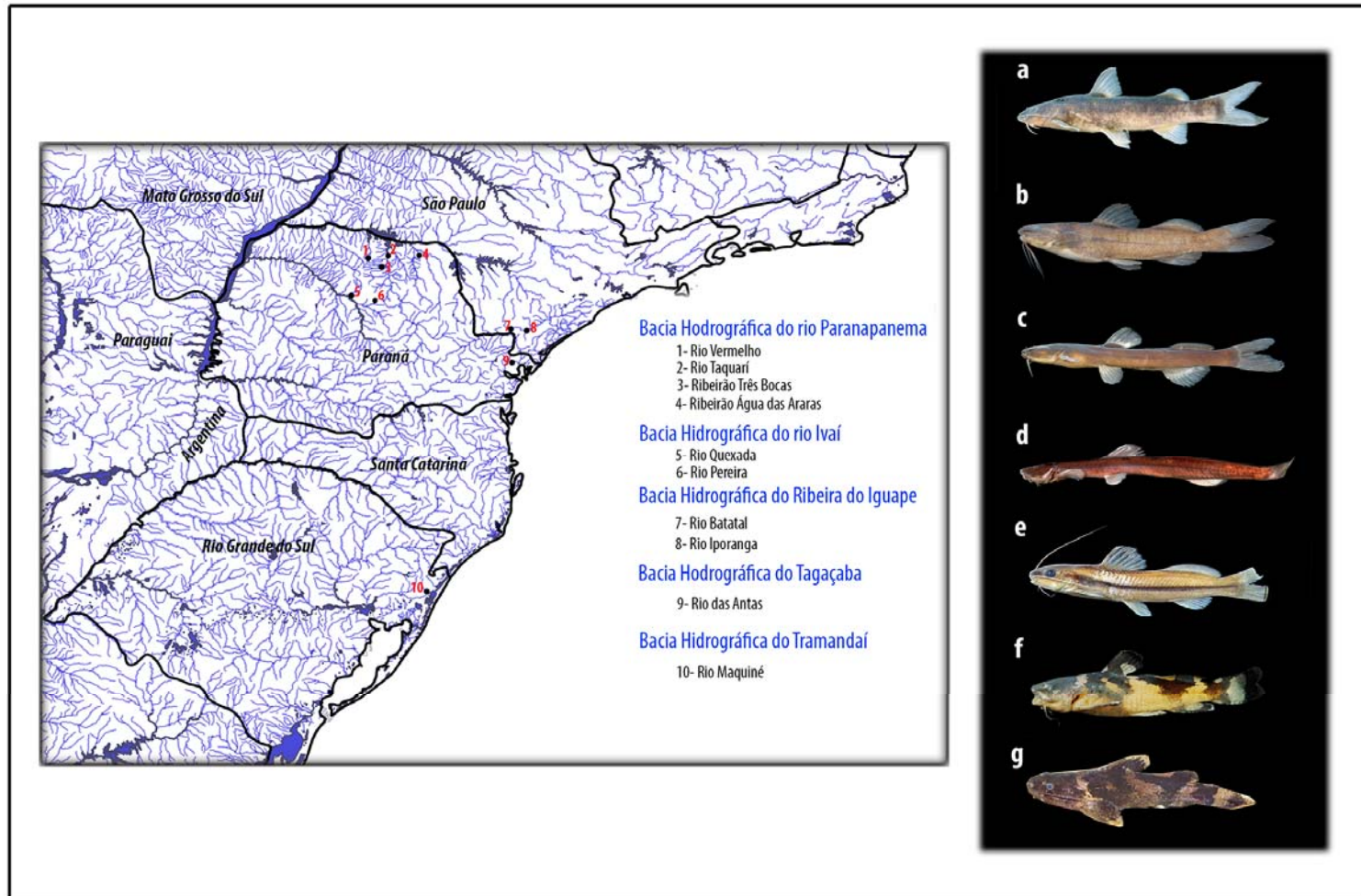


Figura 1- Mapa evidenciando os locais de coleta e fotos representativas dos exemplares dos peixes estudados. (a) *Cetopsorhamdia iheringi*; (b) *Imparfinis schubarti*; (c) *Imparfinis borodini*; (d) *Phenacorhamdia tenebrosa*; (e) *Pimelodella meeki*; (f) *Microglanis cottoides* (foto obtida de CARVALHO et al. 2011) (g) *Microglanis cibela* (foto de Juceli Gouveia). Imagens das fotos dos peixes cedidas pelo mestrando Raul Henrique Cardoso Nascimento, pertencentes ao Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Londrina (MZUEL), Paraná, Brasil, e laboratório de Zoologia da Universidade Estadual do Norte do Paraná-UENP - CCP.

4- REFERÊNCIAS

- BIÉMONT, C; VIEIRA, C. Junk DNA as an evolutionary force. **Nature**, 443: 521-524 2006.
- BLANCO, DR, LUI, RL, VICARI, MR, BERTOLLO, LAC. Comparative cytogenetics of giant trahiras *Hoplias aimara* and *H. intermedius* (Characiformes, Erythrinidae): Chromosomal characteristics of minor and major ribosomal DNA and cross-species repetitive centromeric sequences mapping differ among morphologically identical karyotypes. **Cytogenet. Gen. Res.**, 132: 71-78, 2011.
- BOCKMANN, FA, GUAZZELLI, GM. Family Heptapteridae. In: REIS, RE, KULLANDER, SO, FERRARIS JRCJ. **Check list of the Freshwater Fishes of South and Central America**. Edipurcs, Porto Alegre, p. 406-431, 2003.
- BORBA, RS, SILVA EL, PACHECO, ACS, PARISE-MALTEMPI, PP, ALVES, AL Trends in the karyotypic evolution of the Neotropical catfish Family Heptapteridae Bockmann 1998 (Teleostei: Siluriformes). **Rev Fish Biol Fish** 22:509–518, 2012.
- Barbosa, LM, Ferreira, GEB, Prizon, AC, Portela-Castro ALB, Martins-Santos, IC Cytogenetic characterization of species of the family Heptapteridae (Teleostei: Siluriformes) from the Cuiabá and Ivaí River Basins, Brazil. **Genetics and Molecular Research** 14 (3): 8640-8649, 2015.
- CHISTIAKOV, DA, HELLEMANS, B, VOLCKAERT, FAM. Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. **Aquaculture**, 255:1–29, 2006.
- CROLLIUS, HR, JAILLON, O, DASILVA, C, OZOUF-COSTAZ, C, FIZAMES, C, FISCHER, C, BOUNEAU, L, BILLAULT, A, QUETIER, F, SAURIN, W, BERNOT, A, WEISSENBACH, J. Characterization and Repeat Analysis of the Compact Genome of the Freshwater Pufferfish *Tetraodon nigroviridis*. **Genome Res.**, 10: 939-949, 2000.
- DA SILVA, EL, BUSSO, AF, PARISE-MALTEMPI, PP. Characterization and Genome Organization of a Repetitive Element Associated with the Nucleolus Organizer Region in *Leporinus elongatus* (Anostomidae: Characiformes). **Cytogenet Genome Res.**, 139:22–28, 2013.
- DAZZANI, B, GARCIA, C, PEIXOTO, M, TRAJANO, E, ALMEIDA-TOLEDO, LF. Cytogenetic and molecular analyses in troglobitic and epigeic species of *Pimelodella* (Siluriformes: Heptapteridae) from Brazil. **Neotropical Ichthyology** 10: 623-632, 2012.
- DIAS, A.L., FORESTI, F. Cytogenetic studies on fishes of the family Pimelodidae (Siluroidei). **Rev. Brasil. Genet.**, 16,3,:585-600, 1993.
- DOOLITTLE, WF, SAPIENZA, C. Selfish genes, the phenotype paradigm and genome evolution. **Nature**, 284: 3-601, 1980.

ESCHMEYER W. N.; FONG, J. D. Catalog of fish. <http://research.calacademy.org/redirect?url=http://researcharchive.calacademy.org/research/Ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>. Acesso em: 08 de Janeiro, 2016.

FENOCCHIO, AS, BERTOLLO, LAC, TAKAHASHI, CS, DIAS, AL, SWARÇA, AC. Cytogenetic studies and correlate considerations on Rhamdiinae relationships (Pisces, Siluroidei, Pimelodidae). **Cytologia** 68: 363-368, 2003a.

FENOCCHIO, AS, SWARÇA, AC, CESTARI, MM, DIAS, AL. Karyotypic characterization and NOR analysis by different banding techniques of *Rhamdia quelen* (Pisces, Pimelodidae) from the first plateau of the Iguaçu river (Brazil). **Folia biológica** 51: 3-4 2003b.

FERRARIS, C. J. JR. **Checklist of catfishes, recent and fossil (Osteichthyes: Siluriformes), and catalogue of siluriform primary types**. Zootaxa, p. 180-203, p. 352-356, 2007.

FERREIRA DC, PORTO-FORESTI, F, OLIVEIRA, C, FORESTI, F. Transposable elements as a potential source for understanding the fish genome. **Mobile Genetic Elements**, 1:112-117, 2011.

FERREIRA, M, KAVALCO, KF, ALMEIDA-TOLEDO, LF, GARCIA, C. Cryptic Diversity Between Two *Imparfinis* Species (Siluriformes, Heptapteridae) by Cytogenetic Analysis and DNA Barcoding. **Zebrafish** 4:11, 2014.

FESCHOTTE, C, PRITHAM, E. DNA transposons and the evolution of eukaryotic genomes. **Annu. Rev. Genet.**, v. 41, p. 331-368, 2007.

FESCHOTTE, C, SWAMY, L, WESSLER, SR. Genome-Wide Analysis of mariner-Like Transposable Elements in Rice Reveals Complex Relationships With Stowaway Miniature Inverted Repeat Transposable Elements (MITEs). **Genetics** 163: 747-758, 2003.

FINNEGAN, DJ. Eukaryotic transposable elements and genome evolution. **Trends Genet.** v. 5, p. 103-107, 1989.

GARCIA, C, ALMEIDA-TOLEDO, LF. Comparative chromosomal analyses in species of the genus *Pimelodella* (Siluriformes, Heptapteridae): occurrence of structural and numerical polymorphisms. **Caryologia**, 63(1): 32-40, 2010.

GARCIA, C, MOREIRA-FILHO, O, BERTOLLO, LAC, CENTOFANTE, LB. Chromosomes and Natural Triploidy in *Rhamdia* sp. (Pisces, Siluriformes, Heptapteridae). **Cytologia**, 68(4): 403-411, 2003.

GARCIA, C, OLIVEIRA, C, ALMEIDA-TOLEDO, LF. Karyotypic evolution trends in *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Heptapteridae) with considerations about the origin and differentiation of its supernumerary chromosomes. **Genetics and Molecular Research** 9(1): 365-384, 2010.

GOUVEIA, JG, MORAES, VPO, SAMPAIO, TR, ROSA, R, DIAS AL. Considerations on karyotype evolution in the genera *Imparfinis* Eigenmann and Norris 1900 and *Pimelodella* Eigenmann and Eigenmann 1888 (Siluriformes: Heptapteridae). **Rev Fish Biol Fisheries**, 23:215–227, 2013.

GOUVEIA, JG, MORAES, VPO, PIRES, LB, ROSA, R, DIAS, AL. Comparative cytogenetics between two species of the family Pseudopimelodidae (Siluriformes): occurrence of natural triploidy and supernumerary chromosomes. **Cytotechnology** 67: 215-222, 2015.

KANTEK, D. L. Z., PERES, W, A. M., BUCKUP, P. A., MOREIRA-FILHO, O. Cytogenetics of *Imparfinis schubarti* (Siluriformes: Heptapteridae) from the Piumhi drainagem, a diverted river in Minas Gerais State, Brazil. **Zoologia**, 26(4): 733-738, 2009.

KANTEK, DLZ, PERES, WAM, MOREIRA-FILHO, O. Cytogenetic study of heptapterids (Teleostei, Siluriformes) with particular respect to the Nemuroglanis subclade. **Comp Cytogen** 9: 17–29, 2015.

LEROY, H, CASTAGNONE-SERENO, P, RENAULT, S, AUGÉ-GOUILLOU, C, BIGOT, Y, ABAD, P. Characterization of Mcmar1, a mariner-like element with large inverted terminal repeats(ITRs) from the phytoparasitic nematode *Meloidogyne chitwoodi*. **Gene**, 304: 35-41, 2003.

LONG, EO, DAWID IB. Repeated genes in eukaryotes. **Annual Review of Biochemistry**, 49: 727-64, 1980.

MAISTRO, E. L., OLIVEIRA, C. E FORESTI, F. Cytogenetic Analysis of A- and B Chromosomes of *Rhamdia hilarii* (Teleostei, Pimelodidae): C-banding, Silver Nitrate and CMA3 Staining and Restriction Endonuclease Banding. **Cytologia**, 67: 25-31, 2002.

MARQUES, M. B. A.; MOREIRA-FILHO, O.; GARCIA, C.; MARGARIDO, V. P. Cytogenetic analyses of two endemic fish species from the São Francisco river basin: *Conorhynchus conirostris* and *Lophiosilurus alexandri* (Siluriformes). **Genetics and Molecular Biology**, 31(1): 215-221, 2008.

MARGARIDO, VP, MOREIRA-FILHO, O. Karyotypic differentiation through chromosome fusion and number reduction in *Imparfinis hollandi* (Ostariophysi, Heptapteridae). **Genetics and Molecular Biology**, 31(1): 235-238, 2008.

MARTINEZ, ERM, NIRCHIO, M, GRANADO, A, FORESTI, F, OLIVEIRA, C. Cytogenetic analysis of three catfish species of the family Pseudopimelodidae (Teleostei, Siluriformes). **Genetics and Molecular Biology**, 31(3): 692-696, 2008.

MARTINEZ, ERM, OLIVEIRA, C, FORESTI, F. Cytogenetic analyses of *Pseudopimelodus mangurus* (Teleostei: Siluriformes: Pseudopimelodidae). **Cytologia**, 69(4): 419-424, 2004.

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

MERLO MA, CROSS I, MANCHADO M, CÁRDENAS S, REBORDINOS L: The 5S rDNA high dynamism in *Diplodus sargus* is a transposon-mediated mechanism. Comparison with other multigene families and Sparidae species. *J Mol Evol* 76: 83–97, 2013.

MORAES, VPO, CARNEIRO, JS, DIAS, ALB. Chromosomes in Four Different Populations of *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Heptapteridae): A Comparative Study of Frequency and Distribution. **Folia Biologia**, 57(3-4): 165-169, 2009.

MORAES, V. P. O., CEREALI S. S., FROEHLICH, O., DIAS, A. L. Cytogenetic characterization of *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Heptapteridae) from the Bodoquena Plateau, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Genetics and Molecular Research**, 6(3): 627-633, 2007.

MORAES VPO. Citogenética convencional e molecular de diferentes espécies dos gêneros Heptapterus, Rhamdella e Pimelodella (Siluriformes, Heptapteridae), de duas bacias hidrográficas do Rio Grande do Sul. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Londrina/PR, 2014.

MORI, H., SHIBATTA, O. A. A new species of *Microglanis* Eigenmann, 1912 (Siluriformes: Pseudopimelodidae) from Rio São Francisco basin, Brazil. *Zootaxa*, 1302: 31-42, 2006.

MUÑOZ-LÓPEZ, M, GARCÍA-PÉREZ, JL. DNA Transposons: Nature and Applications in Genomics. **Current Genomics**, 11:115-128, 2010.

MUÑOS-LOPEZ, M, SIDDIQUE, A, BISCHEROUR, J, LORITE, P, CHALMERS, R, PALOMEQUE, T. Transposition of Mboumar-9: Identification of a new naturally active mariner Family transposon. **J. Mol. Biol.**, 382:567-572, 2008.

NANDI, S, PEATMAN, E, XU, P, WANG, S, LI, P, LIU, Z. Repeat structure of the catfish genome: a genomic and transcriptomic assessment of Tc1-like transposon elements in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Genetica** 131:81–90, 2007.

PASANSKIENE, I.; JONES, N. A decade of “chromosome painting” in *Lolium* and *Festuca*. **Cytogenet Genome Reseach**, 109:393-398, 2005.

PERDICES, A.; BERMINGHAM, E.; MONTILLA, A.; DOADRIO, I. Evolutionary history of the genus *Rhamdia* (Teleostei: Pimelodidae) in Central America. **Mol. Phylogenet. Evol.**, 25: 172-189, 2002.

PLASTERK, RHA, IZSVÁK, Z, IVICS, Z. Resident Aliens the Tc1/mariner superfamily of transposable elements. **Trends Genet.**, 15: 326-332, 1999.

RASKINA, O, BELYAYEV, A, NEVO, E. Quantum speciation in *Aegilops* : Molecular cytogenetic evidence from rDNA cluster variability in natural populations. **PNAS**, 41:14818–14823, 2004.

REBORDINOS, L, CROSS, I, MERLO, A. High Evolutionary Dynamism in 5S rDNA of Fish: State of the Art. **Cytogenet Genome Res.**,141:103–113, 2013.

REIS, R. E.; KULLANDER, FERRARIS JR., C. J. **Check list of the freshwater fishes of South and Central America**, Porto Alegre: EDIPUCRS, 742 p. 2003.

RICHARDSON, JM, COLLOMS, SD, FINNEGAN, DJ, WALKINSHAW, MD. Molecular architecture of the Mos1 paired-end complex: the structural basis of DNA transposition in a eukaryote. **Cell.**, 138:1096-1108, 2009.

SALHI, M., BESSONART, M., CHEDIAK, G., BELLAGAMBA, M., CARNEVIA, D. Growth, feed utilization and body composition of black catfish, *Rhamdia quelen*, fry fed diets containing different protein and energy levels. **Aquaculture**. 231: 435-444, 2004.

SCHEMBERGER, MO, OLIVEIRA, JIN, NOGAROTO, V, ALMEIDA, MC, ARTONI, RF, CESTARI, MM, MOREIRA-FILHO, O, VICARI, MR. Construction and Characterization of a Repetitive DNA Library in Parodontidae (Actinopterygii: Characiformes): A Genomic and Evolutionary Approach to the Degeneration of the W Sex Chromosome. **Zebrafish**, 11: 6, 2014.

SCHMIDT, T, HESLOP-HARRISON, JS: The physical and genomic organization of microsatellites in sugar beet. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 93: 8761-8765, 1996.

SHIBATTA, O. A. Family Pseudopimelodidae. In: REIS, R.E., KULLANDER, S.O., FERRARIS JR.,C.J. **Check list of the Freshwater Fishes of South and Central America**.Edipurcs, Porto Alegre, p. 406-431, 2003a.

SHIBATTA, O. A. Phylogeny and Classification of ‘Pimelodidae’. In: ARRATI, G., KAPOOR, B. G., CHARDON, M., DIOGO, R. **Catfishes**. Science Publishes, Enfield/USA, p.386-399, 2003b.

SILVA, DMZA, PANSONATO-ALVES, JC, UTSUNOMIA, R, ARAYA-JAIME, C, RUIZ-RUAN, OFJ, DANIEL, SN, HASHIMOTO, DT, OLIVEIRA, C, CAMACHO, JPM, PORTO-FORESTI, F, FORESTI, F. Delimiting the origin of a B chromosome by FISH mapping, chromosome painting and DNA sequence analysis in *Astyanax paranae* (Teleostei, Characiformes). **PlosOne**, 4:e94896, 2014.

SINZELLE, L, JÉGOT, G, BRILLET, B, ROULEUX-BONNIN, F, BIGOT, Y, AUGÉ-GOUILLOU, C. Factors acting on Mos1 transposition efficiency. **BMC Mol. Biol.** 9: 106, 2008.

SILVA, M., MATOSO, D. A., LUDWIG, L. A. M., GOMES, E., ALMEIDA, M. C., VICARI, M. R., ARTONI, R. F. Natural triploidy in *Rhamdia quelen* identified by cytogenetic monitoring in Iguaçú basin, southern Brazil. **Environment Biology Fish**, 91: 361-366, 2011.

STIVARI, M.K., MARTINS-SANTOS, I.C. Karyotype Diversity in two populations of *Rhamdia quelen* (Pisces, Heptapteridae). **Cytologia**, 69(1): 25-34, 2004.

STOLF, R., SWARÇA, A.C., GUILIANO-CAETANO, L., DIAS, A.L. Analyses of karyotype and nucleolus organizer regions of *Imparfinis aff. schubarti* (Siluriformes, Pimelodidae) of the Tibagi river basin, Parana', Brazil. **Caryologia**, 57 (4): 348-352, 2004.

SULLIVAN, J. P., LUNDBERG, J. G., HARDMAN, M. A phylogenetic analysis of the major groups of catfishes (Teleostei: Siluriformes) using rag1 and rag2 nuclear gene sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 41: 636-662, 2006.

SUMMER, AT. Chromosomes: organization and function. **Malden, Blackwell Publishing**, 2003.

SVARTMAN, M.; VIANNA-MORGANTE, A. M. Comparative genome analysis in American marsupials: chromosome banding and in-situ hybridization. **Chromosome Research**, 7: 267-275, 1999.

SWARÇA, A.C., FENOCCHIO, A.S., CESTARI, M.M., DIAS, A.L. Analysis of the heterocromatin by combination of C-banding and CMA3 and DAPI staining in two fish species (Pimelodidae, Siluriformes). **Genética**, 119:87-92, 2003b.

SWARÇA, A.C., FENOCCHIO, A.S., DIAS, A.L. An update Cytogenetic Review for Species of the Families Pseudopimelodidae, Pimelodidae and Heptapteridae (Pisces, Siluriformes). Suggestion of a Cytotaxonomical Classification. **Caryologia**. 60(4), 2007.

SWARÇA, A.C., GUILIANO-CAETANO, L., DIAS, A.L. Cytogenetics of species of the families Pimelodidae and Rhamdiidae (Siluriformes). **Genetics and Molecular Biology**, 23(3): 589-593, 2000.

SWARÇA, A.C., GUILIANO-CAETANO, L., VANZELA, A.L.L., DIAS, A.L. Heteromorphism of rDNA Size in *Pinirampus pirinampu* (Pisces: Pimelodidae) Detected by *in situ* Hybridization. **Cytologia**, 66: 275-278, 2001.

SWARÇA, A.C., VIDOTTO, A.P., DIAS, A.L. Cytogenetic characterization of *Pimelodella aff. avanhandavae* (Siluriformes, Pimelodidae) from Tibagi River (Paraná State, Brazil). **Caryologia**, 56(4): 421-425, 2003a.

TRAUT, W.; WINKING, H. Meiotic chromosomes and stages of sex chromosome evolution in fish: Zebrafish, platyfish and guppy. **Chromosome Research**, 9:659-672, 2001.

TSUDA, J. R., DE MORAES, V. P. O., GUILIANO-CAETANO L., DIAS A. L. Occurrence of natural triploidy in *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Heptapteridae). **Genetics and Molecular Research** (no prelo).

VALCARCEL, A., BRUNNER, P., MAGGESE, M. C. B- chromosome polymorphism in the South American catfish, *Rhamdia sapo*. **Aquaculture**, 110:111-118, 1993.

- VASCONCELOS, C., MARTINS-SANTOS, I. C. Chromosome Polymorphism in species of the Pimelodidae family (Pisces, Siluriformes). **Hereditas**, 132: 103-109, 2000.
- VALENTE, G. T.; SCHNEIDER, C. H.; GROSS, M. C.; FELDBERG, E.; MARTINS, C. Comparative cytogenetics of cichlid fishes through genomic in-situ hybridization (GISH) with emphasis on *Oreochromis niloticus*. **Chromosome Research**, 2009.
- VICARI, MR, ARTONI, RF, MOREIRA-FILHO, O, BERTOLLO, LAC. Diversification of a ZZ/ZW sex chromosome system in *Characidium* fish (Crenuchidae, Characiformes). **Genetica**, 134:311-317, 2008.
- VICARI, MR, NOGAROTO, V, NOLETO, RB, CESTARI, MM, CIOFI, MB, ALMEIDA, MC, et al. Satellite DNA and chromosomes in neotropical fishes: methods, applications and perspectives. **J Fish Biol.**, 76:1094–1116, 2010.
- VIDOTTO, A. P., SWARC, A. C., A, FENOCCHIO, A. S., DIAS, A. L. Cytogenetic Studies in Three *Pimelodella meeki* Populations (Pisces, Pimelodidae) from Tibagi River Basin (Brazil). **Journal of Heredity**. 95(6):517–520, 2004.
- VISSOTTO, P. C., FORESTI, F., OLIVEIRA, C. Karyotype description of Five species of Pimelodidae (Teleostei, Siluriformes). **Chromosome Science**, 3: 1-7, 1999b.
- VISSOTTO, P.C., FORESTI, F., OLIVEIRA, C. Karyotypic characterization of two species of the genus *Imparfinis* (Teleostei, Siluriformes, Heptapteridae). **Chromosome Science**, 5: 97-103, 2002.
- VISSOTTO, P.C., FORESTI, F., OLIVEIRA, C. Supernumerary chromosomes in two species of the family Pimelodidae (Teleostei, Siluriformes). **Chromosome Science**, 3: 9-13, 1999a.
- WICKER, T, SABOT, F, HUA-VAN, A, BENNETZEN, JL, CAPY, P, CHALHOUB, B, FLAVELL, A, LEROY, P, MORGANTE, M, PANAUD, O, PAUX, E, SANMIGUEL, P, SCHULMAN, AH. A unified classification system for eukaryotic transposable elements. **Nat. Rev. Genet.**, 8:973-982, 2007.
- YOU-CHUN, L, ABRAHAM, BK, TZION, F, AVIGDOR, BEVN. Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review. **Molecular Ecology**, 11: 2453–2465, 2002.

CAPÍTULO I

**Mapeamento físico de diferentes tipos de DNAs repetitivos no genoma de catfish:
caracterização de sequências de transposon Tc1-mariner no gênero *Imparfinis*
(Siluriformes, Heptapteridae)**

*Este artigo será submetido à publicação na revista Chromosome Research

Mapeamento físico de diferentes tipos de DNAs repetitivos no genoma de catfish: caracterização de sequências de transposon Tc1-mariner no gênero *Imparfinis* (Siluriformes, Heptapteridae)

Juceli Gonzalez Gouveia¹, Ivan Rodrigo Wolf¹, Laurival Antonio Vilas-Boas¹, John Seymour Heslop-Harrison², Trude Schwarzacher², Ana Lúcia Dias¹

¹Departamento de Biologia Geral, Centro de Ciências Biológicas, CCB, Universidade Estadual de Londrina, P.O Box 6001, Londrina, Paraná CEP 86051-970, Brasil
e-mail: anadias@uel.br

² Department of Biology College of Medicine, Biological Sciences and Psychology University Road Leicester LE1 7RH, UK

Resumo

Mapeamento físico de diferentes tipos de DNAs repetitivos no cariótipo de peixes é importante para o entendimento da organização e evolução cariotípica de diferentes ordens, famílias, gênero ou espécies. Esses elementos podem refletir a organização genômica de diferentes organismos quando isolados e mapeados nos cromossomos de diferentes espécies. Peixes do gênero *Imparfinis* possuem uma ampla diversidade cariotípica em relação ao número diploide e localização de DNAs ribossômicos, entretanto, são poucos os dados com análises de sequências de DNAs repetitivos nas espécies desse gênero. Assim, neste estudo foi feito o isolamento e caracterização de transposon Tc1-mariner do genoma de *Imparfinis schubarti* e, juntamente com sondas DNAs ribossômicos 18S e 5S e microssatélites, foram hibridizados nos cromossomos de *Imparfinis borodini* e *Imparfinis schubarti*. Foram observadas diferença no cariótipo e número diploide, entre essas duas espécies, além de apresentarem peculiaridades importantes. Por exemplo, a localização de Tc1-mariner que foi evidenciada em regiões heterocromáticas apresentou diferente padrão de dispersão nos cromossomos de *I. borodini* e *I. schubarti*, assim como sítios de microssatélites. O par cromossômico 1 se apresentou como um cromossomo marcador tanto em *I. borodini* como em *I. schubarti* em sua morfologia e distribuição de DNAs repetitivos. Diante do fato das sequências de Tc1-mariner, isoladas do genoma de *Imparfinis schubarti*, apresentarem domínios truncados e com baixo índice de similaridade entre elas, sugere-se que esse transposon parece estar sofrendo o processo de deteriorização molecular devido a eventos internos de mutação. Os dados do presente estudo, além de contribuir com uma breve discussão sobre a diversidade cariotípica, localização e evolução de DNAs ribossômicos em diferentes espécies de *Imparfinis*, revelou que o genoma de *I. borodini* e *I. schubarti* possui elementos transponíveis e microssatélites em abundância e com diferente padrão de distribuição nos cariótipos, sugerindo que a evolução cariotípica dessas espécies é bastante divergente.

Palavra-chave: DNAr, MITEs, microssatélite, evolução cariotípica.

Introdução

O genoma dos eucariotos apresenta significativa quantidade de DNAs repetitivos incluindo os repetitivos *in tandem*, satélites, minissatélites, microssatélites, DNAs ribossômicos (Summer 2003; Martins e Wasko 2004) e também os repetitivos dispersos como os elementos transponíveis (TEs), que tem a capacidade de se mover nos genomas (Jurka et al. 2005). Estudos demonstram que essas sequências são de grande importância para a estrutura e função da organização genômica de eucariotos (Nandi et al. 2007).

DNAs ribossômicos pertencem a famílias multigênicas de DNA que codificam os genes RNAs que são responsáveis para a formação das subunidades dos ribossomos. Em animais, a grande subunidade do ribossomo é formada pela associação de uma cópia de rRNA (28S, 5.8S e 5S) com cerca de 49 proteínas ribossomais, e a pequena subunidade é formada pela associação de uma cópia de rRNA 18S com cerca de 33 proteínas ribossômica (Long e David 1980).

Repetições simples de 2-5pb (SSRs) ou microssatélites como mononucleotídeos, dinucleotídeos, trinucleotídeos e pentanucleotídeos, são variáveis em abundância nos diferentes genomas (Schmidt e Heslop-Harrison 1996; Reilly et al. 1996; Cuadrado e Schwarzacher 1998; Mesquita et al. 2003; Chistiakov et al. 2006) e podem desempenhar um papel importante na evolução genômica, podendo ser relacionados com regiões codificadoras ou não (Tóth et al. 2000).

Diante do aumento do número de genomas sequenciados, uma constatação foi que grande parte deles são constituídos de TEs. Em alguns casos extremos, como no genoma de *Rana esculenta*, *Zea mays*, *Drosophila melanogaster* e *Homo sapiens*, os TEs representam, respectivamente, 77, 60, 15-22 e 45% do genoma (Biémont e Vieira 2006). O papel destes elementos tem sido muito discutido em organismos aquáticos, principalmente em peixes (Benjamin et al. 2007; Jiang et al. 2011), onde condições da água e diferentes tecidos parecem ser determinantes para expressão diferencial desses elementos (Grandbastien 1998; Barbosa et al. 2014).

Elementos transponíveis (TEs) incluem transposons e retrotransposons e são diferenciados com base em seu modo de transposição, com a presença ou ausência de RNA como uma transposição intermediária (Wicker et al. 2007). Dentro dos transposons, a superfamília Tc1- mariner está presente em diversos grupos e possuem o

mecanismo de “cut-and-paste” para se mover num genoma e, devido a esse mecanismo já conhecido, alguns transposons dessa classe são produzidos sinteticamente para estudos de engenharia genética, com função de inibição de superprodução de genes (Muñoz-López e García-Pérez 2010).

Transposons Tc1-mariner podem resultar de elementos não autônomos (ou seja, não codificam proteínas necessárias para a sua mobilização), sendo, portanto, dependentes de transposons autônomos para mobilidade (Wicker et al. 2007). Esses elementos não autônomos podem originar elementos transponíveis miniaturas não autônomas (MITEs) de DNA, que são elementos presentes em grande número em muitos eucariontes (Le et al. 2000; Turcotte et al. 2001; Feschotte et al. 2002a; Feschotte et al. 2002b). Duas famílias de MITEs, Stowaway e Tourist, são originadas por superfamílias do transposon Tc1-mariner e apresentam-se em grande abundância no genoma de plantas e animais (Zhang et al. 2001; Jiang et al. 2003).

A maioria dos TEs está presente como cópia não-autônoma nos genomas, que é gerado por um processo de degradação, onde uma vez que inativados acumulam mutações perdendo sua identidade. Desse modo, o “ciclo de vida” de um TE segue com a invasão no genoma hospedeiro, aumento de seu número de cópias, sua inativação e conseqüentemente sua eliminação (Kidwell e Lisch 2001).

Os estudos com diferentes tipos de DNAs repetitivos são bastante promissores para o entendimento da organização genômica de eucariotos, além disso, a localização física cromossômica desses elementos pode auxiliar no entendimento da evolução cariotípica, identificar rearranjos cromossômicos, cromossomos supranumerários e cromossomos sexuais corroborando com estudos de citogenética aplicada (Ferreira e Martins 2008).

Na família Heptapteridae, pertencente ao grupo de peixes neotropicais, são poucos os estudos envolvendo sequências de DNAs repetitivos. Os dados existentes estão mais relacionados com o mapeamento cromossômico de DNAs ribossômicos 18S e 5S com enfoque evolutivo e diversificação cariotípica em alguns gêneros (Gouveia et al. 2013). Dentro desta família, o gênero *Imparfinis* possui características citogenéticas específicas sendo considerado um dos gêneros mais diversificados desse grupo. Uma característica marcante das espécies desse gênero é o padrão simples da RON em localização intersticial, diferente da maioria das espécies que possui RONS na região terminal dos cromossomos (Borba et al. 2012; Gouveia et al. 2013), exceto *Imparfinis hollandi* que possui RON terminal em um cromossomo subtelocêntrico (Margarido e

Moreira Filho 2008) e *I. borodini* (citado como *Heptapterus longicauda*), única espécie com RONS múltiplas também terminais (Vissotto et al. 1999). Sítios de DNAr 18S em *Imparfinis* podem apresentar-se em sintenia com sítios de DNAr 5S (Kantek et al. 2009; Ferreira et al. 2014) ou estarem localizados em diferentes cromossomos, geralmente intercalados por blocos de heterocromatina (Gouveia et al. 2013; Ferreira et al. 2014).

Recentemente, foi realizada uma caracterização e isolamento de sequências DNAr 5S bem detalhada em *I. schubarti* por Gouveia et al. (enviado para publicação), sendo esta a única análise com sequências de DNAs repetitivos na família Heptapteridae, até o momento. Assim, este estudo teve como objetivo realizar a caracterização molecular de Tc1-mariner do genoma de *Imparfinis schubarti*, localiza-lo *in situ* no cariótipo de *I. borodini* e *I. schubarti*, juntamente com outras famílias de DNAs repetitivos para comparação do comportamento desses elementos no genoma destas duas espécies, o que contribuiu para uma breve discussão sobre a variabilidade cariotípica deste grupo de peixes.

Material e Métodos

Material biológico e locais de coleta

Foram analisadas quatro populações de *Imparfinis schubarti* de afluentes da bacia do rio Ivaí e bacia do rio Paranapanema (fig. 1): 4 espécimes (1 fêmea e 3 machos) do rio Água das Araras/Santa Mariana/PR (23°10'26.1"S e 50°20'2.54"W); 6 espécimes (2 fêmeas e 4 machos) do rio Quexada/Borrazópolis/PR (23°56'9.65"S e 51°39'26.08"W); 24 indivíduos (15 fêmeas e 9 machos) do rio Vermelho/Rolândia/PR (23°13'0.95"S e 51°20'0.88"W) e 23 indivíduos (9 fêmeas e 14 machos) do rio Taquari/Jataizinho/PR (23°13'46.2"S e 50°56'30.9"W) E também foram analisados 4 indivíduos de *Imparfinis borodini* (2 sexos não identificado e 2 fêmeas) do rio Pereira/Faxinal/PR (24°05'34.94"S e 51°17'15.86"W), afluente pertencente á bacia do rio Ivaí (fig. 1). Os exemplares foram coletados com a permissão do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) com protocolo numero 11399-1. Os espécimes foram depositados no Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Londrina (MZUEL), Paraná, Brasil, com números de voucher: *Imparfinis borodini*: rio Pereira (MZUEL10480), *Imparfinis schubarti*: rio Água das Araras (MZUEL10481); rio Quexada (MZUEL5763); rio Taquari (MZUEL10483) e rio Vermelho (MZUEL10482).

Preparação cromossômica e análise convencional

Os cromossomos mitóticos foram obtidos com a técnica de preparação direta segundo Bertollo et al. (1978), usando células do rim posterior. Os cromossomos foram visualizados por coloração convencional com Giemsa 5% diluído em tampão fosfato (pH 6.8) e classificados em metacêntricos (m), submetacêntricos (sm), subtelocêntricos (st) e acrocêntricos (a), de acordo com Levan et al. (1964), com modificações. O número fundamental (NF) foi calculado considerando os cromossomos metacêntricos, submetacêntricos e subtelocêntricos como portadores de dois braços.

Bandamento cromossômico

As regiões organizadoras de nucléolos ativas (AgRONS) foram detectadas pela técnica de impregnação por nitrato de prata, segundo Howell e Black (1980). Para a determinação dos sítios ricos em pares de base GC e AT foram utilizados os fluorocromos cromomicina A₃ (CMA₃) e 4,5-diamino-phenylindole (DAPI), respectivamente, segundo Schweizer (1978). Para técnica de Banda-C foi realizado o procedimento descrito por Summer (1972), que detecta regiões heterocromáticas dos cromossomos.

Amplificação de Tc1-mariner no genoma de *Imparfinis schubarti*

O DNA genômico de *Imparfinis schubarti* foi extraído a partir de músculo usando Phenol/clorofórmio segundo procedimento descrito por Sambrook e Russel (2001).

Para caracterização do elemento transponível Tc1 foi utilizado primer *Tss IR* com apenas uma sequência (5'-TACAGTTGAAGTCGGAAGTTTACATAC-3'), desenhada por Nandi et al. (2007), já utilizada em outro catfish do gênero *Ictalurus*. A reação da PCR para ampliação de elemento Tc1 foi feita num total de 50µl com: 0.4 µM de primer, 0.16 mM de dNTPs, 1x tampão da reação, 2.5 mM de MgCl₂, 1U de Taq polimerase com 70ng de DNA genômico de *I. schubarti*. O ciclo da PCR para Tc1 foi de 94°C por 5min, com 35 ciclos de 94°C por 1min, 55°C por 1 min, e 72°C for 2 min, e extensão final de 72° por 5min. O produto da PCR foi visualizado em gel de agarose 1% e as bandas foram extraídas usando o kit Purelink[™] Quick Gel Extraction (Invitrogen). As sequências isoladas foram clonadas usando o Kit pGEM-T Easy Vector System (Promega) com células competentes de *Escherichia coli* (TOP10). Os insertos foram

sequenciados em sequenciador automático 3500 x L (Applied Biosystem), de acordo com os procedimentos do fabricante.

Ambas as fitas de DNA obtidas pelo método de PCR foram sequenciadas e a montagem do contig e a limpeza de contaminantes foi feita utilizando o programa PhredPhrapConsed (Gordon et al. 1998). As sequências limpas foram utilizadas para busca por elementos repetitivos pela interface web do software CENSOR (Kohany et al. 2006), que utiliza a base de dados Repbase e BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) para confirmação da identidade com DNA transponível de Tc1- mariner (Altschul et al. 1997). Para identificação de domínios proteicos foi utilizado a interface HMMER (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/hmmer/>) que utiliza o banco de dados Pfam (Finn et al. 2015). As sequências anotadas foram depositadas no banco de dados do NCBI com respectivos números de acesso: KU198862 (800pb); KU198863 (600pb) e KU198864 (300pb).

Hibridação fluorescente *in situ*

A hibridação fluorescente *in situ* (FISH) foi realizada de acordo com procedimento descrito por Pinkel et al. (1986), com modificações. A sonda de DNAr 18S utilizada foi a de *Prochilodus argenteus* (Hatanaka e Galetti 2004), e a de DNAr 5S de *Imparfinis schubarti* foi isolada por Gouveia et al. (enviado para publicação). As sondas de sequências simples de microssatélites sintéticos foram hibridizadas de acordo Schmidt e Heslop-Harrison (1996), e os oligonucleotídeos usados foram: (GACA)₄, (GAA)₇ e (CAC)₅ (CA)₈. Todas as sondas foram marcadas com biotina-16-dUTP (ROCHE[®]) e detectadas com anti-avidina ou marcadas com Digoxigenia-11dUTP (INVITROGEM[®]) e detectadas com anti-digoxigenina. Para hibridação de sondas de DNAr 18S e 5S foi feita a Double FISH com 18S marcado por biotina (16-dUTP) e 5S marcada com digoxigenina (11-dUTP). As lâminas foram tratadas com 50 µL de mistura de hibridação contendo 100 ng de sonda marcada (7,5 µL), formamida 50% (30 µL), sulfato de dextrano 50% (12 µL), 20xSSC (10,5 µL). O mix de hibridação foi denaturado a 80°C, por 10 minutos e a hibridação foi realizada *overnight* a 37°C em câmara úmida. Após a hibridação, as lâminas foram lavadas em 2xSSC por 5 minutos, em 1 x PBS e 1 x PBD (20xSSC, Triton 100, leite em pó desnatado e água destilada qsp 100; pH 7,0), todos a 45°C. A detecção do sinal foi feita utilizando 5 µL de FITC (1:100) e 45 µL de BSA (5%) e para amplificar o sinal foram utilizados 40 µL de solução de amplificação (1,0 µL anti-avidina-biotina conjugada e 39 µL de 1xPBD). As

lâminas foram montadas com 25 μL da solução de DABCO (1,4-diazabicyclo (2.2.2) – octane) (2,3%), 20 mM Tris HCl, pH 8.0, (2%) e glicerol (90%), em água destilada, 1 μL de MgCl_2 50mM e 1 μL de 4,5-diamino-phenylindole (DAPI), (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$). As imagens foram obtidas com o fotomicroscópio Leica DM 4500 B, equipado com câmera DFC 300FX e o *software* 4.0 Leica IM50.

Resultados

Cariótipo, Banda C, CMA₃, DAPI e FISH com DNAr 18S e 5S

As duas espécies do gênero *Imparfinis* apresentaram número diploide e cariótipo diferenciados. *Imparfinis schubarti* com $2n=58$ e $\text{NF}=116$ distribuídos em $30m+28sm$ nas quatro populações estudadas (Fig. 2a), apresentando uma constrição secundária na região intersticial do braço longo do par 1 metacêntrico que foi coincidente com a Ag-RON, sítios de DNAr 18S, esse par 1 também mostrou marcação com fluorocromo e CMA₃ na região da constrição (Fig. 2a-box). O sítio de DNAr 5S foi localizado na região próxima ao centrômero do par 10 metacêntrico que também apresentou marcação com CMA₃ nesta região (fig. 2a e box).

Imparfinis borodini com $2n=50$ e $\text{NF}=100$ com $24m+18sm+8st$, apresentando os cromossomos do primeiro par assimétricos em relação aos outros cromossomos do complemento (fig. 2c). A Ag-RON foi evidenciada na região terminal do braço curto do par 6 metacêntrico, coincidente com o sítio de DNAr 18S (Fig. 2c-box). O par 6 também mostrou marcação com o fluorocromo CMA₃ na região terminal do braço curto coincidente com a Ag-RON (Fig. 2c-box). O sítio de DNAr 5S foi localizado na região intersticial do braço curto do par 6, mostrando sintenia com o sítio de DNAr 18S (fig. 2c-box). Nenhuma das duas espécies apresentaram sinais com fluorocromo DAPI em nenhuma das populações.

A técnica de banda C mostrou marcações discretas nas regiões pericentroméricas, intersticiais e terminais da maioria dos cromossomos em *I. schubarti*, sendo que os cromossomos do par 1 apresentaram um grande bloco intercalar ao sítio de DNAr 18S, assim como o par 10 com um grande bloco de heterocromatina na região intersticial coincidente com sítio de DNAr 5S (fig. 2b). A população de *I. borodini* apresentou blocos terminais e intersticiais em alguns e também um bloco bem evidente na região terminal do braço curto no par 6, coincidente com a Ag-RON (fig. 2d).

Caracterização de Tc1-mariner no genoma *I. schubarti* e hibridação *in situ* no cariótipo de *I. borodini* e *I. schubarti*

A PCR com primer de Tc1-mariner foi possível pela amplificação de três sequências com 800pb, 600pb e 300pb, extraídas do DNA total de *I. schubarti*. O Software Censor detectou similaridade com Tc1_TF; Mariner-1B_EL ambos da classe DNA/Mariner com cerca de 70% de similaridade em todas as sequências (Anexo I). A sequência de 600pb também mostrou similaridade com um retrotransposon ATHILA-1_SBi-I da classe LTR/Gypsy. O programa Blastn detectou similaridade com sequências anotadas de transposons Tc1 mariner apenas nas sequências de 800pb e 600pb. O programa HMMER online detectou similaridades com o domínio de ligação *helix-turn-helix* (HTH) na sequência de 300pb e na sequência de 600pb foram detectados os dois somínios de ligação: *Homeodomain-like domain* (HLD) e o domínio *helix-turn-helix* (HTH) (Anexo II). Na análise com plotcon_protein nota-se que esses domínios são diferentes entre si e incompletos. E nenhuma ORF (“open reading frame”) de transposase completa foi detectada nas três sequências. A TIR (“terminal inverted repeats”) da sequência de 800pb possui cerca de 27 nucleotídeos e está de 1 a 27pb e de 795 a 822pb com dinucleotídeos TA localizados em ambas as TIRs. Na sequência de 600pb as TIRs com 23pb foram detectadas no sentido 5’, assim como na sequência de 300pb com dinucleotídeos TA identificados nesse sentido.

A hibridação com o transposon Tc1-mariner, apresentou marcações discretas no cariótipo de *I. schubarti*, localizadas em regiões terminais e pericentroméricas na maioria dos cromossomos coincidentes com a distribuição de heterocromatina desta espécie, sendo que alguns pares mostraram marcações biteloméricas, como o par 1 da RON (fig. 3a). O par 10 que possui o sitio de DNAr 5S também mostrou uma grande marcação desse de Tc1 na região terminal do braço curto (fig. 3a).

Em *I. borodini* a hibridação com Tc1 apareceu em blocos bem evidentes em alguns cromossomos, coincidentes com o padrão de heterocromatina, em sua maioria na região intersticial como nos pares metacêntricos 6, 9, 11, 12, e nos pares submetacêntricos 13, 14, 16 e 17; já os cromossomos subtelo-cêntricos apresentaram marcas terminais no braço curto (24 e 25) (fig. 3b). O par 6 correspondente ao par com sintenia de DNAr 18S e 5S, também apresenta um grande bloco de Tc1-mariner na região intersticial próximo ao centrômero coincidente com um bloco de heterocromatina (fig. 2d e 3b). No núcleo interfásico em *I. schubarti* esse transposon aparece disperso no núcleo e em *I. borodini* as marcações aparecem em blocos isolados (fig. 3a, b- box).

FISH com sequências simples de microssatélite

As sequências simples de microssatélites (GAA)₇, (GACA)₄, (CAC)₅ e (CA)₈ apresentaram diferentes padrões de distribuição no genoma de *I. schubarti* e *I. borodini*: (GAA)₇ com marcas discretas e dispersas em quase todos os cromossomos nas duas espécies e o par 1, principalmente de *I. borodini*, apresentou um acúmulo desse microssatélite (fig. 4a- setas) e em *I. schubarti* pode-se observar uma marcação mais discreta neste cromossomo (fig. 4b-setas); (GACA)₄ mostrou marcações evidentes dispersas em todos os cromossomos, como pequenos pontos terminais e intersticiais e o par 1 de *I. borodini* com acúmulo em região intersticial (fig. 4c-setas), coincidente com o bloco de heterocromatina (fig. 2d) e o par 1 de *I. schubarti* também apresentou marcas intersticiais na região da constrição (fig. 4d-setas).

Microssatélite (CAC)₅, diferente das duas sequências anteriores, apresentou-se distribuído como blocos nas regiões centroméricas de alguns cromossomos das duas espécies (fig. 4e; f); o par 1 de *I. borodini*, com um bloco intersticial, coincidente com o bloco de banda C e um pequeno bloco intersticial no braço curto (fig. 4e-setas), assim como o par 1 de *I. schubarti* com um grande bloco coincidente com a constrição secundária (fig. 4f-setas).

Apenas alguns cromossomos de *I. borodini* e *I. schubarti*, apresentaram sinais discretos com repetições de microssatélite (CA)₈, em posição terminal e intersticial e o par 1, de ambas espécies, com uma marca mais evidente em região intersticial (fig. 4g e h, setas).

Discussão

Os dados do presente estudo confirmaram $2n=58$ de *Imparfinis schubarti*, verificado em todas as outras populações analisadas desta espécie (Borba et al. 2012; Gouveia et al. 2013), assim como a variabilidade cariotípica que existe dentro desse gênero, mostrando pela primeira vez um $2n=50$ neste grupo de peixes. Interessante notar que, uma outra população de *I. borodini*, analisada por Vissotto et al. (1999), da bacia do alto Paraná, apresentou $2n=52$ com RONS múltiplas localizadas no braço longo dos pares 2 e 25, diferindo totalmente da população desta mesma espécie aqui analisada, com $2n=50$ e RON terminal no braço curto do par 6.

Além disso, *I. borodini* do presente estudo, possui o primeiro par cromossômico assimétrico em relação aos demias, sendo muito maior que os outros pares do complemento, comportando-se como um par marcador para esta população. Margarido

e Moreira-Filho (2008) sugerem que a evidência de cromossomos assimétricos no cariótipo de uma outra espécie do gênero *Imparfinis* (*I. hollandi*), pode ser um indício de fusões cromossômicas. Esse par também possui o acúmulo de diferentes tipos de microssatélites o que parece contribuir para diferenciação cromossômica do mesmo, visto que, microssatélites podem estar relacionados com diversos mecanismos de organização no genoma de eucariotos, como organização de cromatina e regulação de atividades gênicas (Li et al. 2002).

Apesar dessa grande diversidade citogenética dentro desta família, Borba et al. (2012) consideram que, dentro de Heptapteridae, ocorre uma estabilidade cromossomal devido a maior prevalência de $2n=58$ e presença de cromossomos biarmados. Esse $2n$ é considerado uma característica plesiomórfica na família (Fenocchio et al. 2003) e a redução do número de cromossomos é considerada uma condição sinapomórfica e está relacionada com rearranjos, como fusões centricas, que explicariam a evolução do $2n$ das espécies dessa família (Margarido e Moreira-Filho 2008; Borba et al. 2012; Ferreira et al. 2014).

Um exemplo de diferenciação cromossômica é o par cromossômico 1 tanto de *I. borodini* quanto de *I. schubarti*, que possui marcação com diferentes tipos de DNAs repetitivos, acumulados neste par. *I. borodini*, mostra um acúmulo de microssatélites dispersos neste par, já em *I. schubarti* esses microssatélites estão intercalados com os sítios de DNAr 18S, além do par 1 desta espécie possuir transposon Tc1-mariner em região bitelomérica. Este par 1, característico de *I. schubarti*, já foi evidenciado em outras espécies desse gênero possuindo o sítio da RON coincidente com uma constrição secundária intersticial, como em *I. mirini*; *I. minutus* e *I. piperatus* (Tabelas de revisões: Borba et al. 2012; Yano e Margarido 2012; Gouveia et al. 2013; Ferreira et al. 2014 e presente estudo).

Esta localização da RON em região intersticial é considerada uma característica sinapomórfica da família Heptapteridae, visto que a maioria das espécies apresentam RON terminal (Kantek et al. 2009; Borba et al. 2012). Neste sentido, a RON de *I. borodini* do presente estudo, localizada na região terminal no braço curto de um par de cromossomos metacêntrico pequeno (par 6), pode ser um indício da evidência mais antiga desse sítio e corrobora com a hipótese de Borba et al. (2012) de que eventos de inversão e duplicação levou ao fenótipo mais recente da RON em posição intersticial, como evidenciado em *I. schubarti* e outras espécies desse gênero.

Além disso, o fato de transposons estarem presentes em regiões biteloméricas do par 1 de *I. schubarti* com sítios de DNAr 18S e nos pares cromossômicos com sítios de DNAr 5S nas duas espécies, sugere que estes elementos podem também estar relacionados com esses eventos de inversão no par da RON ou com transposição de gene de DNAr 5S nessas espécies, sendo que a dispersão e evolução de genes de DNAs ribossômicos podem ser mediadas por TEs, devido a organização desses elementos no genoma de peixes (Costa et al. 2013; Yano et al. 2014). Além do fato de que TEs de classe II (Tc1 mariner) podem estar envolvidos em eventos como de inversões cromossômicas em vertebrados (Caceres et al. 1999).

Em *Erythrinus erythrinus* Cioffi et al. (2010) e Yano et al. (2014) observaram retrotransposons N-LTR co-localizados com o DNAr 5S, bem como em espécies simpátricas de *Hypostomus* analisadas por Pansonato-Alves et al. (2013) com retrotransposons, Rex1 e Rex3. Mais recentemente, em análise de sequências de DNAr 5S isoladas do genoma de *I. schubarti* (sonda utilizada no presente estudo) Gouveia et al. (enviado para publicação) também evidenciaram fragmentos de TEs (SINE3-1) flanqueando esse sítio, sugerindo, que TEs podem estar atuando na transposição de RNAr 5S nas espécies desse gênero.

Devido ao fato das sequências do transposon Tc1-mariner, isoladas neste estudo, não apresentarem ORFs de transposases completas, e apresentarem domínios de ligação incompletos, com baixa similaridade entre si, significa que eventos de inserção e mutação podem ter levado à deteriorização molecular desse elemento no genoma de *Imparfinis*. E o fato da sequência de 600pb possuir similaridade com domínios de ligação ao DNA, como o *Homeodomain-like domain* (HLD) e o domínio *helix-turn-helix* (HTH) é uma evidência de que o processo de deterioração está mais relacionado com o domínio catalítico com maior divergência, não possuindo similaridades com domínios característicos da transposase. Esse processo de deterioração onde TEs divergem de sua sequência original é esperado dentro dos genomas, onde TEs de diferentes classes podem incorporar erros de diferentes tipos, de acordo com seu mecanismo de transposição (Fernández- Medina et al. 2012).

Uma vez que essas sequências do transposon Tc1, isoladas do genoma de *I. schubarti*, estão em processo de mutação e todas apresentarem sequências invertidas terminais, pode ser um indício da formação de outros elementos, como os elementos transponíveis de repetições invertidas miniaturas não autônomas (MITEs), fato que pode estar ocorrendo através de deleções internas nesse transposon ou de gap de reparo

abortivo na sequência de transposição (Feschotte et al. 2000a). Algumas análises genômicas relacionam esses elementos MITEs com pequenos RNAs de interferência (siRNAs), que interferem na regulação gênica de diferentes organismos (Kuang et al. 2015).

Além disso, esse TE parece ser de suma importância na evolução genômica de *I. borodini* e *I. schubarti*, pois a hibridação com esse elemento mostrou-se bastante representativa no genoma dessas espécies em regiões heterocromáticas, além do notável padrão diferenciado de bandas entre elas. Outro catfish, *Ictalurus punctatus*, também possui transposon Tc1 em abundância em seu genoma e altamente disperso, sendo que cerca de 4.2% de suas bases nucleotídicas são de elementos de Tc1 (Nandi et al. 2007).

No peixe antártico *Chionodraco hamatus* transposon Tc1 também exibiu preferência por regiões heterocromáticas, sugerindo que esse elemento pode estar relacionado com rearranjos cromossômicos em peixes (Capriglione et al. 2000). É importante destacar que TEs podem influenciar a regulação da expressão gênica tanto a nível transcricional como pós-transcricional (ver revisão de Feschotte 2008). Estudos demonstram também que TEs podem estar relacionados com regulação de RNAs não codificadores (lncRNAs) em eucariotos (Kapusta et al. 2013).

O fato de Tc1 ser coincidente com blocos de heterocromatina pode estar relacionado com uma possível inatividade desses elementos no genoma de *Imparfinis*, devido ao alto grau de compactação dessa região (ver revisão de Feschotte 2008). Tc1 ativo é raro em vertebrados, no entanto, ORFs de transposases completas já foram identificados no peixe japonês Medaka (*Oryzias latipes*) (Koga e Hori 2000). Em *Danio rerio* (Zebrafish), o transposon do tipo Tol2-Tyr da família de Tc1-mariner é um membro autônomo que codifica uma transposase funcional capaz de catalisar a transposição (Kawakami et al. 2000).

Os DNAs repetitivos utilizados neste estudo exibem diferencial distribuição nos cromossomos de *I. borodini* e *I. schubarti*, ora dispersos no genoma como os microssatélites (GACA)₄ e (GAA)₇, ora acumulados em determinadas regiões como regiões terminais e intersticiais dos cromossomos como microssatélites (CAC)₅ e (CA)₈ e Tc1-mariner, provavelmente refletindo o tempo de sua dispersão no genoma de peixes, como proposto por Yano et al. (2014). Vanzela et al. (2002) também evidenciaram sítios de microssatélite (GA)₉+C em regiões terminais dos cromossomos de uma outra população de *I. schubarti*. Esses dados corroboram com a ideia de que TEs e microssatélites acumulam-se preferencialmente em regiões heterocromáticas

como telômero, centrômero e cromossomos sexuais em diversas espécies de peixes (Ferreira e Martins 2008; Ciofi et al. 2012; Poltronieri et al. 2014).

O presente estudo mostrou que os dados de mapeamento físico de diferentes tipos de DNAs repetitivos, juntamente com análises de sequenciamento e caracterização de sequências, são ferramentas importantes para estudos de estruturação genômica e genética aplicada em espécies de peixes. *I. borodini* e *I. schubarti* apresentam TEs e microssatélites com diferente padrão de distribuição nos seus cariótipos, sugerindo que, a evolução cariotípica dentro das espécies desse gênero parece ser mais divergente do que conservativa.

Referências

Altschul SF, Madden TL, Schäffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res* 25:3389-3402.

Barbosa CM, Mareco EA, Silva MDP, Cesar Martins C, Alves-Costa FA (2014) Differential expression of a retrotransposable element, Rex6, in *Colossoma macropomum* fish from different Amazonian environments. *Mobile Genetic Elements* 4:30003.

Bertollo LAC, Takahashi CS, Moreira-Filho O (1978) Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). *Brazilian Journal of Genetics* 2:103-120.

Benjamin B, Bigot E, Yves E, Corinne AG (2007) Assembly of the Tc1 and mariner transposition initiation complexes depends on the origins of their transposase DNA binding domains. *Genetica* 130:105–120.

Borba RS, Silva EL, Pacheco ACS, Parise-Maltempi PP, Alves AL (2012) Trends in the karyotypic evolution of the Neotropical catfish Family Heptapteridae Bockmann 1998 (Teleostei: Siluriformes). *Rev Fish Biol Fish* 22:509–518.

Biémont C, Vieira C (2006) Junk DNA as an evolutionary force. *Nature* 443: 521-524

Caceres M, Ranz JM, Barbadilla A, Long M, Ruiz A (1999) Generation of widespread *Drosophila* inversion by a transposable element. *Science* 285: 415–418.

Cioffi MB, Martins C, Bertollo LAC (2010) Chromosome spreading of associated transposable elements and ribosomal DNA in the fish *Erythrinus erythrinus*. Implications for genome change and karyoevolution in fish. *BMC Evol Biol* 10: 271–279.

Costa GWWF, Cioffi MB, Bertollo LAC, Molina WF (2013) Transposable elements in fish chromosomes: a study in the marine cobia species. *Cytogenetic and Genome Research* 141: 126–132.

Capriglione T, Odierna G, Caputo V, Canapa A, Olmo E (2002) Characterization of a Tc1-like transposon in the Antarctic ice-fish, *Chionodraco hamatus*. *Gene* 295: 193–198.

Cuadrado A, Schwarzacher T (1998) The chromosomal organization of simple sequence repeats in wheat and rye genomes. *Chromosoma* 107:587-594.

Chistiakov DA, Hellemans B, Volckaert FAM (2006) Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. *Aquaculture* 255:1–29.

Ferreira IA, Martins C (2008) Physical chromosome mapping of repetitive DNA sequences in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*: Evidences for a differential distribution of repetitive elements in the sex chromosomes. *Micron* 39: 411–418.

- Ferreira M, Kavalco KF, Almeida-Toledo LF, Garcia C (2014) Cryptic Diversity Between Two *Imparfinis* Species (Siluriformes, Heptapteridae) by Cytogenetic Analysis and DNA Barcoding. *Zebrafish* 4:11.
- Fenocchio AA, Bertollo LAC, Takahashi CS, Dias AL, Swarça AC (2003) Cytogenetic studies and correlations on Rhamdiinae relationships (Pisces, Siluroidei, Pimelodidae). *Cytologia* 68:363–368.
- Fernández-Medina RD, Ribeiro JMC, Carareto CMA, Velasque L, Struchiner CJ (2012) Losing identity: structural diversity of transposable elements belonging of diferents classes in the genome of *Anopheles gambiae*. *BMC Genomics* 13:272.
- Feschotte C, Zhang X, Wessler S (2002a) Miniature Inverted-Repeat Transposable Elements and Their Relationship to Established DNA Transposons. *Mobile DNA II*.
- Feschotte C, Jiang N, Wessler SR (2002b) Plant transposable elements: where genetics meets genomics. *Nature Reviews Genetics* 3:329-341.
- Feschotte C (2008) The contribution of transposable elements to the evolution of regulatory networks. *Nat Rev Genet* 9: 397–405.
- Finn RD, Clements J, Arndt W, Miller BL, Wheeler TJ, Schreiber F, Bateman, Eddy SR (2015) *Nucleic Acids Research* 43:W30-W38.
- Gouveia JG, Moraes VPO, Sampaio TR, Rosa R, Dias AL (2013) Considerations on karyotype evolution in the genera *Imparfinis* Eigenmann and Norris 1900 and *Pimelodella* Eigenmann and Eigenmann 1888 (Siluriformes:Heptapteridae). *Rev Fish Biol Fisheries* 23:215–227.
- Gordon D, Abajian C, Green P (1998) Consed: a graphical tool for sequence finishing. *Genome Research* 8:195-202.
- Grandbastien MA (1998) Activation of plant retrotransposons under stress conditions. *Trends Plant Sci* 7:181.
- Hatanaka TE, Gatetti PM Jr (2004) Mapping of the 18S and 5S ribosomal RNA genes in the fish *Prochilodus argenteus*, Agassiz 1829 (Characiformes, Prochilodontidae). *Genetica* 122:239-244.
- Howell WM, Black DA (1980) Controled silver staining of nucleous organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia* 36: 1014-1015.
- Jiang N, Bao Z, Zhang X, Hirochika H, Eddy SR, McCouch SR, Wessler SR (2003) An active DNA transposon family in rice. *Nature* 421:163–167.
- Jiang Y, Lu J, Peatman E, Kucuktas H, Liu S, Wang S, Sun F, Liu Z (2011) A pilot study for channel catfish whole genome sequencing and de novo assembly. *BMC Genomics* 12:629.

Jurka J, Kapitonov VV, Pavlicek A, Klonowski P, Kohany O, Walichiewicz J (2005) Repbase update, a database of eukaryotic repetitive elements. *Cytogenet Genome Res* 110: 462–467.

Kantek DLZ, Peres WAM, Buckup PA, Moreira-Filho O (2009) Cytogenetics of *Imparfinis schubarti* (Siluriformes: Heptapteridae) from the Piumhi drainage, a diverted river in Minas Gerais State, Brazil. *Zoologia* 26: 733–738.

Kawakami K, Shima A, Kawakami N (2000) Identification of a functional transposase of the Tol2 element, an Ac-like element from the Japanese medaka fish, and its transposition in the zebrafish germ lineage. *PNAS* 21:11403–11408.

Kapusta A, Kronenberg Z, Lynch VJ, Zhuo X, Ramsay L, Bourque G, Yandell M, Feschotte C (2013) Transposable Elements Are Major Contributors to the Origin, Diversification, and Regulation of Vertebrate Long Noncoding RNAs. *Plos Genetics* 9: e1003470.

Kohany O et al. (2006) Annotation, submission and screening of repetitive elements in Repbase: RepbaseSubmitter and Censor. *BMC bioinformatics* 7: 474.

Koga A, Hori H (2000) Detection of de novo insertion of the medaka fish transposable element Tol2. *Genetics* 156:1243–1247.

Kuang H, Padmanabhan C, Li F, Kamei A, Bhaskar PB, Ouyang S, Jiang J, Buell CR, Barbara Baker B (2015) Identification of miniature inverted-repeat transposable elements (MITEs) and biogenesis of their siRNAs in the Solanaceae: New functional implications for MITEs. *Genome Research* 19:42–56.

Kidwell MG, Lisch DR (2001) Perspective: Transposable elements, parasitic DNA, and genome evolution. *Evolution* 55:1-24.

Le QH, Wright S, Yu Z, Bureau T (2000) Transposon diversity in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 97: 7376-7381.

Li Y-C, Korol AB, Fahima T, Beiles A, Nevo E (2002) Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review. *Molecular Ecology* 11: 2453–2465.

Levan A, Fredga K, Sandberg AA (1964) Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52: 201-220.

Long EO, David ID (1980) Repeated genes in eukariotes. *Annual Review of Biochemistry* 49: 727-764.

Margarido V P, Moreira-Filho O (2008) Karyotypic differentiation through chromosome fusion and number reduction in *Imparfinis hollandi* (Ostariophysi, Heptapteridae). *Genetics and Molecular Biology* 31:235-238

Martins C, Wasko AP (2004) Organization and evolution of 5s ribosomal DNA in the fish genome. In: *Focus on Genome Research*, pp335-363.

- Mesquita N, Cunha C, Hänfling B, Carvalho GR, Zé-Zé L, Tenreir R, Coelho MM (2003) Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci in the endangered Portuguese freshwater fish *Squalius aradensis* (Cyprinidae) Molecular Ecology Notes 572–574.
- Muñoz-López M, García-Pérez JL (2010) DNA Transposons: Nature and Applications in Genomics. Current Genomics 11:115-128.
- Nandi S, Peatman E, Xu P, Wang S, Li P, Liu Z (2007) Repeat structure of the catfish genome: a genomic and transcriptomic assessment of Tc1-like transposon elements in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Genetica 131:81–90.
- Nakajima RT, Cabral-de-Mello DC, Valente GT, Venere PC (2012) Martins C Evolutionary dynamics of rRNA gene clusters in cichlid fish. BMC Evolutionary Biology 12:198.
- Pansonato-Alves JC, Serrano EA, Utsunomia R, Scacchetti PC, Claudio Oliveira C Foresti F (2013) Mapping five repetitive DNA classes in sympatric species of *Hypostomus* (Teleostei: Siluriformes: Loricariidae): analysis of chromosomal variability. Rev Fish Biol Fisheries 23:477–489.
- Plasterk RH, Izsvak Z, Ivics Z (1999) Resident aliens: the Tc1/mariner superfamily of transposable elements. Trends Genet. 15:326-332.
- Pinkel D, Straume T, Gray JW (1986) Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. Proc Natl Acad Sci USA 83:2934–2938.
- Poltronieri J, Marquioni V, Bertollo LAC, Kejnovsky E, Molina WF Liehr T, Cioffi MB (2014) Comparative Chromosomal Mapping of Microsatellites in *Leporinus* Species (Characiformes, Anostomidae): Unequal Accumulation on the W Chromosomes. Cytogenet Genome Res 142:40–45.
- Reilly PTO, Hamilton LC, McConnell SK, Wright JM (1996) Rapid analysis of genetic variation in Atlantic salmon (*Salmo salar*) by PCR multiplexing of dinucleotide and tetranucleotide microsatellites. Can. J. Fish. Aquat Sci 53: 2292-2298.
- Sambrook J, Russell DW (2001) Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Schweizer D (1978) Reverse fluorescent chromosome banding with chromomycin and DAPI. Chromosoma 58:307-324.
- Schmidt T, Heslop-Harrison JS (1996) The physical and genomic organization of microsatellites in sugar beet Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 8761-8765.
- Sumner ATA (1972) Simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. Experimental Cell Research 75: 304-306

Summer AT (2003) Chromosomes: organization and function. Malden, Blackwell Publishing.

Tóth G, Gáspári Z, Jurka J (2000) Analysis Microsatellites in Different Eukaryotic Genomes: Survey and Analysis. *Genome Res* 10: 967-981.

Turcotte K, Srinivasan S, Bureau T (2001) Survey of transposable elements from rice genomic sequences. *The Plant Journal* 25:169-179.

Vanzela ALL, Swarça AC, Dias AL, Stolf R, Ruas PM; Sbalqueiro IJ; Giuliano-Caetano L (2002) Differential distribution of (GA)₉ + C microsatellite on chromosomes of some animal and plant species. *Cytologia* 67:9–13.

Vissotto PC, Foresti F, Oliveira C (1997) A ZZ/ZW sex chromosome system in *Imparfinis mirini* (Pisces, Siluriformes). *Cytologia* 62:61-66.

Vissotto PC, Foresti F, Oliveira C (1999) Karyotype description of five species of Pimelodidae (Teleostei, Siluriformes). *Chromosome Science* 3: 1–7.

Vissotto PC, Foresti F, Oliveira C (2001) Karyotypic characterization of two species of the genus *Imparfinis* (Teleostei, Siluriformes, Haptapteridae). *Chromosome Science* 5: 97-103.

Wicker T, Sabot F, Hua-Van A et al. (2007) A unified classification system for eukaryotic transposable elements. *Nature Review/ Genetics* 8.

Yano CF, Margarido VP (2012) First cytogenetic studies of the genus *Heptapterus* (Actinopterygii, Siluriformes): karyotype differentiation and review of cytogenetic data on the Heptapteridae Family. *Journal of Fish Biology* 81: 939–953.

Yano CF, Bertollo LAC, Molina WF, Liehr T, Cioffi MB (2014) Genomic organization of repetitive DNAs and its implications for male karyotype and the neo-Y chromosome differentiation in *Erythrinus erythrinus* (Characiformes, Erythrinidae). *Comp Cytogen* 8: 139–151.

You-Chun L, Korol AB, Fahima T, Beiles A, Nevo E (2002) Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review. *Molecular Ecology* 11:2453-2465.

Zhang X, Feschotte C, Zhang Q, Jiang N, Eggleston WB, Wessler SRP (2001) Instability factor: an active maize transposon system associated with the amplification of Tourist-like MITEs and a new superfamily of transposases. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 98: 12572–12577.

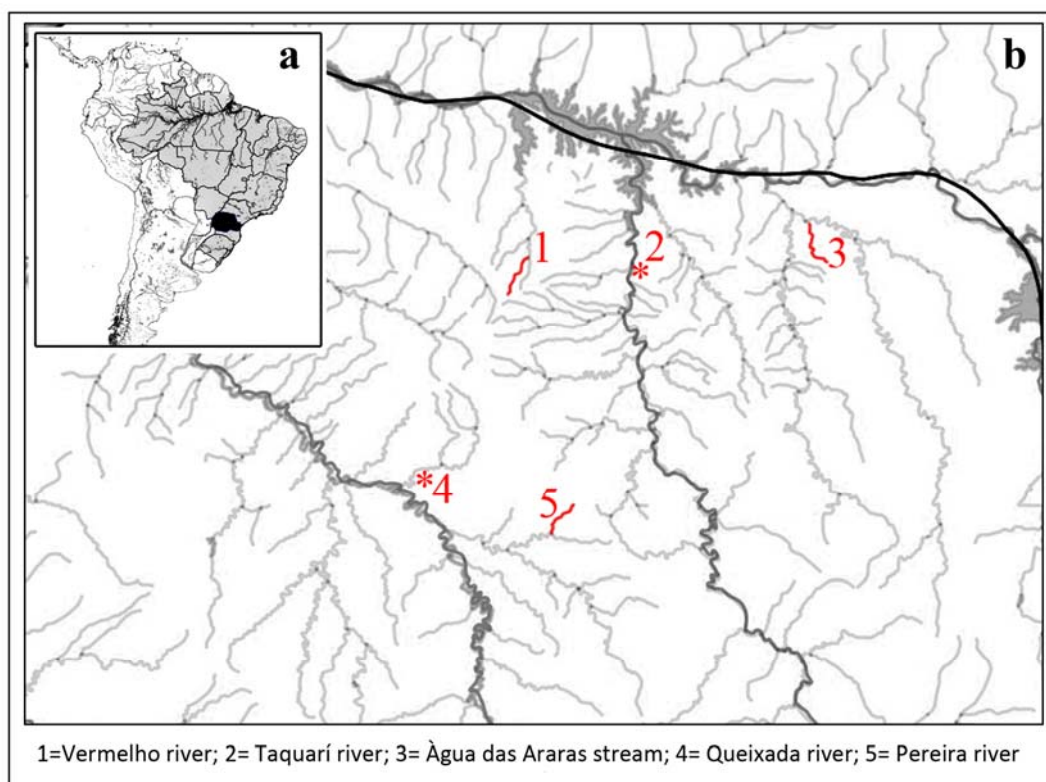


Fig.1. Mapa dos locais de coleta das espécies estudadas: Em (a) mapa representativo da América do Sul com destaque (em preto) do estado do Paraná. Em (b) os rios pertencentes à bacia do rio Paranapanema (1,2 e 3) e à bacia do rio Ivaí (4 e 5).

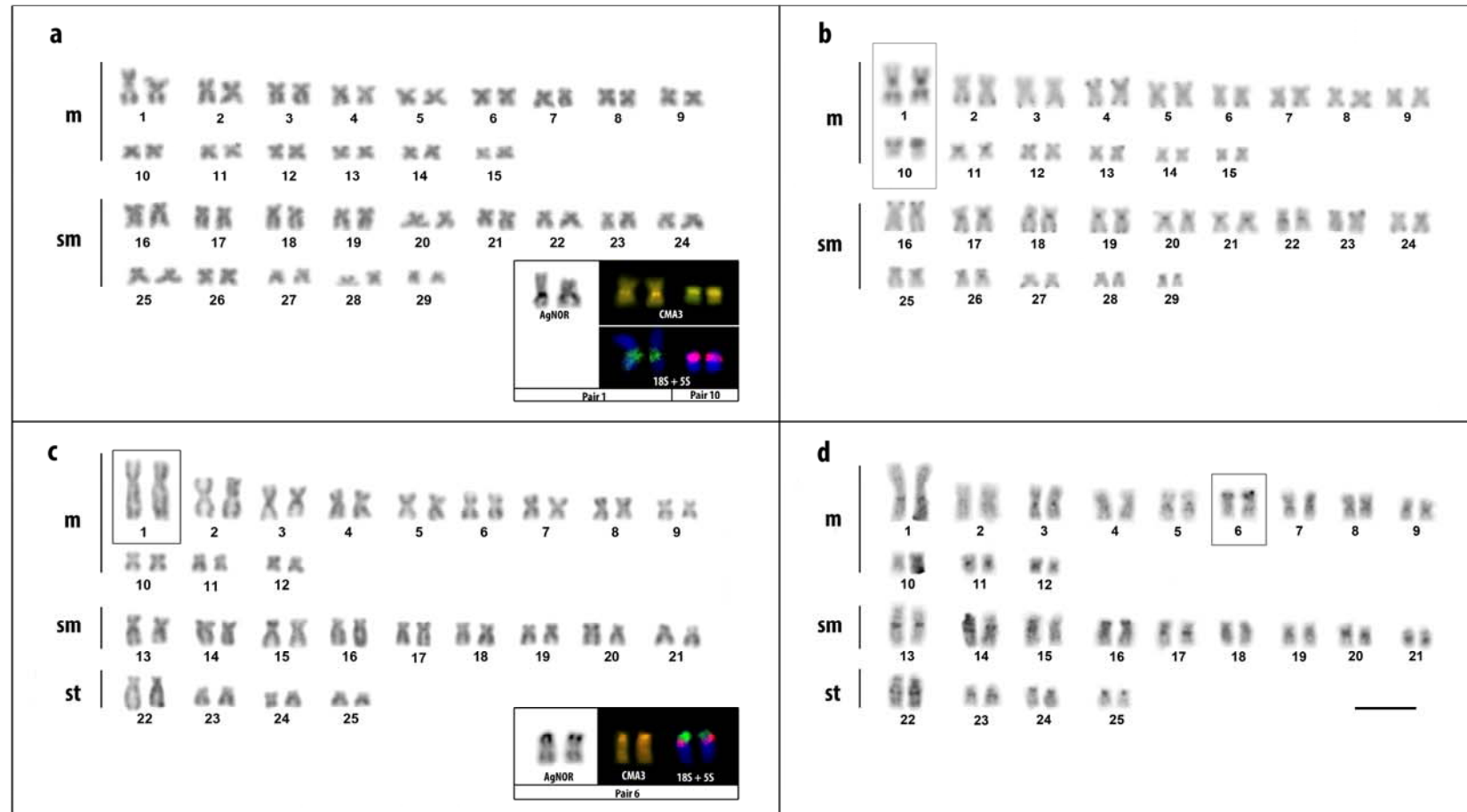


Fig. 2. Cariótipos com coloração convencional de *Imparfinis schubarti* (a) e *Imparfinis borodini* com evidência da assimetria no par 1 (c). No box, em (a) e (c), os pares com localização da AgRON, DNAr 18S (sinal verde) e 5S (sinal vermelho) e coloração com CMA₃ (sinal amarelo). Em (b) e (d) cariótipos de *I. schubarti* e *I. borodini*, respectivamente, com bandamento C, evidenciando os blocos heterocromáticos em alguns cromossomos das duas espécies. Em (b e d) estão em evidência os pares da Ag-RON e que possuem marcação com sítios de DNAr 5S com blocos coincidentes de heterocromatina. Barra= 5µm.

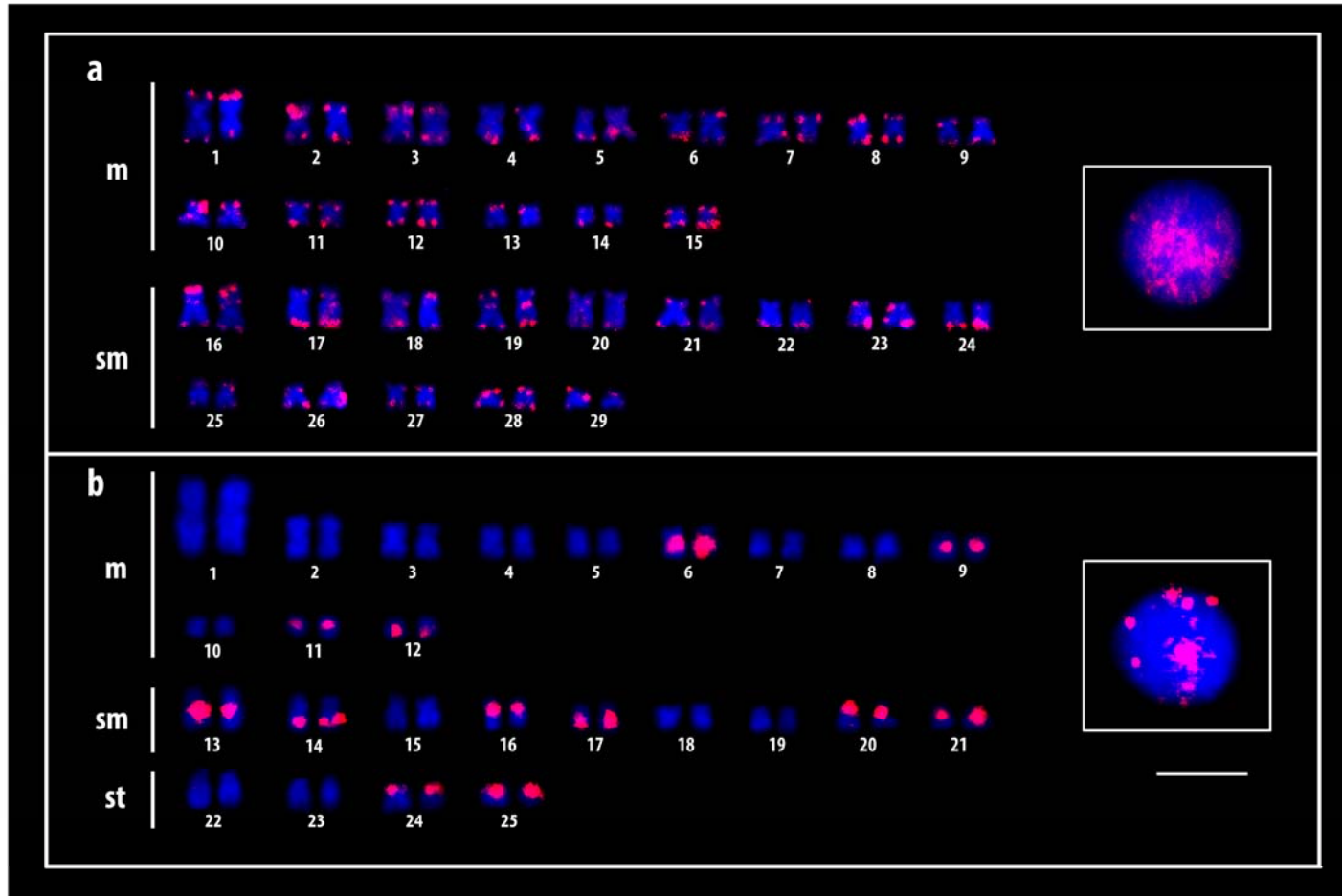


Fig.3. Cariótipos de *Imparfinis schubarti* (a) e *Imparfinis borodini* (b) com a hibridação *in situ* por fluorescência, mostrando a distribuição da sequência de Tc1-mariner. Nos boxes em (a) e (b), núcleos interfásicos de *I. schubarti* e *I. borodini*, respectivamente, mostrando a distribuição de Tc1-mariner. Barra= 5µm.

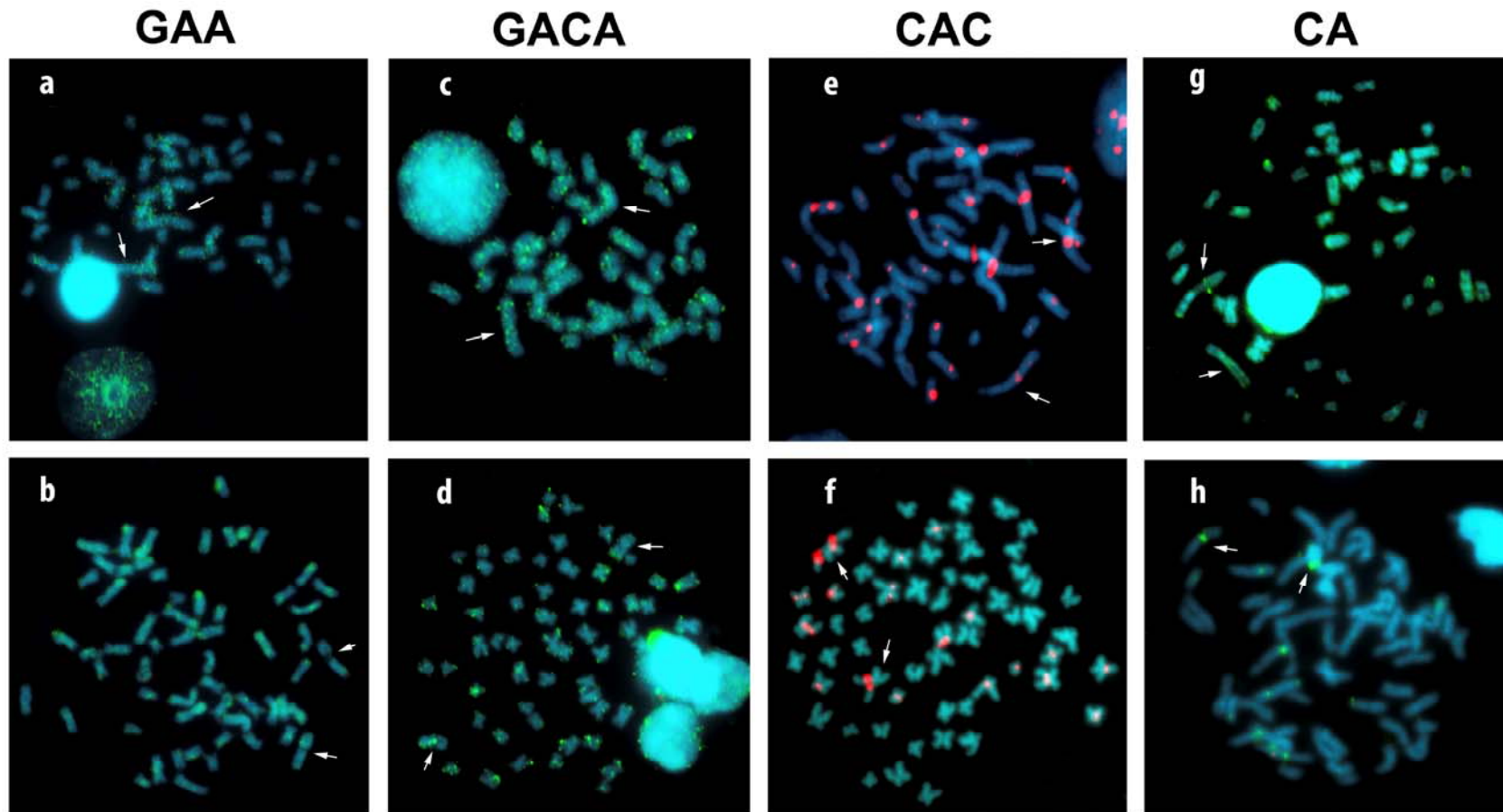


Fig.4. Metáfases somáticas de *Imparfinis borodini* (a, c, e, g) e *Imparfinis schubarti* (b, d, f, h), mostrando o padrão de hibridação *in situ* por fluorescência de sequências de microssatélites. (a, b) FISH com sonda do microssatélite (GAA)7; (c, d) microssatélite (GACA)4; (e, f) microssatélite (CAC)5 e (g, h) microssatélite (CA)8. As setas representam o par cromossômico 1 das duas espécies. Barra= 5 μ m.

ANEXOS


 Search

- [Home](#)
[About GIRI](#)
[Conference](#)
[Rebase](#)
[Repeat Masking](#)
[Downloads](#)
[Research](#)

Map of Hits

[SVG viewer](#) is required to view graphical representation of the map as Scalable Vector Graphics (SVG plot).

Tc1_mariner_2_800pb ([SVG Plot](#); [Alignments](#); [Masked](#))



Name	From	To	Name	From	To	Class	Dir	Sim	Pos/Mm:Ts	Score
Tc1_mariner_2_800pb	1	359	TDR1	5	364	DNA/Mariner	d	0.7328	2.2571	917
Tc1_mariner_2_800pb	362	399	TC1_TF	401	438	DNA/Mariner	d	0.8158	1.1667	233
Tc1_mariner_2_800pb	797	826	TC1_TF	1	30	DNA/Mariner	c	0.9667	99.0000	255

Tc1_mariner_3_600pb ([SVG Plot](#); [Alignments](#); [Masked](#))



Name	From	To	Name	From	To	Class	Dir	Sim	Pos/Mm:Ts	Score
Tc1_mariner_3_600pb	3	30	TC1_TF	1612	1639	DNA/Mariner	c	0.9643	99.0000	240
Tc1_mariner_3_600pb	57	98	ATHILA-1_SBi-I	34	75	LTR/Gypsy	c	0.7857	1.5000	210
Tc1_mariner_3_600pb	99	412	Mariner-1B_EL	237	552	DNA/Mariner	c	0.7102	2.0000	917

Tc1_mariner_4_300pb ([SVG Plot](#); [Alignments](#); [Masked](#))



Name	From	To	Name	From	To	Class	Dir	Sim	Pos/Mm:Ts	Score
Tc1_mariner_4_300pb	144	265	Mariner-1B_EL	384	504	DNA/Mariner	d	0.7317	1.8125	435
Tc1_mariner_4_300pb	266	288	TC1_TF	1	23	DNA/Mariner	c	1.0000	99.0000	216

Masked Sequence

```

>Tc1_mariner_2_800pb
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXXGGXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXTGTATTATTCTGGAATTGTAA
GTATTTGGGGGAATCCAGTTGACTTAAATGGGTGTAGCTCTATGTCTTTTCTCTGCCGCCAAGTTGTT
TCTGTCTATAATCCACTGTGTATCATATGACCCTTAAGGCATCACAGTAAATGACATCACTTCAAGTC
TAATGCATTTAACCAACACATTTTATACATATTAATTTCTTATTTAATCTTGGTCTCTTAACATAA
GCATCATTTTTAAACAACACTGTATACAAACAATAATGACAATGAATTTATATAAAAACAAAAATAAATC
    
```



```

>Tc1_mariner_3_600pb FRAGMENT 30 -> 3
GGGGTATGTAACCTCCGACTTCAACTG
>Tc1_mariner_3_600pb FRAGMENT 98 -> 57
TACTAACCATGAGTGGAAAAAAGGTTCCGTGTTATCATTC
>Tc1_mariner_3_600pb FRAGMENT 412 -> 99
CACAAAAGTTGACACATAAGTTAAATTGGCTACTAAAGGTAACATCCTCACCTGCGACCTGTTGGTTTGT
GATTAGTGTGTGTGCATAAAAGCTGAGTGAGTTTCTGGGATCCAGACAGACTCTTGCATCTTTCATCCGG
ATTGTGAGTCATGGGAAAAGCAAAGAATTGTCAAGGGATCTACTGAAAAAATAGTGGAAGTGTATAAA
ACAGGAAAGGGATACAAAAAGATATCCGAGGAATTGAGAATGCCAGTCAGCAGTGTCAAACCTGTGATTA
ACAAATGGAAAATCAGAGGCTCTGTA AAAACCAA
>Tc1_mariner_4_300pb FRAGMENT 144 -> 265
GAGGCATGGGAAAAGAAAAGAAAATATCAATGGATCTACAGGACAAGGTAGTTGAGCTGTATAAAAATGGG
AACAAAATACAAAACAAATATCCAAACAATTGATCATGCCAGTCAGCATTGT
>Tc1_mariner_4_300pb FRAGMENT 288 -> 266
CAGTTGAAGTCGGAAGTTTACAT

```

Annotation of Repbase Sequences

```

ID  ATHILA-1_SBi-I rebase;   DNA;   PLN; 4981 BP.
XX
AC  .
XX
DT  22-OCT-2009 (Rel. 14.11, Created)
DT  22-OCT-2009 (Rel. 14.11, Last updated, Version 2)
XX
DE  LTR retrotransposon from sorghum: internal portion.
XX
KW  Gypsy; LTR Retrotransposon; Transposable Element;
KW  internal portion; ATHILA; ATHILA-1_SBi-I.
XX
OS  Sorghum bicolor
OC  Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta;
OC  Spermatophyta; Magnoliophyta; Liliopsida; Poales; Poaceae;
OC  PACMAD clade; Panicoideae; Andropogoneae; Sorghum.
XX
RN  [1]
RP  1-4981
RA  Jurka J. and Bao W.;
RT  "LTR retrotransposons from sorghum.";
RL  Repbase Reports 9(11), 3002-3002 (2009).
XX
DR  [1] (Consensus)
XX
CC  Individual copies of the entire sequence are ~97% identical to
CC  consensus.
XX
FH  Key          Location/Qualifiers
FT  CDS           161..2809
FT              /product="ATHILA-1_SBi-I_1p"
FT              /translation="MNRRLPGNFVDNPEALFKKTRAKLKKRSSTLQQEAS
FT              SNQEDHRNLSSEFEAMANKSIREFSAPTTDNIRTGPAAEIDGNFELKPLGI
FT              NMVQSNQFCGKAHEDASAHLQHFLIEICNTFTIXGVSKDAILLRLLRFPFLLG
FT              RAKQWFYATKEKNTTALCSTNFLAKFFPMGKTNALRGKITSFQQQNDES
FT              PEAWERFQDYILECPHHGMESWLLMQTFYHGLGNSARETMDAAAGGAFLSL
FT              TIPQATALVEKMASNQSWNEERTQTRKRGGGMHQLKEVDMLSAKLDLMLKK
FT              LDDRAGDKKEVMHIYDSHMTCEECGDTGHSNGHCPMELEDVNYINNNNNYY
FT              YNRPQQNQGNQQRPNYSQNYQGNNSYNNNNNFPPLRELVSQGKLMNDLS
FT              KKLASNDKMLENINNRMDNFSTAIKNQISFNKMIESQLNQIAAAVPTTNP
FT              IPSQPEGLSANLVMDFDAGNWSNPVTEFSTDLLPVKRGDPGRPVIPISIG
FT              MVDVPEALCDFGSSVNIIPRVLYEKFFTYPLLETTMCLQFADQTITFPKGI
FT              XKNLCVRVGTLYAPADFVVVETGNDERAPIILGRPFLNNTGAIYASAAKI
FT              SFYVKGKRETFKKNKTTQIPDQSRRESRKRTRRRNRNKQVWTESAKMVT
FT              VHGGQDHLKSPFLTKKDDPGMPSIYCSINGYNFYKTTCDTGSQVNVIMAAV
FT              TYRLLFGTMPLRPTYIQLQADQTFREVKIVTDVVKIDDFVYTDQV
FT              DMGEDEYDPPPIILGRPFLSTVKAIIYIGTGEVHMHPSEKVRVYFDPNYI
FT              VEESKQVRKRRNRNRQRIKDGWADYEGEVVRSSEDFEFKQNYPEETEAPS
FT              QVWKMKITIHEEEAPPEVPTTPNEPQDD*"
XX
SQ  Sequence 4981 BP; 1637 A; 1042 C; 1006 G; 1291 T; 5 other;

```

//

```

ID  Mariner-1B_EL rebase;   DNA;   VRT; 1629 BP.
XX

```

```

AC .
XX
DT 17-NOV-2014 (Rel. 20.03, Created)
DT 17-NOV-2014 (Rel. 20.03, Last updated, Version 1)
XX
DE DNA transposon, consensus.
XX
KW Mariner/Tc1; DNA transposon; Transposable Element; Mariner-1B_EL.
XX
OS Esox lucius
OC Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
OC Actinopterygii; Neopterygii; Teleostei; Protacanthopterygii;
OC Esociformes; Esocidae; Esox.
XX
RN [1]
RP 1-1629
RA Rondeau E.B., Minkley D.R., Leong J.S., Messmer A.M.,
RA Jantzen J.R., von Schalburg K.R., Lemon C., Bird N.H. et al.;
RT "The genome and linkage map of the northern pike (Esox lucius):
RT conserved synteny revealed between the salmonid sister group and
RT the Neoteleostei.";
RL PLoS One 9(7).e102089 (2014).
XX
RN [2]
RP 1-1629
RA Bao W.;
RT "DNA transposons from the genome of Esox lucius.";
RL Rebase Reports 15(3), 955-955 (2015).
XX
DR [2] (Consensus)
XX
CC >92% identical to the consensus. Insertion of Mariner-N6_EL is
CC masked out.
XX
FH Key Location/Qualifiers
FT CDS join(389..832,721..1023,990..1406)
FT /product="Mariner-1B_EL_1p"
FT /translation="MGSRKELSKDLRNKVMELYKDGKGYKKISKALQMPVS
FT TVQSLIKKWKIRGSLDTKPRSGRPRKISAKTARRIVRDTKKNPQVTSGEIQ
FT AALEKDGVVVSRSTIRRYLNKNSCMVELPERSLYCANATKKPGYNMPDNTL
FT TRLTASGTL LHGRVARKKPLL RQCHKKAWLQYARQHLDTPHSFWHTVIWSD
FT ETKIELYGHNHKRYVWRGVNKAYSEQNTIPTVKHGGGSLMFWGCVSSKGTG
FT NLVKMMARRHGESCENDGKMNAACYQKILADNLHSSARKLRMGRSWTFQHD
FT NDPKHKAKLTLQWLQKQKVKVLEWPSQSPDLNIIIEPLWGD LKRAVHARRPK
FT TLHDLEAFQCDEWAAIPPARIRGLIDNYYKRLHAVIDAKGGNTQY"
XX
SQ Sequence 1629 BP; 518 A; 321 C; 365 G; 425 T; 0 other;

//
ID TC1_TF rebase; DNA; VRT; 1639 BP.
XX
AC .
XX
DT 27-FEB-2002 (Rel. 7.01, Created)
DT 27-FEB-2002 (Rel. 7.01, Last updated, Version 1)
XX
DE Tc1-like DNA transposon from teleost fish - a consensus.
XX
KW Mariner/Tc1; DNA transposon; Transposable Element; Quetzal;
KW TC1L_SS; TC1_FR3; TC1_FR4; TC1_TF; TDR1; TZF28.
XX
OS Salmo salar
OC Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
OC Actinopterygii; Neopterygii; Teleostei; Protacanthopterygii;
OC Salmoniformes; Salmonidae; Salmoninae; Salmo.
XX
RN [1]
RA Radice D.A., Bugaj B., Fitch H.D. and Emmons W.S.;
RT "Widespread occurrence of the Tc1 transposon family: Tc1-like
RT transposons from teleost fish.";
RL Mol. Gen. Genet 244(6), 606-612 (1994).
XX
RN [2]
RP 1-1639

```

```

RA  Jurka J.;
RT  "Consensus sequence of TC1_TF element.";
RL  Direct Submission to Repbase Update (06-JAN-2002).
XX
DR  [2] (Consensus)
XX
SQ  Sequence 1639 BP; 542 A; 328 C; 355 G; 413 T; 1 other;

//
ID  TDR1          repbase;   DNA;    VRT; 1236 BP.
XX
AC  .
XX
DT  25-JUL-2000 (Rel. 5.06, Created)
DT  25-JUL-2000 (Rel. 5.06, Last updated, Version 1)
XX
DE  Danio rerio (zebrafish) Tc1-like element Tdr1 (a consensus).
XX
KW  Mariner/Tc1; DNA transposon; Transposable Element; Nonautonomous;
KW  TDR1; Tc1-like transposon; zebrafish.
XX
OS  Danio rerio
OC  Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
OC  Actinopterygii; Neopterygii; Teleostei; Ostariophysii;
OC  Cypriniformes; Cyprinidae; Danio.
XX
RN  [1]
RA  Radice D.A., Bugaj B., Fitch H.D. and Emmons W.S.;
RT  "Widespread occurrence of the Tc1 transposon family: Tc1-like
RT  transposons from teleost fish.";
RL  Mol Gen Genet 244, 606-612 (1994).
XX
RN  [2]
RA  Izsvak Z., Ivics Z. and Hackett B.P.;
RT  "Characterization of a Tc1-like transposable element in zebrafish
RT  (Danio rerio).";
RL  Mol. Gen. Genet 247(3), 312-322 (1995).
XX
RN  [3]
RA  Izsvak Z., Ivics Z. and Hackett B.P.;
RT  "Repetitive elements and their genetic applications in
RT  zebrafish.";
RL  Biochem Cell Biol 75(5), 507-523 (1997).
XX
RN  [4]
RA  Ivics Z., Izsvak Z. and Hackett B.P.;
RT  "Genetic applications of transposons and other repetitive
RT  elements in zebrafish.";
RL  Methods Cell Biol 60, 99-131 (1999).
XX
RN  [5]
RA  Jurka J.;
RT  "Consensus.";
RL  Direct Submission to Repbase Update (2000)June.
XX
DR  [5] (Consensus)
XX
SQ  Sequence 1236 BP; 432 A; 204 C; 243 G; 338 T; 19 other;

//

```

Summary Table

Repeat Class	Fragments	Length
Transposable Element	8	956
DNA transposon	7	914
Mariner/Tc1	7	914
LTR Retrotransposon	1	42
Gypsy	1	42
Total	8	956

* alignment score for local alignment may not always be equal to alignment score in map of hits because of use of heuristics for stitching fragments reported in map section, and use of different [wu-blast](#) parameters on stage of search and stage of producing local alignments.

© 2001–2015 – Genetic Information Research Institute

Supplementary Material S2-pdf- Results of HMMER interface with identification of protein domains helix-turn-helix (HTH) in sequence with 600bp of the transposon Tc1-mariner from *Imparfinis schubarti* genome.

Physical mapping of different repetitive DNA in the chromosomes of fish *Imparfinis* genera (Siluriformes, Heptapteridae) involving the characterization of Tc1-mariner transposon sequences in the genome of *Imparfinis schubarti*

Juceli Gonzalez Gouveia¹, Ivan Rodrigo Wolf¹, Laurival Antonio Vilas-Boas¹, John Seymour Heslop-Harrison², Trude Schwarzacher², Ana Lúcia Dias¹

¹Department of Biology, , Biological Sciences, CCB, University Estadual de Londrina, P.O Box 6001, Londrina, Paraná CEP 86051-970, Brazil

² Department of Biology College of Medicine, Biological Sciences and Psychology University Road Leicester LE1 7RH, UK

Corresponding author: Ana Lúcia Dias

Department of Biology, Biological Sciences, CCB, University Estadual de Londrina, P.O Box 6001, Londrina, Paraná CEP 86051-970, Brazil e-mail: anadias@uel.br

Sequence Matches and Features (http://www.ebi.ac.uk/Tools/hmmer/help/result#dg)

Pfam 57

disorder coiled-coil tm & signal peptide (http://www.ebi.ac.uk/Tools/hmmer/help/result#osf)

Pfam Matches

Standard ()

	Family		Clan	Description	StartEnd		Alignment		Model			Bit Score	Domain E-values	
	Id -	Accession			-	-	Start	End	Start	End	Start		End	Length
> 0	HTH_23 (http://pfam.xfam.org/family/HTH_23)	PF13384.2 (http://pfam.xfam.org/family/PF13384.2)	CL0123 (http://pfam.xfam.org/clan/CL0123) ✓	Homeodomain-like domain	9	54	15	51	9	45	50	21.99	9.3e-05	4.6e-08
> 0	HTH_28 (http://pfam.xfam.org/family/HTH_28)	PF13518.2 (http://pfam.xfam.org/family/PF13518.2)	CL0123 (http://pfam.xfam.org/clan/CL0123)	Helix-turn-helix domain	14	53	15	51	4	40	52	16.58	0.0057	2.8e-06
> 0	PAX (http://pfam.xfam.org/family/PAX)	PF00292.14 (http://pfam.xfam.org/family/PF00292.14)	CL0123 (http://pfam.xfam.org/clan/CL0123)	'Paired box' domain	1	57	7	55	17	65	125	15.96	0.0079	3.9e-06
> 0	Sigma70_r4_2 (http://pfam.xfam.org/family/Sigma70_r4_2)	PF08281.8 (http://pfam.xfam.org/family/PF08281.8)	n/a	Sigma-70, region 4	7	46	14	42	16	45	54	14.85	0.015	7.2e-06
> 0	HTH_21 (http://pfam.xfam.org/family/HTH_21)	PF13276.2 (http://pfam.xfam.org/family/PF13276.2)	n/a	HTH-like domain	4	57	8	51	6	34	60	15.55	0.012	6.0e-06
> 0	HTH_29 (http://pfam.xfam.org/family/HTH_29)	PF13551.2 (http://pfam.xfam.org/family/PF13551.2)	n/a	Winged helix-turn helix	14	55	14	48	2	37	65	13.41	0.05	2.5e-05

CAPÍTULO II

Relações e tendências cariotípicas entre espécies de catfishes Neotropicais das famílias Heptapteridae e Pseudopimelodidae (Siluriformes)

*Este artigo será submetido a revista Reviews in Fish Biology and Fisheries

Relações e tendências cariotípicas entre espécies de catfishes Neotropicais das famílias Heptapteridae e Pseudopimelodidae (Siluriformes)

Juceli Gonzalez Gouveia e Ana Lúcia Dias

Departamento de Biologia Geral, Centro de Ciências Biológicas, CCB, Universidade Estadual de Londrina, P.O Box 6001, Londrina, Paraná CEP 86051-970, Brasil
E-mail: anadias@uel.br

Resumo

Peixes das famílias Heptapteridae e Pseudopimelodidae são considerados como grupos próximos, por possuírem características sistemáticas e filogenéticas compartilhadas. Neste estudo diferentes representantes foram analisados para o entendimento das relações e tendências cariotípicas entre esses dois grupos de peixes. Foram utilizadas técnicas de citogenética clássica e molecular em três espécies de heptapterídeos (*Cetopsorhamdia iheringi*, *Phenacorhamdia tenebrosa* e *Pimelodella meeki*) e duas de pseudopimelodídeos (*Microglanis cibela* e *Microglanis cottoides*). O primeiro $2n=48$ para a família Heptapteridae foi observado em *Phenacorhamdia tenebrosa* confirmando a diversidade cariotípica em relação ao $2n$ desta família, que varia de $2n=42$ a $2n=58$, e confirmaram o $2n=54$ característico de Pseudopimelodidae em espécies do gênero *Microglanis*, sendo apresentados aqui os primeiros dados citogenéticos para *Microglanis cibela*. As RONs apresentaram marcação CMA₃ positivo em todas as espécies analisadas, mostrando que essas regiões são ricas em bases GC. Variação interpoblacional na localização da RON ocorreu em *M. cottoides* da família Pseudopimelodidae e em uma das populações um dos pares portador desta região não apresentou cistron ribossômico, podendo se tratar de região heterocromática com afinidade pelo nitrato de prata. Em uma análise com dados de DNAs ribossômicos nessas duas famílias, foi constatado que sítios de DNAr 18S parecem ser mais conservados, sendo simples e geralmente evidenciados na região terminal dos cromossomos. Já os sítios de DNAr 5S possuem uma maior variabilidade podendo ser múltiplos ou simples, estar em sintenia com sítios de DNAr 18S, ou localizados em cromossomos diferentes, com variações ocorrendo até mesmo em diferentes populações da mesma espécie. Os dados do presente estudo mais os da literatura mostram algumas características compartilhadas entre essas duas famílias corroborando com o fato de serem consideradas famílias próximas, no entanto, existem características específicas para cada uma como a diversidade no $2n$ que ocorre em Heptapteridae e o conservado $2n=54$ em Pseudopimelodidae.

Palavra-chave: DNA ribossômico, diversidade cariotípica, Double FISH.

Introdução

Peixes das famílias Heptapteridae e Pseudopimelodidae, pertencem à ordem dos Siluriformes e vivem em águas doce da região Neotropical, com uma larga distribuição nos cursos de água da América Central e do Sul (Bockmann e Guazzelli 2003). Heptapteridae apresenta cerca de 208 espécies válidas e Pseudopimelodidae com, aproximadamente, 37 espécies válidas (Eschmeyer e Fong 2016).

Anteriormente, Heptapteridae e Pseudopimelodidae pertenciam à família Pimelodidae, dividida em três subfamílias monofiléticas: Pimelodinae, Heptapterinae e Pseudopimelodinae, (Shibatta 2003a). Por apresentarem características morfológicas diferenciadas, Reis et al. (2003), dividiram grande parte dos pimelodídeos em famílias distintas, como Heptapteridae descrita por Bockmann e Guazzelli (2003) e Pseudopimelodidae descrita por Shibatta (2003b).

Em uma revisão de estudos cariotípicos nestes dois grupos de peixes, além da família Pimelodidae, Swarça e colaboradores em 2007 mostraram que as espécies de Heptapteridae possuem uma diversidade no número diploide sendo encontrado desde $2n=42$ a $2n=58$. Já nos peixes da família Pseudopimelodidae tais autores observaram uma estabilidade no número diploide, onde todas as espécies analisadas até aquele momento apresentaram $2n=54$. Mais recentemente, alguns autores apresentaram dados citogenéticos de Heptapteridae (Borba et al. 2012; Yano e Margarido 2012; Gouveia et al. 2013; Ferreira et al. 2014) e Pseudopimelodidae, (Gouveia et al. 2015), confirmando a variabilidade e a estabilidade cariotípica em Heptapteridae e Pseudopimelodidae, respectivamente.

Entretanto, os dados cariotípicos nestas duas famílias, pelo número de espécies existentes, ainda continuam escassos, principalmente os estudos relacionados com DNAs ribossômicos, os quais estão mais restritos a alguns gêneros na família Heptapteridae como *Imparfinis*, *Pimelodella* e *Rhamdia* e ao gênero *Microglanis* na família Pseudopimelodidae (Tabela 1). A hibridação *in situ* (FISH) com DNAr 18S nas diferentes espécies de Heptapteridae revela um padrão simples de cromossomos portadores desse sítio, confirmando o mesmo padrão das AgRONS, que é o mais predominante no grupo, sendo que das 24 espécies analisadas até o momento, somente 2 mostraram um padrão múltiplo destes sítios ribossomais: *Heptapterus mustelinus* (Yano e Margarido 2012; Moraes 2014) e *Pimelodella* sp. (Garcia e Almeida Toledo 2010).

Em Pseudopimelodidae dados sobre a localização de DNAr 18S são ainda mais escassos, sendo observado em um único par cromossômico em *Lophiosilurus alexandri*

(Marques et al. 2008) e *Microglanis cottoides* (Gouveia et al. 2015) e em dois pares cromossômicos em *Pseudopimelodus pulcher* (Gouveia et al. 2015). Já sítios de DNAr 5S podem ser localizados tanto em regiões terminais dos cromossomos como em *L. alexandri* ou em posição intersticial como em *M. cottoides*, não apresentando sintenia com cistrons de DNAr 18S em ambas as espécies (Marques et al. 2008; Gouveia et al. 2015).

Os sítios de DNAr 5S mostram uma variação entre os gêneros e espécies da família Heptapteridae, onde ocorrem espécies tanto com um padrão simples quanto múltiplo deste tipo de DNA repetitivo. *Rhamdia* é o gênero que apresenta o maior número de populações analisadas em estudos com a sonda de DNAr 5S (Tabela 1), sendo o sistema simples característico do grupo, onde a única exceção é a população de *Rhamdia quelen* do rio Fortuna- SP analisada por Garcia et al. (2010). A sintenia entre os genes ribossomais 18S e 5S em peixes não é um evento muito comum, e em Heptapteridae foi observada somente em: *Imparfinis mirini* e *I. minutus* (Ferreira et al. 2014); *I. schubarti* (Kantek et al. 2009) e *Cetopsorhamdia iheringi* (Kantek et al. 2015).

Diante do fato das espécies dessas duas famílias serem relacionadas e consideradas como grupos irmãos, na classificação filogenética (Sullivan et al. 2006) e sistemática (Reis et al. 2003), estes grupos de peixes podem servir como um interessante material de estudos que podem auxiliar em trabalhos citotaxonômicos e evolutivos. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo utilizar de análises citogenéticas com diferentes marcadores, para um melhor entendimento das relações e tendências cariotípicas entre essas duas famílias.

Material e Métodos

Locais de estudo e espécies estudadas

Foram analisadas espécies de peixes pertencentes a família Heptapteridae e Pseudopimelodidae de diferentes bacias hidrográficas do Brasil. Da família Heptapteridae foram estudadas *Cetopsorhamdia iheringi* e *Phenacorhamdia tenebrosa*, ambas coletadas de rios pertencentes à Bacia do rio Paranapanema e *Pimelodella meeki* pertencente a um afluente da bacia do rio Ivaí (Tabela 2 e Fig.1).

Da família Pseudopimelodidae foram analisados indivíduos de *Microglanis cottoides* coletados nas bacias hidrográficas do rio Ribeira do Iguape/SP e Tagaçaba/PR. E foram analisados espécimes de *Microglanis cibela* provenientes da bacia do Tramandaí/RS (Tabela 2 e Fig.1).

Os exemplares foram coletados com a permissão do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) com protocolo número 11399-1. Os espécimes foram depositados no Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Londrina (MZUEL), Paraná, Brasil, com números de voucher: *Cetopsorhamdia iheringi* (MZUEL14125), *Pimelodella meeki* (MZUEL14132); *Phenacorhamdia tenebrosa* (MZUEL14126); *Microglais cottoides*: rio Batatal (MZUEL8020); rio Iporanga (MZUEL8021); rio das Antas (MZUEL7953) e *Microglanis cibela* (MZUEL7452).

Preparação de cromossomos, coloração convencional e bandamento cromossômico

A estimulação mitótica foi realizada pela injeção prévia de solução de fermento biológico nos animais *in vivo*, descrita por Lee e Elder (1980) e os cromossomos mitóticos foram obtidos com a técnica de preparação direta segundo Bertollo et al. (1978), usando células do rim posterior. Os cromossomos foram visualizados por coloração convencional com Giemsa 5% diluído em tampão fosfato (pH 6.8) e classificados em metacêntricos (m), submetacêntricos (sm), subtlocêntricos (st) e acrocêntricos (a), de acordo com Levan et al. (1964), com modificações. O número fundamental (NF) foi calculado considerando os cromossomos metacêntricos, submetacêntricos e subtlocêntricos como portadores de dois braços e cromossomos acrocêntricos com um braço.

As regiões organizadoras de nucléolos ativas (AgRONS) foram detectadas pela técnica de impregnação por nitrato de prata (Howell e Black, 1980). O padrão de distribuição da heterocromatina foi determinado pelo bandamento C corado com Giemsa após tratamento com HCl 0.1M, Ba (OH)₂ e 2xSSC, descrita por Sumner (1972). Para a determinação dos sítios ricos em pares de base GC foi utilizado o fluorocromo cromomicina A₃ (CMA₃), segundo Schweizer (1978).

Hibridação fluorescente *in situ*

A hibridação fluorescente *in situ* (FISH) foi realizada de acordo com procedimento descrito por Pinkel et al. (1986), com modificações. A sonda de DNAr 18S utilizada foi a de *Prochilodus argenteus* (Hatanaka e Galetti 2004), e a de DNAr 5S de *Imparfinis schubarti* foi isolada por Gouveia et al. (enviado para publicação). Para o procedimento da Double FISH, sonda de DNAr 18S foi marcada por biotina-14-dATP por nick translation (detectada com anti-avidina conjugada com FITC) e sonda de DNAr

5S marcada com Digoxigenia-11dUTP (detectada com anti-digoxigenina conjugada com rodamina). As lâminas foram tratadas com 50 µL de mistura de hibridação contendo 100 ng de sonda marcada (7,5 µL), formamida 50% (30 µL), sulfato de dextrano 50% (12 µL), 20xSSC (10,5 µL). O mix de hibridação foi denaturado a 80°C, por 10 minutos e a hibridação foi realizada *overnight* a 37°C em câmara úmida. Após a Hibridação foram realizadas lavagens com soluções salinas e detergentes e a montagem da lâmina foi feita com 25 µL da solução de DABCO (1,4-diazabicyclo (2.2.2) – octane) (2,3%), 20 mM Tris HCl, pH 8.0, (2%) e glicerol (90%), em água destilada, 1 µL de MgCl₂ 50mM e 1 µL de 4,5-diamino-phenylindole (DAPI), (50 µg/mL). As imagens foram obtidas com o fotomicroscópio Leica DM 4500 B, equipado com câmera DFC 300FX e o *software* 4.0 Leica IM50.

Resultados

Família Heptapteridae

Na população de *Cetopsorhamdia iheringi* todos os indivíduos mostraram $2n=58$ com cariótipo distribuído em $28m+26sm+4st$ e $NF=116$. O cromossomo do par 1 apresentou uma constrição secundária em região intersticial do braço curto (Fig. 2a), que foi coincidente com a AgRON, com fluorocromo CMA₃ (Fig 2a-box) e DNAr 18S (Fig. 4a-setas). O sítio de DNAr 5S também foi evidenciado no par 1 em região intersticial, mas do braço longo (Fig. 4a- setas).

Em *Pimelodella meeki* todos os indivíduos analisados apresentaram $2n=46$ distribuídos em $26m + 14sm + 6st$, com número fundamental (NF) igual a 92 (Fig. 2b). A AgRON foi evidenciada na região terminal do braço curto de um cromossomo submetacêntricos (par 21) (Fig. 2b-box), sendo coincidente com o fluorocromo base específico CMA₃ (Fig. 2b-box) e com a sonda de DNAr 18S (Fig. 4b-setas). O sítio de DNAr 5S foi evidenciado em um par de cromossomos subteloicêntricos, não mostrando sintenia com sítio de DNAr 18S (Fig. 4b- cabeça de setas).

Phenacorhamdia tenebrosa apresentou um cariótipo com $2n=48$ distribuídos em $14m+8sm+20st+6a$ e $NF=90$ (Fig. 2c). O par cromossômico 12 mostrou uma constrição secundária na região terminal de braço curto, que foi coincidente com a AgRON (Fig. 2c-box) e com a coloração por CMA₃ (Fig. 2c-box) e o DNAr18S (Fig. 4c-setas). O sítio de DNAr 5S também foi observado no par 12, em região intersticial próxima ao centrômero, em sintenia com o sítio de DNAr 18S (Fig. 4c- cabeça de setas)

Família Pseudopimelodidae

As duas espécies do gênero *Microglanis* de todas as populações estudadas mostraram o $2n=54$.

O cariótipo de *Microglanis cibela*e apresentou $22m+16sm+12st+4a$ e $NF= 104$, com uma constrição secundária no par 26 acrocêntrico, na região terminal do braço curto (Fig. 3a), que foi coincidente com a AgRON (Fig. 3a-box), com o fluorocromo CMA_3 (Fig. 3a-box) e com o sítio de DNAr 18S (Fig. 4d-setas). O sítio de DNAr 5S foi evidenciado na região intersticial do braço curto de par de cromossomos subtelocêntricos, bem próximo ao centrômero (Fig. 4d-cabeças de setas).

Em todas as populações de *Microglanis cottoides* os cariótipos foram distribuídos em $30m+14sm+ 6st+4a$ e $NF= 104$ (Fig.4b) entretanto, cada população apresentou variação na localização das RONS, CMA_3 e DNAr 18S.

Em *Microglanis cottoides* do rio das Antas a AgRON foi localizada na região terminal do braço longo de um cromossomo subtelocêntrico (do par 23) (Fig. 3b-box), o par 23 possui marcação com fluorocromo CMA_3 (Fig. 3b-box) e o sítio de DNAr 18S (Fig. 4e-setas). Os sítios de DNAr 5S foram visualizados na região terminal de um par de cromossomos subtelocêntricos, não apresentando sintenia com sítio de DNAr 18S (Fig. 4e- cabeças de seta).

Microglanis cottoides do rio Batatal mostrou AgRONS na região terminal do braço longo de um cromossomo subtelocêntrico (do par 23) e na região terminal do braço curto de um outro cromossomo subtelocêntrico (do par 24) (Fig 3b-box), não mostrando sinal correspondente em seus cromossomos homólogos. O par 24 também apresentou marcação com fluorocromo CMA_3 (Fig. 3b-box) e o sítio de DNAr 18S (Fig. 4f-setas). DNAr 5S nesta população foi evidenciado em quatro cromossomos, um par de acrocêntricos com marcação intersticial no braço longo e um par de cromossomos subtelocêntricos em região intersticial do braço curto, ambas marcações próximas ao centrômero (Fig. 4f-cabeças de setas).

A população de *Microglanis cottoides* do rio Iporanga mostrou a Ag-RON na região terminal do braço curto de um par subtelocêntrico (par 24) (Fig. 3b-box), que foi coincidente com o fluorocromo CMA_3 (Fig. 3b-box), e com os sítios de DNAr 18S (Fig. 4g-setas). DNAr 5S apresentou sítios múltiplos, com 2 pares cromossômicos em região intersticial, sendo um par acrocêntrico no braço curto e um par subtelocêntrico do braço longo. (Fig. 4g-cabeça de setas).

Discussão

Os dados do presente estudo, juntamente com os da literatura, mostram que as espécies de peixes das famílias Heptapteridae e Pseudopimelodidae, apresentam peculiaridades específicas, como a grande variabilidade no número diploide em heptapterídeos e o conservado $2n=54$ em pseudopimelodídeos, sendo aqui apresentado os primeiros dados para *Microglanis cibela* desta última família.

Interessante notar, que a população de *Phenacorhamdia tenebrosa* do presente estudo, mostrou o primeiro $2n=48$ na família Heptapteridae, diferente do observado por Borba et al. (2012) em uma outra população desta mesma espécie com $2n=58$. Ambas as populações foram coletadas em afluentes do rio Paraná que é considerado a localidade-tipo desta espécie (Langeani et al. 2007). No entanto, estas diferenças podem estar relacionadas com a dificuldade taxonômica das espécies dessa família, podendo se tratar de espécies diferentes, ou até mesmo podem estar relacionadas com eventos de rearranjos cromossômicos como fusões e translocações, hipótese esta que é bastante inferida nos estudos cariotípicos de Heptapteridae (Margarido e Moreira-Filho 2008; Gouveia et al. 2013; Kantek et al. 2015). Já *Pimelodella meeki* e *Cetopsorhamdia iheringi*, com $2n=46$ e $2n=58$, respectivamente, confirmaram o $2n$ característico das espécies desse gênero (Tabela 1).

Um outro exemplo de confusão taxonômica está relacionado com *Microglanis cibela* e *Microglanis cottoides*, da família Pseudopimelodidae, que são espécies que apresentam uma morfologia semelhante. Recentemente, Souza-Shibatta (2015), utilizando de diversas análises morfológicas e filogenéticas, considerou que *M. cibela* do rio Maquiné e *M. cottoides* de diferentes localidades pertencentes a bacias costeiras, inclusive as do presente estudo, se tratam de espécies sinônimas. Os dados citogenéticos deste estudo mostram um cariótipo diferenciado entres essas duas espécies. *M. cottoides* possui um cariótipo com maior predomínio de cromossomos metacêntricos. Variação na fórmula cariotípica em diferentes populações de *Microglanis cottoides* já foi constatada por outros autores (Vissotto et al. 1999; Martinez et al. 2008; Gouveia et al. 2015). Estas podem ser diferenças reais, ocasionadas por rearranjos cromossômicos do tipo inversão e translocação, relacionadas com a diferenciação dessas espécies. Essas diferenças devem ser consideradas, para mostrar a importância de uma análise mais aprofundada da caracterização dessas espécies por estudos de taxonomia, além do fato de *M. cibela* do presente trabalho ter

sido coletada na localidade-tipo da descrição desta espécie.

Apesar da maioria das espécies de Heptapteridae possuírem $2n=58$, ao passo que novas populações ou espécies vem sendo analisadas, o $2n$ da família começa a aparecer mais heterogêneo, com um aumento no número de espécies com $2n=52$, 54 , 56 e o surgimento de novos números diploides em determinados gêneros (Tabela 1). O gênero mais heterogêneo parece ser *Imparfinis*, pois existe uma grande amplitude com relação ao $2n$, variando de $2n=42$ em *I. hollandi* (Margarido e Moreira-Filho 2008) a $2n=58$ *I. schubarti* (Gouveia et al. 2013). O gênero *Rhamdia* é o mais homogêneo, com todas as espécies analisadas até o momento, possuindo $2n=58$, sendo que em algumas populações foram evidenciados indivíduos triploides (Tabela 1). Em Pseudopimelodidae, Gouveia et al. (2015) também observaram um indivíduo triploide em uma população de *M. cottoides* e, utilizando de diferentes marcadores citogenéticos, os autores observaram a possível formação desse indivíduo a partir de um óvulo diploide que foi fecundado por um espermatozoide haploide.

Algumas condições são comuns nas duas famílias, como a presença de cromossomos com dois braços na maioria das espécies, o que confere um número fundamental elevado (>80) e a localização das RONS, em região terminal dos cromossomos, visto na maioria das espécies estudadas até o momento (Swarça et al. 2007; Borba et al. 2012). Borba et al. (2012) relacionam a maior prevalência de RONS em região terminal dos cromossomos como uma característica ancestral da família Heptapteridae, sendo que RONS intersticiais estão somente restritas a três gêneros: *Cetopsorhamdia*, *Imparfinis* e *Taunaya*. Esta localização é considerada uma característica sinapomórfica das espécies do gênero *Imparfinis* (Fenocchio et al. 2003; Kantek et al. 2009; Gouveia et al. 2013; Ferreira et al. 2014), o que também é compartilhado nos gêneros *Cetopsorhamdia* e *Taunaya*, mostrando que esses três gêneros parecem ser mais próximos em suas relações citogenéticas do que com as outras espécies da família.

As RONS mostram-se positivas para o fluorocromo cromomicina A_3 em heptapterídeos como em *Pimelodella* aff. *avanhandavae* (Swarça et al. 2003), *Imparfinis schubarti* (Stolf et al. 2004), *Pimelodella meeki* (Vidotto et al. 2004) e espécies do gênero *Rhamdia* (Fenocchio et al. 2003; Garcia et al. 2003, 2010), assim como nos gêneros *Microglanis* e *Pseudopimelodus* da família Pseudopimelodidae (Gouveia et al. 2015), além de todas as espécies aqui analisadas, sugerindo que os espaçadores não transcritos de genes ribossomais são ricos em bases GC (Ferreira et al.

2014). Algumas populações analisadas neste estudo possuem apenas um cromossomo com atividade da RON detectada pelo nitrato de prata, como *Pimelodella. meeki* e *Microglanis. cottoides*, mas quando analisadas pela FISH com sonda de DNAr 18S, ambos os pares possuíam cistrons ribossômicos. Exceto em *M. cottoides* do rio Batatal, que possui um dos cromossomos do par 23 com marcação pelo nitrato de prata, mas ausente de cistron ribossomal, o que pode estar relacionado com região de heterocromatina.

Provavelmente, a RON em um par subtelocêntrico na região terminal do braço curto (par 24) poderia ser o fenótipo mais provável de *M. cottoides*, que é compartilhado nas populações analisadas desta espécie (Martinez et al. 2008; Gouveia et al. 2015 e presente estudo). Eventos de inversão e translocação podem explicar a RON na região terminal do braço longo em *M. cottoides* do rio das Antas ou pode ser uma diferença populacional, devido ao isolamento geográfico entre as duas bacias costeiras aqui estudadas.

Sítios de DNAr 18S localizados em apenas 1 par de cromossomos é uma condição prevalente em Heptapterídeos, como pode ser observado na Tabela 1. Apenas em *Heptapterus mustelinus* foram observados múltiplos sítios deste DNAr (Moraes, 2014). AgRONS múltiplas foram observados em outra população de *H. mustelinus* (Yano e Margarido 2012), em *Imparfinis borodini*; (Vissotto et al. 1999) e *Rhamdia sp* e *R. quelen* (Abucarma e Martins-Santos 2001), não sendo confirmadas pela FISH, mas mesmo assim, são poucas as espécies com este padrão múltiplo.

Em Pseudopimelodidae, as AgRONS são múltiplas como em *Microglanis aff. cottoides*, *Pseudopimelodus bufonius* (Martinez et al. 2008), *Pseudopimelodus pulcher* (Gouveia et al. 2015) e *Microglanis cottoides* do rio Batatal analisada no presente estudo. No entanto, FISH com sonda de DNAr 18S foi feita apenas em *P. pulcher* e *M. cottoides*, mostrando um padrão múltiplo apenas em *P. pulcher* (Gouveia et al. 2015).

Localização de sítios de DNA ribossômico 5S mostra uma maior diversidade nas duas famílias, que pode ser simples ou múltiplo (Tabela 1), apresentando em sintenia com sítios de DNAr 18S (Kantek et al. 2008; Ferreira et al. 2014) ou podem estar localizado em cromossomos diferentes (Gouveia et al. enviado para publicação). Este sítio parece ter preferência por regiões intersticiais dos cromossomos de Heptapteridae e Pseudopimelodidae (Tabela 1), assim como em outros grupos de peixes (Martins e Wasko 2004).

O número de cromossomos portadores dos sítios de DNAr 5S no genoma de

peixes, depende da família, do gênero e muitas vezes da espécie (Roberdinos et al. 2013). Em Heptapteridae, nos gêneros *Cetopsorhamdia* e *Rhamdia* ocorre um padrão simples, com o sítio ribossomal localizado em região intersticial dos cromossomos (Tabela 1), já em *Imparfinis* a maioria das espécies analisadas possuem mais de um par cromossômico com DNAr 5S (Ferreira et al. 2014) e apenas em *I. schubarti* foi observado apenas 1 par (Gouveia et al. enviado para publicação), todos com localização intersticial. No gênero *Pimelodella* ocorre uma tendência de sítios ribossomais simples, em região terminal dos cromossomos (Tabela 1). Em Pseudopimelodidae também pode ser observada uma variação no número e na localização, até mesmo em diferentes populações da mesma espécie, como evidenciado nas populações de *Microglanis* do presente estudo.

Esta extensa variação em locais de DNAr em eucariotos pode ser mediada por recombinação heteróloga, DNA circular extracromossomal (eccDNA) ou elementos transponíveis (TEs) que fazem a transposição de um novo loci, seguido ou não por eliminação de loci originais de DNAr (Raskina et al. 2004; Cohen and Segal 2009; Roberdinos et al. 2013). Por exemplo, no Siluriforme *Sorubim lima* analisado por Szczepanski et al. (2013) TEs estão intercalados com clusters de DNAr, onde os autores sugerem uma preferência desses elementos com esses sítios de DNAr, e com a possível ocorrência de transposição de genes.

TEs correlacionados com sequências de DNAr 5S, estando colocalizados nas regiões espaçadoras não transcritas (NTS) de sequências de DNAr 5S, como já foram relatados em peixes como ciclídeos (Nakajima et al. 2012), e o peixe marinho *Diplodus sargus* (Merlo et al. 2013). Gouveia et al. (enviado para publicação) isolaram sequências de DNAr 5S de *Imparfinis schubarti* e constataram que elementos transponíveis (TEs) podem estar atuando junto a essas sequências, o que parece estar relacionado com a movimentação de genes de DNAr 5S em peixes dessa família.

Uma análise integrada entre grupos de peixes considerados filogeneticamente próximos, pode auxiliar em estudos citotaxonômicos. Duas espécies analisadas neste estudo necessitam de uma revisão taxonômica (*Phenacorhandia tenebrosa* e *Microglanis cibela*), diante do fato de que as análises citogenéticas sugerem tratar-se de espécies diferentes. Os dados acima apresentados, mais aqueles da literatura, mostram algumas características citogenéticas compartilhadas entre Heptapteridae e Pseudopimelodidae, como a presença marcante de cromossomos com dois braços, RONS localizadas nas regiões terminais dos cromossomos, variação de sítios de DNAr

5S, corroborando com a hipótese de que estes são grupos próximos, no entanto, cada família apresenta características específicas, como a variabilidade cariotípica de Heptapteridae e o conservado $2n$ em Pseudopimelodidae.

Referências

- Abucarma M, Martins-Santos IC (2001) Karyotype and B chromosome of *Rhamdia* species (Pisces, Pimelodidae) endemic in the River Iguaçú Basin. *Cytologia* 66: 299-306
- Bertollo LAC, Takahashi CS, Moreira-Filho O (1978) Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). *Brazilian Journal of Genetics* 2:103-120
- Barbosa P, Oliveira LA, Pucci MB, Santos MH, Moreira-Filho O, Vicari MR, Nogaroto V, Almeida MC, Artoni RF (2015) Identification and chromosome mapping of repetitive elements in the *Astyanax scabripinnis* (Teleostei: Characidae) species complex. *Genetica* 143:55–62
- Bockmann FA, Guazzelli GM (2003) Family Heptapteridae. In: Reis, R.E., Kullander, S.O., Ferraris JR., C.J. Check list of the Freshwater Fishes of South and Central America. Edipucrs, Porto Alegre, p. 406-431
- Borba RS, Silva EL, Pacheco ACS, Parise-Maltempi PP, Alves AL (2012) Trends in the karyotypic evolution of the Neotropical catfish Family Heptapteridae Bockmann 1998 (Teleostei: Siluriformes). *Rev Fish Biol Fish* 22:509–518
- Barbosa LM, Ferreira GEB, Prizon AC, Portela-Castro ALB, Martins-Santos IC (2015) Cytogenetic characterization of species of the family Heptapteridae (Teleostei: Siluriformes) from the Cuiabá and Ivaí River Basins, Brazil. *Genetics and Molecular Research* 14: 8640-8649
- Cohen S, Segal D (2009) Extrachromosomal circular DNA in eukaryotes: possible involvement in the plasticity of tandem repeats. *Cytogenet Genome Res* 124:327–338
- Dazzani B, Garcia C, Peixoto M, Trajano E, Almeida-Toledo LF (2012) Cytogenetic and molecular analyses in troglobitic and epigeic species of *Pimelodella* (Siluriformes: Heptapteridae) from Brazil. *Neotropical Ichthyology* 10: 623-632
- Eschmeyer WN, Fong JD (2016) Catalog of fish. <http://research.calacademy.org/redirect?url=http://researcharchive.calacademy.org/research/Ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>. Acesso em: 08 de Janeiro
- Ferreira M, Kavalco KF, Almeida-Toledo LF, Garcia C (2014) Cryptic Diversity Between Two *Imparfinis* Species (Siluriformes, Heptapteridae) by Cytogenetic Analysis and DNA Barcoding. *Zebrafish* 4:11
- Fenocchio AA, Bertollo LAC, Takahashi CS, Dias AL, Swarça AC (2003a) Cytogenetic studies and correlations on Rhamdiinae relationships (Pisces, Siluroidei, Pimelodidae). *Cytologia* 68:363–368.
- Fenocchio AS, Swarça AC, Cestari MM, Dias AL, (2003b) Karyotypic characterization and NOR analysis by different banding techniques of *Rhamdia quelen* (Pisces, Pimelodidae) from the first plateau of the Iguaçú river (Brazil). *Folia biológica (Kraków)* 51: 3-4

Garcia C, Moreira-Filho O, Bertollo LAC, Centofante LB (2003) Chromosomes and Natural Triploidy in *Rhamdia sp.* (Pisces, Siluriformes, Heptapteridae). *Cytologia* 68: 403-411

Garcia C, Almeida-Toledo LF (2010) Comparative chromosomal analyses in species of the genus *Pimelodella* (Siluriformes, Heptapteridae): occurrence of structural and numerical polymorphisms. *Caryologia* 63: 32-40

Garcia C, Oliveira C, Almeida-Toledo LF (2010) Karyotypic evolution trends in *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Heptapteridae) with considerations about the origin and differentiation of its supernumerary chromosomes. *Genetics and Molecular Research* 9: 365-384

Gouveia JG, Moraes VPO, Sampaio TR, Rosa R, Dias AL (2013) Considerations on karyotype evolution in the genera *Imparfinis* Eigenmann and Norris 1900 and *Pimelodella* Eigenmann and Eigenmann 1888 (Siluriformes:Heptapteridae). *Rev Fish Biol Fisheries* 23:215–227

Gouveia JG, MoraesVPO, Pires LB, Rosa R, Dias AL (2015) Comparative cytogenetics between two species of the family Pseudopimelodidae (Siluriformes): occurrence of natural triploidy and supernumerary chromosomes. *Cytotechnology* 67: 215-222

Hatanaka TE, Gatetti PM Jr (2004) Mapping of the 18S and 5S ribosomal RNA genes in the fish *Prochilodus argenteus*, Agassiz 1829 (Characiformes, Prochilodontidae). *Genetica* 122:239-244

Hochberg VBM, Erdtmann B (1988) Cytogenetical and morphological considerations on *Rhamdia quelen* (Pisces, Pimelodidae) - The occurrence of B chromosomes and polymorphic NOR regions. *Revista Brasileira de Genética* 11: 563-576

Howell WM, Black DA (1980) Controlled silver staining of Nucleolus Organizer Regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia* 36: 1014-1015

Kantek DLZ, Peres WAM, Buckup PA, Moreira-Filho O (2009) Cytogenetics of *Imparfinis schubarti* (Siluriformes: Heptapteridae) from the Piumhi drainagem, a diverted river in Minas Gerais State, Brazil. *Zoologia*, 26: 733-738

Kantek DLZ, Peres WAM, Moreira-Filho O (2015) Cytogenetic study of heptapterids (Teleostei, Siluriformes) with particular respect to the Nemuroglanis subclade. *CompCytogen* 9: 17–29

Langeani F, Castro CRM, Oyakawa OT, Shibatta OA, Pavanelli CS, Casatti L (2007) Diversidade da ictiofauna do Alto Rio Paraná: composição atual e perspectivas futuras. *Biota Neotropical* vol.7, no.3
<http://www.biotaneotropica.org.br/v7n3/pt/abstract?article+bn03407032007>. ISSN 1676-0603.

Levan A, Fregda K, Sandberg AA (1964) Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52: 201–220

Lundberg JG, Mago-Leccio F, Nass P (1991). *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* 104:840–869.

Margarido VP, Moreira-Filho O (2008) Karyotypic differentiation through chromosome fusion and number reduction in *Imparfinis hollandi* (Ostariophysi, Heptapteridae). *Genetics and Molecular Biology* 31: 235-238

Martinez ERM, Nirchio M, Granado A, Foresti F, Oliveira C (2008) Cytogenetic analysis of three catfish species of the family Pseudopimelodidae (Teleostei, Siluriformes). *Genetics and Molecular Biology* 31: 692-696

Martinez ERM, Oliveira C, Foresti F (2004) Cytogenetic analyses of *Pseudopimelodus mangurus* (Teleostei: Siluriformes: Pseudopimelodidae). *Cytologia* 69: 419-424

Martinez JF, Lui RL, Blanco DR, Traldi JB, Silva LF, Venere PC, Souza IL, Moreira-Filho O (2011) Comparative cytogenetics of three populations from the *Rhamdia quelen* species complex (Siluriformes, Heptapteridae) in two Brazilian hydrographic basins. *Caryologia* 64: 121-128

Marques MBA, Moreira-Filho O, Garcia C, Margarido VP (2008) Cytogenetic analyses of two endemic fish species from the São Francisco river basin: *Conorhynchus conirostris* and *Lophiosilurus alexandri* (Siluriformes). *Genet Mol Biol* 31:215–221

Merlo MA, Cross I, Manchado M, Cárdenas S, Rebordinos L (2013) The 5S rDNA high dynamism in *Diplodus sargus* is a transposon-mediated mechanism. Comparison with other multigene families and Sparidae species. *J Mol Evol* 76: 83–97

Moraes VPO, Carneiro JS, Dias AL (2009) B Chromosomes in Four Different Populations of *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Heptapteridae): A Comparative Study of Frequency and Distribution. *Folia Biologia* 57: 165-169

Moraes VPO, Carneiro JS, Dias AL (2010) Intraespecific chromosome analysis in *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Heptapteridae) *Cybio* 34: 397-398

Moraes VPO (2014) Citogenética convencional e molecular de diferentes espécies dos gêneros Heptapterus, Rhamdella e Pimelodella (Siluriformes, Heptapteridae), de duas bacias hidrográficas do Rio Grande do Sul. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Londrina/PR

Moraes VPO, Cereali SS, Froehlich O, Dias AL (2007) Cytogenetic characterization of *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Heptapteridae) from the Bodoquena Plateau, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Genetics and Molecular Research* 6: 627-633

Nakajima RT, Cabral-de-Mello DC, Valente GT, Venere PC, Martins C (2012) Evolutionary dynamics of rRNA gene clusters in cichlid fish. *BMC Evolutionary Biology* 12:198

- Pinkel D, Straume T, Gray JW (1986) Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:2934–2938.
- Raskina O, Belyayev A, Nevo E (2004) Quantum speciation in *Aegilops*: molecular cytogenetic evidence from rDNA cluster variability in natural populations. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:14818–14823
- Reis RE, Kullander SO, Ferraris JRCJ (2003) Check list of the freshwater fishes of South and Central America, Porto Alegre: Edipucrs, 742 p
- Rebordinos L, Cross I, Merlo A (2013). High Evolutionary Dynamism in 5S rDNA of Fish: State of the Art. *Cytogenet Genome Res.*, 141:103–113
- Silva M, Matoso DA, Ludwig LAM, Gomes E, Almeida MC, Vicari MR, Artoni RF (2011) Natural triploid in *Rhamdia quelen* identified by cytogenetic monitoring in Iguaçu basin, southern Brazil. *Environ Biol Fish* 91:361-366
- Stolf R, Swarça AC, Guiliano-Caetano L, Dias AL (2004) Analyses of karyotype and nucleolus organizer regions of *Imparfinis* aff. *schubarti* (Siluriformes, Pimelodidae) of the Tibagi river basin, Parana', Brazil. *Caryologia* 57: 348-352
- Swarça AC, Fenocchio AS, Cestari MM, Dias AL (2003) Analysis of heterochromatin by combination of C-banding and CMA₃ and DAPI staining in two fish species (Pimelodidae, Siluriformes). *Genetica* 119: 87-92
- Swarça AC, Fenocchio AS, Dias AL (2007) An update Cytogenetic Review for Species of the Families Pseudopimelodidae, Pimelodidae and Heptapteridae (Pisces, Siluriformes). Suggestion of a Cytotaxonomical Classification. *Caryologia* 60:4
- Schweizer D (1976) Reverse fluorescent chromosome banding with Chromomycin and DAPI. *Chromosoma* 58: 307–324.
- Sczepanski TS, Vicari MR, Almeida MC, Nogaroto V, Artoni RF (2013) Chromosomal Organization of Repetitive DNA in *Sorubim lima* (Teleostei; Pimelodidae). *Cytogenet Genome Res* 141:309–316
- Shibatta OA (2003a) Phylogeny and Classification of 'Pimelodidae' In: Arrati G, Kapoor BG, Chardon M, DIOGO R. Catfishes. Science Publishes, Enfield/USA, p.386-399
- Shibatta OA (2003b) Family Pseudopimelodidae. In: Reis RE, Kullander SO, Ferraris JRCJ. Check list of the Freshwater Fishes of South and Central America. Edipucrs, Porto Alegre, p. 406-431
- Souza-Shibatta (2015) Filogeografia de *Microglanis cottoides* (boulenger, 1891) (Siluriformes: Pseudopimelodidae). Tese de doutorado, Universidade Estadual de Londrina/PR

Sullivan JP, Lundberg JG, Hardman MA (2006) Phylogenetic analysis of the major groups of catfishes (Teleostei: Siluriformes) using *rag1* and *rag2* nuclear gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 41: 636-662

Sumner ATA (1972) Simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental Cell Research* 75: 304-306

Tsuda JR, Moraes VPO, Giuliano-Caetano L, Dias AL (2010) Occurrence of natural triploidy in *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Heptapteridae). *Genetics and Molecular Research* 9: 1929-1935

Vidotto AP, Swarça AC, Fenocchio AS, Dias AL (2004) Cytogenetic Studies in Three *Pimelodella meeki* Populations (Pisces, Pimelodidae) from Tibagi River Basin (Brazil). *Journal of Heredity* 95(6):517–520

Vissotto PC, Foresti F, Oliveira C (1999) Karyotype description of five species of Pimelodidae (Teleostei, Siluriformes). *Chromosome Science* 3: 1-7

Yano CF, Margarido VP (2012) First cytogenetic studies of the genus *Heptapterus* (Actinopterygii, Siluriformes): karyotype differentiation and review of cytogenetic data on the Heptapteridae Family. *Journal of Fish Biology* 81: 939–953

Tabela 1 –Dados citogenéticos (2n, cariótipo e DNAr) em espécies e populações de Heptapteridae e Pseudopimelodidae.

Família /Espécie	Localidade	2n	Cariótipo	DNAr 18S	DNAr 5S	Referência
Heptapteridae						
<i>Cetopsorhamdia iheringi</i>	Rb. Minhocas /MG	58	28m+26sm+4st	Simple e Intersticial	Simple e Intersticial	Kantek et al. (2015)
<i>Cetopsorhamdia iheringi</i>	Rb. Três Bocas/PR	58	28m+26sm+4st	Simple e Intersticial	Simple e Intersticial	Presente estudo
<i>Heptapterus mustelinus</i>	Arroio Colombo/RS	54	32m+8sm+10st+4a	Múltiplo e Terminal	Simple e Terminal	Moraes (2014)
<i>Heptapterus mustelinus</i>	R. Forquetinha/RS	58	32m+12sm+4st+10a	Múltiplo e Terminal	Simple e Terminal	Moraes (2014)
<i>Imparfinis minutus</i>	Ribeirão Jacuí'-SP	58	42m+12sm+4st	Simple e Intersticial	Múltiplo e Intersticial	Ferreira et al. (2014)
<i>Imparfinis mirini</i>	Rb. Jacutinga/ PR	58	36m + 22sm	Simple e Intersticial	-	Gouveia et al. (2013)
<i>Imparfinis mirini</i>	Rio Paraitinga-SP	58	42m+12sm+4st	Simple e Intersticial	Múltiplo e Intersticial	Ferreira et al. (2014)
<i>Imparfinis mirini</i>	Rio Araras- SP	58	36m+18sm+4st	Simple e Intersticial	Múltiplo e Intersticial	Ferreira et al. (2014)
<i>Imparfinis mirini</i>	Rio Ipero'-SP	58	42m+12sm+4st	Simple e Intersticial	Múltiplo e Intersticial	Ferreira et al. (2014)
<i>Imparfinis mirini</i>	Rio Passa Cinco-SP	58	42m+12sm+4st	Simple e Intersticial	Múltiplo e Intersticial	Ferreira et al. (2014)
<i>Imparfinis mirini</i>	Rio Pilar do Sul-SP	58	36m+18sm+4st	Simple e Intersticial	Múltiplo e Intersticial	Ferreira et al. (2014)
<i>Imparfinis schubarti</i>	Drenagem Piumhi/MG	58	18m+34sm+6st	Simple e Intersticial	Simple e Intersticial	Kantek et al. (2009)
<i>Imparfinis schubarti</i>	Rb. Três Bocas/PR	58	30m + 28sm	Simple e Intersticial	-	Gouveia et al. (2013)
<i>Imparfinis schubarti</i>	Rio Laranjinha/PR	58	30m + 28sm	Simple e Intersticial	-	Gouveia et al. (2013)
<i>Imparfinis schubarti</i>	Rio Ivaí/PR	58	28m + 28sm + 2st	Simple e Intersticial	-	Barbosa et al. (2015)
<i>Imparfinis aff. schubarti</i>	Rb.Marrequinhas/ PR	58	28m+28sm+2st	Simple e Intersticial	-	Stolf et al. (2004)
<i>Imparfinis aff. schubarti</i>	Rb Três Bocas/ PR	58	28m+28sm+2st	Simple e Intersticial	-	Stolf et al. (2004)
<i>Imparfinis aff. schubarti</i>	R. Água da Floresta/PR	58	28m+28sm+2st	Simple e Intersticial	-	Stolf et al. (2004)
<i>Imparfinis aff. schubarti</i>	R.Vinicius/PR	58	28m+28sm+2st	Simple e Intersticial	-	Stolf et al. (2004)
<i>Imparfinis aff. schubarti</i>	R. Taquari/PR	58	28m+28sm+2st	Simple e Intersticial	-	Stolf et al. (2004)
<i>Imparfinis aff. schubarti</i>	R.Jataizinho/PR	58	28m+28sm+2st	Simple e Intersticial	-	Stolf et al. (2004)
<i>Imparfinis cf. schubarti</i>	Rib. da Bacia do Alto Paraná	58	24m+22sm+12st	Simple e Intersticial	-	Borba et al. (2012)
<i>Phenacorhamdia tenebrosa</i>	Ribeirões da Bacia do Alto Paraná	58	30m+22sm+6st	Simple e Intersticial	-	Borba et al. (2012)
<i>Phenacorhamdia tenebrosa</i>	R. Vermelho/PR	48	14m+8sm+20st+6a	Simple e Terminal	Simple e Intersticial	Presente estudo
<i>Pimelodella aff. avanhandavae</i>	R. Tibagi/PR	52	30m+22sm	Simple e Terminal	-	Swarça et al. (2003a)
<i>Pimelodella australis</i>	Arroio Ribeiro/RS	58	34m+10sm+8st+6a	Simple e Terminal	-	Moraes (2014)
<i>Pimelodella boschmai</i>	Mogi-Guaçu Araras/SP	46	38m+8sm XY/XX	Simple e Terminal	Simple e Terminal	Garcia e Almeida-Toledo (2010)
<i>Pimelodella gracialis</i>	Paraná Mariápolis/SP	46	34m+12sm	Simple e Terminal	Múltiplo, Terminal	Garcia e Almeida-Toledo (2010)

					e	
<i>Pimelodella lateristriga</i>	Paraíba do Sul Angra/RJ	58	36m+22sm	Simple e Terminal	Intersticial	Garcia e Almeida-Toledo (2010)
<i>Pimelodella laurenti</i>	Cordisburgo/MG	46	28m + 14sm + 4st	Simple e Terminal	Simple e Terminal	Dazzani et al. 2012
<i>Pimelodella meeki</i>	R. Limoeiro/PR	46	30m+12sm+4st	Simple e Terminal	-	Vidotto et al. (2004)
<i>Pimelodella meeki</i>	R. Couro de Boi/PR	46	30m+12sm+4st	Simple e Terminal	-	Vidotto et al. (2004)
<i>Pimelodella meeki</i>	R. Gabriel da Cunha/PR	46	30m+12sm+4st	Simple e Terminal	-	Vidotto et al. (2004)
<i>Pimelodella meeki</i>	São Miguel Arcanjo/SP	46	28m+12sm+6st	Simple e Terminal	Simple e Terminals	Garcia e Almeida-Toledo (2010)
<i>Pimelodella meeki</i>	Pilar doSul/SP	46	28m+12sm+6st	Simple e Terminal	Simple e Terminal	Garcia e Almeida-Toledo (2010)
<i>Pimelodella meeki</i>	Rb. Jacutinga/PR	46	26m + 14sm + 6st	Simple e Terminal	-	Gouveia et al. (2013)
<i>Pimelodella meeki</i>	Rib. da Bacia do Alto Paraná	46	26m+16sm+4st	Simple e Terminal	-	Borba et al. (2012)
<i>Pimelodella meeki</i>	R. Queixada/PR	46	26m+16sm+4st	Simple e Terminal	Simple e Terminal	Presente estudo
<i>Pimelodella sp.</i>	Pardo Cardoso/SP	46	34m+12sm	Múltiplo e Terminal	Múltiplo e Terminal	Garcia e Almeida-Toledo (2010)
<i>Pimelodella sp.</i>	Botucatu/SP	46	28m+12sm +6st	Simple e Terminal	Múltiplo e Terminal	Dazzani et al. (2012)
<i>Pimelodella sp.</i>	Colina/SP	46	28m+12sm +6st	Simple e Terminal	Simple e Terminal	Dazzani et al. (2012)
<i>Pimelodella sp.</i>	Guapiara/SP	46	26m+16sm +4st	Simple e Terminal	Simple e Terminal	Dazzani et al. (2012)
<i>Pimelodella sp.</i>	Pirassununga/SP	46	28m+14sm +4st	Simple e Terminal	Simple e Terminal	Dazzani et al. (2012)
<i>Pimelodella sp.</i>	Rio Cuiabá/MT	46	26m + 10sm + 10st	Simple e Terminal	-	Barbosa et al. (2015)
<i>Pimelodella spelaea</i>	S. Domingos/GO	46	28m +14sm +4st	Simple e Terminal	Múltiplo e Terminal	Dazzani et al. (2012)
<i>Pimelodella taenioptera</i>	Rio Aricá Mirim/MT	52	26m + 22sm + 4st	Simple e Terminal	-	Barbosa et al. (2015)
<i>Pimelodella vittata</i>	Rb. Minhocas/MG	46	16m+22sm+8st	Simple e Terminal	Simple e Terminal	Kantek et al. (2015)
<i>Rhamdella eriarcha</i>	R. Forquetinha/RS	58	46m-sm+8st+4a	Simple e Terminal	-	Moraes (2014)
<i>Rhamdia quelen</i>	Lg. dos Quadros/RS	58	52m/sm/st+6a	Simple e Terminal	-	Hochberg e Erdtmann (1988)
<i>Rhamdia prope quelen</i>	Rb. Minhocas/MG	58 + 3n=87	26m+16sm+14st+2a	Simple e Terminal	Simple e Intersticial	Kantek et al. (2015)
<i>Rhamdia quelen</i>	R. Guaíba/RS	58	52m/sm/st+6a	Simple e Terminal	-	Hochberg e Erdtmann (1988)
<i>Rhamdia quelen</i>	R. Iguaçú/PR	58	32m+16sm+6st+4a	Simple e Terminal	-	Fenocchio et al. (2003b)
<i>Rhamdia quelen</i>	FUNPIVI/SC	58	36m+16sm+6st	Simple e Terminal	-	Moraes et al. (2009,2010)
<i>Rhamdia quelen</i>	Sangão – Cascavel/PR	58	32m+8sm+12st+6a	Simple e Terminal	Simple e Intersticial	Garcia et al. (2010)
<i>Rhamdia quelen</i>	R. Oeste – Cascavel/PR	58	40m+10sm+8st	Simple e Terminal	Simple e Intersticial	Garcia et al. (2010)
<i>Rhamdia quelen</i>	Angra dos Reis/RJ	58	36m+14sm+8st	Simple e Terminal	Simple e Intersticial	Garcia et al. (2010)
<i>Rhamdia quelen</i>	R. São José /RJ	58	36m+14sm+8st	Simple e Terminal	Simple e Intersticial	Garcia et al. (2010)
<i>Rhamdia quelen</i>	R. Paraíba, do Sul/RJ	58	40m+10sm+8st	Simple e Terminal	Simple e Intersticial	Garcia et al. (2010)
<i>Rhamdia quelen</i>	Araras/SP	58	44m+12sm+2st	Simple e Terminal	Simple e Intersticial	Garcia et al. (2010)
<i>Rhamdia quelen</i>	R. Capivra-Botucatu/SP	58	36m+10sm+12st	Simple e Terminal	Simple e Intersticial	Garcia et al. (2010)

<i>Rhamdia quelen</i>	Colina/SP	58	36m+10sm+12st	Simples e Terminal	Simples e Intersticial	Garcia et al. (2010)
<i>Rhamdia quelen</i>	Guapiara/SP	58	36m+10sm+12st	Simples e Terminal	Simples e Intersticial	Garcia et al. (2010)
<i>Rhamdia quelen</i>	Iguapé/SP	58	34m+16sm+8st	Simples e Terminal	Simples e Intersticial	Garcia et al. (2010)
<i>Rhamdia quelen</i>	R. Passa Cinco – Ipeúna/SP	58	40m+10sm+8st	Simples e Terminal	Simples e Intersticial	Garcia et al. (2010)
<i>Rhamdia quelen</i>	Fortuna – Mariápolis/SP	58	40m+10sm+8st	Simples e Terminal	Múltipla e Intersticial	Garcia et al. (2010)
<i>Rhamdia quelen</i>	Piquete/SP	58	30m+14sm+12st+2a	Simples e Terminal	Simples e Intersticial	Garcia et al. (2010)
<i>Rhamdia quelen</i>	Sto. Antônio do Pinhal/SP	58	32m+8sm+12st+6a	Simples e Terminal	Simples e Intersticial	Garcia et al. (2010)
<i>Rhamdia quelen</i>	Rb. Lindóia/PR	3n=87	30m+14sm+10st+4a	Simples e Terminal	Simples e Intersticial	Tsuda et al. (2010)
<i>Rhamdia quelen</i>	Mogi-Guaçu	58	22m+18sm+12st+6a	Simples e Terminal	Simples e Intersticial	Martinez et al. (2011)
<i>Rhamdia quelen</i>	Araguaia	58	18m+18sm+14st+8a	Simples e Terminal	Simples e Intersticial	Martinez et al. (2011)
<i>Rhamdia quelen</i>	Lg. da Usina Elétrica Ney Braga/PR	58	38m/sm+14st+6a	Simples e Terminal	Simples e Terminal	Silva et al. (2011)
<i>Rhamdia quelen</i>	Lg. da Usina Elétrica Ney Braga/PR	3n=87	57m/sm+21st+9a	Simples e Terminal	Simples e Terminal	Silva et al. (2011)
<i>Rhamdia quelen</i>	Rib. da Bacia do Alto Paraná	58	32m+18sm+8st	Simples e Terminal	Simples e Terminal	Borba et al., (2012)
<i>Rhamdia sp.</i>	Rb. Grande	58	46m/sm+12st/a	Simples e Terminal	Simples e Intersticial	Garcia et al. (2003)
<i>Rhamdia sp.</i>	Rb. Grande/SP	3n=87	69m/sm+18st/a	Simples e Terminal	Simples e Intersticial	Garcia et al. (2003)
<i>Rhamdiopsis prope microcephala</i>	Rb. Minhocas/MG	56	12m+30sm+14st	Simples e Terminal	Múltipla e Terminal	Kantek et al. (2015)
<i>Taunaya bifasciata</i>	Ribeirões da Bacia do Alto Paraná	58	20m+18sm+20st	Simples e Terminal	-	Borba et al., (2012)

Pseudopimelodidae

<i>Lophiosilurus alexandri</i>	R. São Francisco	54	16m+18sm+10st+1a	Simples e Terminal	Simples e Terminal	Marques et al. (2008)
<i>Microglanis cibela</i>	R. Maquiné/RS	54	22m+16sm+12st+4a	Simples e Terminal	Simples e Intersticial	Presente estudo
<i>Microglanis cottoides</i>	R. Forquetinha/RS	54 + 3n=81	30m+14sm+6st+4a	Simples e Terminal	Simples e Intersticial	Gouveia et al. (2015)
<i>Microglanis cottoides</i>	R. das Antas/PR	54	30m+14sm+ 6st+4a	Simples e Terminal	Simples e Terminal	Presente estudo
<i>Microglanis cottoides</i>	R. Batatal/PR	54	30m+14sm+ 6st+4a	Simples e Terminal	Múltipla e Intersticial	Presente estudo
<i>Microglanis cottoides</i>	R. Iporanga/PR	54	30m+14sm+ 6st+4a	Simples e Terminal	Múltipla e Intersticial	Presente estudo
<i>Pseudopimelodus pulcher</i>	R. Laranjinha/PR	54	20m+16sm+10st+8a	Múltipla e Terminal	-	Gouveia et al. (2015)

$2n$ =número diploide; $DNAr$ =DNA ribossômico; m=metacêntrico; sm=submetacêntrico; st=subtelocêntrico; a=acrocêntrico; Lg= lagoa; R= rio; Rb= ribeirão; Rv = reservatório; GO=Goiás; MG=Minas Gerais; PR= Paraná; RJ=Rio de Janeiro; RS= Rio Grande do Sul; SP=São Paulo.

Tabela 2- Locais de estudo e espécies estudadas.

Família/Espécie	Amostra	Local de coleta	Bacia
Heptapteridae			
<i>Cetopsorhamdia iheringi</i>	3 fêmeas e 2 machos	Ribeirão Três Bocas/PR (23°23'06.6"S e 51°04'35.8"W)	Paranapanema
<i>Phenacorhamdia tenebrosa</i>	5 fêmeas e 1 macho	Rio Vermelho/PR (23°13'0.95"S e 51°20'0.88"W)	Paranapanema
<i>Pimelodella meeki</i>	4 fêmeas e 6 machos	Rio Quexada/PR (23°56'9.65"S e 51°39'26.08"W)	Ivaí
Pseudopimelodidae			
<i>Microglanis cottoides</i>	2 fêmeas e 4 machos	Rio das Antas/ PR (25°13'35,2''S e 48°34'03,9''W)	Tagaçaba
<i>Microglanis cottoides</i>	7 fêmeas e 1 macho	Rio Iporanga/SP (24°34'49''S e 48°35'30,2''W)	Ribeira do Iguape
<i>Microglanis cottoides</i>	5 fêmeas	Rio Batatal/SP (24°36'34,7''S e 48°17'14,2''W)	Ribeira do Iguape
<i>Microglanis cibela</i>	6 fêmeas	Rio Maquiné/RS (29°39'10.4''S e 50°12'31,8''W)	Tramandaí

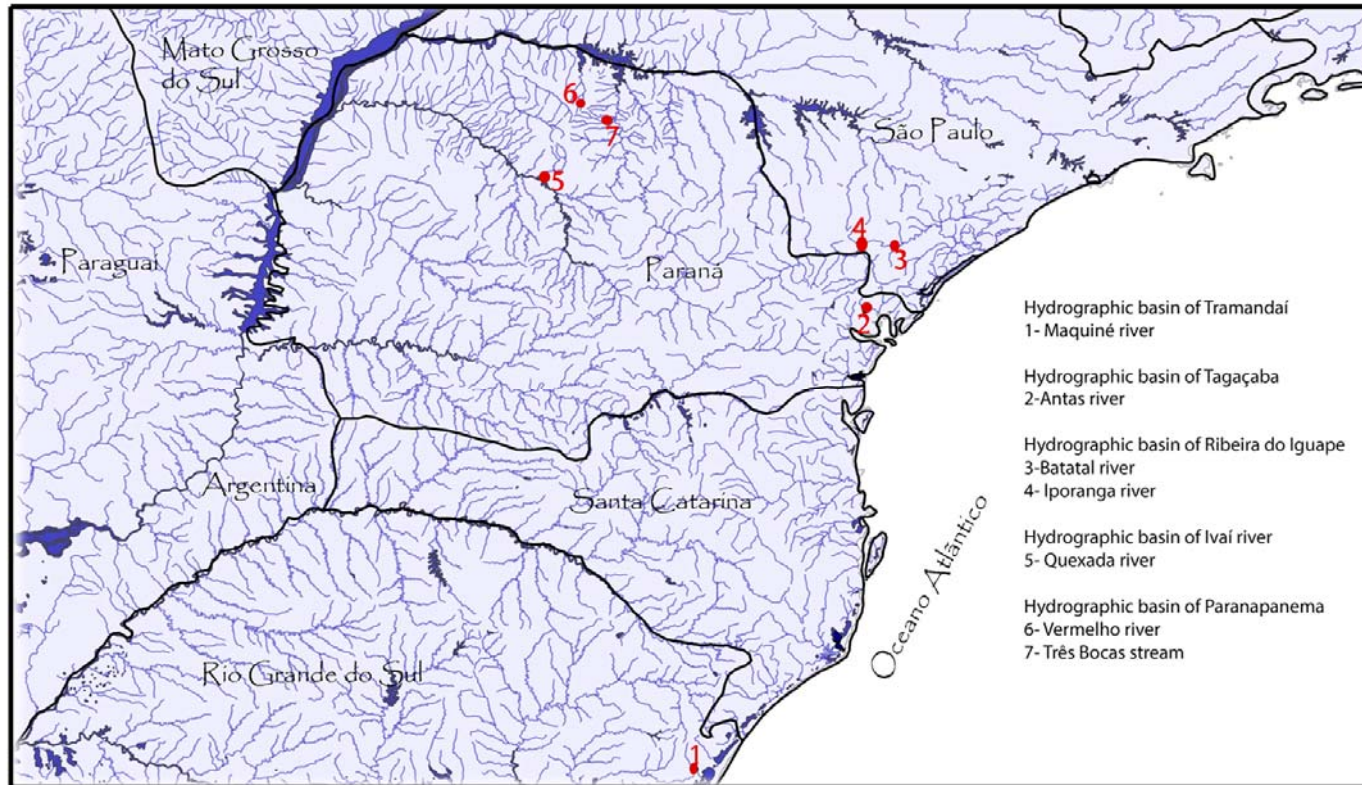


Figura 1- Mapa evidenciando os locais de coletas. 1=Rio Maquiné pertencente a bacia hidrográfica do Tramandai/RS; 2= Rio das Antas, bacia hidrográfica do Tagaçaba/PR; 3= Rio Batatal e 4= Rio Iporanga, bacia hidrográfica do rio Ribeira do Iguape; 5= Rio Quexada, bacia hidrográfica do rio Ivaí; 6=Rio Vermelho e 7=Ribeirão Três Bocas, ambos da bacia hidrográfica do rio Paranapanema.

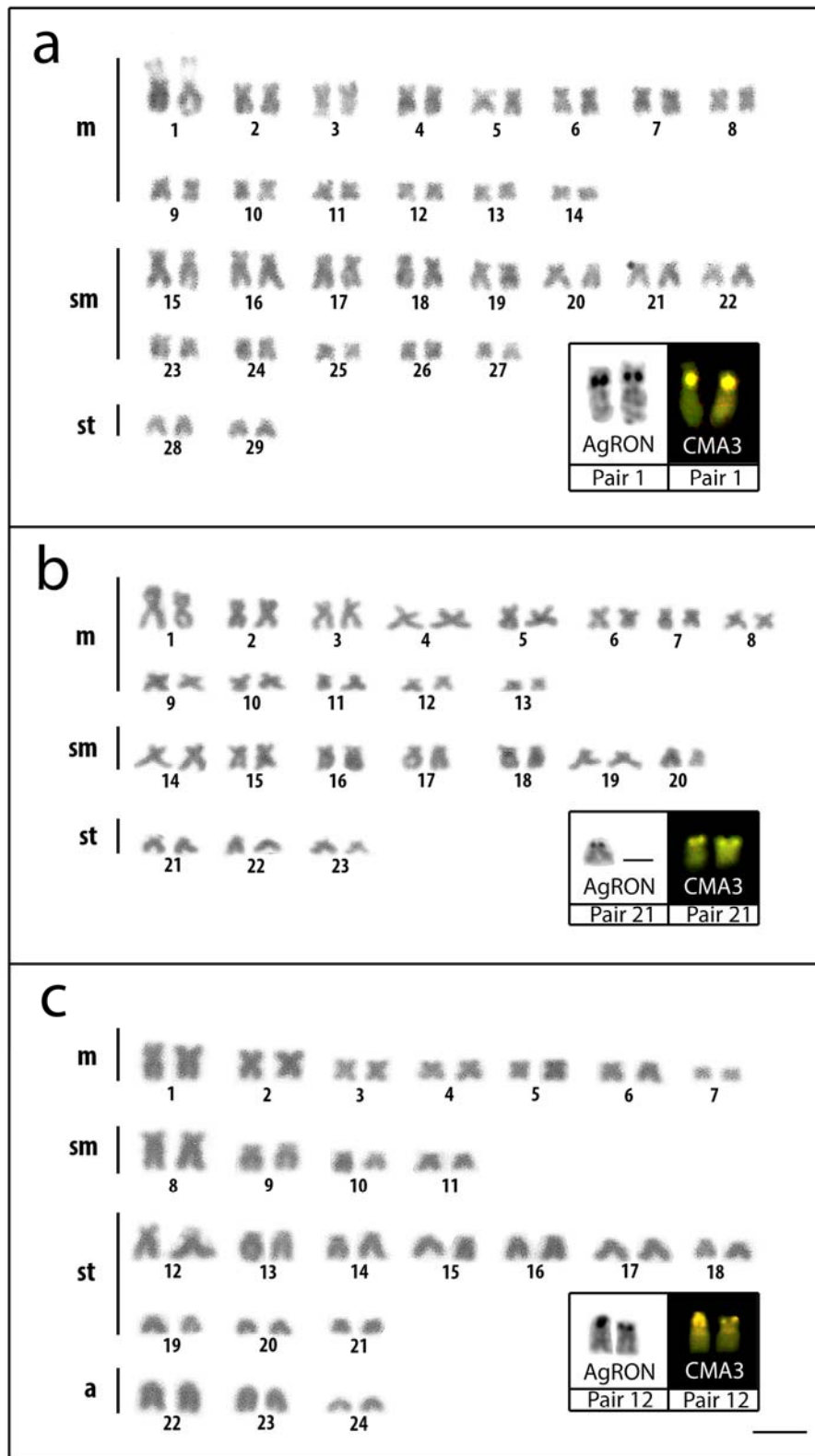


Figura 2- Cariótipo representativo das espécies de peixes da família Heptapteridae. *Cetopsorhamdia iheringi* com $2n=58$ (a); *Pimelodella meeki* com $2n=46$ (b) e *Phenacorhamdia tenebrosa* com $2n=48$ (c). No box em (a), (b), (c) os pares das RONS coradas com nitrato de prata e fluorocromo CMA₃. Barra=5 μ m.

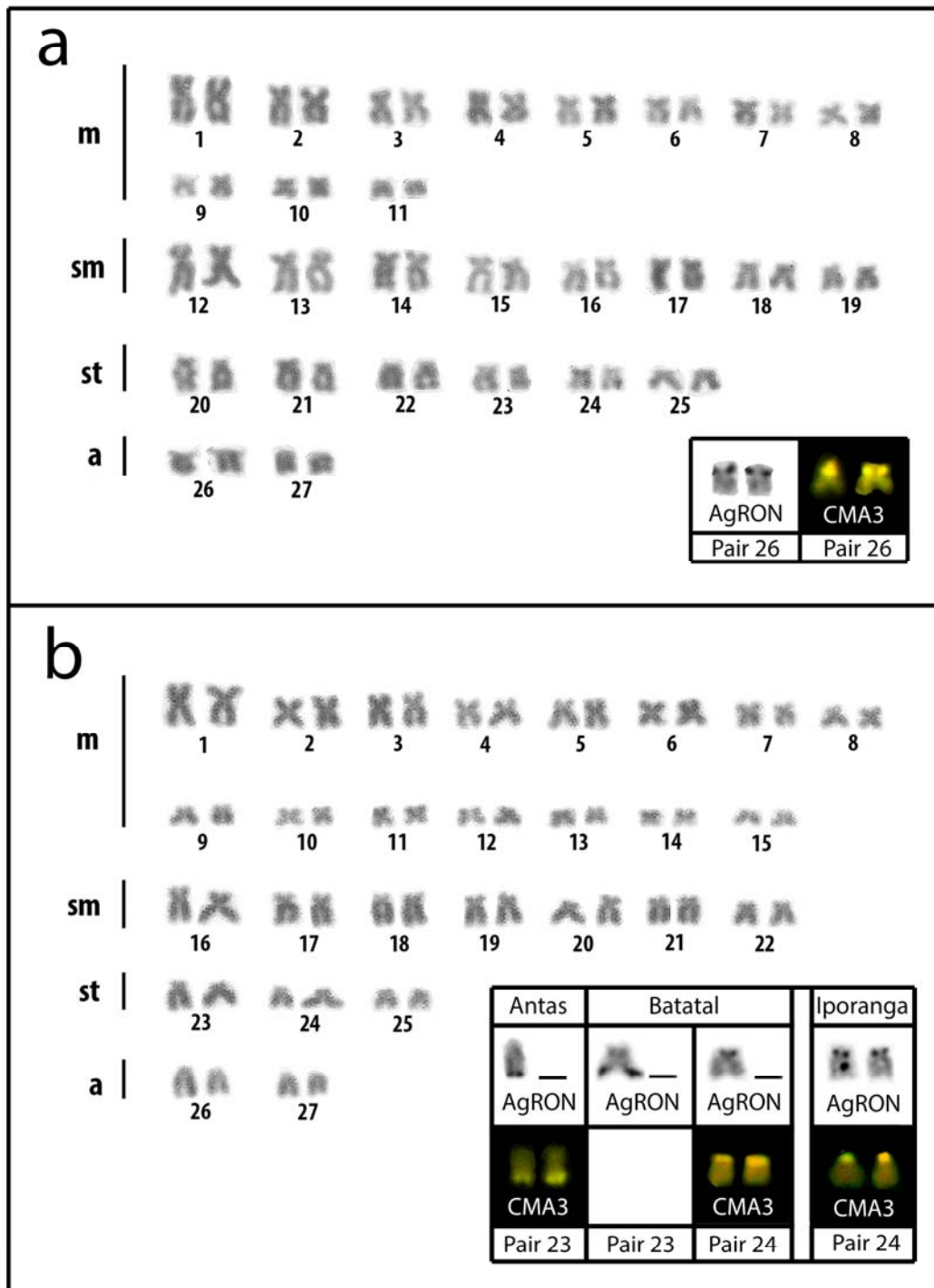


Figura 3- Cariótipo representativo das espécies de peixes da família Pseudopimelodidae. *Microglanis cibela* (a) e *Microglanis cottoides* (b), representando todas populações, com $2n=54$. No box em (a) e (b) os pares das RONS coradas com nitrato de prata e fluorocromo CMA₃. Barra=5 μ m.

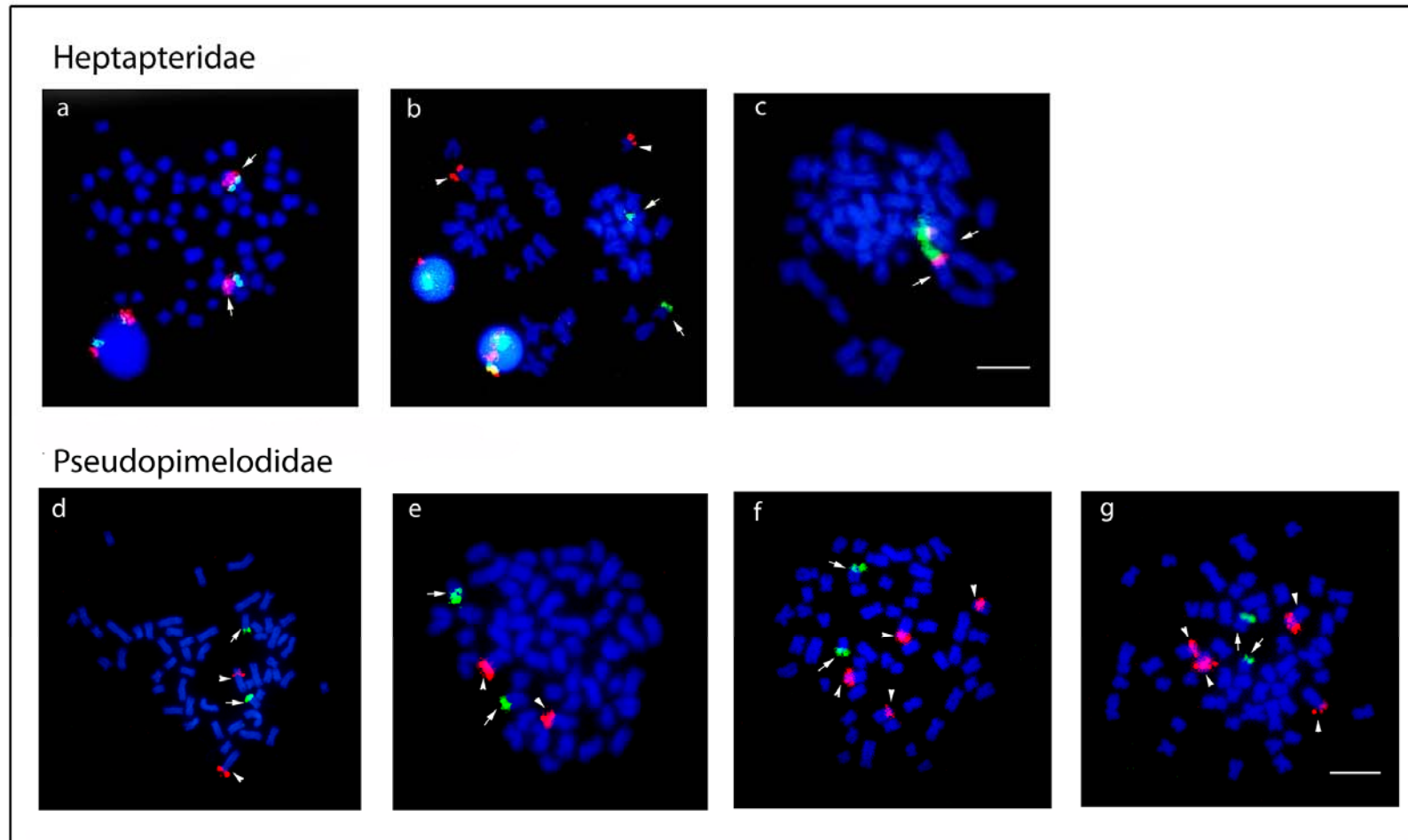


Figura 4- Metáfases somáticas com Double FISH das espécies da família Heptapteridae e Pseudopimelodidae, com sonda de DNAr 18S (sinal verde) e 5S (sinal vermelho) *Cetopsorhamdia iheringi* (a); *Pimelodella meeki* (b); *Phenacorhamdia tenebrosa* (c); *Microglanis cibelaie* (d); *Microglanis cottoides* do rio das Antas (e); *Microglanis cottoides* do rio Batatal (f) e *Microglanis cottoides* do rio Iporanga (g). Setas evidenciando os sítios de DNAr 18S e as cabeças de setas mostrando os sítios de DNAr 5S. Barra=5 μ m.

5- CONSIDERAÇÕES FINAIS

1. Heptapteridae e Pseudopimelodidae possuem características citogenéticas compartilhadas, o que corrobora com a hipótese de serem consideradas famílias pertencentes a um grupo monofilético. Mas também, possuem condições específicas de cada família, como a grande variação no número diploide de Heptapteridae e o conservado $2n=54$ em Pseudopimelodidae.
2. Uma característica compartilhada entre as espécies dessas duas famílias é o padrão das RONS possuindo cistrons de DNAr 18S, que são geralmente localizadas nas regiões terminais dos cromossomos e os sítios de DNAr 5S normalmente localizados na região intersticial dos cromossomos. Entretanto, algumas exceções são observadas em algumas espécies de Heptapteridae onde as RONS coincidentes com os sítios de DNAr 18S, foram localizadas na região intersticial dos cromossomos, como em *Imparfinis schubarti* (Capítulo I) e *Cetopshorhamdia iheringi* (Capítulo II).
3. Nas espécies de Heptapteridae o fenótipo simples das RONS parece ser o mais comum dentro da família, já em Pseudopimelodidae elas podem ser simples e múltiplas, sendo variável até mesmo em populações da mesma espécie. E as RONS nesses grupos de peixes mostraram-se ricas em bases GC, após coloração com fluorocromo base específica CMA₃.
4. Foram encontrados novos números diploides na família Heptapteridae, como em *Imparfinis borodini* com $2n=50$ (Capítulo I) e *Phenacorhamdia tenebrosa*

- (Capítulo II) com $2n=48$, confirmando a grande diversidade cariotípica que ocorre dentro desta família.
5. As espécies, *Pimelodella meeki* e *Cetopsorhamdia iheringi*, confirmaram o $2n=46$ e $2n=58$, respectivamente, característica comum para esses dois gêneros da família Heptapteridae. E *Microglanis cibela* da família Pseudopimelodidae, confirmou o $2n=54$ característicos desta família, sendo o primeiro relato citogenético desta espécie neste trabalho.
 6. *Microglanis cottoides*, apesar de apresentar o número diploide conservado em Pseudopimelodidae, mostrou variações na localização das RONS, entre diferentes populações, que podem estar relacionadas com rearranjos cromossômicos como inversão, translocação ou deleção, ou podem ser diferenças populacionais, devido a separação dessas populações pertencentes a bacias diferentes (Bacias do Taçaçaba/PR e do Ribeira do Iguape/SP).
 7. Análises com isolamento e caracterização de sequências de transposon Tc1 Mariner, e mapeamento físico juntamente com microsatélites e DNAs ribossômicos, mostraram que, no genoma de espécies do gênero *Imparfinis*, ocorre uma variação na distribuição de diferentes tipos de DNAs repetitivos, o que demonstra uma evolução divergente entre as espécies desse gênero.
 8. Em Heptapteridae, ocorre uma diversidade na distribuição de sítios de DNAs ribossômicos, que, pode estar relacionada com a movimentação desses genes

ribossomais, mediada por elementos transponíveis. Isto pode ser devido à localização Tc1-mariner, assim como os microssatélites, nos cromossomos portadores dos sítios de DNAr 18S e 5S, o que pode gerar sucessíveis rearranjos cromossômicos, refletindo na evolução cariotípica das espécies dessa família.

9. Os dados aqui apresentados, além de contribuírem para o aumento da documentação cariotípica para as famílias Heptapteridae e Pseudopimelodidae, mostram a importância dos estudos com isolamento de sequências de transposon Tc1-mariner, bem como o mapeamento de diferentes DNAs repetitivos nos cromossomos de diferentes espécies, para uma melhor compreensão da evolução genômica dentro desses grupos de peixes. Os demais resultados citogenéticos observados também relacionam que eventos de rearranjos cromossômicos estão envolvidos na evolução cariotípica dessas famílias.