



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

LARISSA GALVÃO DE LACERDA

VARIABILIDADE CROMOSSÔMICA ESTRUTURAL EM
Astyanax aff. fasciatus

Londrina
2013



Universidade Estadual de Londrina



Instituto Agronômico do Paraná



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

LARISSA GALVÃO DE LACERDA

VARIABILIDADE CROMOSSÔMICA ESTRUTURAL EM

Astyanax aff. fasciatus

LARISSA GALVÃO DE LACERDA

VARIABILIDADE CROMOSSÔMICA ESTRUTURAL EM
Astyanax aff. fasciatus

Dissertação 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 Mestre.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Lucia Giuliano Caetano.

Londrina
2013

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina.**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

L131v Lacerda, Larissa Galvão de.
Variabilidade cromossômica estrutural em *Astyanax* aff. *fasciatus* /
Larissa Galvão de Lacerda. – Londrina, 2013.
58f. : il.

Orientador: Lucia Giuliano Caetano.
Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade
Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação
em Genética e Biologia Molecular, 2013.
Inclui bibliografia.

1. Peixe – Genética – Teses. 2. *Astyanax* (Peixe) – Teses. 3. Cromossomos
sexuais – Teses. 4. Lambari-do-rabo-vermelho (Peixe) – Teses. I. Caetano, Lucia
Giuliano. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas.
Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular. III. Instituto
Agrônomo do Paraná. IV. EMBRAPA. V. Título.

CDU 597.554

LARISSA GALVÃO DE LACERDA

**VARIABILIDADE CROMOSSÔMICA ESTRUTURAL EM *Astyanax aff.*
*fasciatus***

Dissertação 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 Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lucia Giuliano Caetano
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a. Dr^a. Ana Lúcia Dias
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a. Dr^a. Ana Luiza de Brito Portela e Castro
Universidade Estadual de Maringá - UEM

Londrina, 26 de Fevereiro de 2013.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todos que de alguma forma contribuíram para a realização desta dissertação. Em particular, gostaria de agradecer:

A Universidade Estadual de Londrina, local pelo qual tenho muito carinho pois estou vinculada á UEL desde minha graduação.

A CAPES pela bolsa de estudo concedida.

Ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, em especial a Ana Lúcia e a Sueli que sempre me auxiliaram.

Ao LACA (Laboratório de Citogenética Animal) com toda sua estrutura e repleto de pessoas queridas que muito me ensinaram durante todos os anos que estive lá.

A Prof^ª. Dr^ª. Lucia Giuliano Caetano, minha querida orientadora, que além de me ensinar tudo o que eu sei sempre esteve presente para me auxiliar com qualquer problema que encontrei pela frente. Sem ela esse trabalho não seria possível.

As professoras Ana Lúcia Dias e Renata da Rosa pelas sugestões e críticas úteis na formulação do trabalho.

A minha irmãzinha que veio morar comigo e tem que me aguentar.

A minha vó e minha mãe que acompanharam esses dois anos de perto.

A toda minha família, amigos e gatos que me fizeram companhia nas horas difíceis e estão sempre dispostos a me ajudar.

A Deus e a todos os Santos, muito obrigada!

LACERDA, Larissa Galvão de. **Variabilidade cromossômica estrutural em *Astyanax aff. Fasciatus***. 2013.58p. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

RESUMO

O gênero *Astyanax* pertence ao grupo “*Incertae Sedis*” e caracteriza-se por sua extensa variabilidade citogenética tanto numérica ($2n=36$ a $2n=50$) quanto estrutural. *Astyanax fasciatus* é um peixe de pequeno porte que apresenta nadadeiras vermelhas, por isso é chamado de lambari do rabo vermelho. As populações de *Astyanax fasciatus* variam bastante quanto ao número diplóide, com exemplares de $2n=45$ até $2n=50$ e também apresentam grande variabilidade estrutural intra e interpopulacional. A espécie faz parte de um “complexo de espécies” e, de acordo com a revisão morfológica recente deste complexo, somente os exemplares pertencentes ao Rio São Francisco podem ser considerados *Astyanax fasciatus*, os demais exemplares constituem outras espécies, incluindo espécies novas. Estudos anteriores realizados em 1995 na população de *Astyanax aff. fasciatus* do Ribeirão Três Bocas, observaram uma extensa variabilidade estrutural, sendo definidos cinco cariótipos: Cariótipo A com $26m-sm+20st-a$, Cariótipo B com $27m-sm+19st-a$, Cariótipo C com $28m-sm+18st-a$, Cariótipo D com $30m-sm+16st-a$ e Cariótipo E com $34m-sm+12st-a$. Este trabalho pretende comparar os resultados obtidos atualmente com os anteriores para os exemplares de *Astyanax aff. fasciatus* coletados no Ribeirão Três Bocas, além de caracterizar a população do Ribeirão Jacutinga, ambos ribeirões da margem esquerda da Bacia do Rio Tibagi. Todos os exemplares apresentaram $2n=46$, sem distinção de cromossomos sexuais. Foram encontrados neste estudo quatro fórmulas cariotípicas, sendo: Cariótipo A $14m+12sm+20st-a$, E $18m+16sm+12st-a$, F $13m+18sm+15st-a$ e G $15m+20sm+11st-a$. A população do Rib. Jacutinga apresentou somente o Cariótipo E. Os Cariótipos A e E já foram relatados na população, sendo o último o cariótipo mais frequente atualmente. O Cariótipo F ($13m+18sm+15st-a$) possivelmente se originou do Cariótipo D ($11m+19sm+16st-a$), não encontrado atualmente. O Cariótipo G ($15m+20sm+11st-a$) provavelmente originou-se a partir do Cariótipo E ($12m+22sm+12st-a$) descrito anteriormente através de três inversões pericêntricas. A técnica de Banda C definiu um padrão para cada cariótipo, evidenciando blocos pericentroméricos e blocos bem evidentes nas regiões terminais do braço longo. A técnica de Banda C corada com fluorocromos base específicos também auxiliaram na distinção entre os cariótipos, o Cariótipo A apresentou apenas blocos heterocromáticos CMA_3^+ ; o Cariótipo E apresentou dois pares com heterocromatina neutra (CMA_3^+ e $DAPI^+$) e os demais blocos foram $DAPI^+$; o Cariótipo F apresentou um par com heterocromatina neutra além de blocos $DAPI^+$. Os dados obtidos corroboram com a existência de um complexo de espécies e essa variabilidade cromossômica indica que *Astyanax aff. fasciatus* apresentam uma grande plasticidade.

Palavras-chave: Peixe genética. *Astyanax* (Peixe). Cromossomos sexuais. Lambari-do-rabo-vermelho (Peixe).

LACERDA, Larissa Galvão de. **Variabilidade cromossômica estrutural em *Astyanax aff. Fasciatus***. 2013.58p. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

ABSTRACT

The genus *Astyanax* belongs to the group “*Incertae Sedis*” and is characterized for its extensive cytogenetic variability, both numeric ($2n=36$ a $2n=50$) and structural. *Astyanax fasciatus* is a small fish that has red fins, for this reason is known as “lambari de rabo vermelho” in Brazil. Their population vary the diploid number from $2n=45$ a $2n=50$ and also have a wide structural variability both intra and interpopulation. This specie belongs to a “species complex” and, according to the latest morphologic review, only individuals from São Francisco River are considered *Astyanax fasciatus*, individuals from other river basins belong to other species, including new ones. Previous studies carried on 1995 in the *Astyanax aff. fasciatus* population from Três Bocas Stream, Tibagi River basin, distinguished wide structural variability and defined five karyotypes: Karyotype A $26m-sm+20st-a$, Karyotype B $27m-sm+19st-a$, Karyotype C $28m-sm+18st-a$, Karyotype D $30m-sm+16st-a$ and Karyotype E $34m-sm+12st-a$. This study intend to compare the previous results with the ones gathered nowadays for the population of *Astyanax aff. fasciatus* from Três Bocas Stream, moreover characterize the population from Jacutinga Stream, both streams in the left margin of Tibagi River. All individuals had $2n=46$, no morphologically differentiated sex chromosomes were identified. Four karyotypes were found: Karyotype A $14m+12sm+20st-a$, E $18m+16sm+12st-a$, F $13m+18sm+15st-a$ and G $15m+20sm+11st-a$. The Jacutinga Stream population presented only Karyotype E. The Karyotypes A and E were already reported in the Três Bocas Stream population, the last one is the most frequent nowadays. Karyotype F ($13m+18sm+15st-a$) possibly originated from Karyotype D ($11m+19sm+16st-a$), which was not currently found. Karyotype G ($15m+20sm+11st-a$) possibly originated from previous described Karyotype E ($12m+22sm+12st-a$) through three pericentric inversions. Each karyotype had its particular pattern of heterochromatin distribution with pericentromeric blocks and evident blocks at the ends of the long arm of the chromosomes. The C-banding technique stained with base-specific fluorochromes also helped distinguish the karyotypes, Karyotype A presented only CMA_3^+ heterochromatic blocs; Karyotype E had two pairs with neutral (CMA_3^+ and $DAPI^+$) heterochromatin and other blocs were $DAPI^+$; Karyotype F had one pair with neutral heterochromatin and the other blocs were $DAPI^+$.

The data acquired confirms the existence of a “species complex” and the chromosomal variability indicates that *Astyanax aff. fasciatus* has grate plasticity.

Keywords: Fish genetics. *Astyanax* (Fish). Sex chromosome. Tetra-the-red-tail (Fish).

LISTA DE FIGURAS

1 INTRODUÇÃO

Figura 1 - Mapa dos pontos de coleta nos ribeirões Três Bocas e Jacutinga 25

ARTIGO: Polimorfismo cromossômico em uma população de *Astyanax aff. fasciatus* Cuvier, 1819 da Bacia do Rio Tibagi-PR.

Figura 1 - Cariótipos descritos por Koguissi (1995) para a população de *Astyanax aff. fasciatus* do Ribeirão Três Bocas: Cariótipo A (26m-sm+20st-a), Cariótipo B (27m-sm+19st-a), Cariótipo C (28m-sm+18st-a), Cariótipo D (30m-sm+16st-a) e Cariótipo E (34m-sm+12st-a). Fonte: Dias & Giuliano-Caetano (2002) 45

Figura 2 - Mapas com a localização dos ribeirões Três Bocas e Jacutinga e imagem de um exemplar de *Astyanax aff. fasciatus* coletado nestas regiões 46

Figura 3 - Cariótipos de *Astyanax aff. fasciatus* encontrados no presente estudo. Cariótipo A com 14m+12sm+20st-a, Cariótipo E com 18m+16sm+12st-a, Cariótipo F com 13m+18sm+15st-a e Cariótipo G com 15m+20sm+11st-a 47

Figura 4 - Células meióticas de indivíduos de *Astyanax aff. fasciatus* do Cariótipo E. Em A e B observam-se metáfases I e em C e D paquítenos..... 48

Figura 5 - Cariótipo A de *Astyanax aff. fasciatus*: em a) Padrão de distribuição da Banda C; b) metáfase somáticas com Banda C corada com CMA3 e c) metáfase somática com Banda C corada com DAPI. Nota-se que este cariótipo possui heterocromatina exclusivamente CMA3+..... 49

Figura 6 - Cariótipo E de *Astyanax aff. fasciatus*: em a) padrão de distribuição da Banda C; b) metáfase somática com cromossomos distendidos submetidos à Banda C; c) metáfase submetida à técnica de Banda C e corada com CMA3 e d) metáfase submetida à técnica de Banda C corada com DAPI. Nota-se que apenas dois pares foram CMA3+ e apresentaram heterocromatina neutra. Em destaque no cariótipo observa-se os pares 10, 19 e 20 que possuem o bloco terminal subdividido..... 50

- Figura 7** - Cariótipo F de *Astyanax aff. fasciatus*: em a) padrão de distribuição da Banda C; b) metáfase com Banda C corada com CMA3; c) metáfase com Banda C corada com DAPI e d) sobreposição da metáfase com CMA3/DAPI . Nota-se que foi encontrada uma única marcação CMA3+ que corresponde a uma heterocromatina neutra, os demais blocos foram DAPI+..... 51
- Figura 8** - Cariótipo G de *Astyanax aff. fasciatus*: Padrão de distribuição da Banda C. Nota-se que todos os blocos heterocromáticos estão localizados na posição terminal do braço longo dos cromossomos 52

LISTA DE TABELAS

1 INTRODUÇÃO

Tabela 1 - Espécies novas propostas por Melo (2005) que anteriormente pertenciam ao complexo *Astyanax fasciatus*..... 21

Tabela 2 - Dados citogenéticos descritos para as populações do complexo *Astyanax fasciatus*. Número diploide (2n), cromossomos metacêntricos (m), cromossomos submetacêntricos (sm), cromossomos subtelocêntricos (st), cromossomos acrocêntricos (a), cromossomos B (B), bloco (bl.), cromossomo (cr.), cromossomos (crs.), posição terminal (t), posição intersticial (i), posição biterminal (bit), braço curto (p) e braço longo (q)..... 22

ARTIGO: Polimorfismo cromossômico em uma população de *Astyanax aff. fasciatus* Cuvier, 1819 da Bacia do Rio Tibagi-PR.

Tabela 1 - Cariótipos descritos na população de *Astyanax aff. fasciatus* do Ribeirão Três Bocas. Metacêntrico (m), submetacêntrico (s), subtelocêntrico (st), acrocêntrico (a)..... 40

Tabela 2 - Espécies novas propostas por Melo (2005) que anteriormente pertenciam ao complexo *Astyanax fasciatus*..... 40

Tabela 3 - Dados citogenéticos descritos para as populações do complexo *Astyanax fasciatus*. Número diploide (2n), cromossomos metacêntricos (m), cromossomos submetacêntricos (sm), cromossomos subtelocêntricos (st), cromossomos acrocêntricos (a), cromossomos B (B), bloco (bl.), cromossomo (cr.), cromossomos (crs.), posição terminal (t), posição intersticial (i), posição biterminal (bit), braço curto (p) e braço longo (q)..... 41

Tabela 4 - Quantidade de cromossomos com blocos heterocromáticos nos diferentes cariótipos de *Astyanax aff. fasciatus* do Ribeirão Três Bocas. Dados de Koguissi (1995) e do presente estudo..... 44

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
1.1	CARACTERÍSTICAS GERAIS DO GÊNERO <i>Astyanax</i>	11
1.2	CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE <i>Astyanax fasciatus</i>	12
1.3	CARACTERÍSTICAS CITOGENÉTICAS DE <i>Astyanax fasciatus</i>	13
1.3.1	Bacia do Rio São Francisco.....	13
1.3.2	Bacia do Rio Paraná	14
A	BACIA DO RIO PARANAÍBA	15
B	BACIA DO RIO GRANDE	15
C	BACIA DO RIO TIETÊ	15
D	BACIA DO RIO PARANAPANEMA	16
1.3.3	Bacia do Atlântico Sudeste.....	17
1.3.4	Bacia do Atlântico Leste	17
1.3.5	Bacia do Atlântico Sul.....	18
1.4	ÁREA DE ESTUDO	18
2	OBJETIVOS	26
2.1	OBJETIVO GERAL	26
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
ARTIGO: Polimorfismo cromossômico em uma população de <i>Astyanax aff. fasciatus</i> Cuvier, 1819 da Bacia do Rio Tibagi-PR.....		
		27
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS	53
	REFERÊNCIAS	54

1 INTRODUÇÃO

1.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DO GÊNERO *Astyanax*

Os peixes apresentam-se em uma posição central na evolução dos vertebrados, ostentam enorme diversidade morfológica e ocupam os mais diversos habitats. Essa diversidade dificulta o entendimento da sua história evolutiva e impede organizar sua classificação ictiológica, sendo assim, um grupo de grande interesse para estudos genéticos, citogenéticos e evolutivos (Nelson, 2006).

A maior parte dos peixes de água doce pertence à família Characidae, considerada uma das maiores, com cerca de 1.031 espécies válidas (Eschmeyer, 2013). Muitos dos gêneros de Characidae tidos como “*Incertae Sedis*” (Lima *et al.*, 2003) foram incluídos por Géry (1977) na subfamília Tetragonopterinae, agrupada artificialmente do ponto de vista filogenético.

O grupo “*Incertae Sedis*” compreende 88 gêneros e 620 espécies com classificação taxonômica incerta. Lima (2003) listou *Hyphessobrycon* com 97 espécies, *Bryconamericus* com 56 espécies, *Hemigrammus* com 43 espécies, *Creagrutus* com 64 espécies e *Astyanax* com 86 espécies. Segundo Eschmeyer (2013) o clado *Astyanax* possui 149 espécies válidas, compreendendo os peixes conhecidos como lambaris, na região sul e como piabas nas regiões central, norte e nordeste do Brasil. Esses peixes possuem formas semelhantes o que dificulta os estudos taxonômicos no grupo (Melo, 2005).

Os lambaris são caracterizados como bons nadadores, vivem em cardumes e habitam uma grande variedade de ambientes: cabeceiras e cursos principais dos rios, próximos a áreas de mangue e inclusive rios no interior de cavernas, onde há ausência de pigmentos, redução dos olhos e modificações no sistema sensorial da linha lateral (Montgomery *et al.*, 2001, Parry *et al.*, 2003 e Romero & Paulson, 2001). Seu desenvolvimento sexual acontece, geralmente, em janeiro e setembro, seguindo o comportamento dos peixes de desova em correntezas (Barbieri *et al.*, 1996).

A importância biológica do grupo dos lambaris provém da sua dieta onívora que inclui musgos, algas, plantas, pupas e imagos de insetos aquáticos, aracnídeos e micro crustáceos, além de constituírem presas para peixes maiores de várias espécies como, por exemplo, a traíra (Gravitol & Menin, 1992). Possuem importância econômica na pesca sob forma de iscas além de servirem para o consumo humano, normalmente ingeridos fritos.

O gênero *Astyanax* é relativamente comum, distribui-se na Região Neotropical, da fronteira México-Estados Unidos a Argentina (Eigenmann, 1921). Caracteriza-se por sua elevada variabilidade cariotípica, tanto numérica quanto estrutural, com o número diplóide variando de $2n=36$ em *Astyanax schubarti* Britski, 1964 a $2n=50$, número diploide mais comum dentro do gênero (Pazza *et al.*, 2007). Apesar da variabilidade observada estes indivíduos também possuem uma característica citogenética em comum, o primeiro par de cromossomos metacêntricos grandes, característica observada inicialmente por Scheel (1973) e atribuída a toda família Characidae (Morelli, 1981).

1.2 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE *Astyanax fasciatus*

Os caracteres tradicionalmente utilizados na identificação taxonômica do gênero *Astyanax* são morfométricos e merísticos (número de escamas e de raios, formato da dentição, etc.) e têm recebido considerável crítica devido a sua pouca eficácia (Melo, 2005).

Astyanax fasciatus foi descrita por Cuvier em 1819, no entanto não há informação precisa sobre a localidade da espécie-tipo. Ela é considerada como parte de um complexo de espécies, proposta pela primeira vez por Justí (1993) e apoiada por Garuti & Britski (2000), Melo (2001), entre outros, uma vez que é possível distinguir diversas formas morfológicas e cariotípicas entre diferentes populações.

Espécies de *Astyanax* com mancha umeral alongada verticalmente, 20 ou mais raios ramificados na nadadeira anal, um ou mais dentes no maxilar, padrão de coloração vermelha nas nadadeiras ímpares, faixa lateral escura que se estende até os raios caudais medianos e distais são comuns nas bacias hidrográficas neotropicais. Segundo essa descrição proposta por Eigenmann (1921) e Géry (1977) muitas espécies podem ser chamadas de *Astyanax fasciatus* Cuvier 1819.

Melo (2005) revisou as espécies do complexo *Astyanax fasciatus* Cuvier 1819 que ocorrem nas bacias do rio São Francisco, alto curso do rio Paraná, rios do leste do Brasil e América Central. Em seu trabalho todas as espécies de *Astyanax* incluídas nessa ampla definição de Eigenmann (1921) e Géry (1977) sobre *A. fasciatus* são chamadas de complexo *A. fasciatus*. Ele diagnosticou 28 espécies, 6 espécies válidas no Brasil, 1 espécie válida na Venezuela, 14 espécies válidas na América Central e 7 espécies novas. As espécies novas descritas por Melo (2005) estão listadas na Tabela 1.

Melo (2005) após analisar as espécies-tipo e o material adicional comparativo proveniente do Rio São Francisco (provável área da localidade tipo de *A. fasciatus*) e de outras bacias hidrográficas incluindo a América Central, propõe que o nome *A. fasciatus* deve ser aplicado somente a exemplares do Rio São Francisco. As demais formas de *Astyanax* comumente assinaladas como *Astyanax fasciatus* que estão presentes em outras bacias hidrográficas representam outras espécies do gênero *Astyanax*.

O extenso trabalho realizado por Melo (2005) foi a primeira revisão consistente proposta para as espécies do complexo *A. fasciatus* devido a meticulosidade de suas análises, no entanto, ainda restam dúvidas sobre a enorme variabilidade existente no gênero. Somente uma análise citotaxonômica detalhada (envolvendo as duas disciplinas, a citogenética e a taxonomia) do material coletado, poderá elucidar os padrões evolutivos e de especiação que ocorrem no gênero *Astyanax*.

1.3 CARACTERÍSTICAS CITOGENÉTICAS DE *Astyanax fasciatus*

As populações de *Astyanax* aff. *fasciatus* variam bastante quanto ao número diplóide, com exemplares de $2n=45$ (Daniel-Silva, 1996; Pazza *et al.*, 2006) até $2n=50$ (Artoni *et al.*, 2006) e também apresentam grande variabilidade estrutural intra e inter populacional, como se pode observar na Tabela 2.

Pazza *et al.* (2007) admitem que os rearranjos do tipo inversão pericêntrica assumem papel fundamental na diversidade cromossômica do gênero *Astyanax* e propõem um cariótipo ancestral baseado no número diploide modal de $2n=50$ composto por $6m-22sm-10st-12a$, similar ao cariótipo apresentado por *A. scabripinnis* coletados em Campos do Jordão-SP, bacia do Rio Paraíba do Sul. Segundo Noor *et al.* (2001) é possível que as inversões tenham o papel principal no processo de especiação, especialmente em locais com espécies em simpatria.

Para uma melhor compreensão dos dados, as populações já estudadas do complexo *Astyanax fasciatus* foram agrupadas de acordo com as bacias hidrográficas as quais pertencem, como se segue:

1.3.1 Bacia do Rio São Francisco

Observando a Tabela 2, percebe-se a ocorrência de três diferentes números diploides na Bacia do Rio São Francisco: $2n=46$, 47 e 48, existindo diferentes fórmulas

cariotípicas para as populações com 46 e 48 cromossomos. Justi (1993) descreveu a população coletada no Rio São Francisco com $2n=46$ e fórmula cariotípica com $6m-24sm-8st-8a$. Heras em 1998 encontrou uma variabilidade numérica, $2n=46$ e 48, com fórmulas cariotípicas diferentes na mesma população.

Moreira-Filho *et al.* (2001) também avaliaram a população do Rio São Francisco, corroborando com os dados obtidos por Justi (1993), no entanto, alguns indivíduos possuíam um cromossomo B, constituindo, assim, o número diploide de 47.

Na maioria das vezes os blocos heterocromáticos das populações de *A. fasciatus* estão distribuídos na região pericentromérica da maioria dos cromossomos, além da existência de blocos heterocromáticos terminais no braço longo. Os dados descritos para as populações da Bacia do Rio São Francisco corroboram com essa premissa.

Peres *et al.* (2009) estudaram indivíduos coletados no Rio Grande e Rio Piumhi (seu tributário), pertencentes a Bacia do Alto Paraná, e do Rio São Francisco e afluentes, além de indivíduos coletados no canal artificial que liga as duas bacias hidrográficas, Rio Piumhi-Ribeirão Água Limpa (Bacia do Rio São Francisco). Todos os exemplares possuíam $2n=48$ com a mesma fórmula cariotípica ($8m-20sm-16st-4a$), no entanto, distribuídos em três cariomorfos diferenciados pelo padrão de distribuição da heterocromatina e do DNA satélite As-51, além da quantidade de sítios de DNA ribossômico. Cariomorfo A1 foi encontrado no curso principal do Rio Grande, o Cariomorfo A2 estava distribuído pelo Rio Piumhi e o Cariomorfo B foi observado na Bacia do Rio São Francisco. Curiosamente os dois cariomorfos estavam presentes no canal Rio Piumhi-Ribeirão Água Limpa, sem formas intermediárias.

1.3.2 Bacia do Rio Paraná

A Bacia do Rio Paraná compõem a Bacia Platina que se estende pelos territórios da Argentina, Bolívia, Brasil, Paraguai e Uruguai. Dentro do território nacional pode-se subdividir a Bacia do Rio Paraná em seis sub-bacias: Bacia do Rio Paranaíba, do Rio Grande, do Rio Tietê, do Rio Paranapanema, do Rio Paraná e do Rio Iguaçu. A maioria dos grupos de estudo citogenético encontram-se na região da Bacia do Rio Paraná, desse modo, é a Bacia com maior número de dados disponíveis na literatura. No entanto, não existem relatos sobre a Bacia do Rio Iguaçu.

A BACIA DO RIO PARANAÍBA

Torres-Mariano & Morelli (2006) caracterizaram a população do Rio Araguari, afluente do Rio Paranaíba, com $2n=46$ e fórmula cariotípica com $14m-16sm-10st-6a$, como se pode observar na Tabela 2.

B BACIA DO RIO GRANDE

Na Bacia do Rio Grande observam-se duas situações com o auxílio da Tabela 2. Uma no Rio Mogi-Guaçu com ampla variabilidade intra e interpopulacional. O número diploide nesta população de *Astyanax fasciatus* varia de 45 a 48, sendo que todos apresentam variação estrutural. Nota-se outra situação nas demais populações estudadas, com número diploide constante de 48 e fórmulas cariotípicas relacionadas, com pouca variação na quantidade de cromossomos metacêntricos, submetacêntricos, subtelocêntricos e acrocêntricos de uma fórmula cariotípica para a outra.

Pazza *et al.* (2006) encontraram no Rio Mogi-Guaçu na Cachoeira das Emas dois citótipos principais, com todo o complemento cromossômico pareado. Um apresentando $2n=48$ sendo $8m+22sm+12st+6a$ e outro apresentando $2n=46$ com $12m+20sm+10st+4a$. Além dos dois citótipos, identificaram outras seis variantes destes, com $2n=45, 46$ e 47 , Tabela 2.

Pazza *et al.* (2006) concluíram que as modificações cariotípicas presentes nas formas variantes apontam para a possibilidade de cruzamento entre indivíduos do citótipo de 48 e 46 cromossomos, adicionalmente, estudos iniciais com marcadores moleculares também indicam a existência de fluxo gênico entre os citótipos de 48 e 46 cromossomos, demonstrando que a espécie possui certa plasticidade, onde algumas combinações cromossômicas não possuem efeito deletério. Essa situação peculiar ocorreu na Cachoeira das Emas, uma região de reprodução para várias espécies.

C BACIA DO RIO TIETÊ

Nas populações da Bacia do Rio Tietê nota-se a conservação de $2n=46$ com variabilidade estrutural, Tabela 2.

Abel *et al.* (2006) analisaram uma população do Rio Piracicaba (Bacia do Rio Tietê), e observaram que a heterocromatina estava distribuída na região pericentromérica de todos os cromossomos do complemento, em blocos terminais no braço longo de um

cromossomos submetacêntrico e seis pares de cromossomos subtelo-acrocêntricos, além de um par submetacêntrico com um bloco heterocromático no braço curto. O padrão corrobora com os estudos prévios de Justi (1993), no entanto, nenhum bloco heterocromático no braço curto havia sido relatado em 1993, evidenciando a plasticidade da espécie (Abel *et al.*, 2006).

D BACIA DO RIO PARANAPANEMA

Na Bacia do Rio Paranapanema as populações do Rio Pardo pesquisadas por Ferreira-Neto *et al.* (2012) variam de $2n=46$, 48 e 50 com fórmulas cariotípicas relacionadas, sendo que todos os exemplares de $2n=46$ possuem um cromossomo B. De acordo com os autores a ausência de números diploides intermediários e a presença de um cromossomo B em apenas um cariomorfo, somados aos dados moleculares, indicam que os cariomorfos não se hibridizam, constituindo, assim, três espécies crípticas, corroborando com os estudos que indicam que *A. fasciatus* compõem um complexo de espécies.

Na Bacia do Rio Tibagi existem populações com de $2n=46$, 48, 49 e 50. As populações estudadas por Artoni *et al.* (2006) possuem variabilidade numérica e estrutural e a população analisada por Koguissi (1995) possui ampla variação estrutural com o número diploide de 46.

Koguissi (1995) analisou *Astyanax sp.* (revisto como *Astyanax aff. fasciatus*) do Ribeirão Três Bocas, todos com $2n=46$ e sem distinção de cromossomos sexuais heteromórficos. Devido à dificuldade na identificação do tamanho dos braços cromossômicos, foram considerados dois grupos: meta-submetacêntricos e subtelo-acrocêntricos, sendo possível discriminar os cinco cariótipos distintos: o Cariótipo A apresentou $26m-sm+20st-a$, o Cariótipo B $27m-sm+19st-a$, o Cariótipo C $28m-sm+18st-a$, o Cariótipo D $30m-sm+16st-a$ e o Cariótipo E $34m-sm+12st-a$. Estes cariótipos também puderam ser discriminados pelo padrão de distribuição da heterocromatina.

Artoni *et al.* (2006) analisaram quatro populações do alto Rio Tibagi e identificaram três citótipos distintos em simpatria. O Citótipo A possui $2n=48$ com $6m+18sm+14st+10a$, sendo semelhante ao Citótipo B quanto à distribuição da heterocromatina nas regiões terminais do braço longo dos cromossomos acrocêntricos, apesar da diferença no número diploide. Os Citótipos B e C possuem $2n=50$ com $8m+18sm+14st+10a$, porém distinguem-se pelo padrão de distribuição da heterocromatina, que no Citótipo C encontra-se em regiões intersticiais.

Dados morfológicos empregados por Artoni *et al.* (2006) separaram os exemplares em três populações, uma de Furnas 2, uma do Rio Tibagi e outra na Lagoa Dourada e Rio Cará-Cará, no entanto, ocorreu uma sobreposição de alguns indivíduos do Rio Tibagi com os da Lagoa Dourada e Rio Cará-Cará. Esses dados morfológicos somados aos citogenéticos, com os citótipos ocorrendo em simpatria, corroboram que *Astyanax fasciatus* compõem um complexo de espécies (Justi, 1993).

1.3.3 Bacia do Atlântico Sudeste

As populações estudadas apresentaram a constância de $2n=48$ com diferentes fórmulas cariotípicas, sendo duas em simpatria. A técnica de Banda C efetuada por Justi (1993) exibiu blocos heterocromáticos pericentroméricos em todos os cromossomos além de algumas bandas terminais.

1.3.4 Bacia do Atlântico Leste

Medrado *et al.* (2008) estudaram três populações de *A. fasciatus* da Bacia do Atlântico Leste, todas com $2n=48$. No entanto, as populações apresentaram diferenças estruturais: a população coletada no Rio das Contas, em Jequié (porção mediana da Bacia do Rio das Contas), foi identificada pela fórmula cariotípica $8m-24sm-12st-4a$; a do Rio Preto do Costa (Bacia do Rio das Contas) exibiu $8m-24sm-10st-6a$; e a última do Ribeirão Mineiro (Bacia do Recôncavo Sul) foi identificada com $8m-18sm-16st-6a$. Análises morfológicas e citogenéticas auxiliaram na separação destas três populações que podem diferir devido à ausência de fluxo gênico entre elas. Esse modelo cabe perfeitamente para a população do Ribeirão Mineiro que se encontra em outra bacia hidrográfica, no entanto, as populações da Bacia do Rio das Contas também divergiram. Uma possível explicação seria a própria calha do Rio Preto do Costa que possui várias quedas d'água, impedindo a dispersão dos indivíduos, além das diferenças ambientais, uma vez que o Rio Preto do Costa localiza-se entre a floresta Atlântica e o semiárido enquanto a porção amostrada do Rio das Contas encontra-se na região semiárida (Medrado *et al.*, 2008).

1.3.5 Bacia do Atlântico Sul

Venturelli (2011) estudou as populações de três locais pertencentes ao Sistema Hidrográfico da Laguna dos Patos (Gasômetro, Arroio Colombo e Saco da Alemoa) e do Rio Maquiné (Bacia do Rio Tramandaí) todas da Bacia do Atlântico Sul. Identificou-se três formulas cariotípicas no Sistema Hidrográfico da Laguna dos Patos, todas com $2n=46$: FC1 $8m+24sm+14st-a$, FC2 $7m+24sm+15st-a$ e FC3 $8m+22sm+16st-a$. No Rio Maquiné encontrou-se apenas FC1 $8m+24sm+14st-a$. Também foram observados três indivíduos com variação intraindividual (mosaicismo): um indivíduo com as três fórmulas cariotípicas e outro com FC2 e FC3, ambos no Gasômetro, além de um indivíduo com FC2 e FC3 no Saco da Alemoa.

Venturelli (2011) relatou para as três fórmulas cariotípicas marcações heterocromáticas na região pericentromérica dos cromossomos e blocos relativamente mais evidentes na região terminal do braço longo de dois cromossomos submetacêntricos.

Moreira-Filho & Bertollo (1991) relataram o importante papel da heterocromatina na evolução dos cariótipos de peixes, com populações apresentando maiores quantidades de heterocromatina que outras, o que ficou confirmado analisando o complexo *scabripinnis*. O trabalho de Venturelli (2011) é um bom exemplo no complexo *fasciatus*, porque em geral a maioria das populações de *Astyanax fasciatus* apresentam blocos heterocromáticos conspícuos, no entanto, Venturelli (2011) observou que populações do Rio Grande do Sul tem pouca heterocromatina, demonstrando que as populações da Bacia do Atlântico Sul tem características diferentes, sendo portanto outra espécie, corroborando com a sugestão de Melo (2005). Segundo este mesmo autor as populações de *Astyanax fasciatus* da Bacia do Rio Jacuí e do Sul do Brasil constituem *Astyanax* sp. n. “*Guaíba*”.

Desse modo, a caracterização citogenética das populações de *Astyanax* aff. *fasciatus* pode ser empregada em estudos evolutivos, ampliando a compreensão dos rearranjos responsáveis pela variabilidade observada, além de esclarecer problemas taxonômicos e filogenéticos.

1.4 ÁREA DE ESTUDO

A Bacia do Rio Tibagi integra a bacia do alto Rio Paraná, um dos formadores do Rio da Prata. O Rio Tibagi é o principal afluente do Rio Paranapanema, seu curso encontra-se restrito ao estado do Paraná. Estende-se pelo primeiro, o segundo e o

terceiro planalto paranaense, possui 550 quilômetros de extensão e 91 saltos e cachoeiras. Nasce no sul do Paraná, na Serra das Almas, entre Ponta Grossa e Palmeira, a 1.100m de altitude e deságua no reservatório da Usina Hidrelétrica de Capivara, no Rio Paranapanema, a 298m de altitude. Possui 65 tributários diretos e centenas de subafluentes (Medri *et al.*, 2002).

O curso inferior do Tibagi apresenta raros trechos calmos, sem cachoeiras ou corredeiras (França, 2002). O curso superior do Rio Tibagi é influenciado por juntas estruturais características dos arenitos da Formação Furnas, acompanhando ao longo de 42 km uma fenda estrutural vertical, retilínea e profunda. Apresenta em seu leito corredeiras, quedas-d'água e ilhas rochosas (França, 2002).

A Bacia Hidrográfica do Tibagi possui uma área total de 24.937,4 Km² (SEMA, 2007 in Pereira & Scroccaro, 2010), cerca de 13% da área do estado, e encontra-se dividida em duas Unidades Hidrográficas de Gestão de Recursos Hídricos: Alto Tibagi e Baixo Tibagi (Xavier *et al.*, 2010).

Os principais afluentes do Rio Tibagi na margem esquerda são os Ribeirões Taquara, dos Apertados, Jacutinga e Ribeirão Três Bocas. Apesar de próximos os Ribeirões Jacutinga e Três Bocas não possuem conexão. Na margem direita os tributários mais importantes são o Iapó, São Jerônimo e Congonhas (Xavier *et al.*, 2010).

A maior parte da bacia é ocupada por áreas de agricultura intensiva, tanto no Alto quanto no Baixo Tibagi. Ao norte do Alto Tibagi existe uma área de reflorestamento e a concentração urbana e industrial da região de Ponta Grossa. Ao sul do Baixo Tibagi existe a cultura de soja, milho, feijão e trigo e a concentração urbana e industrial da região de Londrina (Xavier *et al.*, 2010).

As bacias hidrográficas dos Ribeirões Jacutinga, Lindóia, Limoeiro, Cambé, Cafezal e Três Bocas localizam-se em Londrina-PR. A origem da poluição das águas do município de Londrina é principalmente orgânica, de esgotos domésticos sem ou com pouco tratamento, a poluição industrial está presente em níveis menores (Xavier *et al.*, 2010).

A partir de 1920 as ações antrópicas começaram a se intensificar, trazendo mudanças nas condições físicas, químicas e biológicas. O desmatamento, o manejo inadequado dos solos e a descarga de esgoto doméstico e industrial prejudicam as populações e o ambiente. Essas atividades geram inundações, assoreamento dos rios e ribeirões, diminuem a produtividade do ecossistema, alteram o regime das chuvas e o clima (Medri *et al.*, 2002).

A microbacia do Ribeirão Três Bocas possui 516,85Km², sua nascente encontra-se nas coordenadas de 23°24'4,7580'' de latitude sul e de 51°25'18,0120'' de

longitude oeste de Grw., no município de Arapongas. A ocupação do solo na região se alterna em áreas urbanizadas e áreas de agricultura (Machado, 2005). Às margens do Ribeirão Três Bocas encontra-se o Parque Ecológico Dr. Daisaku Ikeda, uma Unidade de Conservação criada em Novembro de 1999 e inaugurada em Setembro de 2000. O nome do parque homenageia Dr. Daisaku Ikeda, líder budista, filósofo, poeta e educador, presidente da ONG Soka Gakkai Internacional, filiada à ONU (Prefeitura de Londrina, 2013).

O Parque possui área total de 51,28 alqueires e preserva como ponto turístico a antiga Usina Três Bocas, localizada à aproximadamente doze quilômetros do centro de Londrina, na Rodovia João Alves da Rocha, estrada para o distrito de Maravilha. A cobertura vegetal do parque preserva as matas nativas. Foram identificadas 96 espécies de aves, 12 espécies de mamíferos e 32 espécies de répteis, sendo 3 espécies de cágados, 23 de serpentes, 5 de lagartos e uma anfisbena (Prefeitura de Londrina, 2013).

Yabe & Gimenez (2002) realizaram uma caracterização físico-química da bacia do Rio Tibagi. No encontro das águas do Ribeirão Três Bocas com o Rio Tibagi foi observado alto nível de degradação da qualidade da água, tendo como principais agravantes os dejetos da cidade de Londrina e um porto de areia próximo ao local.

Xavier *et al.* (2010) apresentou dados sobre a qualidade da água do Ribeirão Três Bocas coletada próxima à foz no Rio Tibagi e consideraram a água poluída.

O Ribeirão Jacutinga nasce no município de Cambé e desagua no Rio Tibagi. A Bacia do Jacutinga abrange as cidades de Cambé, Londrina e Ibiporã. Sua mata ciliar é restrita em pequenas áreas ao longo do seu curso. Devido à proximidade com a área urbana, os lotes rurais foram absorvidos pela construção civil. A região dos Cinco Conjuntos acarreta grande quantidade de entulhos e lixo doméstico (Xavier, *et al.*, 2010).

Em 2003 teve início o Programa de Reflorestamento do Ribeirão Jacutinga, conhecido como “Projeto Jacutinga” a partir de um Termo de Ajustamento de Conduta (TAC) entre o Ministério Público do Estado do Paraná, o Instituto Ambiental do Paraná (IAP), a Secretaria Estadual do Meio Ambiente (SEMA), a Companhia Brasileira de Petróleo Ipiranga, a Fundação de Apoio ao Desenvolvimento da Universidade Estadual de Londrina (FAUEL) e a Universidade Estadual de Londrina (UEL). O “Projeto Jacutinga” é responsável pelo reflorestamento da bacia utilizando apenas espécies de árvores nativas da região norte do Paraná.

A captação de água da cidade de Ibiporã é proveniente do Ribeirão Jacutinga, cerca de 80% do total, daí a importância de recuperar a mata ciliar que retém parte dos agrotóxicos usados na lavoura, impedindo que caiam diretamente na água, melhorando,

assim, a sua qualidade (Torezan, 2006). Xavier *et al.* (2010) apresentou dados sobre a qualidade da água do Ribeirão Jacutinga coletada em diferentes regiões dos municípios de Londrina e Ibitiporã com a qualidade variando de boa até muito poluída.

Shibatta *et al.* (2004) fizeram o levantamento da diversidade de peixes da Bacia do Ribeirão Jacutinga. Foram listadas 39 espécies, número que indica alta diversidade quando comparado com outros rios da região.

Estudos citogenéticos realizados no Ribeirão Três Bocas apontaram grande variabilidade intra e interpopulacional de diferentes espécies ali coletadas como, por exemplo, *Bryconamericus aff. exodon* (Paintner-Marques *et al.*, 2002) e *Astyanax aff. fasciatus* (Koguissi, 1995) que apresentam variabilidade estrutural. Desse modo, o presente estudo almeja reavaliar a população de *Astyanax aff. fasciatus* do Ribeirão Três Bocas, Figura 1. Para comparação também decidiu-se analisar a população do Ribeirão Jacutinga, Figura 1, devido a sua importância social e ambiental, além de ser uma localidade próxima ao Ribeirão Três Bocas, mas sem que exista uma ligação entre eles.

Tabela 1 - Espécies novas propostas por Melo (2005) que anteriormente pertenciam ao complexo *Astyanax fasciatus*.

ESPÉCIE	DISTRIBUIÇÃO
<i>Astyanax fasciatus</i> (Cuvier, 1819)	Rio São Francisco
<i>Astyanax</i> sp.n. “Mogi-guaçu”	Rio Moji-Guaçu e alto curso do Rio Paraná
<i>Astyanax</i> sp.n. “Paranaíba”	Rio Paranaíba e alto curso do Rio Paraná
<i>Astyanax</i> sp.n. “Sapucaí”	Alto curso do Rio Grande e alto curso do Rio Paraná
<i>Astyanax</i> sp.n. “Jequiriçá”	Rio Jequiriçá, Rio de Contas e leste do Brasil
<i>Astyanax</i> sp.n. “Pardo”	Rio Pardo, Rio de Contas e leste do Brasil
<i>Astyanax</i> sp.n. “Paraguaçu”	Rio Paraguaçu e leste do Brasil
<i>Astyanax</i> sp.n. “Guaíba”	Bacia do rio Jacuí e sul do Brasil

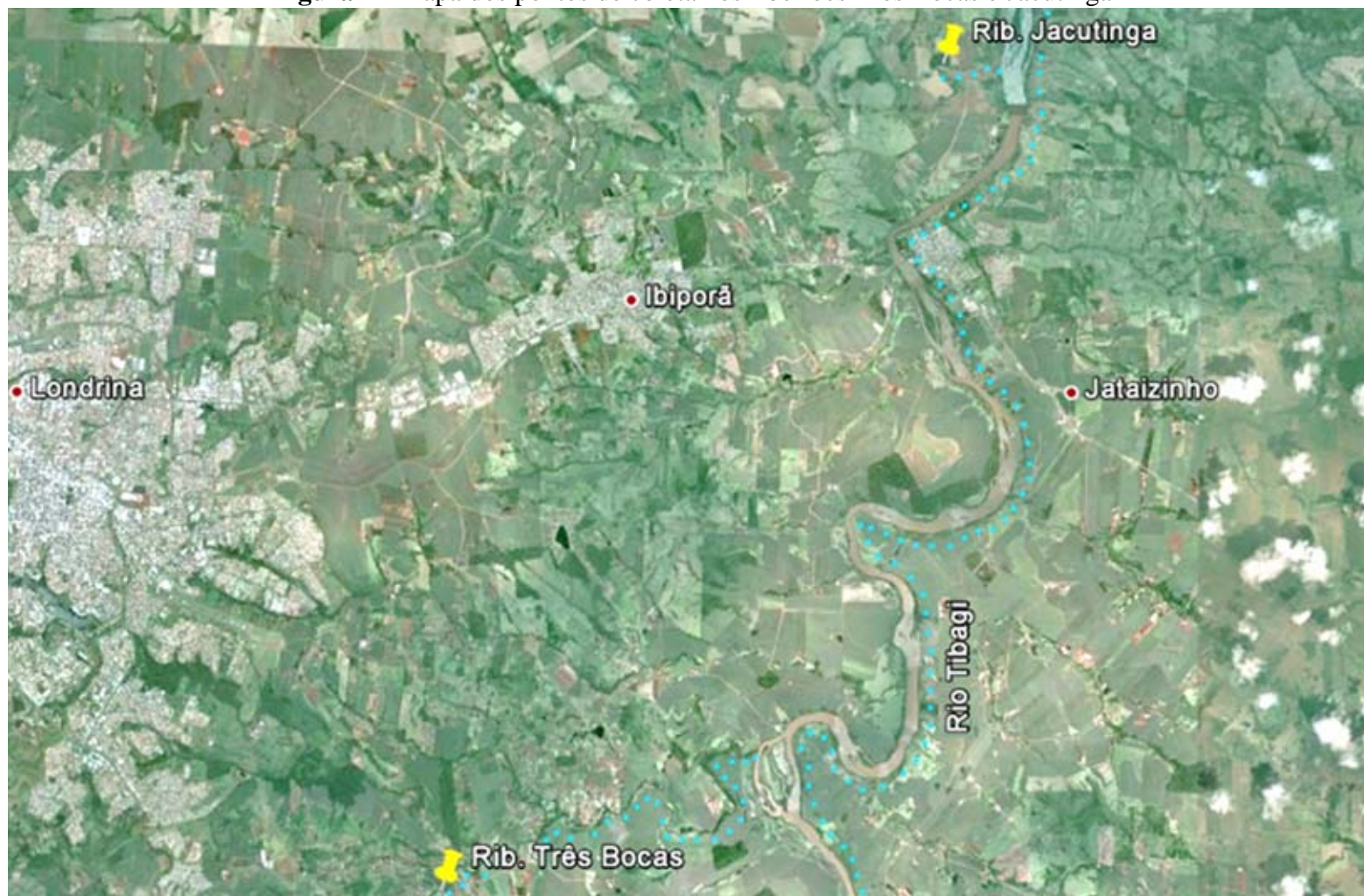
Tabela 2 - Dados citogenéticos descritos para as populações do complexo *Astyanax fasciatus*. Número diploide (2n), cromossomos metacêntricos (m), cromossomos submetacêntricos (sm), cromossomos subteloicêntricos (st), cromossomos acrocêntricos (a), cromossomos B (B), bloco (bl.), cromossomo (cr.), cromossomos (crs.), posição terminal (t), posição intersticial (i), posição biterminal (bit), braço curto (p) e braço longo (q).

BACIAS HIDROGRÁFICAS	LOCAL	2n	m	sm	st	a	B	HETEROCROMATINA	REFERÊNCIAS
Rio São Francisco									
	Córrego da Porta-MG	48	8	10	24	6	-	pericentromérica+alguns bls.t	Justi (1993)
	Rio São Francisco-MG	46	6	24	8	8	-	pericentromérica+alguns bls.t	Justi (1993), Moreira-Filho <i>et al.</i> (2001)
	Rio São Francisco-MG	46	8	22	8	8	-	-	Heras (1998)
		48	10	14	14	10	-		
	Rio São Francisco-MG	46	6	24	8	8	-	-	Moreira-Filho <i>et al.</i> (2001)
		47	6	24	8	8	1		
	Ribeirão Água Limpa, Ribeirão Sujo, Ribeirão das Araras e Ribeirão dos Patos-MG	48	8	20	16	4	-	pericentromérica + par 6, sm, bl, t, p	Peres <i>et al.</i> (2009)
Rio Paraná									
Rio Paranaíba	Rio Araguari - MG	46	14	16	10	6	-	-	Torres-Mariano & Morelli (2006)
Rio Grande	Ribeirão Paiol Grande - SP	48	12	20	12	4	-	-	Heras (1998)
		48	8	22	12	6	-	pericent. + (2 pares, t, p) +(7pares, t, q)	Centofante <i>et al.</i> (2003)
	Rio Grande (Furnas)	48	8	20	16	4	-	pericent.+ (8 a 14 cr sm-st, t, q) + (2 pares a, t, q) + (1par bit)	Peres <i>et al.</i> (2009)
	Rio Piumhi	48	8	20	16	4	-	pericent. + (8 a 14 cr sm-st, t, p) + (1 par a, t, q)	Peres <i>et al.</i> (2009)
	Rio Mogi-Guaçu (Cach. Emas -SP)	45	13	19	10	3	-	sm-st-a,t,p	Daniel-Silva (1996)
		45	12	20	10	3	-	(sm-st-a, t ,p) + (alguns, t, q)	Pazza <i>et al.</i> (2006)
		46	12	20	10	4	-	6 pares sm-st-a, t, p	Paganelli, (1990), Justi (1993), Abel <i>et al.</i> (2006), Daniel-Silva & Almeida-Toledo (2001) e Pazza <i>et al.</i> (2006)
46		14	20	10	2	-	-	Morelli <i>et al.</i> (1983)	
46	8	26	10	2	-	-	Morelli <i>et al.</i> (1983)		

	Rio Mogi-Guaçu (Cach. Emas -SP)	46	12	20	8	6	-	-	Heras (1998)
		46	13	20	8	5	-	-	Heras (1998)
		47	12	21	10	4	-	(sm-st-a, t ,p) + (alguns, t, q)	Daniel-Silva (1996), Pazza <i>et al.</i> (2006)
		47	13	20	8	6	-	-	Heras (1998)
		47	12	19	10	6	-	(sm-st-a, t ,p) + (alguns, t, q)	Pazza <i>et al.</i> (2006)
		47	12	20	10	5	-		
		48	8	22	12	6	-	(sm-st-a, t ,p) + (alguns, t, q)	Pazza <i>et al.</i> (2006), Pazza <i>et al.</i> (2008)
		48	12	20	8	8	-	-	Heras (1998)
	R. Mogi-Guaçu (Barrinha-SP)	46	12	20	10	4	-	6 pares sm-st-a, t, p	Paganelli, (1990), Justi (1993), Abel <i>et al.</i> (2006), Daniel-Silva (1996), Daniel-Silva & Almeida-Toledo (2001) e Pazza <i>et al.</i> (2006)
		48	8	22	12	6	-	(sm-st-a, t ,p) + (alguns, t, q)	Pazza <i>et al.</i> (2006), Pazza <i>et al.</i> (2008)
	Rio Mogi-Guaçu (Araras-SP)	48	8	22	12	6	-	(sm-st-a, t ,p) + (alguns, t, q)	Pazza <i>et al.</i> (2006), Pazza <i>et al.</i> (2008)
	Rio Mogi-Guaçu (Ouro Fino-MG)	47	12	20	10	5	-	(sm-st-a, t ,p) + (alguns, t, q)	Pazza <i>et al.</i> (2006)
		48	8	22	12	6	-	(sm-st-a, t ,p) + (alguns, t, q)	Pazza <i>et al.</i> (2006), Pazza <i>et al.</i> (2008)
	Rio Tietê	R. Piracicaba-SP	46	12	20	10	4	-	pericent.+ (alguns cr sm, st e a, t, q) + (1 par sm, t, p)
B. Funda e Jacaré Guaçu		46	12	20	8	6	-	-	Heras (1998)
Rio Passa-Cinco		46	14	18	10	4	-	-	
Rio Paranapanema									
	Ribeirão Três Bocas-PR	46	26		20		-	(1m-sm) + (11st-a) t, p	Dias & Giuliano-Caetano (2002)
		46	27		19		-	(2m-sm) + (8st-a) t, p	
		46	28		18		-	(3m-sm) + (11st-a) t, p	
		46	30		16		-	(1m-sm) + (11st-a) t, p (8m-sm) + (6st-a) t, p	
		46	34		12		-	[(10m-sm) + (6st-a) t, p] + [1st, i, p]	
	Rio Pirapó-PR	46	12	22	8	4	-	12 crs sm-st-a., t, p	Fernandes (2006)
Angatuba-SP	46	12	20	10	4	-	crs. sm-st-a, t, q	Pazza <i>et al.</i> (2008)	

	Rio Pardo (Botucatu-SP)	46	8	20	10	8	1	-	Ferreira-Neto <i>et al.</i> (2012)
		48	8	28	2	10	-		
		50	8	26	6	10	-		
	Alto Rio Tibagi - PR	48	6	18	14	10	-	bls., t, q, crs. a	Artoni <i>et al.</i> (2006)
		50	8	18	14	10	-	poucos bls., i	
	Lagoa Dourada - PR	50	8	18	14	10	-	poucos bls., i	Artoni <i>et al.</i> (2006)
	Furna 1 e Furna 2 - PR	48	6	18	14	10	-	bls., t, q, crs. a	Artoni <i>et al.</i> (2006)
	Rio Cará-cará -PR	48	6	18	14	10	-	bls., t, q, crs. a	Artoni <i>et al.</i> (2006)
		49	7	18	14	10	-	bls., t, q, crs. a	
		50	8	18	14	10	-	poucos bls., i	
Atlântico Sudeste									
Rio Paraíba do Sul	Rio Paraíba – SP	48	8	18	12	10	-	pericent. + (alguns cr t)	Justi (1993), Heras (1998)
Rio Ribeira do Iguape	Rio Juquiá – SP	48	10	24	12	2	-	-	Morelli <i>et al.</i> (1983)
		48	8	24	14	2	-		
Atlântico Leste									
	Rio das Contas-BA	48	8	24	12	4	-	-	Medrado <i>et al.</i> (2008)
	Rio Preto do Costa- BA	48	8	24	10	6	-		
	Ribeirão Mineiro- BA	48	8	18	16	6	-		
Atlântico Sul									
	Rio Maquiné	46	8	24	14	-	percent. + (2 crs. sm, t)	Venturelli (2011)	
	Sist. Hid. Laguna dos Patos (Gasômetro, Arroio Colombo, Saco da Alemoa)	46	7	24	15	-			
		46	8	22	16	-			
		46	8	24	14	-			

Figura 1 - Mapa dos pontos de coleta nos rios Três Bocas e Jacutinga



2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Reavaliar citogeneticamente a população de *Astyanax* aff. *fasciatus* do Ribeirão Três Bocas analisada previamente por Koguissi (1995) para averiguar quais cariótipos anteriormente encontrados tornaram-se estáveis ou foram eliminados da população e comparar citogeneticamente com a população do Ribeirão Jacutinga, também pertencente á Bacia do Rio Tibagi.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterização cromossômica dos indivíduos;
- Definir o padrão de distribuição da heterocromatina e sua composição química por meio de fluorocromos;
- Comparar os dados atuais com os obtidos por Koguissi (1995).

ARTIGO

**Polimorfismo cromossômico em uma população de *Astyanax aff. fasciatus* Cuvier,
1819 da Bacia do Rio Tibagi-PR**

Este artigo será submetido ao periódico GMR (Genetics and Molecular Research).

**Polimorfismo cromossômico em uma população de *Astyanax aff. fasciatus* Cuvier, 1819
da Bacia do Rio Tibagi-PR**

Lacerda LG de ^{1*} & Giuliano-Caetano L¹

RESUMO

Estudos anteriores realizados na população de *Astyanax aff. fasciatus* do Ribeirão Três Bocas, Bacia do Rio Tibagi, revelaram um número diploide constante de 46 e uma extensa variabilidade estrutural, definindo cinco cariótipos: Cariótipo A com 8m+18sm+20st-a, Cariótipo B com 13m+14sm+19st-a, Cariótipo C com 8m+20sm+18st-a, Cariótipo D com 11m+19sm+16st-a e Cariótipo E com 12m+22sm+12st-a. Os estudos citogenéticos neste ribeirão foram novamente realizados, além do estudo da população de *Astyanax aff. fasciatus*, do Ribeirão Jacutinga, ambas da Bacia do Rio Tibagi. Todos os exemplares apresentaram 2n=46, sem distinção de cromossomos sexuais. Foram encontrados neste estudo quatro fórmulas cariotípicas na população do Rib. Três Bocas, sendo: Cariótipo A 14m+12sm+20st-a, E 18m+16sm+12st-a, F 13m+18sm+15st-a e G 15m+20sm+11st-a. A população do Ribeirão Jacutinga apresentou somente o Cariótipo E. Os Cariótipos A e E já foram relatados na população, sendo o último o cariótipo mais frequente atualmente, no entanto, os cariótipos A e E anteriores possuíam cromossomos não pareados, os atuais podem ter fixado alguns dos rearranjos anteriores uma vez que apresentam todos os cromossomos do complemento pareados. O Cariótipo F (13m+18sm+15st-a) possivelmente se originou do Cariótipo D (11m+19sm+16st-a), não encontrado atualmente. O Cariótipo G (15m+20sm+11st-a) provavelmente originou-se a partir do Cariótipo E (12m+22sm+12st-a) descrito anteriormente através de três inversões pericêntricas. A técnica de Banda C definiu um padrão para cada cariótipo, evidenciando blocos pericentroméricos e blocos bem evidentes nas regiões terminais do braço longo. Corando as metáfases submetidas à técnica de Banda C com fluorocromos base específicos observou-se que o Cariótipo A possui somente heterocromatinas ricas em pares de base CG enquanto os cariótipos E e F apresentaram a maioria dos blocos heterocromáticos ricos em pares de base AT. Também foi possível observar pares com blocos heterocromáticos neutros (corados tanto pelo CMA₃ quanto pelo DAPI). Os dados obtidos corroboram a existência de um complexo de espécie e essa variabilidade cromossômica indica que *Astyanax aff. fasciatus* apresentam uma grande plasticidade cariotípica.

Palavras-chave: *Astyanax*. Complexo de espécie. Variabilidade estrutural. Rio Tibagi.

¹ Laboratório de Citogenética Animal, Departamento de Biologia Geral, CCB, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil

* Autor correspondente: LG de Lacerda. Av. São Paulo, nº 774, apto 1201, CEP 86010060, Londrina/PR, Brasil 0XX43 3028-0718. Email: larilace@gmail.com.

INTRODUÇÃO

A maior parte dos peixes de água doce pertence à família Characidae, considerada uma das maiores, com cerca de 1.031 espécies válidas (Eschmeyer, 2013). A antiga subfamília Tetragonopterinae foi agrupada artificialmente, do ponto de vista filogenético, assim, muitos dos gêneros de Characidae são atualmente tidos como “*Incertae Sedis*” (Lima *et al.*, 2003). Este grupo compreende 88 gêneros taxonomicamente duvidosos com 620 espécies e Lima *et al.* (2003) listaram 86 espécies para o gênero *Astyanax*. De acordo com Eschmeyer (2013) o clado *Astyanax* possui 149 espécies válidas, compreendendo os peixes conhecidos como lambaris, na região sul e como piabas nas regiões central, norte e nordeste do Brasil.

O gênero *Astyanax* é relativamente comum e distribui-se na Região Neotropical (Eigenmann, 1921). Caracteriza-se por sua elevada variabilidade cariotípica, tanto numérica quanto estrutural, com o número diplóide variando de $2n=36$ em *Astyanax schubarti* a $2n=50$, este último o número modal para o gênero (Pazza *et al.*, 2007).

Complexos de espécies já foram propostos no gênero, dentre eles o complexo *Astyanax fasciatus* Cuvier, 1819 proposto por Justí (1993) devido ao grande número de formas morfológicas e de cariótipos descritos para a espécie. Melo (2005) revisou o complexo *A. fasciatus* através da morfologia e recomendou que a denominação *A. fasciatus* deva ser usada apenas para os exemplares da Bacia do Rio São Francisco, as demais populações constituem outras espécies, incluindo espécies novas.

As populações de *A. fasciatus* da Bacia do Rio Tibagi possuem alta variabilidade cariotípica, com número diploide de $2n=46$, 48, 49 e 50 e diferentes fórmulas cariotípicas (Koguissi, 1995; Artoni *et al.*, 2006).

Artoni *et al.* (2006) estudaram quatro populações do alto Rio Tibagi e identificaram três citótipos distintos em simpatria: o Citótipo A apresentou $2n=48$ com $6m+18sm+14st+10a$, os Citótipos B e C apresentaram $2n=50$ com $8m+18sm+14st+10a$, sendo os citótipos diferenciados pelo padrão de distribuição da heterocromatina. Os autores também realizaram análises morfológicas que auxiliaram na separação dos exemplares em três populações, uma de Furnas 2, uma do Rio Tibagi e outra na Lagoa Dourada e Rio Cará-Cará, no entanto, ocorreu uma sobreposição de alguns indivíduos do Rio Tibagi com os da Lagoa Dourada e Rio Cará-Cará. Os dados morfológicos somados aos citogenéticos corroboram que *Astyanax fasciatus* compõem um complexo de espécies, como sugerido por Justí (1993).

Koguissi (1995) analisando *Astyanax aff. fasciatus* do Ribeirão Três Bocas agrupou os cromossomos do tipo metacêntricos e submetacêntricos (m-sm) e dos tipos subteloicêntricos e acrocêntricos (st-a) devido a variação no grau de condensação, descrevendo cinco cariótipos distintos: o Cariótipo A (26m-sm+20st-a), o Cariótipo B (27m-sm+19st-a), o Cariótipo C (28m-sm+18st-a), o Cariótipo D (30m-sm+16st-a) e o Cariótipo E (34m-sm+12st-a), Figura 1. Estes cariótipos também puderam ser discriminados pelo padrão de distribuição da heterocromatina, no entanto, as Regiões Organizadoras do Nucléolo apresentaram-se múltiplas com variação intra e interindividual, não auxiliando na caracterização dos cariótipos.

Diante destes dados, o presente estudo pretende analisar citogeneticamente a população de *Astyanax aff. fasciatus* do Ribeirão Três Bocas visando buscar qual ou quais cariótipos se fixaram ou não na população, além de caracterizar outra população do Ribeirão Jacutinga, ambos pertencentes à Bacia do Rio Tibagi-PR.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados 20 exemplares pertencentes ao Ribeirão Três Bocas (Londrina-PR), coletados abaixo da barragem da Usina Hidrelétrica de Três Bocas, atualmente desativada (23°23'06.6"S e 51°04'35.8"O). Também foram analisados 3 indivíduos do Ribeirão Jacutinga no município de Ibiporã-PR (23°13'25.3"S e 50°58'47.37"O), ambos ribeirões pertencem à margem esquerda do Rio Tibagi-PR, sem que haja conexão entre eles (Figura 2).

A obtenção dos cromossomos mitóticos seguiu a técnica descrita por Bertollo *et al.* (1978) e Fenocchio *et al.* (1991). Antecedendo ao sacrifício os exemplares foram submetidos à indução mitótica segundo Lee & Elder (1980). A técnica de Banda C seguiu protocolo proposto por Sumner (1972), com alterações, sendo os cromossomos corados com Giemsa e fluorocromos CMA₃ e DAPI, de acordo com Schweizer (1980). Para a montagem dos cariótipos adotou-se a nomenclatura proposta por Levan *et al.* (1964) seguindo a relação de braços, sendo os cromossomos classificados em metacêntricos (m), submetacêntricos (sm), e devido ao grau de condensação, foram agrupados os subteloicêntricos e acrocêntricos (st-a).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Koguissi em 1995 analisou a população do Ribeirão Três Bocas e caracterizou cinco cariótipos: Cariótipo A (26m-sm+20st-a), Cariótipo B (27m-sm+19st-a), Cariótipo C (28m-sm+18st-a), Cariótipo D (30m-sm+16st-a) e Cariótipo E (34m-sm+12st-a), Figura 1. Neste estudo, todos os indivíduos analisados apresentaram número diploide de $2n=46$, sem diferença entre os sexos sugerindo a ausência de cromossomos sexuais. A análise atual da população do Ribeirão Três Bocas caracterizou quatro formulas cariotípicas distintas, apresentados na Tabela 1 e na Figura 3: Cariótipo A $14m+12sm+20st-a$, Cariótipo E $18m+16sm+12st-a$, Cariótipo F $13m+18sm+15st-a$ e Cariótipo G $15m+20sm+11st-a$. A população do Ribeirão Jacutinga apresentou somente o Cariótipo E ($18m+16sm+12st-a$).

Na Tabela 1 encontram-se os dados obtidos por Koguissi (1995) e os do presente trabalho e pode-se observar que se os cromossomos meta-submetacêntricos e subtelo-acrocêntricos forem agrupados os Cariótipos A e E são idênticos aos anteriormente encontrados. Os cariótipos A e E foram encontrados por Koguissi (1995) em 25% e 16,7% da população, respectivamente. Atualmente, o Cariótipo A ocorre em 20% dos indivíduos analisados e o Cariótipo E em 45% dos indivíduos. Provavelmente esses cariótipos apresentam uma maior estabilidade meiótica por apresentarem todos os cromossomos do complemento pareados, indicando que os rearranjos anteriores estão fixados na população, Figura 1 e Figura 3.

Nenhum indivíduo no presente estudo apresentou os Cariótipos B, C e D. Estes cariótipos podem ter diminuído sua frequência na população.

Os Cariótipos F e G são frequentes em 20% e 15% da população do Ribeirão Três Bocas, respectivamente, não sendo observados anteriormente nas análises de Koguissi (1995). Ambos os cariótipos apresentam dois cromossomos não pareados no complemento, de acordo com sua morfologia e tamanho.

Dias & Giuliano-Caetano (2002) apresentaram os dados de Koguissi (1995) separando os cromossomos metacêntricos dos submetacêntricos, possibilitando a contagem dos mesmos, Tabela 1 e Figura 1. Dessa forma, o Cariótipo F com $13m+18sm+15st-a$, possivelmente se originou do Cariótipo D com $11m+19sm+16st-a$, onde um cromossomo subtelo-acrocêntrico e um cromossomo submetacêntrico sofreram inversão pericêntrica originando dois cromossomos metacêntricos.

O Cariótipo G com $15m+20sm+11st-a$, por sua vez, provavelmente originou-se do Cariótipo E com $12m+22sm+12st-a$, descrito por Koguissi (1995), a partir de

três inversões pericêntricas ocorridas em um cromossomo subtelo-acrocêntrico e dois cromossomos submetacêntricos, originando três cromossomos metacêntricos.

Foi realizada a análise meiótica de indivíduos do Cariótipo E que apresentou 23 bivalentes, confirmando que não houve alteração no pareamento cromossômico, Figura 4.

Considerando a Tabela 1, nota-se uma tendência atual de aumento no número de cromossomos metacêntricos, ocasionado por inversões pericêntricas.

Comparando os cariótipos da população do Ribeirão Três Bocas, de Koguissi (1995) e os atuais, com os dados existentes na literatura, nota-se que os Cariótipos A (8m+18sm+20st-a) e C (8m+20sm+18st-a), descritos por Koguissi (1995), assemelham-se ao cariótipo de $2n=46$ com 8m+22sm+8st+8a relatado por Heras (1998) para uma população do Rio São Francisco, Tabela 3. O cariótipo de Heras (1998) provavelmente corresponde a uma população de *Astyanax fasciatus*, conforme a análise morfométrica realizada por Melo (2005), Tabela 2.

Os Cariótipos D (11m+19st+16st-a) e E (12m+22sm+12st-a), descritos por Koguissi (1995), e os Cariótipos F (13m+18sm+15st-a) e G (15m+20sm+11st-a), atuais, relacionam-se com os cariótipos de $2n=46$ do Rio Mogi-Guaçu (Tabela 3), principalmente da Cachoeira de Emas, os indivíduos do Rio Mogi-Guaçu correspondem a espécie *Astyanax* sp. n. “Mogi-Guaçu”, proposta por Melo (2005), Tabela 2.

O Cariótipo E (12m+22sm+12st-a) descrito por Koguissi (1995) também se relaciona aos dados descritos para as populações da Bacia do Rio Tietê (Paganelli, 1990; Justi, 1993; Heras, 1998 e Abel *et al.*, 2006), esses exemplares correspondem a uma espécie nova segundo Melo (2005), Tabela 2. Duas populações da Bacia do Rio Paranapanema, uma do Rio Pirapó (Fernandes, 2006) e a outra da cidade de Angatuba-SP (Pazza *et al.*, 2008), também possuem cariótipos relacionados ao Cariótipo E, demonstrando que este encontra-se difundido por três bacias hidrográficas, do Rio Grande, Rio Tietê e Rio Paranapanema (Tabela 3).

Os Cariótipos F (13m+18sm+15st-a) e G (15m+20sm+11st-a), também se aproximam da fórmula cariotípica da população do Rio Passa Cinco, Bacia do Rio Tietê (Tabela 3), Melo (2005) descreve três espécies diferentes que habitam o alto curso do Rio Paraná: *Astyanax* sp.n. “Mogi-guaçu”, *Astyanax* sp.n. “Paranaíba”, *Astyanax* sp.n. “Sapucai” (Tabela 2).

O Cariótipo B (13m+14sm+19st-a) foi exclusivo do Ribeirão Três Bocas.

A variabilidade cariotípica estrutural observada na população do Ribeirão Três Bocas é comum em *Astyanax fasciatus*, conforme relatado por Morelli *et al.* (1983) e

Heras (1998) para a população do Rio Mogi-Guaçu, Tabela 3. Pazza *et al.* (2006) descreveram duas fórmulas cariotípicas para indivíduos com $2n=47$, também no Rio Mogi-Guaçu.

Venturelli (2011) analisando várias populações do Sistema Hidrográfico da Laguna dos Patos verificou que todos os exemplares estudados apresentaram $2n=46$, identificando três fórmulas cariotípicas e três indivíduos apresentaram variação intraindividual, sugerindo um caso de mosaicismos.

Quanto ao padrão de distribuição da heterocromatina na população do Ribeirão Três Bocas, foram identificados blocos pericentroméricos em todos os cromossomos do complemento e blocos terminais conspícuos no braço longo, sendo observado um padrão distinto para cada cariótipo. Estes dados encontram-se plotados na Tabela 4.

Na população do Rio Jacutinga a distribuição dos blocos heterocromáticos coincidiu com a descrita para o Cariótipo E.

Comparando os dados da Tabela 4 nota-se um aumento de blocos heterocromáticos na população do Ribeirão Três Bocas, variando de 10 a 16 cromossomos, segundo Koguissi (1995), para 16 a 22 cromossomos marcados nos cariótipos do presente estudo.

O Cariótipo A do presente estudo possui 22 cromossomos portadores de blocos heterocromáticos, sendo, o par 13 marcado na posição terminal no braço curto e os demais pares marcados na posição terminal do braço longo (pares 3, 5, 9, 10, 12, 14, 16, 17, 19 e 20), Figura 5a. Somente 9 cromossomos apresentaram heterocromatina rica em CG (Figura 5b).

O Cariótipo E de Koguissi (1995) apresentou um padrão diferenciado com 16 cromossomos portadores de blocos heterocromáticos. No Cariótipo E do presente estudo o par 8 apresentou marcação terminal no braço curto, os demais blocos ocorreram na posição terminal do braço longo (pares 3, 10, 11, 12, 13, 14, 19, 20, 21 e 22), Figura 6a. Em algumas metáfases mais distendidas os pares 10, 19 e 20 apresentaram o bloco terminal subdividido, Figura 6b. Apenas dois pares mostraram-se CMA_3^+ , sendo que um par apresentou heterocromatina neutra, Figura 6c. A maioria das marcações foram $DAPI^+$, com cerca de 14 cromossomos marcados, Figura 6d.

O Cariótipo F possui um bloco intersticial no par 10 e os demais blocos em posição terminal do braço longo dos cromossomos (pares 11, 14, 18, 20, 21, 23 e 24), Figura 7a. A maioria das heterocromatinas foram $DAPI^+$, cerca de 8 cromossomos apresentaram

heterocromatina rica em pares de base AT (Figura 7c), e a heterocromatina de um par mostrou-se neutra, Figura 7b e 7d.

É interessante ressaltar a diferença na composição da heterocromatina entre o Cariótipo A e cariótipos E e F, sendo o Cariótipo A exclusivamente rico em pares de base CG e os cariótipos E e F ricos em pares de base AT, indicando a possível existência de famílias de DNA repetitivos distintas.

O Cariótipo G apresenta heterocromatina distribuída apenas nos cromossomos submetacêntricos e subtelo-acrocêntricos na posição terminal do braço longo, no total são 21 blocos distribuídos no cromossomos 5 (que não possui par) e nos pares 10, 11, 13, 15, 16, 17, 20, 21, 22 e 23 (Figura 8).

O Cariótipo E provavelmente é o mais estável e de maior valor adaptativo, uma vez que se encontra com maior frequência no Ribeirão Três Bocas e difundido no Ribeirão Jacutinga. A variabilidade cariotípica encontrada na população do Ribeirão Três Bocas (Bacia do Rio Tibagi) não é exclusiva dessa localidade, ocorrendo com maior intensidade na Bacia do Rio Grande, principalmente no Rio Mogi-Guaçu (Morelli *et al.*, 1983; Paganelli, 1990; Justi, 1993; Heras, 1998; Daniel-Silva & Almeida-Toledo, 2001; Abel *et al.*, 2006 e Pazza, 2006), e no Parque Estadual de Vila Velha-PR (Artoni *et al.*, 2006), também pertencente à Bacia do Rio Tibagi, indicando que *A. fasciatus* suporta rearranjos cromossômicos e que estes, provavelmente, não impedem o fluxo gênico entre os indivíduos, aumentando, assim, a diversidade cariotípica.

A alta capacidade de dispersão somada ao isolamento geográfico deve representar condições de extrema importância para a diversidade relatada neste grupo (Artoni *et al.* 2006). De acordo com Godoy (1959), o gênero *Astyanax* realiza piracema, curtas migrações ascendentes em épocas de cheia. Moretto (2005) observou a concentração de *Astyanax* sp. e *Astyanax* aff. *fasciatus* abaixo da barragem de captação de água no Ribeirão Garcia, em Blumenau-SC, nos meses de Outubro e Novembro. Essa concentração pode ocorrer devido ao aumento de oxigenação da água, que a queda da água através da barragem proporciona, ou mesmo pela interrupção do processo de deslocamento determinado pela barragem (Moretto, 2005).

No Ribeirão Três Bocas as coletas foram realizada abaixo da barragem de uma usina hidrelétrica, uma situação que pode ser equiparada à relatada por Moretto (2005). Desse modo, a variabilidade encontrada no Ribeirão Três Bocas provavelmente pode estar relacionada ao fato de ser um local de reprodução para a espécie.

Outro fato a considerar é a poluição do ambiente aquático. O grande crescimento populacional nas proximidades dos ambientes aquáticos e a expansão da indústria faz com que populações naturais de peixes sejam frequentemente expostas a águas contaminadas (Seeliger & Knak, 1982), o que se aplica tanto para o Ribeirão Três Bocas como para o Ribeirão Jacutinga. Segundo Yabe & Gimenez (2002) e Xavier *et al.* (2010) a origem da poluição das águas do município de Londrina é principalmente orgânica, de esgotos domésticos sem ou com pouco tratamento, a poluição industrial está presente em níveis menores.

Xavier *et al.* (2010) realizaram análises da qualidade da água do Ribeirão Três Bocas coletada próxima à foz no Rio Tibagi, sendo considerada poluída. A qualidade da água do Ribeirão Jacutinga coletada em diferentes regiões dos municípios de Londrina e Ibiporã teve sua qualidade variando de boa até muito poluída, influência da proximidade com a área urbana dos Cinco Conjuntos onde existem pontos de descarga de entulho e lixo doméstico (Xavier *et al.*, 2010).

O aumento na contaminação dos ecossistemas aquáticos tem causado severas alterações morfológicas e fisiológicas em organismos aquáticos (Mazon *et al.*, 1999). Winkaler *et al.* (2001) realizaram análises histológicas em exemplares de *Astyanax aff. fasciatus* do Ribeirão Três Bocas observando poucas alterações histopatológicas, no entanto, outras alterações na estrutura branquial, foram identificadas como hiperplasia, hipertrofia e dilatação do canal marginal.

De acordo com Hinton *et al.* (1992) as alterações histopatológicas sofridas em tecidos de peixes são biomarcadores da exposição a estressores ambientais que sinalizam os efeitos da exposição a um ou mais agentes tóxicos. Segundo Laurent & Perry (1991), as alterações morfológicas das brânquias, em resposta a mudanças ambientais, podem representar estratégias adaptativas para a conservação de algumas funções fisiológicas. Desse modo, os tipos de lesões histopatológicas observadas por Winkaler *et al.* (2001) indicam que os peixes estão respondendo aos efeitos de agentes tóxicos presentes na água e sedimento.

Em um ambiente degradado, particularmente onde poluentes ocorrem em concentrações crônicas e subletais, mudanças na estrutura e função de organismos aquáticos são mais frequentes do que mortalidade em massa (Lopes, 2006). Desse modo, os poluentes presentes no Ribeirão Três Bocas poderiam favorecer alterações cromossômicas estruturais, mas pelo observado, durante anos, exemplares com número diploide superiores a 46 não são encontrados, desta forma rearranjos que levam a alterações cromossômicas numéricas não são viáveis na região.

Assim, *Astyanax* aff. *fasciatus* do Ribeirão Três Bocas apresenta ampla variabilidade estrutural provavelmente devido a uma soma de fatores. O comportamento de viver em cardumes e realizar piracema auxilia na diversidade da espécie e, ao procurar locais bem oxigenados, os cardumes encontram na região logo abaixo da barragem da Usina do Ribeirão Três Bocas um local propício para a reprodução da espécie, proporcionando o fluxo gênico e o aumento da variabilidade estrutural observada, com um possível agravante, a poluição das águas dos ribeirões. O que atrai a atenção não é a variabilidade cariotípica em si, que não é exclusiva do Ribeirão Três Bocas, mas sim a ausência de variabilidade numérica que em teoria deveria ser observada quando se realiza os cruzamentos entre os cariótipos, no entanto, algum fator ambiental ou mecanismos pós-zigóticos dificultam a viabilidade de indivíduos com número diploide diferente de 46.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem as professoras Dr^a. Ana Lucia Dias, Dr^a. Ana Luiza de Brito Portela e Castro e Dr^a. Renata da Rosa pelas contribuições e a Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abel LDS, MantovanI M., Moreira-Filho O (2006). Chromosomal distribution of the As51 satellite DNA in two species complexes of the genus *Astyanax* (Pisces, Characidae). *Genetics and Molecular Biology*, 29(3): 448-452.

Artoni RF, Shibatta OA, Gross MC, Schneider CH, Almeida MC de, Vicari MR, Bertollo LAC (2006). *Astyanax* aff. *fasciatus* Cuvier, 1819 (Teleostei; Characidae): evidences of a species complex in upper rio Tibagi basin (Paraná, Brazil). *Neotrop. Ichthyol.* 4(2): 197-202.

Bertollo LAC, Takahashi CS, Moreira-Filho O (1978). Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). *Rev. Brasil. Genet.* 1: 103-120.

Centofante L, Bertollo LAC, Justi AJ, Moreira-Filho O (2003). Correlation of chromosomal and morfologic characters in two *Astyanax* species (Teleostei: Characidae). *Ichthyol. Explor. Freshwaters* Vol. 14, n^o4, pp. 361-368.

Daniel-Silva MFZ (1996). Estudos citogenéticos comparativos em quatro espécies do gênero *Astyanax* (Pisces, Characidae). Dissertação de Mestrado, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, IB/USP, São Paulo.

Daniel-Silva MFZ, Almeida-Toledo LF (2001). Chromosome R-banding pattern and conservation of a marker chromosome in four species, genus *Astyanax* (Characidae, Tetragonopterinae). *Caryologia* 54, 209-215.

Dias AL, Guiliano-Caetano L (2002). Citogenética de alguns grupos de peixes do rio Tibagi. In: A Bacia do Rio Tibagi (Medri ME, Bianchini E, Shibatta AO e Pimenta JÁ, eds.). Londrina, 473-530.

Eigenmann CH (1921). The American Characidae. Memoirs of the Museum of Comparative Zoology, Harvard College.

Eschmeyer WN (2013). Catalog of Fishes. Disponível em [\[http://research.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp\]](http://research.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp). Acessado Janeiro, 2013.

Fenocchio AS, Venere PC, Cesar ACG, Dias AL, Bertollo LAC (1991). Short term culture from solid tissues of fish. *Caryologia* vol.44, n2, 161-166.

Fernandes CA (2006). Estudos citogenéticos em três espécies do gênero *Astyanax*, com ênfase no DNA ribossomal. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR.

Ferreira-Neto M, Artoni RF, Vicari MR, Moreira-Filho O, Camacho JPM, Bakkali M, Oliveira C, Foreti F (2012). Tree sympatric karyomorphs in the fish *Astyanax fasciatus* (Teleostei, Characidae) do not seem to hybridize in natural populations. *Comparative Cytogenetics* vol. 6, n. 1, 29-40.

Godoy M P (1959). Age, growth, sexual maturity, behavior, migration, tagging and transplantation of curimatá (*Prochilodus scrota steindachner*, 1881) of Mogi Guassú river, São Paulo State, Brasil. In: Anais da Academia Brasileira de Ciências, n. 31, São Paulo.

Heras MP (1998). Estudos citogenéticos em *Astyanax fasciatus* (Pisces, Characidae) de rios do Brasil. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

Hinton DE (1992). Histopathologic biomarkers. In: Biomarkers. Biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress (Hugget RJ, ed.). Lewis Publishers, Boca Raton, 155-209.

Justi AJ (1993). Caracterização cariotípica de populações de *Astyanax fasciatus* (Cuvier, 1819), Pisces, Characidae, em três bacias hidrográficas. Tese de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil.

Koguissi NA (1995). Estudo citogenético da espécie *Astyanax* sp provenientes do Ribeirão Três Bocas – Londrina/PR. Monografia, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR.

Laurent P e Perry SF (1991). Environmental effects on fish gill morphology. *Physiol. Zool.*, Chicago, v.64, 4-25.

Lee MR e Elder FFB (1980). Yeast stimulation of bone marrow mitosis for cytogenetic investigations. *Cytogenetic and Genome Research* vol.26, n.1, 36-40.

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

Lima FCT, Malabarba LR, Buckup PA, Silva JFP, Vari RP, Harold A, Benine R, Oyakawa OT, Pavanelli CS, Menezes NA, Lucena CAS, Malabarba MCSL, Lucena ZMS, Reis RE, Langeani F, Cassati L, Bertaco VA, Moreira C e Lucinda PHF. Genera *Incertae sedis* in Characidae. In: Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America (Reis RE, Kullander SO e Ferraris Jr, CJ, eds.). EDIPUCRS, Porto Alegre, 106-169.

Lopes FF (2006). Monitoramento ambiental da bacia hidrográfica do Lago Guaíba-RS-Brasil, através da utilização de diferentes metodologias aplicadas a taxocenoses de peixes. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

Mazon AF, Cerqueira CCC, Monteiro EAS e Fernandes MN (1999). Acute copper exposure in freshwater: morphological and physiological effects. In: Biology of tropical fishes (Val AL e Almeida-Val VM, eds.). Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia, Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas, 263-275.

Medrado AS, Figueiredo AVA, Waldshmidt AM, Affonso PRAM, Carneiro PLS (2008). Cytogenetic and morfological diversity in populations of *Astyanax fasciatus* (Teleostei, Characidae) from Brazilian northeastern river basins. *Genetics and Molecular Biology* vol. 31, n 1, 208-214.

Melo FAG de (2005). Revisão taxonômica do complexo de espécies *Astyanax fasciatus* (Cuvier, 1819) (Teleostei: Characiformes: Characidae). Tese de Doutorado, Museu Nacional, Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ.

Moreira-Filho O, Fenocchio AS, Pastori MC, Bertollo LAC (2001). Occurrence of a Metacentric Macrochromosome B in different species of the genus *Astyanax* (Pisces, Characidae, Tetragonopterinae). *Cytologia* 66: 59-64.

Morelli S (1981). Aspectos citogenéticos do gênero *Astyanax* (Pisces, Characidae). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Ciências Biológicas.

Morelli S, Bertollo LAC, Foresti F, Moreira-Filho O e Toledo-Filho SA (1983). Cytogenetic considerations on the genus *Astyanax* Pisces, Characidae). I. Karyotypic variability. *Caryologia* 36(3): 235-244.

Moretto A (2005). Análise da eficiência da escada para peixes no ribeirão Garcia no município de Blumenau/SC. Dissertação de Mestrado, Universidade Regional de Blumenau (FURB), Blumenau-SC.

Paganelli HH (1990). Diversidade cromossômica no gênero *Astyanax*, com especial referência a *A. bimaculatus* (Linnaeus, 1758). Considerações citotaxonômicas e evolutivas. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

Paintner-Marques TR, Giuliano-Caetano L e Dias A. (2002). Karyotypic Diversity in a *Bryconamericus* aff. *exodon* Population (Characidae, Tetragonopterinae). *Cytologia* vol. 67, nº 4, 397-402.

Pazza R, Kavalco KF e Bertollo LAC (2006). Chromosomo Polymorphism in *Astyanax fasciatus* (Teleostei, Characidae). I. Karyotype Analysis, Ag-NORs and mapping of the 18S and 5S ribosomal genes in Sympatric Karyotypes and their Possible Hybrid Forms. *Cytogenetic and Genome Research* 112: 313-319.

Pazza R, Kavalco KF e Bertollo LAC (2007). Chromosomal evolution in the neotropical Characin *Astyanax* (Teleostei, Characidae). *The nucleus* 50 (3): 519-543.

Pazza R, Kavalco SAF, Penteados PR, Kavalco KF e Almeida-Toledo LF (2008). The species complex *Astyanax fasciatus* (Teleostei, Characiformes)-a multidisciplinary approach. *Journal of Fish Biology* vol. 72, 2002-2010.

Peres WAM, Buckup PA, Kantek DLZ, Bertollo LAC e Moreira-Filho O (2009). Chromosomal evidence of downstream dispersal of *Astyanax fasciatus* (Characiformes, Characidae) associated with river shed interconnection. *Genetica* vol. 137, 305-311.

Schweizer D (1980). Simultaneous fluorescent staining of R bands and specific heterochromatic regions (DA DAPI-bands) in human chromosomes. *Cytogenet Cell Genet* 27:190-193.

Seelinger UE e Knak RB (1982). Origin and concentration of copper and mercury in water and biota of the Patos Lagoon estuary, Brazil. *Atlântica* 5:35-42.

Sumner AMT (1972). A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp. Cell Res.* 75: 304-306.

Torres-Mariano AR e Morelli S (2006). Chromosomal analysis of *Astyanax fasciatus* (Pisces, Characidae) from the Araguari River, Uberlândia, MG, Brazil. *Braz. J. Biol.* 66(1A): 161-165.

Venturelli NB (2011). Estudo Citogenético em espécies de peixes pertencentes às bacias hidrográficas do Rio Paraná e Atlântico Sul. Monografia, Universidade Estadual de Londrina. Londrina-PR.

Winkaler EU, Silva AG, Galindo HC e Martinez CBR (2001). Biomarcadores histológicos e fisiológicos para o monitoramento da saúde de peixes de ribeirões de Londrina, Estado do Paraná. *Acta Scientiarum* v. 23, n. 2, p. 507-514.

Xavier CF, Motter E, Gonçalves GWPS e Dias LN (2010). Monitoramento da qualidade das águas de microbacias urbanas, na região metropolitana de Londrina, norte do Estado do Paraná, no período de 2005 a 2009. Produção. Instituto Ambiental do Paraná, Curitiba.

Yabe MJS e Gimenez SMN (2002). Caracterização físico-química da água da bacia do rio Tibagi. In: A Bacia do Rio Tibagi (Medri ME, Bianchini E, Shibatta AO e Pimenta JÁ, eds.) Londrina-PR, 355-365.

Tabela 1 - Cariótipos descritos na população de *Astyanax aff. fasciatus* do Ribeirão Três Bocas. Metacêntrico (m), submetacêntrico (s), subtlocêntrico (st), acrocêntrico (a).

CARIÓTIPOS	QUANTIDADE DE CROMOSSOMOS				FONTE
	m-sm	m	sm	st-a	
A	26	8	18	20	Koguissi (1995) Dias & Giuliano-Caetano (2002)
	26	14	12	20	Presente Estudo
B	27	13	14	19	Koguissi (1995) Dias & Giuliano-Caetano (2002)
C	28	8	20	18	Koguissi (1995) Dias & Giuliano-Caetano (2002)
D	30	11	19	16	Koguissi (1995) Dias & Giuliano-Caetano (2002)
E	34	12	22	12	Koguissi (1995) Dias & Giuliano-Caetano (2002)
	34	18	16	12	Presente Estudo
F	31	13	18	15	Presente Estudo
G	35	15	20	11	Presente Estudo

Tabela 2 - Espécies novas propostas por Melo (2005) que anteriormente pertenciam ao complexo *Astyanax fasciatus*.

ESPÉCIE	DISTRIBUIÇÃO
<i>Astyanax fasciatus</i> (Cuvier, 1819)	Rio São Francisco
<i>Astyanax</i> sp.n. “Mogi-guaçu”	Rio Moji-Guaçu e alto curso do Rio Paraná
<i>Astyanax</i> sp.n. “Paranaíba”	Rio Paranaíba e alto curso do Rio Paraná
<i>Astyanax</i> sp.n. “Sapucaí”	Alto curso do Rio Grande e alto curso do Rio Paraná
<i>Astyanax</i> sp.n. “Jequiriçá”	Rio Jequiriçá, Rio de Contas e leste do Brasil
<i>Astyanax</i> sp.n. “Pardo”	Rio Pardo, Rio de Contas e leste do Brasil
<i>Astyanax</i> sp.n. “Paraguaçu”	Rio Paraguaçu e leste do Brasil
<i>Astyanax</i> sp.n. “Guaíba”	Bacia do rio Jacuí e sul do Brasil

Tabela 3 - Dados citogenéticos descritos para as populações do complexo *Astyanax fasciatus*. Número diploide (2n), cromossomos metacêntricos (m), cromossomos submetacêntricos (sm), cromossomos subteloicêntricos (st), cromossomos acrocêntricos (a), cromossomos B (B), bloco (bl.), cromossomo (cr.), cromossomos (crs.), posição terminal (t), posição intersticial (i), posição biterminal (bit), braço curto (p) e braço longo (q).

BACIAS HIDROGRÁFICAS	LOCAL	2n	m	sm	st	a	B	HETEROCROMATINA	REFERÊNCIAS
Rio São Francisco									
	Córrego da Porta-MG	48	8	10	24	6	-	pericentromérica+alguns bls.t	Justi (1993)
	Rio São Francisco-MG	46	6	24	8	8	-	pericentromérica+alguns bls.t	Justi (1993), Moreira-Filho <i>et al.</i> (2001)
	Rio São Francisco-MG	46	8	22	8	8	-	-	Heras (1998)
		48	10	14	14	10	-		
	Rio São Francisco-MG	46	6	24	8	8	-	-	Moreira-Filho <i>et al.</i> (2001)
		47	6	24	8	8	1		
	Ribeirão Água Limpa, Ribeirão Sujo, Ribeirão das Araras e Ribeirão dos Patos-MG	48	8	20	16	4	-	pericentromérica + par 6, sm, bl, t, p	Peres <i>et al.</i> (2009)
Rio Paraná									
Rio Paranaíba	Rio Araguari - MG	46	14	16	10	6	-	-	Torres-Mariano & Morelli (2006)
Rio Grande	Ribeirão Paiol Grande - SP	48	12	20	12	4	-	-	Heras (1998)
		48	8	22	12	6	-	pericent. + (2 pares, t, p) +(7pares, t, q)	Centofante <i>et al.</i> (2003)
	Rio Grande (Furnas)	48	8	20	16	4	-	pericent.+ (8 a 14 cr sm-st, t, q) + (2 pares a, t, q) + (1par bit)	Peres <i>et al.</i> (2009)
	Rio Piumhi	48	8	20	16	4	-	pericent. + (8 a 14 cr sm-st, t, p) + (1 par a, t, q)	Peres <i>et al.</i> (2009)
	Rio Mogi-Guaçu (Cach. Emas -SP)	45	13	19	10	3	-	sm-st-a,t,p	Daniel-Silva (1996)
		45	12	20	10	3	-	(sm-st-a, t ,p) + (alguns, t, q)	Pazza <i>et al.</i> (2006)
		46	12	20	10	4	-	6 pares sm-st-a, t, p	Paganelli, (1990), Justi (1993), Abel <i>et al.</i> (2006), Daniel-Silva & Almeida-Toledo (2001) e Pazza <i>et al.</i> (2006)
		46	14	20	10	2	-	-	Morelli <i>et al.</i> (1983)
46		8	26	10	2	-	-	Morelli <i>et al.</i> (1983)	

	Rio Mogi-Guaçu (Cach. Emas -SP)	46	12	20	8	6	-	-	Heras (1998)
		46	13	20	8	5	-	-	Heras (1998)
		47	12	21	10	4	-	(sm-st-a, t ,p) + (alguns, t, q)	Daniel-Silva (1996), Pazza <i>et al.</i> (2006)
		47	13	20	8	6	-	-	Heras (1998)
		47	12	19	10	6	-	(sm-st-a, t ,p) + (alguns, t, q)	Pazza <i>et al.</i> (2006)
		47	12	20	10	5	-		
		48	8	22	12	6	-	(sm-st-a, t ,p) + (alguns, t, q)	Pazza <i>et al.</i> (2006), Pazza <i>et al.</i> (2008)
		48	12	20	8	8	-	-	Heras (1998)
	R. Mogi-Guaçu (Barrinha-SP)	46	12	20	10	4	-	6 pares sm-st-a, t, p	Paganelli, (1990), Justi (1993), Abel <i>et al.</i> (2006), Daniel-Silva (1996), Daniel-Silva & Almeida-Toledo (2001) e Pazza <i>et al.</i> (2006)
		48	8	22	12	6	-	(sm-st-a, t ,p) + (alguns, t, q)	Pazza <i>et al.</i> (2006), Pazza <i>et al.</i> (2008)
	Rio Mogi-Guaçu (Araras-SP)	48	8	22	12	6	-	(sm-st-a, t ,p) + (alguns, t, q)	Pazza <i>et al.</i> (2006), Pazza <i>et al.</i> (2008)
	Rio Mogi-Guaçu (Ouro Fino-MG)	47	12	20	10	5	-	(sm-st-a, t ,p) + (alguns, t, q)	Pazza <i>et al.</i> (2006)
		48	8	22	12	6	-	(sm-st-a, t ,p) + (alguns, t, q)	Pazza <i>et al.</i> (2006), Pazza <i>et al.</i> (2008)
	Rio Tietê	R. Piracicaba-SP	46	12	20	10	4	-	pericent.+ (alguns cr sm, st e a, t, q) + (1 par sm, t, p)
B. Funda e Jacaré Guaçu		46	12	20	8	6	-	-	Heras (1998)
Rio Passa-Cinco		46	14	18	10	4	-	-	
Rio Paranapanema									
	Ribeirão Três Bocas-PR	46	26		20		-	(1m-sm) + (11st-a) t, p	Dias & Giuliano-Caetano (2002)
		46	27		19		-	(2m-sm) + (8st-a) t, p	
		46	28		18		-	(3m-sm) + (11st-a) t, p	
		46	30		16		-	(1m-sm) + (11st-a) t, p (8m-sm) + (6st-a) t, p	
		46	34		12		-	[(10m-sm) + (6st-a) t, p] + [1st, i, p]	
	Rio Pirapó-PR	46	12	22	8	4	-	12 crs sm-st-a., t, p	Fernandes (2006)
Angatuba-SP	46	12	20	10	4	-	crs. sm-st-a, t, q	Pazza <i>et al.</i> (2008)	

	Rio Pardo (Botucatu-SP)	46	8	20	10	8	1	-	Ferreira-Neto <i>et al.</i> (2012)
		48	8	28	2	10	-		
		50	8	26	6	10	-		
	Alto Rio Tibagi - PR	48	6	18	14	10	-	bls., t, q, crs. a	Artoni <i>et al.</i> (2006)
		50	8	18	14	10	-	poucos bls., i	
	Lagoa Dourada - PR	50	8	18	14	10	-	poucos bls., i	Artoni <i>et al.</i> (2006)
	Furna 1 e Furna 2 - PR	48	6	18	14	10	-	bls., t, q, crs. a	Artoni <i>et al.</i> (2006)
	Rio Cará-cará -PR	48	6	18	14	10	-	bls., t, q, crs. a	Artoni <i>et al.</i> (2006)
		49	7	18	14	10	-	bls., t, q, crs. a	
		50	8	18	14	10	-	poucos bls., i	
Atlântico Sudeste									
Rio Paraíba do Sul	Rio Paraíbauna – SP	48	8	18	12	10	-	pericent. + (alguns cr t)	Justi (1993), Heras (1998)
Rio Ribeira do Iguape	Rio Juquiá – SP	48	10	24	12	2	-	-	Morelli <i>et al.</i> (1983)
		48	8	24	14	2	-		
Atlântico Leste									
	Rio das Contas-BA	48	8	24	12	4	-	-	Medrado <i>et al.</i> (2008)
	Rio Preto do Costa- BA	48	8	24	10	6	-		
	Ribeirão Mineiro- BA	48	8	18	16	6	-		
Atlântico Sul									
	Rio Maquiné	46	8	24	14	-	percent. + (2 crs. sm, t)	Venturelli (2011)	
	Sist. Hid. Laguna dos Patos (Gasômetro, Arroio Colombo, Saco da Alemoa)	46	7	24	15	-			
		46	8	22	16	-			
		46	8	24	14	-			

Tabela 4 - Quantidade de cromossomos com blocos heterocromáticos nos diferentes cariótipos de *Astyanax aff. fasciatus* do Ribeirão Três Bocas. Dados de Koguissi (1995) e do presente estudo.

Cariótipo	Quantidade de Cromossomos com Blocos Heterocromáticos				Total de Blocos Heterocromáticos	Referências
	m	sm	m-sm	st-a		
A			1	11	12	Koguissi (1995)
	4	8	12	10	22	Presente Estudo
B			2	8	10	Koguissi (1995)
C			3	11	14	Koguissi (1995)
D			1	11	12	Koguissi (1995)
			8	6	14	Koguissi (1995)
E			10	6	16	Koguissi (1995)
	4	10	14	8	22	Presente Estudo
F	-	6	6	10	16	Presente Estudo
G	-	13	13	8	21	Presente Estudo

Figura 1 - Cariótipos descritos por Koguissi (1995) para a população de *Astyanax* aff. *fasciatus* do Ribeirão Três Bocas: Cariótipo A (26m-sm+20st-a), Cariótipo B (27m-sm+19st-a), Cariótipo C (28m-sm+18st-a), Cariótipo D (30m-sm+16st-a) e Cariótipo E (34m-sm+12st-a). Fonte: Dias & Giuliano-Caetano (2002).

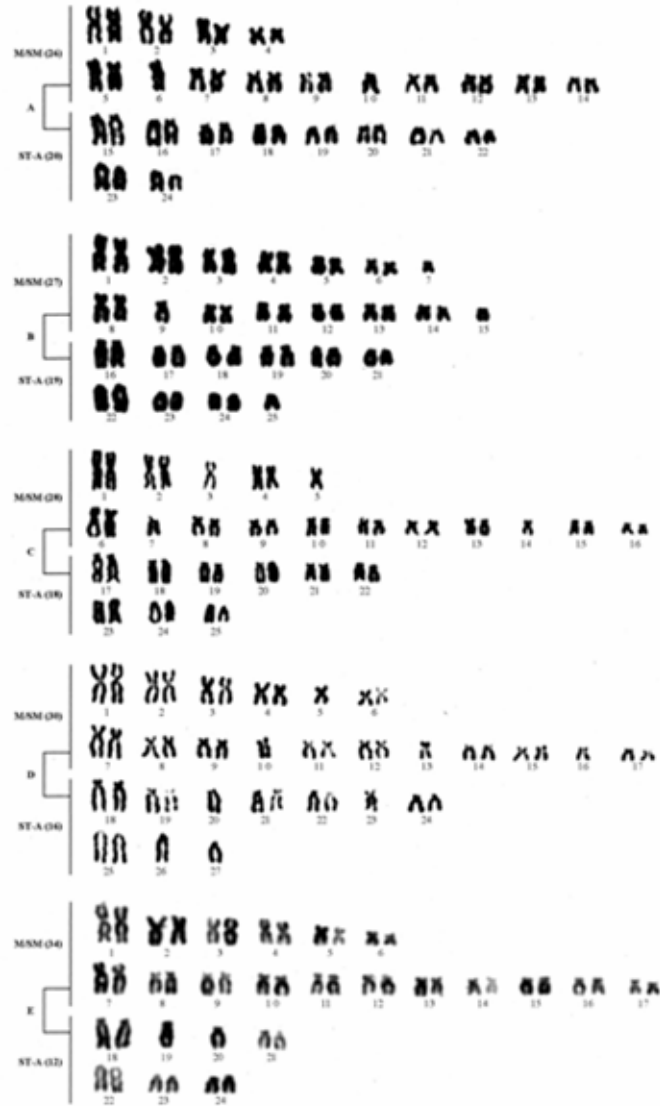


Figura 2 - Mapas com a localização dos ribeirões Três Bocas e Jacutinga e imagem de um exemplar de *Astyanax aff. fasciatus* coletado nestas regiões.

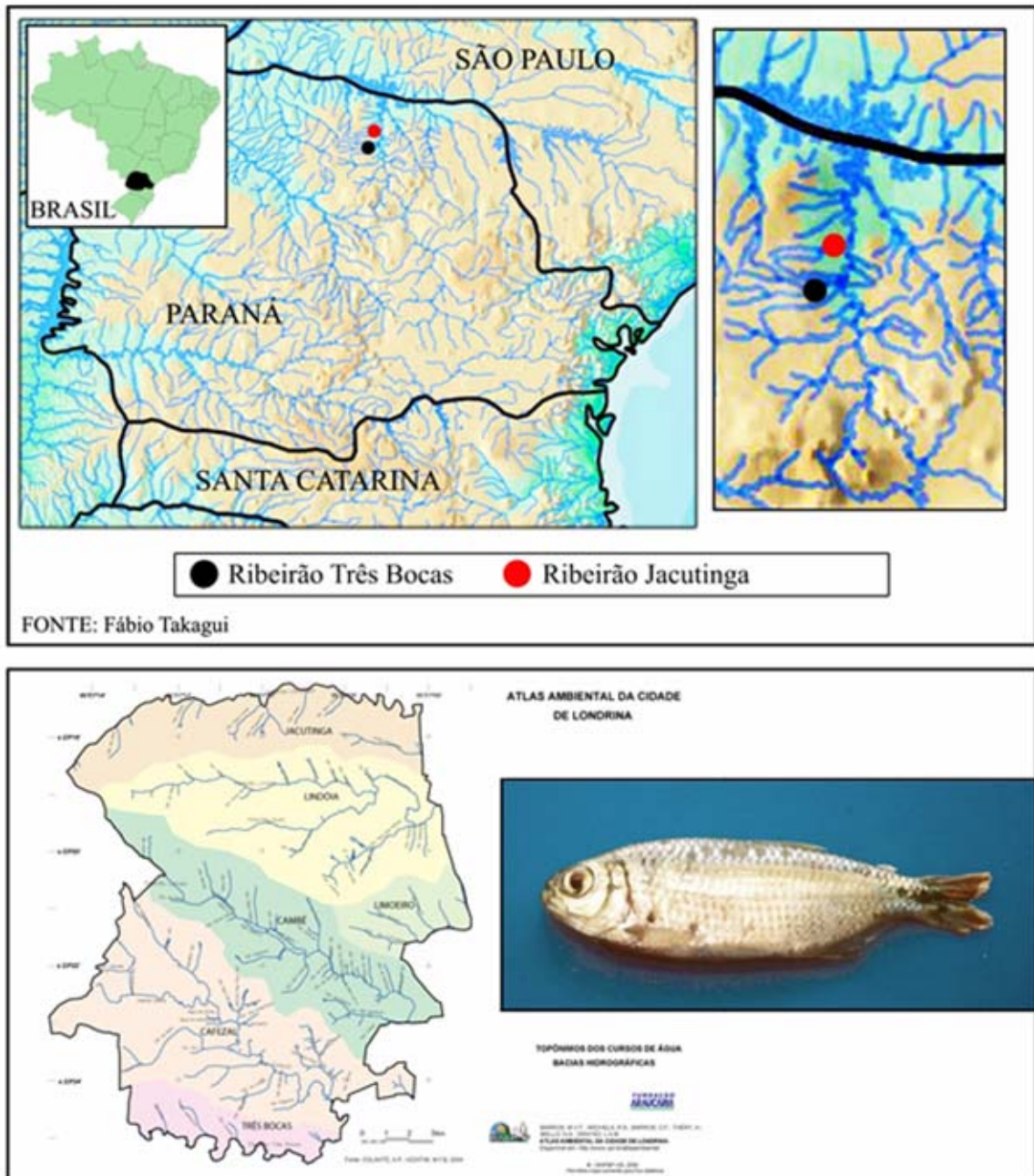


Figura 3 - Cariótipos de *Astyanax* aff. *fasciatus* encontrados no presente estudo. Cariótipo A com 14m+12sm+20st-a, Cariótipo E com 18m+16sm+12st-a, Cariótipo F com 13m+18sm+15st-a e Cariótipo G com 15m+20sm+11st-a.

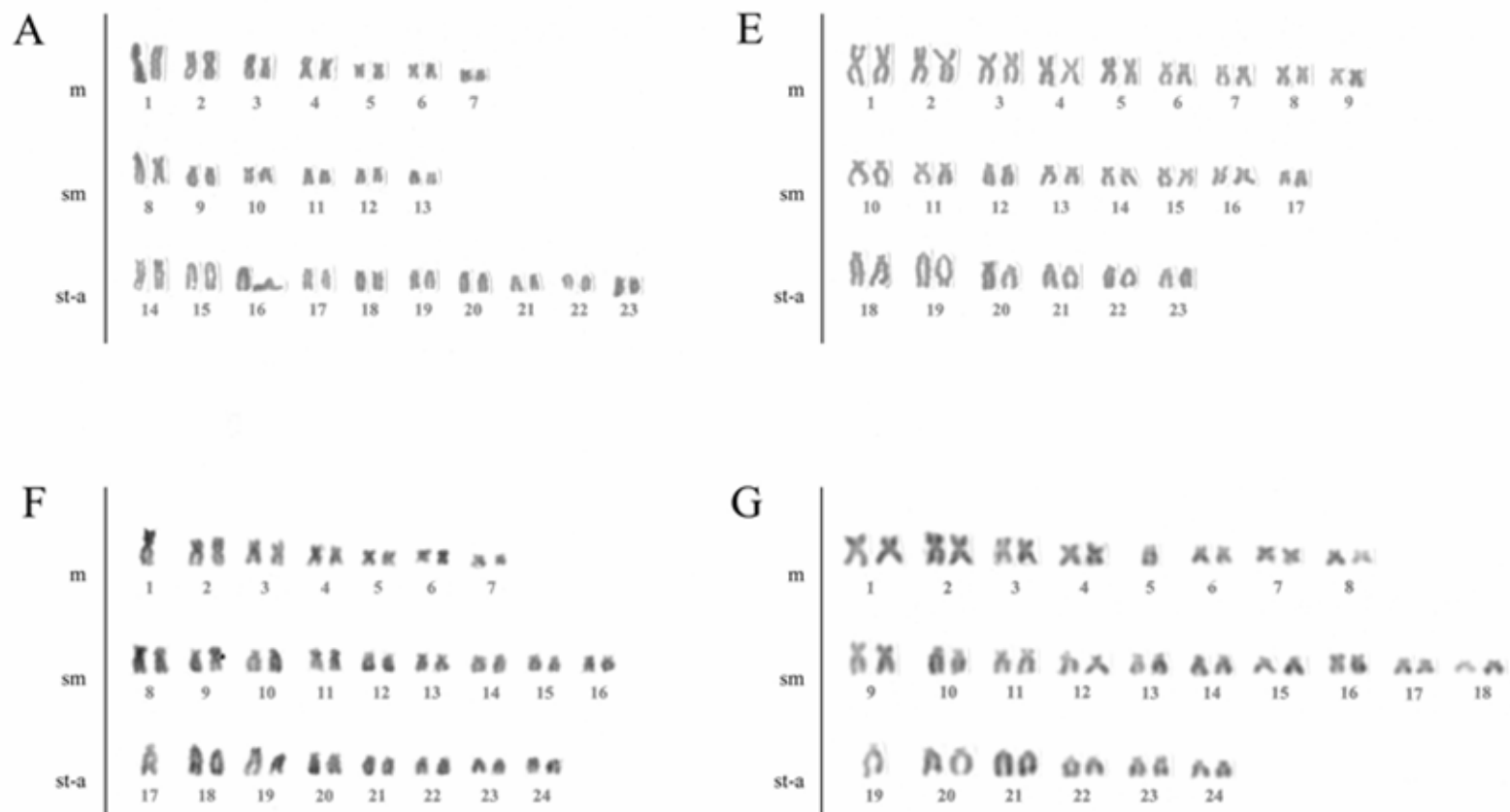


Figura 4 - Células meióticas de indivíduos de *Astyanax* aff. *fasciatus* do Cariótipo E. Em A e B observam-se metáfases I e em C e D paquítenos.

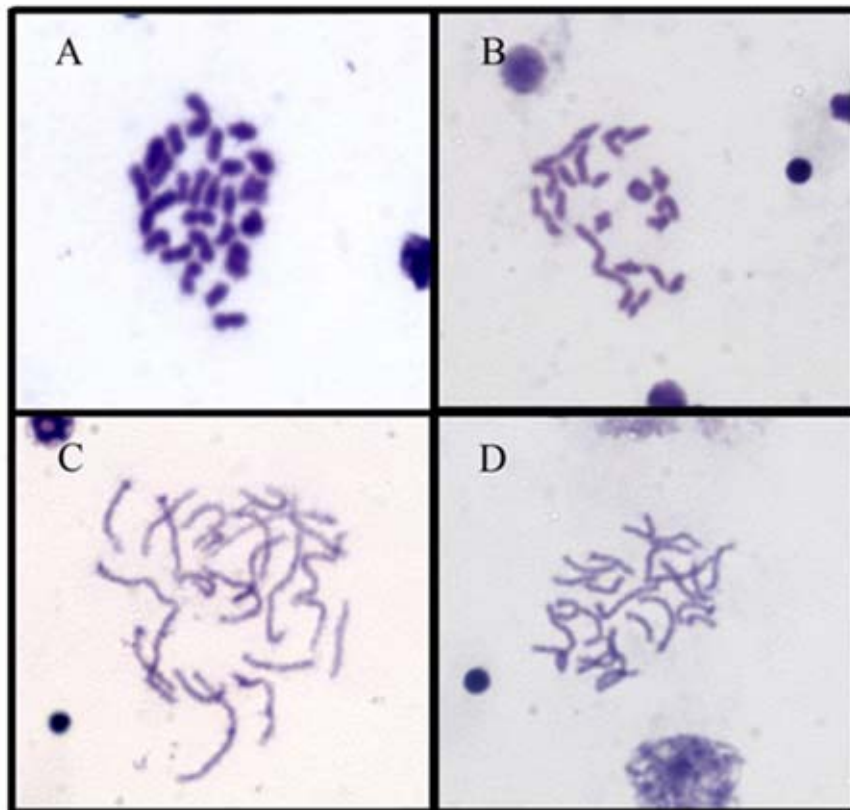


Figura 5 - Cariótipo A de *Astyanax aff. fasciatus*: em a) Padrão de distribuição da Banda C; b) metáfase somáticas com Banda C corada com CMA₃ e c) metáfase somática com Banda C corada com DAPI. Nota-se que este cariótipo possui heterocromatina exclusivamente CMA₃⁺.

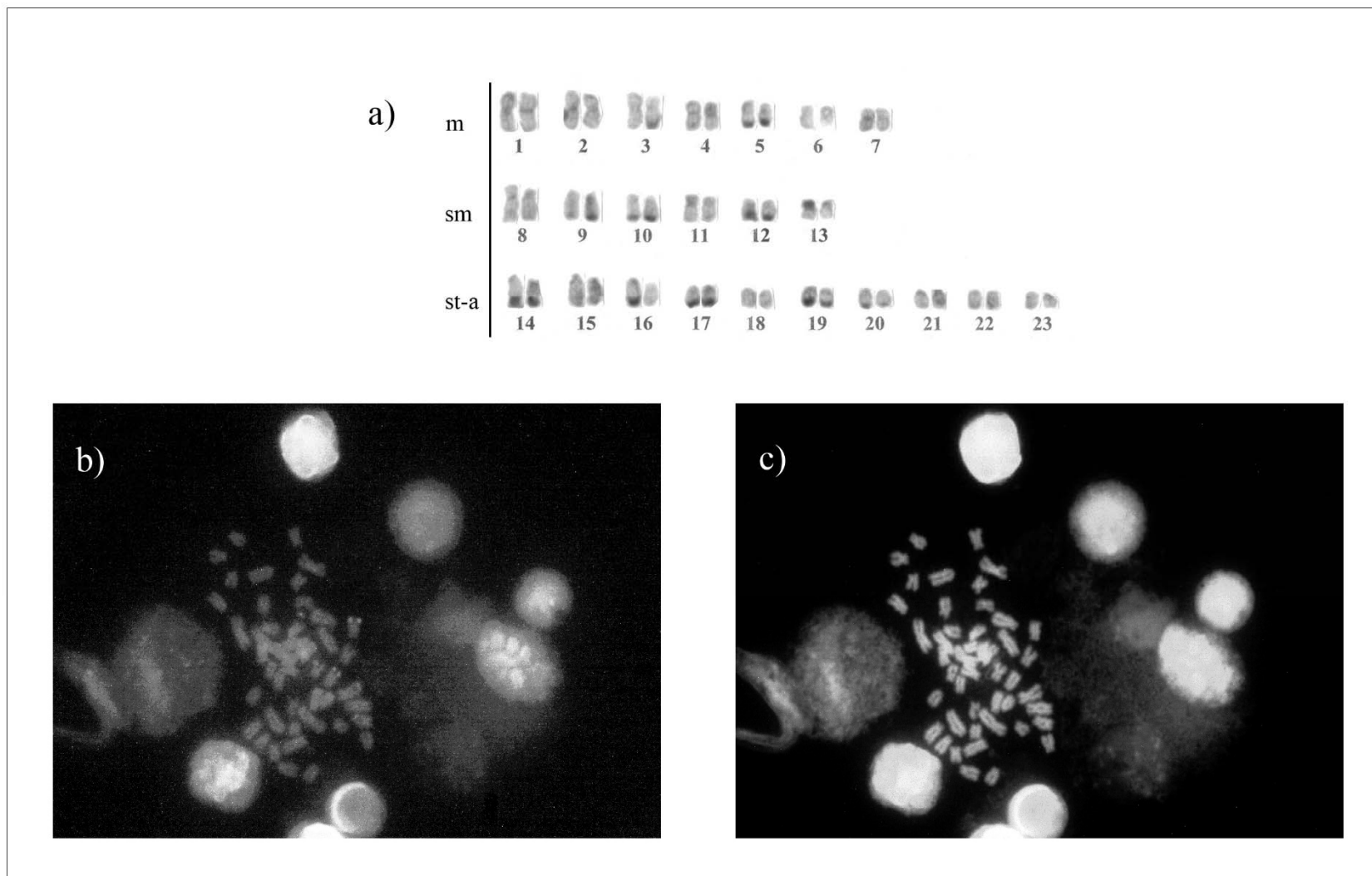


Figura 6 - Cariótipo E de *Astyanax aff. fasciatus*: em a) padrão de distribuição da Banda C; b) metáfase somática com cromossomos distendidos submetidos à Banda C; c) metáfase submetida à técnica de Banda C e corada com CMA₃ e d) metáfase submetida à técnica de Banda C corada com DAPI. Nota-se que apenas dois pares foram CMA₃⁺ e apresentaram heterocromatina neutra. Em destaque no cariótipo observa-se os pares 10, 19 e 20 que possuem o bloco terminal subdividido.

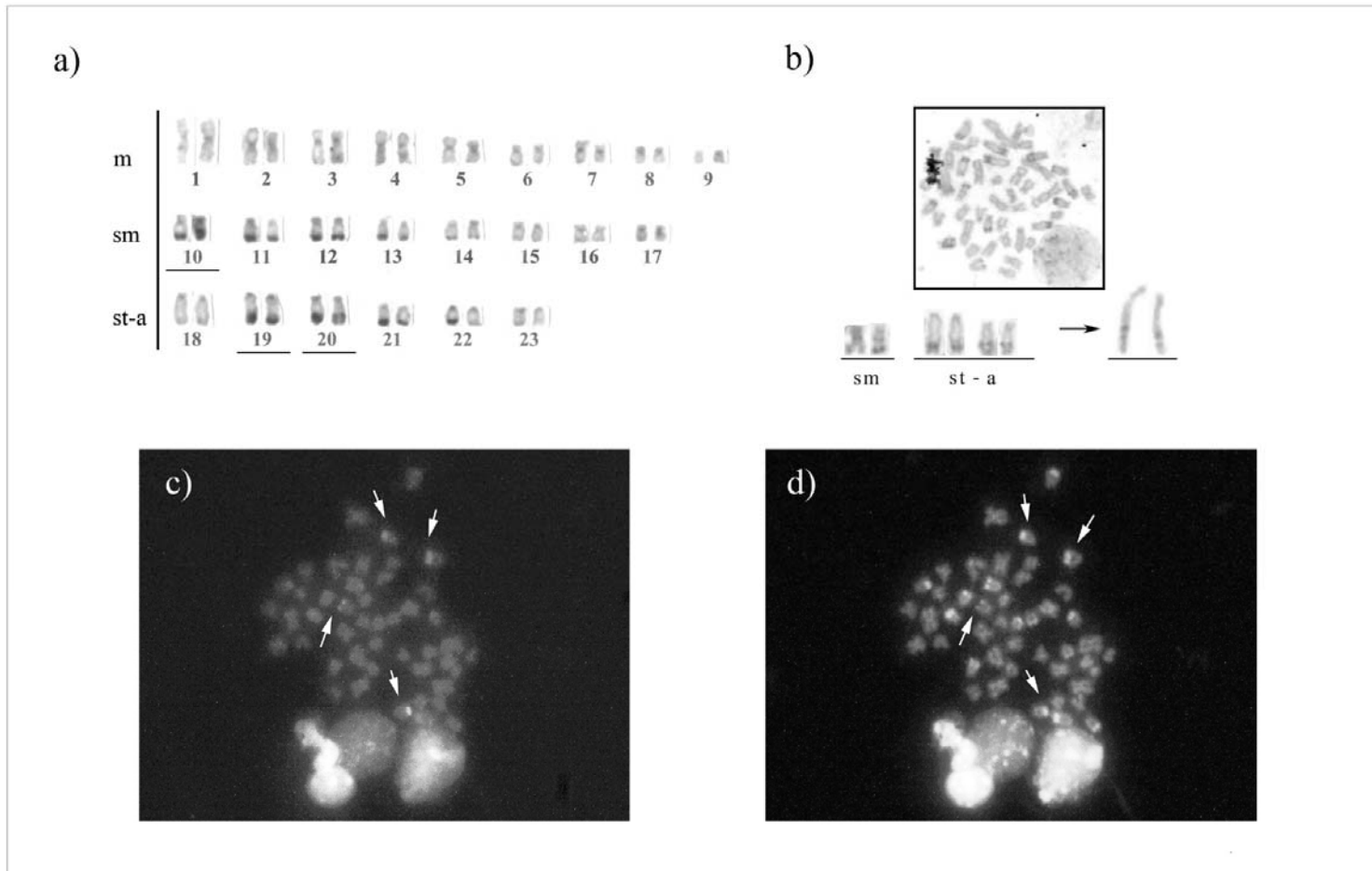


Figura 7 - Cariótipo F de *Astyanax aff. fasciatus*: em a) padrão de distribuição da Banda C; b) metáfase com Banda C corada com CMA₃; c) metáfase com Banda C corada com DAPI e d) sobreposição da metáfase com CMA₃/DAPI . Nota-se que foi encontrada uma única marcação CMA₃⁺ que corresponde a uma heterocromatina neutra, os demais blocos foram DAPI⁺.

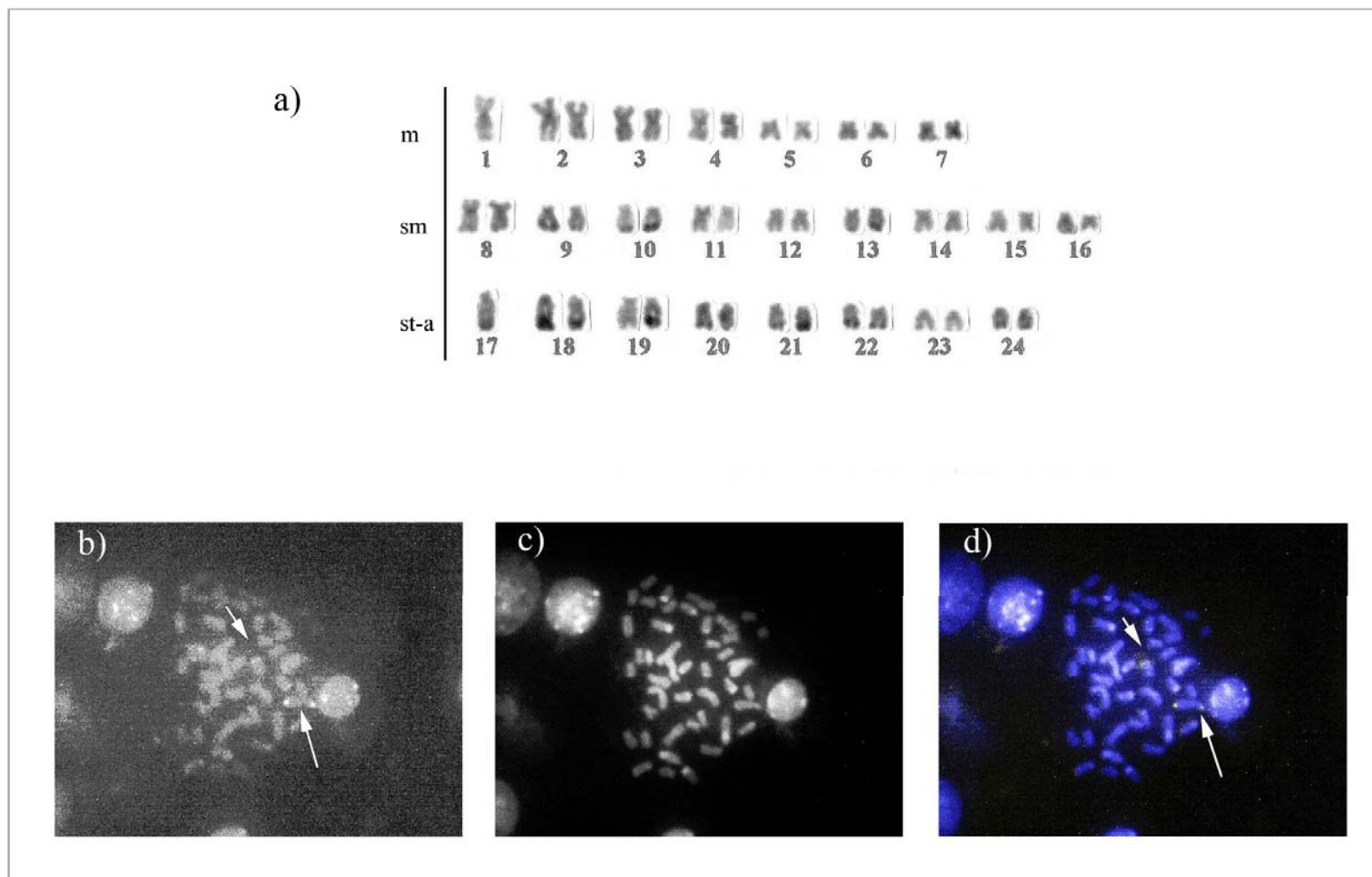
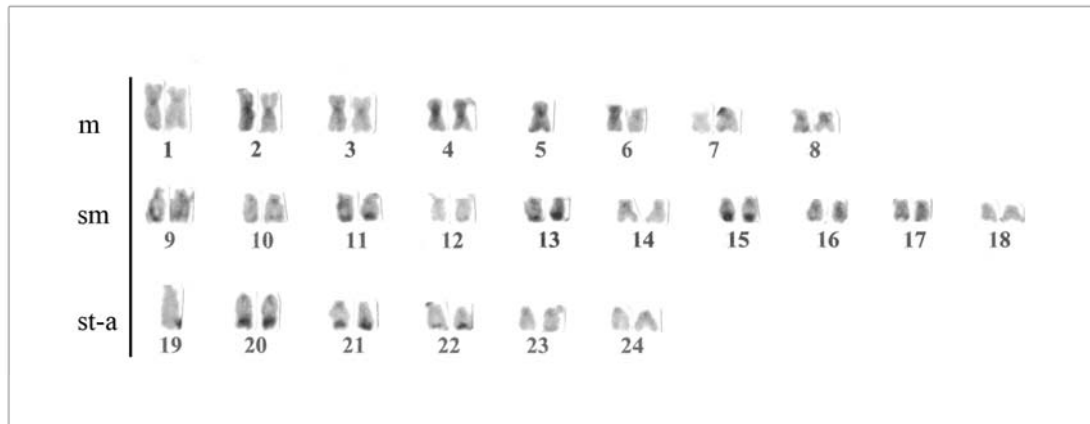


Figura 8 - Cariótipo G de *Astyanax* aff. *fasciatus*: Padrão de distribuição da Banda C. Nota-se que todos os blocos heterocromáticos estão localizados na posição terminal do braço longo dos cromossomos.



3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

1. Atualmente observam-se quatro cariótipos na população do Ribeirão Três Bocas: Cariótipo A, E, F e G. A população do Rio Jacutinga apresenta apenas o Cariótipo E.
2. Os cariótipos B, C e D não foram encontrados, podendo estar presentes em baixa frequência na população.
3. O padrão de distribuição da heterocromatina corado com Giemsa e com fluorocromos possibilitou a caracterização de todos os cariótipos.
4. O Cariótipo A possui 22 cromossomos portadores de blocos heterocromáticos. O par 13 apresentou blocos terminais no braço curto e os demais pares apresentaram blocos terminais no braço longo. A coloração com fluorocromos revelou marcas exclusivamente CMA₃⁺.
5. O Cariótipo E exibiu 22 cromossomos com blocos heterocromáticos. O par 8 apresentou blocos terminais no braço curto e os demais pares tiveram a porção terminal do braço longo marcada. Nos pares 10, 19 e 20 foi possível observar que os blocos terminais no braço longo são subdivididos. O par 10 apresentou heterocromatina neutra, o par 13 apresentou heterocromatina rica em pares de bases CG e os demais pares mostraram-se ricos em pares de base AT.
6. O Cariótipo F apresentou 16 cromossomos com blocos heterocromáticos. O par 10 apresentou blocos intersticiais no braço longo e os demais pares apresentaram blocos na posição terminal do braço longo. O par 18 apresentou heterocromatina neutra e os demais pares apresentaram heterocromatina rica em pares de base AT.
7. No Cariótipo G observou-se 21 cromossomos portadores de blocos heterocromáticos. Todos os pares e o cromossomo 5 apresentaram blocos heterocromáticos terminais no braço longo.
8. Os dados cromossômicos corroboram com a proposta de *A. fasciatus* pertencer a um complexo de espécies, uma vez que foi possível identificar similaridades entre as diferentes populações, concordando com a proposta de Melo (2005) de que realmente devam existir espécies novas.

REFERÊNCIAS

- ABEL, L. D. S.; MANTOVANI, M.; MOREIRA-FILHO, O. (2006). Chromosomal distribution of the As51 satellite DNA in two species complexes of the genus *Astyanax* (Pisces, Characidae). **Genetics and Molecular Biology**, 29(3): 448-452.
- ARTONI, R. F.; SHIBATTA, O. A.; GROSS, M. C.; SCHNEIDER, C. H.; ALMEIDA, M. C. de; VICARI, M. R.; BERTOLLO, L. A. C. (2006). *Astyanax* aff. *fasciatus* Cuvier, 1819 (Teleostei; Characidae): evidences of a species complex in upper rio Tibagi basin (Paraná, Brazil). **Neotrop. Ichthyol.**, 4(2): 197-202.
- BARBIERI, G.; HARTZ, S. M.; VERANI. (1996). O fator de condição e índice hepatossomático como indicadores do período de desova de *Astyanax fasciatus* da represa do lobo, São Paulo (Osteichthyes, Characidae). **Iheringia, Série Zoológica**, Porto Alegre, 81: 97-100.
- BERTOLLO, L. A. C.; TAKAHASHI, C. S.; MOREIRA-FILHO O. (1978). Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). **Rev. Brasil. Genet.**, 1: 103-120.
- CENTOFANTE, L.; BERTOLLO, L. A. C.; JUSTI, A. J.; MOREIRA-FILHO, O. (2003). Correlation of chromosomal and morfologic characters in two *Astyanax* species (Teleostei: Characidae). **Ichthyol. Explor. Freshwaters**, Vol. 14, nº4, p. 361-368.
- DANIEL-SILVA, M. F. Z. (1996). **Estudos citogenéticos comparativos em quatro espécies do gênero *Astyanax* (Pisces, Characidae)**. Dissertação de mestrado - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, IB/USP, São Paulo, 176p.
- DANIEL-SILVA, M. F. Z.; ALMEIDA-TOLEDO, L. F. (2001). Chromosome R-banding pattern and conservation of a marker chromosome in four species, genus *Astyanax* (Characidae, Tetragonopterinae). **Caryologia**, 54, 209-215.
- DIAS, A. L.; GUILIANO-CAETANO, L. Citogenética de alguns grupos de peixes do rio Tibagi. In: MEDRI, M. E; BIANCHINI, E.; SHIBATTA, O. A.; PIMENTA, J. A. (Eds). **A Bacia do Rio Tibagi**. Londrina: Ed. UEL, 2002. p. 473 - 530.
- EIGENMANN, C. H. (1921). The American Characidae. **Memoirs of the Museum of Comparative Zoology**, Harvard College, 43(3): 227-310.
- ESCHMEYER, W. N. **Catalog of Fishes**, California Academy of Sciences (<http://research.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>). Versão electronica acessada Janeiro-2013.
- FENOCCHIO, A. S.; VENERE, P. C.; CESAR, A. C. G.; DIAS, A. L.; BERTOLLO, L. A. C. (1991). Short term culture from solid tissues of fish. **Caryologia**, vol.44, n2, p. 161-166.
- FERNANDES, C. A. (2006). **Estudos citogenéticos em três espécies do gênero *Astyanax*, com ênfase no DNA ribossomal**. Tese de Doutorado – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, 66 p.

FERREIRA-NETO, M.; ARTONI, R. F.; VICARI, M. R.; MOREIRA-FILHO, O.; CAMACHO, J. P. M.; BAKKALI, M.; OLIVEIRA, C.; FORETI, F. (2012). Tree sympatric karyomorphs in the fish *Astyanax fasciatus* (Teleostei, Characidae) do not seem to hybridize in natural populations. **Comparative Cytogenetics**, vol. 6, n. 1, p. 29-40.

FRANÇA, V. de. O rio Tibagi no contexto hidrogeográfico paranaense. In: MEDRI, M. E; BIANCHINI, E.; SHIBATTA, O. A.; PIMENTA, J. A. (Eds). **A Bacia do Rio Tibagi**. Londrina: Ed. UEL, 2002. p. 45-62.

GARUTI, V.; BRITSKI, H. A. (2000). Descrição de uma nova espécie de *Astyanax* (Teleostei, Characidae) da Bacia do Alto Paraná e considerações sobre as demais espécies do gênero na Bacia. **Comum. Mus. Ciênc. PUCRS** 13: 65-88.

GÉRY, J. **Characids of the World**. T.F.H. Publications, 1977.

GODOY, M. P. (1959). Age, growth, sexual maturity, behavior, migration, tagging and transplantation of curimbatá (*Prochilodus scrota steindachner*, 1881) of Mogi Guassú river, São Paulo State, Brasil. In: Anais da Academia Brasileira de Ciências, São Paulo, n. 31, p. 447- 477.

GRATIVOL, A. D.; MENIN, E. (1992). Anatomia comparativa funcional da cavidade bucofaringiana de *Astyanax fasciatus* Cuvier 1819 (Osteichthyes, Characidae, Tetragonopterinae) e *Triportheus guentheri* Garman 1890 (Osteichthyes, Characidae, Triporthestinae). **Revista Ceres**, 39 (226): 564-83.

HERAS, M. P. (1998). **Estudos citogenéticos em *Astyanax fasciatus* (Pisces, Characidae) de rios do Brasil**. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, 89 p.

HINTON, D. E. Histopathologic biomarkers. In: HUGGET, R. J. (Ed.). **Biomarkers. Biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1992. p. 155-209.

JUSTI, A. J. (1993) **Caracterização cariotípica de populações de *Astyanax fasciatus* (Cuvier, 1819), Pisces, Characidae, em três bacias hidrográficas**. Tese de Mestrado - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil.

KOGUISSI, N. A. (1995) **Estudo citogenético da espécie *Astyanax* sp provenientes do Ribeirão Três Bocas – Londrina/PR**. Monografia - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, 61 p.

LAURENT, P.; PERRY, S. F. (1991). Environmental effects on fish gill morphology. **Physiol. Zool.**, Chicago, v.64, p. 4-25.

LEE, M. R., ELDER, F. F. B. (1980). Yeast stimulation of bone marrow mitosis for cytogenetic investigations. **Cytogenetic and Genome Research**, vol.26, n.1, p. 36-40.

LEVAN, A.; FREDGA, K.; SANDBERG, A. A. (1964). Nomenclature for centromeric position on chromosomes. **Hereditas**, 52: 201-220.

LIMA, F. C. T.; MALABARBA, L. R.; BUCKUP, P. A.; SILVA, J. F. P.; VARI, R. P.; HAROLD, A.; BENINE, R.; OYAKAWA, O. T.; PAVANELLI, C. S.; MENEZES, N. A.; LUCENA, C. A. S.; MALABARBA, M. C. S. L.; LUCENA, Z. M. S.; REIS, R. E.; LANGEANI, F.; CASSATI, L.; BERTACO, V. A.; MOREIRA, C.; LUCINDA, P. H. F. Genera Incertae sedis in Characidae. In: REIS, R.E.; KULLANDER, S.O.; FERRARIS Jr, C.J. **Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2003, p. 106-169.

LOPES, F. F. (2006). **Monitoramento ambiental da bacia hidrográfica do Lago Guaíba-RS-Brasil, através da utilização de diferentes metodologias aplicadas a taxocenoses de peixes**. Tese de Doutorado – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 228 p.

MACHADO, W. (2005). **Avaliação comparativa do processo de ocupação e degradação das terras das microbacias hidrográficas dos ribeirões Três Bocas e Apertados no norte do Paraná, Londrina**. Dissertação (Mestrado em Geografia Meio Ambiente e Desenvolvimento) - Universidade Estadual de Londrina.

MAZON, A. F.; CERQUEIRA, C. C. C.; MONTEIRO, E. A. S.; FERNANDES, M. N. Acute copper exposure in freshwater: morphological and physiological effects. In: VAL, A. L.; ALMEIDA-VAL, V. M. (Eds). **Biology of tropical fishes**. Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia/Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas, 1999. p.263-275.

MEDRADO, A. S.; FIGUEIREDO, A. V. A.; WALDSHMIDT, A. M.; AFFONSO, P. R. A. M.; CARNEIRO, P. L. S. (2008). Cytogenetic and morfological diversity in populations of *Astyanax fasciatus* (Teleostei, Characidae) from Brazilian northeastern river basins. **Genetics and Molecular Biology**, vol. 31, n 1, p. 208-214.

MEDRI, M. E; BIANCHINI, E.; SHIBATTA, O. A.; PIMENTA, J. A. **A Bacia do Rio Tibagi**. Londrina: Ed. UEL, 2002.

MELO, F. A. G. de. (2001). Revisão taxonômica das espécies do gênero *Astyanax* Baird e Girard, 1854 (Teleostei, Characiformes, Characidae) da Região da Serra dos Órgãos. **Arquivos do Mus. Nac. do Rio de Janeiro** 59: 1-46.

MELO, F. A. G. de. (2005) **Revisão taxonômica do complexo de espécies *Astyanax fasciatus* (Cuvier, 1819) (Teleostei: Characiformes: Characidae)**. Tese de Doutorado – Museu Nacional, Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ.

MOREIRA-FILHO, O.; FENOCCHIO, A. S.; PASTORI, M. C.; BERTOLLO, L. A. C. (2001). Occurrence of a Metacentric Macrochromosome B in different species of the genus *Astyanax* (Pisces, Characidae, Tetragonopterinae). **Cytologia**, 66: 59,64.

MORELLI, S. (1981). **Aspectos citogenéticos do gênero *Astyanax* (Pisces, Characidae)**. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Ciências Biológicas, São Carlos, São Paulo, 219 p.

MORELLI, S.; BERTOLLO, L. A. C.; FORESTI, F.; MOREIRA-FILHO, O.; TOLEDO-FILHO, S. A. (1983). Cytogenetic considerations on the genus *Astyanax* Pisces, Characidae). I. Karyotypic variability. **Caryologia**, 36(3): 235-244.

MORETTO, A. (2005). **Análise da eficiência da escada para peixes no ribeirão Garcia no município de Blumenau/SC**. Dissertação de Mestrado (Engenharia Ambiental) – Universidade Regional de Blumenau (FURB). Blumenau-SC, 55 p.

NELSON, J. S. **Fishes of the world**. 4^a Ed., John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, 2006.

NOOR, M. A. F.; CUNNINGHAM, A. L.; LARKIN, J. C. (2001). Consequences of recombination rate variation on quantitative trait locus mapping studies: simulations based on the *Drosophila melanogaster* genome. **Genetics** 159: 581–588.

PAGANELLI, H. H. (1990). **Diversidade cromossômica no gênero *Astyanax*, com especial referência a *A. bimaculatus* (Linnaeus, 1758)**. Considerações citotaxonômicas e evolutivas. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

PAINTNER-MARQUES, T. R.; GIULIANO-CAETANO, L.; DIAS, A. L. (2002). Karyotypic Diversity in a *Bryconamericus* aff. *exodon* Population (Characidae, Tetragonopterinae). **Cytologia**, vol. 67, n° 4, pag. 397-402.

PAZZA, R.; KAVALCO, S. A. F.; PENTEADOS, P. R.; KAVALCO, K. F.; ALMEIDA-TOLEDO, L. F. (2008). The species complex *Astyanax fasciatus* (Teleostei, Characiformes)-a multidisciplinary approach. **Journal of Fish Biology**, vol. 72, p. 2002-2010.

PAZZA, R.; KAVALCO, K. F.; BERTOLLO, L. A. C. (2006). Chromosome Polymorphism in *Astyanax fasciatus* (Teleostei, Characidae). I. Karyotype Analysis, Ag-NORs and mapping of the 18S and 5S ribosomal genes in Sympatric Karyotypes and their Possible Hybrid Forms. **Cytogenetic and Genome Research** 112: 313-319.

PAZZA, R.; KAVALCO, K. F.; BERTOLLO, L. A. C. (2007). Chromosomal evolution in the neotropical Characin *Astyanax* (Teleostei, Characidae). **The nucleus** 50 (3): 519-543.

PEREIRA, M. C. B.; SCROCCARO, J. L. (Ed.) **Bacias Hidrográficas do Paraná**. Secretaria de Estado do Meio Ambiente e Recursos Hídricos (SEMA), 2010.

PERES, W. A. M.; BUCKUP, P. A.; KANTEK, D. L. Z.; BERTOLLO, L. A. C.; MOREIRA-FILHO, O. (2009). Chromosomal evidence of downstream dispersal of *Astyanax fasciatus* (Characiformes, Characidae) associated with river shed interconnection. **Genetica**, vol. 137, p. 305-311.

PREFEITURA DE LONDRINA (2013). Disponível em (http://www.londrina.pr.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=42&Itemid=47). Acessado Janeiro-2013.

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

ROMERO, A.; PAULSON, K. M. (2001). It's a wonderful hypogean life: a guide to the troglomorphic fishes of the world. **Environmental Biology of Fishes**, v.62, i. 1-3, p.13-41.

SCHWEIZER, D. (1980). Simultaneous fluorescent staining of R bands and specific heterochromatic regions (DA DAPI-bands) in human chromosomes. **Cytogenet Cell Genet** 27:190-193.

SEELINGER, U.; KNAK, R. B. (1982). Origin and concentration of copper and mercury in water and biota of the Patos Lagoon estuary, Brazil. **Atlântica** 5:35-42.

SUMNER, A. M. T. (1972). A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. **Exp. Cell Res.**, 75: 304-306.

TORRES-MARIANO, A. R.; MORELLI, S. (2006). Chromosomal analysis of *Astyanax fasciatus* (Pisces, Characidae) from the Araguari River, Uberlândia, MG, Brazil. **Braz. J. Biol.** 66(1A): 161-165.

VENTURELLI, N. B. (2011). **Estudo Citogenético em espécies de peixes pertencentes às bacias hidrográficas do Rio Paraná e Atlântico Sul.** Monografia-Universidade Estadual de Londrina. Londrina-PR.

WINKALER, E. U.; SILVA, A. G.; GALINDO, H. C.; MARTINEZ, C. B. R. (2001). Biomarcadores histológicos e fisiológicos para o monitoramento da saúde de peixes de ribeirões de Londrina, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 23, n. 2, p. 507-514.

XAVIER, C. F.; MOTTER, E.; GONÇALVES, G. W. P. S.; DIAS, L. N. **Monitoramento da qualidade das águas de microbacias urbanas, na região metropolitana de Londrina, norte do Estado do Paraná, no período de 2005 a 2009.** Instituto Ambiental do Paraná (IAP), Curitiba, p. 40, 2010.

YABE, M. J. S.; GIMENEZ, S. M. N. (2002). Caracterização físico-química da água da bacia do rio Tibagi. In: MEDRI, M.E, BIANCHINI, E., SHIBATTA, O.A., PIMENTA, J.A. (Eds). **A Bacia do Rio Tibagi.** Londrina: Ed. UEL, 2002. p. 355-365.