



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

JAMILLE DE ARAÚJO BITENCOURT

**“ANÁLISE CITOGENÉTICA DE ESPÉCIES DO GÊNERO  
*HYPOSTOMUS* (LORICARIIDAE; HYPOSTOMINAE) DAS  
BACIAS DO RIO DE CONTAS E RECÔNCAVO SUL/BAHIA.”**

---

Londrina  
2011

JAMILLE DE ARAÚJO BITENCOURT

**“ANÁLISE CITOGENÉTICA DE ESPÉCIES DO GÊNERO  
*HYPOSTOMUS* (LORICARIIDAE; HYPOSTOMINAE) DAS  
BACIAS DO RIO DE CONTAS E RECÔNCAVO SUL/BAHIA.”**

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: Dr. Ana Lúcia Dias

Co-Orientador: Paulo Roberto Antunes de Mello  
Affonso

Londrina  
2011

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

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)**

B624a Bitencourt, Jamille de Araújo.  
Análise citogenética de espécies do gênero *Hypostomus* (Loricariidae;  
*Hypostominae*) das bacias do rio de Contas e Recôncavo Sul/Bahia/ Jamille de  
Araújo Bitencourt. – Londrina, 2010.  
98 f. : il.

Orientador: Ana Lúcia Dias.  
Co-orientador: Paulo Roberto Antunes de Mello Affonso.  
Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Estadual  
de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Genética e  
Biologia Molecular, 2010.  
Inclui bibliografia.

1.Citogenética animal – Teses. 2.Loricarideo – Genética animal – Teses.  
3.Heterocromatina – Teses. 4.Ictiologia – Teses. I. Dias, Ana Lúcia. II.Affonso, Paulo  
Roberto Antunes de Mello.III Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências  
Biológicas. Programa de Pós graduação em Genética e Biologia Molecular. IV.  
Título.

CDU 911.3::711

JAMILLE DE ARAÚJO BITENCOURT

**“ANÁLISE CITOGENÉTICA DE ESPÉCIES DO GÊNERO  
*HYPOSTOMUS* (LORICARIIDAE; HYPOSTOMINAE) DAS BACIAS DO  
RIO DE CONTAS E RECÔNCAVO SUL/BAHIA.”**

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**

---

Prof. Dr. Luiz Antonio Carlos Bertollo  
UFSCar – São Paulo - PR

---

Prof. Dr. °André Laforga Vanzella  
UEL – Londrina - PR

---

Profª. Dra. Ana Lúcia Dias  
UEL – Londrina - PR

Londrina, 26 de fevereiro de 2010.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, pela vida concedida, por estar presente em cada obstáculo me ajudando a superá-los iluminando meus passos.

À minha querida orientadora Ana Lucia Dias, por ter me aceitado, pela confiança, paciência, ensinamentos e por estar sempre disposta a me ajudar.

Ao meu amigo, co-orientador Paulo Roberto, por ter despertado o meu interesse pelo conhecimento, pelos momentos de aprendizagem e estímulo constantes, e por me fazer acreditar que sou capaz. Sem ele com certeza a concretização desse sonho não seria possível.

À professora Lucia Giuliano-Caetano, pela oportunidade e pelas valiosas contribuições que foram essenciais para o desenvolvimento desse trabalho.

À Renata da Rosa, pelas sugestões e críticas fundamentais oferecidas durante o exame de qualificação.

Aos membros da banca examinadora, o prof. Dr. André Laforga Vanzella pelas excelentes sugestões oferecidas e o prof. Dr. Luiz Antonio Carlos Bertollo, pela sua atenção, generosidade e cuidado, suas sugestões foram fundamentais para a conclusão deste trabalho. Muito obrigada.

Ao CNPq pelo financiamento do projeto e apoio no andamento das pesquisas.

À Universidade Estadual de Londrina e o Programa de Pós Graduação em Genética e Biologia Molecular, pela estrutura e apoio necessários.

À Sueli, secretária da pós-graduação, por ser muito prestativa, e esta sempre de bom humor.

A toda a minha família, em especial Felipe, Cardoso e Dinda, por ser meu suporte, pela força, carinho e amor. À mainha (Vera), pois tudo que sou devo a ela. Essa é mais uma vitória nossa.

Ao meu pai, por ser um exemplo a se seguir e que, apesar de não estar mais entre nós, está presente em meu coração e minhas lembranças.

Ao meu noivo e eterno companheiro Álvaro, por estar sempre ao meu lado e pela compreensão nos momentos em que estive ausente. Obrigada por existir em minha vida.

Aos amigos e colegas do laboratório, (Marce, Natalia, Angélica de Paula, Angélica Rossoti, Larissa pires, Larissa Lacerda, Vanessa, Tatiana, Renata, Ana Cláudia, Laura, Vivian e Juceli), que são minha família londrinense e que além do apoio, tornaram a minha experiência ainda mais valiosa. Obrigada a todos pela oportunidade de aprender e contribuir, nunca esquecerei vocês.

Em especial a minha amiga Josivanda e a meu irmãozinho relapso Fabio Takagui, pelas alegrias e tristezas compartilhadas, pelas resenhas, conselhos e companheirismo. Jamais seremos um ponto em cada parte do Brasil e sim um eterno triângulo, pois onde eu for levarei vocês comigo no coração.

À amiga Michelli, um amor de pessoa, pela ajuda e incentivo, e por acreditar em mim.

A todos os meus colegas e amigos de Londrina, especialmente Luana, Maikel, Priscila e Juliana, que tornaram a presença neste curso ainda mais prazerosa.

À minha amiga Isabel (bolinho), por estar sempre presente nas minhas conquistas, pela ajuda e apoio tão necessários.

Aos professores e amigos (Dra. Ana Maria, Dr. Paulo Carneiro, Dr. Juvenal Cordeiro, Sergio Siqueira Júnior, Vitor Hugo, Mavione e Aline) do laboratório de Genética de Organismos Aquáticos (LAGOA) da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia UESB, pelas contribuições e apoio tão essenciais para o desenvolvimento dessa pesquisa.

A todos os meus amigos e pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a execução desse trabalho, me incentivando intelectual e emocionalmente.

BITENCOURT, Jamille Araujo de. “**Análise citogenética de espécies do gênero *hypostomus* (loricariidae; hypostominae) das bacias do rio de contas e recôncavo sul/bahia.**”2010. 98 f. Dissertação ( Mestrado em Genética e Biologia Molecular) Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.

## RESUMO

A fim de ampliar os dados citogenéticos da ictiofauna das bacias do Atlântico leste, análises cromossômicas foram realizadas em populações de *Hypostomus* aff. *unae* e *Hypostomus* cf. *wuchereri* (Loricariidae, Hypostominae) de bacias costeiras da Bahia, Nordeste do Brasil. Todos os exemplares compartilharam o número modal de  $2n=76$  e uma RON simples localizada no segundo par metacêntrico. Contudo, foram detectadas fórmulas cariotípicas exclusivas de *H.* aff. *unae* para cada localidade amostrada ao longo da bacia do rio de Contas (rios de Contas, Preto do Costa, Preto do Criciúma e Oricó). Adicionalmente, as populações de ambas as espécies também foram diferenciadas pela microestrutura cariotípica após bandamento C, coloração com fluorocromos e digestão com as enzimas de restrição *Alu* I, *Bam* HI, *Hae* III e *Dde* I. As populações de *H.* aff. *unae* dos rios de Contas e Preto do Costa apresentaram blocos heterocromáticos terminais e intersticiais ricos em pares de bases AT na maioria dos cromossomos acrocêntricos, diferenciando-se quanto a posição e pares envolvidos. Já os espécimes da população do rio Preto do Criciúma apresentaram marcações DAPI positivas (mais evidentes), nas regiões intersticiais, enquanto que na população do rio Oricó, os blocos heterocromáticos intersticiais e terminais foram observados corados igualmente por CMA3 e DAPI. Apenas esta última população não apresentou heterocromatina associada à região organizadora de nucléolo, porém, todas elas apresentaram as RONS ricas em bases GC. Em relação às duas populações de *H.* cf. *wuchereri*, diferenças na microestrutura também foram igualmente assinaladas. A população do rio Una (bacia do Recôncavo Sul) apresentou grandes blocos heterocromáticos terminais, compostos por sítios intercalados ricos em AT e GC, enquanto que a população do rio Mutum (bacia do rio de Contas) apresentou regiões de heterocromatina intersticiais e terminais menos evidentes, ricas em AT. Em ambas, as RONS apresentaram-se CMA3 positivas, porém, não foi evidenciada heterocromatina associada à essa região. Os resultados obtidos com a digestão enzimática revelaram grande heterogeneidade entre as populações das duas espécies analisadas e permitiram a caracterização de diferentes famílias de DNA repetitivo, além de padrões específicos gerados nas regiões eucromáticas. Os dados do presente trabalho demonstram que *H.* aff. *unae* e *H.* cf. *wuchereri* apresentam uma evolução cariotípica divergente entre as populações analisadas, caracterizando distintas unidades evolutivas.

**Palavras-chave:** Bacias do leste. Enzimas de restrição. Heterocromatina. Hypostominae.

**BITENCOURT, Jamille Araujo de. “Cytogenetic analysis of the genus *Hypostomus* (Locariidae, Hypostominae) basins of the river gorge, south of accounts sul/bahia”**  
2010. 98 f. Dissertation ( Master’s degree in Genetics and Molecular Biology) Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.

### **ABSTRACT**

In order to increase the cytogenetic data of the ichthyofauna from Eastern Atlantic basins, chromosomal analyses were carried out in populations of *Hypostomus* aff. *unae* and *Hypostomus* cf. *wuchereri* (Loricariidae, Hypostominae) from costal basins of Bahia, Northeastern Brazil. All specimens shared a modal number of  $2n=76$  and single NORs located on the second metacentric pair. However, exclusive karyotypic formulae were detected within each sample of *H. aff. unae* throughout Contas river basin (Contas, Preto do Costa, Preto do Criciúma and Oricó rivers). Moreover, populations of both species were differentiated by their karyotype microstructure after C-banding, fluorochrome staining and digestion with the restriction enzymes *Alu* I, *Bam* HI, *Hae* III and *Dde* I. The populations of *H. aff. unae* from Contas and Preto do Costa rivers presented AT-rich terminal and interstitial heterochromatic blocks in most of acrocentric chromosomes, being distinguishable by the block position and pair involved. On the other hand, the specimens from Preto do Criciúma River presented more conspicuous DAPI-positive marks at the interstitial region, while the population from Oricó River presented equally CMA3 and DAPI stained heterochromatic segments. Only the latter population lacked heterochromatin associated with the nucleolar organizer regions, but all of them presented GC-rich NORs. As for both the two populations of *Hypostomus* cf. *wuchereri*, microstructure differences were also observed. The population from Una River (Recôncavo Sul basin) presented large terminal heterochromatic blocks interspersed with AT- and GC-rich regions, whereas the samples from Mutum River (Contas river basin) showed paler AT-rich interstitial and terminal heterochromatic regions. In both populations, the NORs were CMA3 positive but no heterochromatin was observed. The results obtained by enzymatic digestion revealed a remarkable heterogeneity among populations of both analyzed species and allowed the characterization of different families of repetitive DNA, besides specific patterns in the euchromatin. The present data show that the populations of *H. aff. unae* and *H. cf. wuchereri* present a divergent karyotypic evolution between the analyzed populations, characterizing distinct evolutionary units.

**Keywords:** Eastern basins. Restriction enzymes. Heterochromatin. Hypostominae.

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1** – Dados citogenéticos em espécies de Loricariidae..... 21

### **Artigo A: CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA DE QUATRO POPULAÇÕES DE *Hypostomus aff. unae* DA BACIA DO RIO DE CONTAS**

**Tabela 1** – Dados citogenéticos compilados para espécies do gênero *Hypostomus*..... 49

**Tabela 2** – Fórmulas cariotípicas das populações de *Hypostomus aff. unae* agrupadas nas classes m/sm e st/a ..... 52

### **Artigo B:ANÁLISE DA HETEROGENEIDADE DA HETEROCROMATINA EM *Hypostomus aff. unae* (Siluriformes, Loricariidae)**

**Tabela 1** – Relação das enzimas de restrição (ER) utilizadas nas preparações cromossômicas de *Hypostomus aff. unae*, com as respectivos sítios de corte, concentrações e tempos de incubação em que se obtiveram os melhores resultados ..... 68

**Tabela 2** – Dados das populações referentes à digestão da heterocromatina pelas enzimas *AluI*, *Hae III*, *Dde I* e *Bam HI* ..... 70

### **Artigo C: CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA DE POPULAÇÕES *Hypostomus cf. wuchereri* DE BACIAS HIDROGRÁFICAS COSTEIRAS DA BAHIA**

**Tabela 1** – Dados das população do rio Una e Mutum referentes à digestão da heterocromatina pelas *Alu I*, *Hae III*, *Dde I* e *Bam HI* ..... 84

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – A) Mapa representando a divisão hidrográfica nacional. B) Mapa da região hidrográfica do Atlântico Leste e suas principais bacias. Fonte: Conselho Nacional de Recursos Hídricos- CNRH, Agência Nacional de Águas- ANA, (2003) e Ministério do Meio Ambiente – MMA, (2006)33 ..... 33
- Figura 2** – Exemplares das populações de *Hypostomus aff. unae*: rio de Contas(A), rio Preto do Costa (B), rio Oricó (C) e rio Preto do Criciúma (D)..... 34
- Figura 3** – Exemplar de *Hypostomus cf. wuchereri*. Fonte: Prof. Dr. Claudio Zawadski (UEM) ..... 34
- Figura 4** – Locais de coleta. A) Mapa das bacias do Nordeste: IV- Bacia do rio de Contas; V-Bacia do Recôncavo Sul. B) a- rio Una. C) a- rio de Contas, b- rio Preto do Costa, c- rio Oricó, d- rio Preto do Criciúma e - rio Mutum ..... 34

### **Artigo A: CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA DE QUATRO POPULAÇÕES DE *Hypostomus aff. unae* DA BACIA DO RIO DE CONTAS**

- Figura 1** – Cariótipos das populações de *Hypostomus aff. unae*. (A) rio de Contas, (B) Preto do Costa, (C) Oricó e (D) Preto do Criciúma. Em destaque o par portador das RONS após tratamento com nitrato de Prata, bandamento C, coloração com CMA3 e FISH com sonda de DNAr 18S. Observar em C a não ocorrência de heterocromatina associada às RONS ..... 55
- Figura 2** – Cariótipos de *Hypostomus aff. unae* após bandamento C. (A) População do rio das Contas, (B) População do rio Preto do Costa, (C) População do rio Oricó e (D) População do rio Preto do Criciuma. Em destaque os cromossomos com sítios heteromórficos em A e B ..... 56

<b>Figura 3</b> – Metáfases de <i>Hypostomus</i> aff. <i>unae</i> das populações do rio das Contas (A), Preto do Costa (B), Oricó (C) e Preto do Criciúma (D) após coloração com CMA 3. Os asteriscos indicam os pares cromossômicos portadores das RONS e as setas evidenciam os sítios positivos, ricos em pares de base GC na população do rio Preto do Costa.....	57
<b>Figura 4</b> – Metáfases de <i>Hypostomus</i> aff. <i>unae</i> das populações do rio de Contas (A), Preto do Costa (B), Oricó (C) e Preto do Criciúma (D) após coloração com DAPI, evidenciando diversos cromossomos portadores de sítios positivos, ricos em pares de bases AT. Os asteriscos indicam os pares portadores das RONS.....	58

**Artigo B: ANÁLISE DA HETEROGENEIDADE DA HETEROCROMATINA EM *Hypostomus* aff. *unae* (Siluriformes, Loricariidae)**

<b>Figura 1</b> – Pares cromossômicos da população A de <i>Hypostomus</i> aff. <i>unae</i> evidenciando as bandas heterocromáticas C-positivas e o padrão de bandas gerado com as endonucleases de restrição: <i>Alu</i> I, <i>Hae</i> III, <i>Dde</i> I e <i>Bam</i> HI .....	73
<b>Figura 2</b> – Pares cromossômicos da população B de <i>Hypostomus</i> aff. <i>unae</i> evidenciando as bandas heterocromáticas C-positivas e o padrão de bandas gerado com as endonucleases de restrição: <i>Alu</i> I, <i>Hae</i> III, <i>Dde</i> I e <i>Bam</i> HI .....	74
<b>Figura 3</b> – Pares cromossômicos da população C de <i>Hypostomus</i> aff. <i>unae</i> evidenciando as bandas heterocromáticas C-positivas e o padrão de bandas gerado com as endonucleases de restrição: <i>Alu</i> I, <i>Hae</i> III, <i>Dde</i> I e <i>Bam</i> HI .....	74
<b>Figura 4</b> – Pares cromossômicos da população D de <i>Hypostomus</i> aff. <i>unae</i> evidenciando as bandas heterocromáticas C-positivas e o padrão de bandas gerado com as endonucleases de restrição: <i>Alu</i> I, <i>Hae</i> III, <i>Dde</i> I e <i>Bam</i> HI .....	75

**Figura 5** – Idiograma representativo dos pares cromossômicos das populações A, B, C e D de *Hypostomus* aff. *unae*, evidenciando o padrão geral de bandas após a digestão com as enzimas *Alu* I, *Bam* HI, *Hae* III e *Dde* I ..... 75

**Artigo C: CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA DE POPULAÇÕES *Hypostomus* cf. *wuchereri* DE BACIAS HIDROGRÁFICAS COSTEIRAS DA BAHIA**

**Figura 1** – Cariótipos de *Hypostomus* cf. *wuchereri*. (A) População do rio Mutum, (B) População do rio Una. Em destaque os portadores das regiões organizadoras de nucléolo (RONs) após a coloração com nitrato de Prata, (Ag RONs), bandamento C (BC) e coloração com cromomicina A3 (CMA3) ..... 89

**Figura 2** – Pares cromossômicos com sítios heterocromáticos em *Hypostomus* cf. *wuchereri*. (A) População do rio Una, (B) População do rio Mutum ..... 90

**Figura 3** – Cromossomos de *Hypostomus* cf. *wuchereri* submetido a coloração com os fluorocromos cromomicina A3 (CMA3) e DAPI. População do rio Mutum: A e B. População do rio Una: C e D. Os asteriscos indicam os cromossomos portadores das RONs. A, e C, = CMA3 e B e D = DAPI ..... 90

**Figura 4** – Pares cromossômicos de *Hypostomus* cf. *wuchereri* da população do rio Una evidenciando as regiões heterocromáticas C-positivas e o padrão de bandas correspondentes obtidos com as endonucleases de restrição: *Alu* I, *Hae* III, *Dde* I e *Bam* HI ..... 91

**Figura 5** – Pares cromossômicos de *Hypostomus* cf. *wuchereri* da população do rio Mutum evidenciando as regiões heterocromáticas C-positivas e o padrão de bandas correspondentes obtidos com as endonucleases de restrição: *Alu* I, *Hae* III, *Dde* I e *Bam* HI ..... 91

**Figura 6** – Idiograma representativo dos pares cromossômicos das populações de *Hypostomus cf. wuchereri* evidenciando o padrão geral de bandas após a digestão com as enzimas *Alu I*, *Bam HI*, *Hae III* e *Dde I*. População do rio Una (A), População do rio Mutum(B)..... 92

## SUMÁRIO

<b>1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	14
1.1 CARACTERIZAÇÃO DA REGIÃO HIDROGRÁFICA DO ATLÂNTICO LESTE.....	14
1.1.1 Bacia do Rio de Contas .....	14
1.1.2 Sub -Bacia do Recôncavo Sul .....	16
1.2 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A ORDEM SILURIFORMES E FAMÍLIA LORICARIIDAE.....	18
1.3 CITOGENÉTICA DA FAMÍLIA LORICARIIDAE COM ÊNFASE NA SUBFAMÍLIA HYPOSTOMINAE .....	19
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	32
2.1 OBJETIVO GERAL.....	32
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	33
<b>3 MATERIAL E LOCAL DE COLETA</b> .....	33
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	35
<b>ARTIGO A</b> .....	43
<b>CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA DE QUATRO POPULAÇÕES DE <i>Hypostomus aff. unae</i> DA BACIA DO RIO DE CONTAS</b> .....	44
<b>ARTIGO B</b> .....	64
<b>ANÁLISE DA HETEROGENEIDADE DA HETEROCROMATINA EM <i>Hypostomus aff. unae</i> (Siluriformes, Loricariidae)</b> .....	65
<b>ARTIGO C</b> .....	79
<b>CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA DE POPULAÇÕES <i>Hypostomus cf.</i> <i>wuchereri</i> DE BACIAS HIDROGRÁFICAS COSTEIRAS DA BAHIA</b> .....	80
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	93
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	95

## 1.FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 1.1 CARACTERIZAÇÃO DA REGIÃO HIDROGRÁFICA DO ATLÂNTICO LESTE

A região hidrográfica do Atlântico Leste localiza-se aproximadamente entre as coordenadas 9°40' a 19° 00' de latitude sul e 36° 40' a 44° 00' de longitude oeste, compreendendo os estados da Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo e Sergipe. Com uma área de 386.092 km<sup>2</sup>, equivalente a 4% do território brasileiro. A região pode ser dividida como 26% de sua área dentro do Estado de Minas Gerais, 1% no estado do Espírito Santo, 69% no estado da Bahia e 4% no Estado de Sergipe (**Figura 1a**) (MMA, 2006).

Essa região encontra-se dividida em cinco principais bacias as quais são subdivididas em 16 unidades hidrográficas: Bacia do Rio de Contas, Itapicuru-Paraguaçu (sub-bacias: Itapicuru, Paraguaçu, Recôncavo Sul ou Recôncavo 01 e Recôncavo Norte ou Recôncavo 02), Jequitinhonha (sub-bacias: Jequitinhonha 01, 02, 03 e Pardo), Itanhém-Mucuri (sub-bacias: Itaúnas, Litoral Sul BA 01, Mucuri e São Matheus) e Bacia Real – Sergipe (sub-bacias: Litoral SE 01, Litoral SE 02 e Vaza-Barris) (MMA, 2006) (**Figura 1b**).

#### 1.1.1 Bacia do Rio de Contas

A bacia do rio de Contas localiza-se na região centro-sul do estado da Bahia, Planalto Sul-baiano e parte meridional da Chapada Diamantina, entre as coordenadas de 12° 55' e 15° 30' de latitude sul e 39° 00' e 42° 35' de longitude oeste. Faz limites ao norte com a bacia do rio Paraguaçu e com as bacias do Leste, a oeste com a bacia do rio São Francisco, a leste com o Oceano Atlântico e ao sul com a bacia do rio Pardo e com o Estado de Minas Gerais (SRHSH, 1993).

O rio de Contas é o principal rio dessa bacia, com nascente na Chapada Diamantina e desaguando no Oceano Atlântico no município de Itacaré. Essa bacia apresenta três regiões com características fisiográficas bem diferenciadas: Alto, Médio e Baixo Contas. O Alto Contas é a parte da bacia compreendida do divisor de águas do rio São Francisco até, aproximadamente, as cidades de Itanhacú e Anagé, com extensão de 183 km, e um desnível de

896 km, onde predominam as características climáticas e fisiográficas do semi-árido baiano. Nesta região localizam-se os principais tributários do rio de Contas: os rios Brumado, do Antônio e Gavião. O Médio Contas é um trecho da bacia compreendido entre a cidade de Contendas do Sincorá e Jequié, onde ocorre a transição do clima semi-árido da caatinga para o clima semi-úmido do Baixo Contas. Nesta região destacam-se os rios Sincorá, Jacaré e Jequezinho, tributários da margem esquerda do Contas bem como o grande reservatório da Barragem da Pedra, situado a 18 km a montante da cidade de Jequié (SRHSH, 1993).

A Barragem da Pedra foi construída na década de 60 com a finalidade de promover o abastecimento de água, a geração de energia elétrica e incremento da pesca. A barragem compreende também os municípios de Manoel Vitorino e Maracás. Segundo Paiva (1982), o rio de Contas tem uma área de drenagem de 38.720 km<sup>2</sup>, nas proximidades do reservatório.

Os diferentes mosaicos formados pelos ecótonos no perímetro do reservatório estabelecem mudanças nos padrões espaciais e temporais nas comunidades de peixes, como a composição taxonômica, estrutura trófica, guildas de reprodução e diversidade que, anteriormente, eram estabelecidos pelos ciclos sazonais (PIANKA, 1974; WINEMILLER ; LESLIE, 1992). Sabe-se, ainda, que a construção de represas pode promover uma interrupção no fluxo gênico entre populações de organismos aquáticos, com alterações subseqüentes nas freqüências de genes das espécies, alterando as proporções relativas dos componentes da diversidade intra e inter-populacional (AVISE ; FELLE, 1979; VRIJENHOEK, 1998). Os reservatórios podem causar modificações no padrão de dispersão de várias espécies de peixes migratórios (AGOSTINHO *et al.*, 1992) e, sob determinadas circunstâncias, podem conduzir à extinção de espécies incapazes de se adaptar a esse tipo de mudança (GODINHO ; GODINHO, 1994).

Além disso, visando aumentar a produção pesqueira, o antigo Departamento Nacional de Obras Contra as Secas - BA (DNOCS) transferiu para o Reservatório da Barragem da Pedra, algumas espécies de outras bacias hidrográficas brasileiras, tais como *Plagioscion squamosissimus* (pescada), *Prochilodus costatus* (curimatã) e *Astronotus ocellatus* (apaiari). Outras espécies foram acidental ou intencionalmente introduzidas, como *Pygocentrus piraya*, *Serrasalmus brandtii* (piranhas) e *Cichla* sp. (tucunaré) e encontram-se dispersas ao longo da bacia (BRITSKI *et al.*, 1988). A introdução de espécies tem gerado consequências desastrosas na ictiofauna nativa, pois introduzem patógenos, promovem redução genética e competem com espécies nativas, levando à diminuição da abundância e mesmo à extinção (HILSDORF ; PETRERE, 2002).

Adicionalmente a essa problemática, uma avaliação recente da qualidade das águas da bacia hidrográfica do rio de Contas detectou o comprometimento de alguns locais pela ejeção de esgotos domésticos. O principal foco de tal contaminação localiza-se no município de Jequié, onde foram verificados ainda níveis anormais de cloretos e sólidos totais. Outros locais também são afetados por esgotos domésticos como os trechos de mananciais sob a influência dos núcleos urbanos dos municípios de Ipiaú e Ubatã (CRA, 2001).

### 1.1.2 Sub -Bacia do Recôncavo Sul

A unidade hidrográfica Recôncavo Sul drena uma área de 17.788 km<sup>2</sup> e situa-se aproximadamente entre as coordenadas 12° 40' a 14° 20' de latitude Sul e 38 °55' a 40° 20' de longitude Oeste, o que lhe confere características climáticas tropicais, influenciadas pelas áreas planálticas a oeste e pela proximidade do mar a leste. Limita-se ao norte e a oeste com a bacia do rio Paraguaçu, a sul e a oeste com a bacia do Rio de Contas, e a leste com o Oceano Atlântico. Os principais cursos hídricos que cortam as bacias do Recôncavo Sul são os rios Jaguaripe, Jequiriçá, Ribeira do Cupido, Rio do Braço, Una, Jequié, Almas, Preto e Cachoeira Grande (MMA, 2006).

Segundo informações do Centro de Recursos Ambientais da Bahia (CRA, 2001), do Instituto Mineiro de Gestão das Águas (IGAM, 2002) e do Ministério do Meio Ambiente (MMA, 2006), toda a região hidrográfica do Atlântico Leste encontra-se bastante alterada por ações antrópicas. Em relação à Bacia do Recôncavo Sul, os problemas relacionados à estas ações incluem: atividades agropecuárias e extrativismo vegetal (desmatamento, utilização de agrotóxicos), atividade de mineração (degradação de áreas), atividade urbana (lançamento de esgotos domésticos, disposição inadequada de resíduos sólidos) e atividade industrial (lançamento de efluentes líquidos) (CRA, 2001).

Tais atividades têm causado sérios desequilíbrios aos ecossistemas naturais, especialmente o lançamento de esgotos domésticos, constituindo a principal fonte de comprometimento dos mananciais nesta bacia (MMA, 2006). Atualmente, os rios que compõem as bacias do Recôncavo Sul recebem despejo de efluentes domésticos sem tratamento das cidades localizadas em suas margens, apresentando assim elevados índices de contaminação por bactérias do grupo coliforme. Cabe mencionar, que os teores mais elevados

de coliformes fecais foram registrados no rio Una, localizado à jusante da Companhia Valença/Industrial e rio Jaguaripe, localizado no centro da cidade de Nazaré (CRA, 2001).

A atividade turística também merece destaque, cuja expansão nem sempre vem acompanhada de procedimentos ambientais adequados, representando mais um fator de degradação importante e que deve ser continuamente monitorado. Em muitos casos, o turismo apresenta forte potencial poluidor, como ocorre no rio Una, que divide a cidade de Valença, hoje maior centro de turismo da Costa do Dendê (área do baixo sul, incluindo Morro de São Paulo e Camamu) (MELO, 2006). Neste sentido, é possível reconhecer a existência de um cenário representado por grandes pressões antrópicas, porém, contextualizados pelo seu caráter mais local.

Em relação à atividade pesqueira, a bacia do Recôncavo Sul apresenta uma produção bem abaixo de seu potencial, mesmo assim a região é a principal responsável pelo abastecimento de pescado de Salvador, e a carcinicultura vêm ganhando importância crescente na produção de pescado regional. A ictiofauna encontrada na área inclui espécies de relevante importância comercial, tais como: robalo, tainha, linguado e algumas espécies migratórias como o dourado (CRA, 2001).

De acordo com algumas previsões, as taxas de extinção em espécies aquáticas serão cinco vezes superiores às espécies terrestres nas próximas décadas (COATES, 2004). Apesar disso, o planejamento de estratégias para conservação e o manejo sustentável da biodiversidade aquática são ainda recentes (ABELL *et al.*, 2002). Tendo em vista que a região hidrográfica do Atlântico Leste tem sofrido grande pressão das atividades humanas (CRA, 2001; IGAM, 2002 ; MMA, 2006), ações prementes na área de conhecimento e conservação da diversidade de peixes ao longo da bacia do Rio de Contas são necessárias, uma vez que vários ecossistemas encontram-se impactados por quase toda a sua extensão (CRA, 2001, RAPINI *et al.*, 2006). Tais impactos resultam numa elevada taxa de perda de habitats e diversidade, principalmente em lugares de extrema importância biológica e com carência de informações como é o caso das bacias da Bahia (MMA, 2006).

De fato, apesar dos principais sistemas hidrográficos do leste do Brasil (Paraguaçu, Contas, Jequitinhonha, Doce, Paraíba do Sul, Ribeira de Iguape, Itajaí e Jacuí), bem como várias outras pequenas drenagens adjacentes, apresentarem um alto grau de endemismo (RIBEIRO, 2006), o conhecimento essencial, sobre os padrões de diversidade genética de várias espécies e populações de peixes em bacias dessa região permanecem praticamente desconhecidos (MEDRADO *et al.*, 2008).

## 1.2 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A ORDEM SILURIFORMES E FAMÍLIA LORICARIIDAE.

Entre os Ostariophysi, os Siluriformes representam um grupo rico e excepcionalmente diverso de peixes, classificados em terceiro lugar entre as ordens dos vertebrados (NELSON, 2006), com 36 famílias, 477 gêneros e 3088 espécies e ampla distribuição geográfica. Os bagres, como são popularmente conhecidos, foram diagnosticados primariamente como um grupo natural de água doce, porém, a tolerância à salinidade de várias espécies estende-se, ou é mesmo limitado, em níveis estuarinos ou oceânicos. Assim, enquanto a maioria deles é registrada em águas interiores, a distribuição da ordem também inclui as regiões costeiras e ilhas próximas aos continentes (FERRARIS JR, 2007).

As espécies de peixes da ordem Siluriformes assumem desde pequeno até grande porte, apresentando hábitos sedentários, o que contribui para a grande dificuldade apresentada por esses peixes em superar cachoeiras e corredeiras que se interpõem às suas raras migrações (BRITSKI, 1981). Os Loricariidae, pertencentes a esta ordem, são comumente conhecidos como cascudos e ocupam o segundo lugar em número de espécies entre os peixes neotropicais (REIS *et al.* 2003). Eles possuem uma grande capacidade adaptativa, pois estão presentes em habitats muito variados e distribuem-se por todo o neotrópico (REIS, *et al.*, 2003).

De acordo com Ferraris, Jr. (2007), já foram descritos 70 gêneros e 716 espécies de Loricariidae, sendo que muitas novas espécies são descritas todos os anos (por ex., JEREP *et al.*, 2007; ZAWADSKI *et al.*, 2008; SARMENTO-SOARES *et al.*, 2009). Armbruster (2004) divide a família Loricariidae em seis subfamílias: Lithogeninae, Neoplecostominae, Hypoptopomatinae, Loricariinae, Delturinae e Hypostominae. A subfamília Hypostominae encontra-se subdividida em cinco tribos: Corymbophanini, Rhinelepini, Pterygoplichtini, Ancistrini e Hypostomini (REIS *et al.*, 2006).

O gênero *Hypostomus*, pertencente a subfamília Hypostominae, é considerado dominante nos rios brasileiros (BRITSKI, 1972) e um dos mais complexos da ictiofauna neotropical, possuindo grande número de espécies com sistemática extremamente confusa (REIS *et al.*, 1990). Seus representantes possuem abertura bucal mais ampla e corpo mais achatado. Assim, devido seu formato corporal, populações expressivas de *Hypostomus* sp, estão predominantemente associadas a riachos com boa disponibilidade de corredeiras e boa qualidade ripária, sugerindo que atributos populacionais dessas espécies possam ser

posteriormente incorporados à avaliação da integridade biótica dos riachos da região neotropical (CASATTI *et al.*, 2005).

### 1.3 CITOGENÉTICA DA FAMÍLIA LORICARIIDAE COM ÊNFASE NA SUBFAMÍLIA HYPOSTOMINAE.

Diante do grande número de espécies, os estudos citogenéticos são ainda escassos em Loricariidae (ALVES, 2000; ARTONI ; BERTOLLO, 2001), ou mesmo inexistentes (ex: subfamília Lithogeninae). Estima-se que apenas 111 espécies de Loricariidae já tenham sido estudadas citogeneticamente (Tabela 1). Esses resultados indicam grande diversidade cariotípica, com ampla variação no número diplóide de  $2n=34$  em *Ancistrus* sp. 1 e *Ancistrus* sp. 2 (OLIVEIRA *et al.*, 2006) a  $2n=96$  em *Upsilonodus* sp. (KAVALCO *et al.*, 2005). Esta diversidade sugere a ocorrência de vários rearranjos Robertsonianos e inversões conduzindo a uma evolução cariotípica divergente (ARTONI ; BERTOLLO, 2001).

Além da diversidade numérica, verifica-se grande variabilidade estrutural em Loricariidae. Rearranjos estruturais, com fórmulas cariotípicas diferenciadas, podem ser encontrados mesmo entre membros de uma mesma espécie, como observado em *Rineloricaria latirostris* por Giuliano-Caetano (1998).

Em Hypostominae, apenas doze gêneros: *Hypostomus*, *Liposarcus*, *Rhinelepis*, *Pogonopoma*, *Ptrygoplichthys*, *Megalancistrus*, *Glyptoperichthys*, *Corymbophanes*, *Panaque*, *Ancistrus*, *Baryancistrus* e *Hemiancistrus* possuem informações citogenéticas, sendo *Hypostomus* o que apresenta o maior número de espécies já cariotipadas (KAVALCO *et al.*, 2005). Até o presente momento, o número diplóide nessa subfamília varia de  $2n=34$  para *Ancistrus* sp. (OLIVEIRA *et al.*, 2009) a  $2n=84$  em *Hypostomus* sp 2-Rio Perdido NUP 4249 (CEREALI, *et al.* 2008). Os dados disponíveis para estes gêneros indicam que rearranjos Robertsonianos e inversões pericêntricas atuaram no processo de diversificação cariotípica da subfamília (KALVACO, 2003). Entretanto, é possível que essa diversidade cromossômica seja também reflexo de uma possível origem polifilética dos Hypostominae, como indicado em estudos de filogenia morfológica por Schaefer (1987) (KAVALCO *et al.*, 2005).

A presença de 54 cromossomos parece ser uma característica ancestral em Loricariidae (ARTONI ; BERTOLLO, 2001), podendo ser observada em todos os Neoplecostominae (ALVES, 2000; ALVES *et al.*, 2005; KAVALCO *et al.*, 2005), em

algumas espécies de Loricariinae (FENOCCHIO *et al.*, 1993; SCAVONE ; JULIO Jr., 1994) e Hypostominae (ALVES, *et al.*, 2005; MURAMOTO *et al.*, 1968; ARTONI ; BERTOLLO, 2001) e vários Hypoptomatinae (CAMILO, 2004; FERREIRA *et al.*, 2005; ANDREATA, 1991; ANDREATA *et al.*, 1992; 1994; 2006), sendo as duas últimas consideradas basais na família (ARMBRUSTER, 2004).

Os representantes do gênero *Hypostomus* apresentam uma série de peculiaridades cromossômicas e são, sem dúvida, de grande interesse para a citogenética de peixes. Aproximadamente 30 espécies de *Hypostomus* foram estudadas até o momento e os números diplóides variam de  $2n=52$  (ARTONI; BERTOLLO, 2001) a  $2n=84$  (CEREALI *et al.*, 2008) (Tabela 1), com uma maior frequência de  $2n=76$ . É possível que a estrutura cromossômica com menor número diplóide seja a mais ancestral dentro de *Hypostomus*, enquanto  $2n$  mais elevados sejam tipicamente derivados. Dessa forma, as fissões cêntricas surgem como um provável processo de importância evolução cariotípica deste grupo (ARTONI ;BERTOLLO, 2001).

O número de espécies cariotipadas é relativamente baixo quando comparado à diversidade biológica de Loricariidae, representando apenas cerca de 15% das espécies descritas. Até o momento, há poucos relatos de cromossomos sexuais nestes peixes, como os cromossomos heteromórficos do tipo XX/XY ou ZZ/ZW ocorrem em espécies de subfamílias diferentes, como Hypostominae, Hypoptomatinae e Loricariinae (ARTONI; BERTOLLO, 2001), além da ocorrência de sistemas de cromossomos sexuais múltiplos do tipo  $Z_1Z_1Z_2Z_2/Z_1Z_2W_1W_2$  em *Ancistrus* sp. 3 e XX/XY<sub>1</sub>Y<sub>2</sub> em *Ancistrus* sp. 8, subfamília Hypostominae (OLIVEIRA *et al.*, 2006) e um sistema tipo XX/XY<sub>1</sub>Y<sub>2</sub> em *H. carvalhoi*, Loricarinae (CENTOFANTE *et al.*, 2006). No gênero *Hypostomus*, dois tipos de sistema de cromossomos sexuais foram observados, ZZ/ZW para *Hypostomus* sp G (ARTONI, 1996) e um provável sistema XX/XY para *H. macrops* (MICHELE *et al.*, 1977).

**Tabela 1** – Dados citogenéticos em espécies de Loricariidae

Espécie	Localidade	2n	Fórmula	B	Crom. sexuais	Referência
<b>Cromossômica</b>						
<b>HYPOPTOPOMATINAE</b>						
<b><i>Corumbataia</i></b>						
<i>C. cuestae</i>	Ribeirão Lapa (SP)	54	28m+20sm+6st	---	-----	17
<i>C. cuestae</i>	Rio Alambari, Botucatu (SP)	54	34m+20sm	---	-----	24
<i>C. tocantinensis</i>	Rio Vermelho, Goiás (GO)	54	28m+26sm	---	-----	24
<b><i>Hisonotus</i></b>						
<i>H. depressicauda</i> citado como <i>Microlepdogaster</i> <i>depressicauda</i>	Rio Santo Inácio (SP)	54	14m+28sm+2st+10a	----	-----	8
<i>H. gibbosus</i>	Rio Betari (SP)	58	-----	---	-----	9
<i>H. leucofrenatus</i>	Ribeirão do Cavallo, Jaraguá do Sul (SC)	54	22m+24sm+6st+2a	---	-----	10
<i>H. leucofrenatus</i> , citado como <i>Microlepdogaster</i> <i>leucofrenatus</i>	Rio Marumbi (PR)	54-56	22m+26sm+4st+2a (M)  22m+25sm+5st+2a (F)	0-2	ZZ/ZW	7
<i>H. leucofrenatus</i> , citado como <i>Microlepdogaster</i> <i>leucofrenatus</i>	Rio Poço Grande (SP)	54-56	24m+26sm+4st (M)  24m+25sm+5st (F)	0-2	ZZ/ZW	7
<i>H. nigricauda</i>	Rio Guaíba, Eldorado do Sul (RS)	54	26m+20sm+8st	---	-----	10
<i>Hisonotus</i> sp citado como <i>Microlepdogaster</i> sp.	Ribeirão Jacutinga (SP)	54	-----	---	-----	8
<i>Hisonotus</i> sp citado como <i>Microlepdogaster</i> sp.	Ribeirão Quinta (SP)	54	-----	---	-----	8
<i>Hisonotus</i> sp. A	Rio Paraitinga, Salesópolis (SP)	54	26m+26sm+2st	---	-----	10
<i>Hisonotus</i> sp. D	Ribeirão Grande, Pindamonhangaba (SP)	54	26m+26sm+2st	---	-----	10
<b><i>Hypoptopoma</i></b>						
<i>H. guentheri</i>	Rio Pirai, Poconé (MT)	54	10m+18sm+8st+18a	---	-----	24
<b><i>Microlepdogaster</i></b>						

<i>Microlepdogaster</i> sp. A	Rio Alambari (SP)	54	30m+20sm+4st	---	-----	8
<i>Microlepdogaster</i> sp. B	Ribeirão Moia (SP)	54	22m+28sm+4st	---	-----	8
<b>Espécie</b>	<b>Localidade</b>	<b>2n</b>	<b>Fórmula</b>	<b>B</b>	<b>Crom. sexuais</b>	<b>Referência</b>
<b>Cromossômica</b>						
<b><i>Otocinclus</i></b>						
<i>O. affinis</i>	Rio Biguá (SP)	54	46m+8sm	---	-----	8
<i>O. affinis</i>	Rio Bonito (RJ)	54	40m+12sm+2st	---	-----	8
<i>O. aff. vestitus</i>	Rio Livramento (PA)	72	22m+12sm+4st+34a	---	-----	8
<i>O. flexilis</i>	Santo Antônio da Patrulha, (RS)	54	36m+18sm	---	-----	24
<i>O. vittatus</i>	Rio Cuiabá, Santo Antônio do Leverger (MT)	54	12m+10sm+14st+18 a	---	-----	24
<i>O. vittatus</i>	Rio Taquari, Coxim (MS)	54	36m+18sm	---	-----	24
<b><i>Otothyris</i></b>						
<i>O. juquiaie</i>	Rio Preto, Itanhaém (SP)	54	32m+10sm+12st	---	-----	24
<i>O. travassosi</i>	Rio Ribeira da Terra Firme, Canavieiras (BA)	54	26m+16sm+12st	---	-----	24
<b><i>Parotocinclus</i></b>						
<i>P. maculicauda</i>	Rio Poço Grande (SP)	54	20m+32sm+2st	---	-----	8
<b><i>Schizolecis</i></b>						
<i>S. guentheri</i>	Ribeirão Parati- Mirim, Parati (RJ)	54	30m+18sm+6a	---	-----	24
<i>S. guentheri</i>	Ribeirão Sítio do Meio, Mongaguá (SP)	54	30m+18sm+6a	---	-----	24
<i>S. guentheri</i>	Ribeirão Descoberto, Guaratuba (PR)	54	30m+18sm+6a	---	-----	24
<i>S. guentheri</i>	Ribeirão Garuva, Garuva (SC)	54	30m+18sm+6a	---	-----	24
<b><i>Pseudotocinclus</i></b>						
<i>Pseudotocinclus n.sp.</i>	Rio Juquiá, Juquitiba (SP)	54	22m+24sm+8st	---	-----	24
<i>P. maculicauda</i>	Rio Poço Grande (SP)	54	20m+32sm+2st	---	-----	5

<i>P. tietensis</i>	Piracicaba (SP)	54	28m+20sm+6st. (F)	---	XX/XY	6
			27m+21sm+6st. (M)			

***Pseudotothiris***

<i>Pseudotothiris obtusa</i>	Rio Itanhaém (SP)	54	26m+18sm+4st+6a	---	-----	8
------------------------------	-------------------	----	-----------------	-----	-------	---

**HYPOSTOMINAE**

<b>Espécie</b>	<b>Localidade</b>	<b>2n</b>	<b>Fórmula Cromossômica</b>	<b>B</b>	<b>Crom. sexuais</b>	<b>Referência</b>
<b>Tribo ancistrini</b>						
<b><i>Ancistrus</i></b>						
<i>A. cuiabae</i>	Baia do Arrombado, Mato Grosso (MT)	34	20m+8sm+6st 19m+8sm+6st+1a 18m+8sm+6st+2a	---	-----	42
<i>A. cf. dubius</i>	Bacia do Rio Paraguai (MT)	44	18m+10sm+16st/a	---	ZZ/Z W	29
<i>A. cf. dubius</i>	Rio Coxipó, Chapada dos Guimarães (MT)	42	24m+10sm+8st	---	-----	30
<i>A. cf. dubius</i>	Riacho Fundo, Poconé; Riacho Pari, Cuiabá; Riacho Flacha, Cáceres (MT)	42	24m+10sm+8st	---	XX/X Y	30
<i>A. multispinnis</i>	Rio Itapocu (SC)	52	28m/sm+24st/a	---	-----	2
<i>A. ranunculus</i>	Rio Xingu (PA)	48	20m+8sm+6st+14a (M) 19m+9sm+6st+14a. (F)	---	ZZ/Z W	34
<i>Ancistrus sp.</i>	Rio Paraná (PR)	48	18m+14sm+12st+4a	---	-----	11
<i>Ancistrus sp.</i>	Rio Itapocu (SC)	52	28m/sm+ 24st/a	---	-----	1
<i>Ancistrus sp.</i>	Rio Iguaçu (PR)	48	18m+14sm+12st+4a	---	-----	28
<i>Ancistrus n. sp.</i>	Rio Betari (SP)	52	32m/sm+20st/a	---	-----	2
<i>Ancistrus n. sp.</i>	Rio São Francisco (AC)	38	30m/sm+8st	---	-----	2
<i>Ancistrus n sp. 1,</i>	Rio Vermelho, Goiás Velho (GO)	39 40	33m+6sm.(M) 34m+6sm.(F)	---	XX/X 0	 4
<i>Ancistrus n sp. 2</i>	Rio Guaruva (SC)	52	10m+16sm+12st+1 4a	---	-----	4
<i>Ancistrus sp. 2</i>	Rio Itapocu (SC)	52	28m/SM+24st/a	---	-----	1
<i>Ancistrus sp. 2</i>	Lago Catalão (AM)	34	21m+9sm+4st.(M) 22m+8sm+4st.(F)	---	XX/X Y	33

<i>Ancistrus</i> sp. 3	Rio Igarapé, São Francisco (AC)	38	30m/SM+8st/a	---	-----	1
<i>Ancistrus</i> sp. 3	Rio Demeni (AM)	52	12m+12sm+2st+26a (M)	---	Z <sub>1</sub> Z <sub>1</sub> Z <sub>2</sub> Z <sub>2</sub> /	33
			11m+11sm+3st+27a (F)		Z <sub>1</sub> Z <sub>2</sub> W <sub>1</sub> W <sub>2</sub>	
<i>Ancistrus</i> sp. 6	Lago Aiapuí (AM)	52	14m+10sm+2st+26a (M)	---	ZZ/Z W	33
			14m+11sm+2st+25a (F)			
<i>Ancistrus</i> sp. 7	Igarapé Dimona (AM)	52	16m+8sm+2st+26a	---	-----	33
<i>Ancistrus</i> sp. 8	Igarapé Barretinho (AM)	39	27m+10sm+2st.(M)	---	XX/X	33
		38	26m+10sm+2st.(F)		Y <sub>1</sub> Y <sub>2</sub>	

<b>Espécie</b>	<b>Localidade</b>	<b>2n</b>	<b>Fórmula Cromossômica</b>	<b>B</b>	<b>Crom. sexuais</b>	<b>Referência</b>
<i>Ancistrus</i> sp. <i>mocoari</i>	Rio Branco (RR)	46	18m+11sm+6st+11a.(M) 18m+12sm+6st+10a.(F)	---	XX/XY	43
<i>Ancistrus</i> sp. <i>purus</i>	Rio Purus (AM)	34	20m+12sm+2st.(F) 21m+11sm+2st.(M)	---	XX/XY	43
<i>Ancistrus</i> sp. <i>trombetas</i>	Rio Trombetas (PA)	38	22m+8sm+5st+3a	---	-----	43
<i>Ancistrus</i> sp. <i>vermelho</i>	Rio Demeni (AM)	42	26m+6sm+4st+6a	---	-----	43
<b><i>Baryancistrus</i></b>						
<i>B. aff. niveatus</i>	Rio Xingu (PA)	52	16m+32sm+4st	---	-----	40
<b><i>Hemiancistrus</i></b>						
<i>Hemiancistrus</i> sp.	Rio Araguaia (MT)	52	20m+20sm+12st/a	---	-----	16
<i>H. spilomma</i>	Rio Araguaia (MT)	52	25m+21sm+6st. (M) 24m+22sm+6st. (F)	---	ZZ/ZW	33
<i>H spinosissimus</i>	Rio Araguaia (MT)	52	26m+22sm+4st	---	-----	33
<b><i>Megalancistrus</i></b>						
<i>M. aculeatus</i>	Rio Paraná (PR)	52	26m+26sm	---	-----	11
<i>M. aculeatus</i>	Rio Iguaçu (PR)	52	26m+26sm	---	-----	28
<b><i>Panaque</i></b>						
<i>P. cf. nigrolíneatus</i>	Rio Araguaia (MT)	52	26m+20sm+6st	---	-----	16
<b>Tribo Corymbophanini</b>						
<b><i>Corymbophanes</i></b>						
<i>Corymbophanes</i> n. sp.	Rio Chopotó, Desterro de Melo (MG)	54	20m+20sm+14st	---	-----	3

**Tribo Hypostomini*****Hypostomus***

<i>H. affinis</i>	Ribeirão Jacuí (SP)	66	14m+14sm+12st+26a	---	-----	27
<i>H. ancistroides</i>	Afluentes do Rio Tibagi	68	16m+18sm+34st/a	---	-----	12
<i>H. ancistroides</i>	-----	68	10m+26sm+32st/a	---	-----	36
<i>H. ancistroides</i>	Rio Mogi-Guaçu (SP)	68	16m+18sm+34st/a	---	-----	12
<i>H. ancistroides</i>	Rio Araquá, Botucatu (SP)	68	18m+10sm+12st+28a	---	-----	4

<b><i>Espécie</i></b>	<b>Localidade</b>	<b>2n</b>	<b>Fórmula Cromossômica</b>	<b>B</b>	<b>Crom. sexuais</b>	<b>Referência</b>
<i>H. ancistroides</i>	-----	68	10m+27sm+31st/a (M) 10m+28sm+30st/a (F)	---	XX/XY	31
<i>H. albopunctatus</i>	Rio Mogi-Guaçu (SP)	74	10m+20sm+44st/ a	---	-----	12
<i>H. albopunctatus</i>	Rio Piracicaba (SP)	74	10m+20sm+44st/ a	---	-----	17
<i>H. aff. auroguttatus</i>	Rio Mogi-Guaçu (SP)	76	8m+30sm+38st/a	---	-----	12
<i>H. emarginatus</i>	Rio Araguaia (MT)	52	16m+30sm+6st/a	---	-----	16
<i>H. goyazensis</i>	Rio Vermelho, Goiás Velho (GO)	72	10m+16sm+10st+36a	---	-----	4
<i>H. macrops</i>	-----	68	10m+14sm+44st/a	---	-----	31
<i>H. nigromaculatus</i>	Ribeirão três Bocas e dos Apertados (PR)	76	6m+20sm+50st/a	---	-----	37
<i>H. nigromaculatus</i>	Rio Mogi-Guaçu (SP)	76	8m+20sm+48st/a	---	-----	37
<i>H. paulinus</i>	-----	74	10m+20sm+44st/a	---	-----	31
<i>H. paulinus</i>	Ribeirão Três Bocas	76	6m+16sm+54st/a	---	-----	36
<i>H. plecostomus</i>	-----	54	24m/sm+12st+18a	---	-----	32
<i>H. regani</i>	Rio Mogi-Guaçu (SP)	72	10m+20sm+42st/a	---	-----	12
<i>H. regani</i>	Rio Araquá, Botucatu (SP)	72	12m+18sm+26st+16a	---	-----	4
<i>H. regani</i>	Ribeirão do Jacutinga (PR)	72	10m+18sm+44st/a	---	-----	36
<i>H. regani</i>	Rio Piumhi, São francisco (MG)	72	8m+16sm+20st+28a	---	-----	41
<i>Hypostomus sp 2-Rio Perdido NUP 4249</i>	Rio Perdido (MS)	84	6m + 16sm + 62st/a	---	-----	19
<i>Hypostomus sp 3-Ribeirão Salobrinha NUP 4247</i>	Ribeirão Salobrinha (MS)	82 83	6m+12sm+64st/a 6m + 12sm + 65st/a 6m+12sm+66st/a	1-2	-----	19
<i>Hypostomus sp.1</i>	Rio Paranapanema	64	-----	---	-----	22

	(SP)					
<i>Hypostomus sp.1<sup>a</sup></i>	Ribeirão dos Patos	76	6m+8sm+16st+46a	---	-----	41
	(MG)					

<b>Espécie</b>	<b>Localidade</b>	<b>2n</b>	<b>Fórmula Cromossômica</b>	<b>B</b>	<b>Crom. sexuais</b>	<b>Referência</b>
<i>Hypostomus sp.1b</i>	Ribeirão das Araras (MG)	76	6m+8sm+16st+46a	---	-----	41
<i>Hypostomus sp.2</i>	Ribeirão das Araras (MG)	74	10m+6sm+16st+42a	---	-----	41
<i>Hypostomus sp.2</i>	Ribeirão Jacutinga (SP)	68	-----	---	-----	22
<i>Hypostomus sp.2</i>	Ribeirão Alambari (SP)	68	-----	---	-----	22
<i>Hypostomus sp. 3</i>	Ribeirão Quinta (SP)	72	-----	---	-----	22
<i>Hypostomus sp. 3</i>	Ribeirão Edgardia (SP)	72	-----	---	-----	22
<i>Hypostomus sp. 3</i>	Rio Paranapanema (SP)	72	-----	---	-----	22
<i>Hypostomus sp. 4</i>	Ribeirão Hortelã (SP)	76	-----	---	-----	22
<i>Hypostomus sp. 4</i>	Rio Paranapanema (SP)	76	-----	---	-----	22
<i>Hypostomus sp. A</i>	Rio Rincão (SP)	70	18m+14sm+38st/a	---	-----	12
<i>Hypostomus sp. B</i>	Rio Mogi-Guaçu (SP)	72	12m+18sm+42st/a	---	-----	12
<i>Hypostomus sp. B</i>	Rio Mogi-Guaçu (SP)	72	13m+18sm+41st/a	---	-----	14
<i>Hypostomus sp. C</i>	Rio Mogi-Guaçu (SP)	72	10m+18sm+44st/a	---	-----	12
<i>Hypostomus sp. D1</i>	Rio Mogi-Guaçu (SP)	72	10m+26sm+36st/a	---	-----	12
<i>Hypostomus sp. D2</i>	Rio Mogi-Guaçu (SP)	72	14m+20sm+38st/a	---	-----	12
<i>Hypostomus sp. E</i>	Rio Mogi-Guaçu (SP)	80	8m+16sm+56st/a	---	-----	12
<i>Hypostomus sp. F</i>	Rio São Francisco (MG)	76	10m+16sm+50st/a	---	-----	11
<i>Hypostomus sp. F</i>	Rio São Francisco (MG)	75	10m+17sm+48st/a	---	-----	14
<i>Hypostomus sp. G</i>	Rio Araguaia (MT)	64	14m+24sm+26st/a.	---	ZZ/ZW	13
			(M)			
			15m+24sm+25st/a.			
			(F)			
<i>H. strigaticeps</i>	Ribeirão três Bocas, Rio Jacutinga e Rio Taquari (PR)	72	10m+16sm+46st/a	---	-----	36
<i>H. strigaticeps</i>	Rio Mogi-Guaçu (SP)	74	8m+4sm+62st/a	---	-----	31
<b><i>Liposarcus</i></b>						
<i>L. anisitsi</i>	Rio Preto (SP)	52	16m,+24sm,+8st,+4a	---	-----	15
<i>L. anisitsi</i>	Rio Piracicaba (SP)	52	16m+28sm+6st+2a	---	-----	17
<i>L. anisitsi</i>	Rio Tietê, Botucatu (SP)	52	28m+12sm+8st+4a	---	-----	4

<b>Espécie</b>	<b>Localidade</b>	<b>2n</b>	<b>Fórmula Cromossômica</b>	<b>B</b>	<b>Crom. sexuais</b>	<b>Referência</b>
<i>L. anisitsi</i>	Rio Miranda, Corumbá	52	8m+14sm+14st+1	---	-----	4

	(MS)		6a			
<i>L. multiradiatus</i>	Rio Orinoco, Bolivar, Venezuela	52	22m+18sm+12st	---	-----	4
<i>Pogonopoma</i>						
<i>P. wertheimeri</i>	Rio Mucuri (BA)	54	20m+30sm+4st	---	-----	16
<b>Tribo Pterygoplichthini</b>						
<i>Glyptoperichthys</i>						
<i>G. gibbiceps</i>	Rio Orinoco, Bolivar, Venezuela	52	20m+24sm+8st	---	-----	4
<i>Pterygoplichthys</i>						
<i>P. multiradiatus</i>	Rio Solimões (AM)	52	-----	---	-----	20
<i>P. joselimaianus</i>	Bacia do ri Araguaia (MT)	52	28m+16sm+8st/a	---	-----	33
<b>Tribo Rhineleptini</b>						
<i>Rhineleptis</i>						
<i>R. áspera</i>	Rio Paraná (PR)	54	20m+26sm+8st	---	-----	16
<b>LORICARIINAE</b>						
<i>Harttia</i>						
<i>H. carvalhoi</i>	Bacia do rio Paraíba do Sul (SP)	52 53	18m+18sm+8st+8a 17m+18sm+8st+8a	---	XX/X Y <sub>1</sub> Y <sub>2</sub>	18
<i>H. kronei</i>	Rio Betari (SP)	58	42m/sm+16st/a	---	-----	1
<i>H. loricariformis</i>	Ribeirão grande (SP)	52	32m/sm+20st/a	---	-----	1
<i>H. loricariformis</i>	Rio Paraitinga (SP)	56	16m+22sm+10st+ 8a	---	-----	27
<i>Loricaria</i>						
<i>Loricaria</i> sp.	Rio Guaíba (RS)	66	2m+2sm+62a	---	-----	1
<i>Loricaria</i> sp.	Rio Solimões (AM)	62	-----	---	-----	20
<i>Loricaria</i> sp.	Rio Paraná (PR)	64-69	10m+6sm+4st+44a	1-5	-----	38
<i>L. macrodon</i>	-----	58	18m+2sm+38st/a	---	-----	31
<i>L. parva</i>	-----	48	-----	---	-----	35
<i>L. proluxa</i>	Rio Paraná (PR)	62	20m+4sm+38a	---	-----	38
<i>Loricariichthys</i>						
<i>L. platymetopon</i>	Rio Paraná (PR)	54	6m+20sm+4st+24a	---	ZZ/Z W	39

Espécie	Localidade	2n	Fórmula Cromossômica	B	Crom. sexuais	Referência
<i>Loricariichthys</i> sp.	Rio Paraná (ARG)	54	6m+26sm+4st+18a	---	-----	23
<i>Sturisoma</i>						
<i>S. cf. nigrirostrum</i>	Rio Araguaia (MT)	74	20m+18sm+36st/a	---	-----	16
<i>Rineloricaria</i>						
<i>R. kronei</i>	Ribeirão Cavallo (SP)	64	6m/sm+58st/a	---	-----	1

<i>R. kronei</i>	Rio Itapocu	64	6m/sm+58st/a	---	-----	1
<i>R. cf. latirostris</i>	Rio Piumhi , rio São Francisco (MG)	62	14m/SM+34st/a	---	-----	41
<i>R. latirostris</i>	Rio Passa Cinco (SP)	44	12m+4sm+28a	---	-----	25
		44	10m+4sm+30a			
		44	13m+2sm+29a			
		44	13m+4sm+27a			
		44	13m+1sm+30a			
		44	10m+4sm+30a			
		44	10m+3sm+31a			
<i>R. latirostris</i>	Rio Passa Cinco (SP)	46	10m+3sm+33a	---	-----	25
<i>R. latirostris</i>	Rio Mogi-Guaçu (SP)	36	24m/sm+12st/a	---	-----	25
		37	23m/sm+14st/a			
		38	22m/sm+16st/a			
		39	21m/sm+18st/a			
		40	20m/sm+20st/a			
<i>R. latirostris</i>	Ribeirão Três Bocas (SP)	43	17m/sm+26st/a	---	-----	25
		44	16m/sm+28st/a			
		46	14m/sm+32st/a			
		47	13m/sm+34st/a			
		48	12m/sm+36st/a			
<i>R. latirostris</i>	Rio Passa Cinco (SP)	44	16m/sm+28st/a	---	-----	25
		45	15m/sm+30st/a			
		46	14m/sm+32st/a			
		47	13m/sm+34st/a			
<i>R. latirostris</i>	Ribeirão do Maringá (PR)	46	14m/sm+30st/a	---	-----	21
<i>R. pentamaculata</i>	Córrego Tauá e Córrego Tatupeba (PR)	56	8m/sm+48st/a	---	-----	21
<i>R. pentamaculata</i>	Córrego Tauá (PR)	56 a 59	-----	0-3	-----	21
<i>R. pentamaculata</i>	Ribeirão Keller (PR), córrego	56	8m/sm+48st/a	---	-----	21
<i>R. pentamaculata</i>	Ribeirão Keller (PR)	56	8m/sm+48st/a	---	-----	25,26
<i>Rineloricaria</i> sp.	Rio Betari (SP)	70	2m/sm+68st/a	---	-----	1

#### NEOPLECOSTOMINAE

##### *Pareiorhaphis*

Espécie	Localidade	2n	Fórmula Cromossômica	B	Crom. sexuais	Referência
<i>Pareiorhaphis splendens</i> citado como	Rio Marumbi, Morretes (PR)	54	20m+30sm+4st	---	-----	3

<i>Hemipsilichthys</i>						
<i>splendens</i>						
<i>Pareiorhaphis splendens</i> citado como	Rio São João, Garuva (SC)	54	20m+30sm+4st	---	-----	1,3
<i>Hemipsilichthys splendens</i>						
<i>Pareiorhaphis sp.</i> citado como	Rio dos Patos, Lapa (PR)	54	20m+20sm+14st	---	-----	3
<i>Hemipsilichthys n. sp.</i>						
<i>Pareiorhaphis steindachneri</i> citado como <i>H. steindachneri</i>	Ribeirão Cavalo, Jaraguá do Sul, (SC)	54	20m+20sm+14st	---	-----	3
<i>Pareiorhaphis vestigipinnis</i> citado como	Rio Caveiras, Paineel (SC)	54	20m+20sm+14st	---	-----	3
<i>Hemipsilichthys vestigipinnis</i>						
<b><i>Isbrueckerichthys</i></b>						
<i>I. alipionis</i>	Rio Betari, Iporanga (SP)	54	38m/sm+16st/a	---	-----	1
<i>I. duseni</i>	Rio Betari, Iporanga (SP)	54	20m+20sm+14st	---	-----	3
<b><i>Kronichthys</i></b>						
<i>K. heylandi</i>	Rio Betari, Iporanga (SP)	54	50m/sm+4st/a	---	-----	1
<i>K. lacerta</i>	Rio Marumbi, Morretes (PR)	54	20m+20sm+14st	---	-----	3
<i>K. subteres</i>	Rio Betari, Iporanga (SP)	54	20m+20sm+14st	---	-----	3
<b><i>Neoplecostomus</i></b>						
<i>N. microps</i>	Ribeirão Grande, Pindamonhangaba (SP)	54	42m/sm+12st/a	---	-----	1
<i>N. microps</i>	Ribeirão Grande, Cidade Campos do Jordão (SP)	54	42m/sm+12st/a	---	-----	1
<i>N. microps</i>	Rio Paraitinga (SP)	54	24m+20sm+10st	---	-----	27
<i>N. paranensis</i>	Ribeirão Hortelã,	54	36m/sm+18st/a	---	-----	1

	Botucatu (SP)					
<i>N. paranensis</i>	Ribeirão Sapateiro, Barbacena (MG)	54	20m+20sm+14st	---	-----	3

***Pareiorhina***

<i>P. rudolphi</i>	Ribeirão Grande (SP)	54	48m/sm+6st/a	---	-----	1
--------------------	----------------------	----	--------------	-----	-------	---

Espécie	Localidade	2n	Fórmula Cromossômica	B	Crom. sexuais	Referência
<i>P. rudolphi</i>	Córrego Convento, Pindamonhangaba (SP)	54	26m+16sm+12st	---	-----	3

**DELTURINAE***Upsilodus*

<i>Upsilodus</i> sp.	Rio Paraitinga (SP)	96	16m+8sm+72a	---	-----	27
----------------------	---------------------	----	-------------	-----	-------	----

- 1- Alves, 2000; 2- Alves *et al.*, 2003; 3- Alves *et al.*, 2005; 4- Alves *et al.*, 2006; 5- Andreata, 1991; 6- Andreata *et al.*, 1992; 7- Andreata *et al.*, 1993; 8- Andreata *et al.*, 1994; 9- Andreata *et al.*, 2000; 10- Andreata *et al.*, 2006; 11- Artoni, 1996; 12- Artoni & Bertollo, 1996; 13- Artoni *et al.*, 1998; 14- Artoni & Bertollo, 1999; 15- Artoni *et al.*, 1999; 16- Artoni & Bertollo, 2001; 17- Camilo, 2004; 18- Centofante *et al.*, 2006; 19- Cereali *et al.*, 2008; 20- Della-Rosa *et al.*, 1980; 21- Errero-Porto, 2007; 22- Fenerich & Oliveira, 2004; 23- Fenocchio *et al.*, 1993; 24- Ferreira *et al.*, 2005; 25- Giuliano-Caetano, 1998; 26- Giuliano-Caetano *et al.*, 1999; 27- Kavalco *et al.*, 2005; 28- Lara, 1998; 29- Mariotto *et al.*, 2004; 30- Mariotto & Miyazawa, 2006; 31- Michelle *et al.*, 1977; 32- Muramoto *et al.*, 1968; 33- Oliveira *et al.*, 2006; 34- Oliveira *et al.*, 2007; 35- Post, 1965; 36- Rubert, 2007; 37- Rubert *et al.*, 2008; 38- Scavone & Julio Jr., 1994; 39- Scavone & Julio Jr., 1995; 40- Souza *et al.*, 2004; 41- Mendes-Neto, 2006; 42- Mariotto *et al.*, 2009; 43- Oliveira *et al.*, 2009

A análise da variabilidade cariotípica pode ser complementada pela localização das regiões organizadoras de nucléolos (RONs). Apesar dos loricarídeos mostrarem fenótipos variados de RONs, uma tendência para a manutenção da condição plesiomórfica é observada, ou seja, um único par de RONs situado na posição terminal dos cromossomos (OLIVEIRA ;GOSZTONYI, 2000). Esta característica é encontrada em Hypostominae, Hypoptopomatinae (ARTONI, 1996) e Loricariinae (KAVALCO *et al.*, 2005). Nos *Hypostomus*, as regiões organizadoras de nucléolo coradas com nitrato de Prata também apresentam fenótipos variados. Apesar das espécies desse gênero apresentarem uma maior frequência de RONs múltiplas e um frequente polimorfismo de tamanho dessas regiões entre cromossomos homólogos, também se verifica a presença de espécies com um único par de RONs (ARTONI; BERTOLLO, 1999). Contudo, a localização exata desses cistrons ribossômicos utilizando hibridação fluorescente *in situ* (FISH) com sondas de DNAr 18S ou 45S é conhecida para poucas espécies da família, como *H. affinis* (KAVALCO *et al.*, 2004) e *Corumbataia cuestae* (CAMILO, 2004).

As análises de heterocromatina são ainda escassas entre os Siluriformes, apesar da sua distribuição e composição serem importantes para a compreensão da evolução cariotípica do grupo. Em Loricariidae, grande quantidade de heterocromatina, principalmente na região intersticial, é considerada uma condição basal como constatado em *Upsilonodus* sp. que apresentou blocos heterocromáticos abundantes (KAVALCO *et al.* 2005). Já para a subfamília Hypostominae, dois padrões gerais de distribuição da heterocromatina foram propostos. O primeiro grupo apresenta menos heterocromatina, localizada na região telomérica e/ou centromérica, associada a espécies com pequeno número diplóide; o segundo grupo apresenta grandes segmentos intersticiais de heterocromatina em vários cromossomos acrocêntricos, associado às espécies com elevado número diplóide, revelando uma relação entre o número diplóide dos cromossomos e a heterocromatina na região terminal e próxima aos centrômeros (ARTONI; BERTOLLO, 2001).

Em Loricariidae, regiões ricas em GC são descritas em *Hypostomus* (ARTONI *et al.*, 1998; ARTONI; BERTOLLO, 1999; KAVALCO *et al.*, 2004) e *Rineloricaria* (GIULIANO-CAETANO, 1998), entre outros. No geral, os *Hypostomus* apresentam as RONS ricas em GC, coradas positivamente com CMA3 e negativamente com DAPI (RUBERT *et al.*, 2008; CEREALI *et al.*, 2008), seguindo o padrão comum aos peixes. Por outro lado, regiões ricas em AT raramente são descritas em teleósteos, embora sejam encontradas faixas fluorescentes com coloração DAPI em algumas espécies de *Hypostomus* estudadas por Artoni e Bertollo (1999). Sendo assim, as variações cromossômicas morfológicas e numéricas entre os *Hypostomus* são muito frequentes. Por isso, os estudos citogenéticos mostram-se promissores, não só entre diferentes espécies, mas também entre populações de uma dada espécie, a fim de elucidar possíveis mecanismos evolutivos que possam estar ocorrendo nesse grupo (DIAS; MORELLI, 2005). 31

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar citogeneticamente quatro populações de *Hypostomus* aff. *unae* (Steindachner, 1878) da bacia do rio de Contas/BA e duas populações de *Hypostomus* cf. *wuchereri* (Günther, 1864) das bacias do rio de Contas e Recôncavo Sul/BA.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estabelecer o número diplóide e fórmula cariotípica das espécies coletadas;

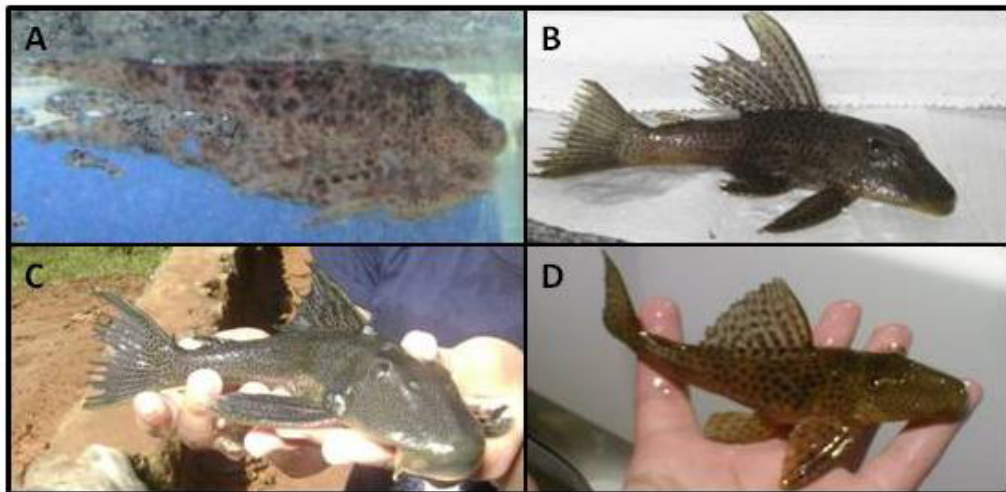
Caracterizar as regiões organizadoras de nucléolos.

Determinar o padrão de distribuição e diferenças na composição de bases da heterocromatina utilizando as enzimas de restrição;

Identificar as regiões cromossômicas ricas em pares de bases GC e AT;

Comparar os dados obtidos com os de outras espécies analisadas da família, inferindo sobre as tendências evolutivas do gênero *Hypostomus*.

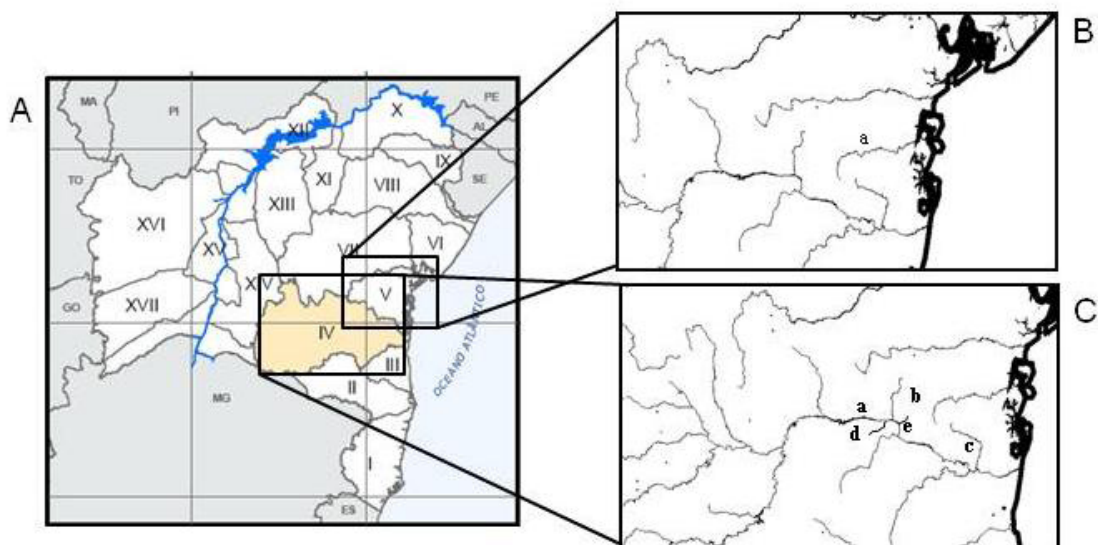




**Figura 2** – Exemplos das populações de *Hypostomus* aff. *unae*: rio de Contas(A), rio Preto do Costa (B), rio Oricó (C) e rio Preto do Criciúma (D).



**Figura 3** – Exemplar de *Hypostomus* cf. *wuchereri*.  
Fonte: Prof. Dr. Claudio Zawadski (UEM)



**Figura 4** – Locais de coleta. A) Mapa das bacias do Nordeste: IV- Bacia do rio de Contas; V-Bacia do Recôncavo Sul. B) a- rio Una. C) a- rio de Contas, b- rio Preto do Costa, c- rio Oricó, d- rio Preto do Criciúma e e- rio Mutum.

## REFERÊNCIAS

- ABELL, R.; THIEME, M.; DINERSTEIN, E.; OLSON, D. A sourcebook for conducting biological assessments and developing biodiversity visions for ecoregion conservation. v. 2: **Freshwater Ecoregions**. Washington, DC, USA: World Wildlife Fund. 2002. Disponível em: [www.wwfus.org/science/freshwater.cfml](http://www.wwfus.org/science/freshwater.cfml).
- AGOSTINHO, A. A.; JULIO JR.; H. F.; BORGHETTI, J. R. Considerações sobre os impactos dos represamentos na ictiofauna e medidas para sua atenuação. Um estudo de caso: Reservatório de Itaipu. **Unimar** v. 14, p. 89-107. 1992.
- ALVES, A. L. **Análise da evolução dos gêneros da subfamília Hemipsilichthiinae (Ostariophysi, Siluriformes, Loricariidae) com base em caracteres cromossômicos e de DNA mitocondrial**. 2000. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista. p. 1-129.
- ALVES, A. L.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Karyotype variability in eight species of the subfamilies Loricariinae and Ancistrinae (Teleostei, Siluriformes, Loricariidae). **Caryologia** v. 56, n. 1, p. 57–63. 2003.
- ALVES, A. L.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Comparative cytogenetic analysis of eleven species of subfamilies Neoplecostominae and Hypostominae (Siluriformes: Loricariidae). **Genética**. v. 124, p. 127–136. 2005.
- ALVES, A. L.; OLIVEIRA, C.; NIRCHIO, M.; GRANADO, A.; FORESTI, F. Karyotypic relationships among the tribes of Hypostominae (Siluriformes: Loricariidae) with description of XO sex chromosome system in a Neotropical fish species. **Genética**. v. 128, p. 1–9. 2006.
- ANDREATA, A. A. **Estudos citogenéticos na subfamília Hypoptopomatinae (Pisces, Siluriformes, Loricariidae)**. 1991. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo. São Paulo. p.1-171.
- ANDREATA, A. A.; ALMEIDA-TOLEDO, L. F.; OLIVEIRA, C.; TOLEDO-FILHO, A. S. Chromosome studies in Hypoptopomatinae (Pisces, Siluriformes, Loricariidae): II. XX/XY sex chromosome heteromorphism in *Pseudotocinclus tietensis*. **Cytologia**. v. 57, n.15, p. 369-372. 1992.
- ANDREATA, A. A.; ALMEIDA-TOLEDO, L. F.; OLIVEIRA, C.; TOLEDO-FILHO, A. S. Chromosome studies in Hypoptopomatinae (Pisces, Siluriformes, Loricariidae): II ZZ/ZW sex chromosome system, B chromosomes, and constitutive heterochromatin differentiation in *Microlepidogaster leucofrenatus*. **Cytogenetics and Cell Genetics**. v. 63, p. 215-220. 1993.

- ANDREATA, A. A.; ALMEIDA-TOLEDO, L. F.; OLIVEIRA, C.; TOLEDO-FILHO, S. A. Chromosome studies in Hypoptopomatinae (Pisces, Siluriformes, Loricariidae).III. Analysis of seven species. **Caryologia**. v. 47, p. 27-37. 1994.
- ANDREATA, A. A.; ALVES, A. L.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. *Hisonotus gibbosus* (Teleostei, Loricariidae) segundo Hypoptopomatíneo com número diplóide diferente de 54 cromossomos. **Genetics and Molecular Biology**. v. 23, Suppl.n. 57. 2000.
- ANDREATA, A. A.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Karyological characterization of four Neotropical fish species of the genus *Hisonotus* (Teleostei, Loricariidae, Hypoptopomatinae) from distinct Brazilian river basins. **Genetics and Molecular Biology**. v. 29, n.1, p. 62-66. 2006.
- ARMBRUSTER, J. W. Phylogenetic relationships of the suckermouth armoured catfishes (Loricariidae) with emphasis en teh Hypostominae and the Ancistrinae. **Zoological Journal of the Linnean Society**. v. 141, p. 1-80. 2004.
- ARTONI, R. F. **Estudos citogenéticos na família Loricariidae com ênfase no gênero *Hypostomus* (Lacepede, 1803) (Pisces, Siluriformes)**. 1996. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.
- ARTONI, R. F.; BERTOLLO, L. A. C. Cytogenetic studies on Hypostominae (Pisces, Siluriformes, Loricariidae). Considerations on karyotype evolution in the genus *Hypostomus*. **Caryologia**. v. 49, p. 81–90. 1996.
- ARTONI, R. F.; VENERE, P. C.; BERTOLLO, L. A. C. A heteromorphic ZZ/ZW sex chromosome system in fish, genus *Hypostomus* (Loricariidae). **Cytologia**. v. 63, p. 421 -425. 1998.
- ARTONI, R. F.; BERTOLLO, L. A. C. Nature and distribution of constitutive heterochromatin in fishes, genus *Hypostomus* (Loricariidae). **Genética**. v. 106, n.16 , p. 209-214. 1999.
- ARTONI, R. F.; MOLINA, W. F.; BERTOLLO, L. A. C.; GALETTI JR., P. M. Heterochromatin analysis in the fish species *Liposarcus anisitsi* (Siluriformes) and *Leporinus elongatus* (Characiformes). **Genetics and Molecular Biology**. v. 22, p. 1-6. 1999.
- ARTONI, R. F. ;BERTOLLO, L. A. Trends in the Karyotype Evolution of Loricariidae Fish (Siluriformes). **Hereditas**. v. 134, n. 3, p. 201–210. 2001.
- AVISE, J. C.; FELLE, J. Population structure or freshwater fishes. I. Genetic variation or bluegill (*Lepomis microchims*) populations in man-made reservoirs. **Evolution**. v. 33, p. 15-26. 1979.

BRITSKI, H. A. **Poluição e piscicultura** (Comissão Interestadual da Bacia Paraná-Uruguaí ed.) CIBPU; Faculdade de Saúde Pública da USP e Instituto de Pesca, CPRN, AS, São Paulo, p 103, 1972.

BRITSKI, H. A. Peixes de água doce. In: Carvalho, J.C.M. (Coord). **Atlas da fauna brasileira**. São Paulo: Melhoramentos. p 84-93, 1981.

BRITSKI, H. A.; SATO, Y.; ROSA, A. B. S. **Manual de identificação de peixes da região de Três Marias**. Brasília, Câmara dos Deputados, Coordenação de Publicações/CODEVASF, Divisão de Piscicultura e Pesca. p. 143. 1988.

CAMILO, F. M. **Estudos citogenéticos em algumas espécies de peixes da família Loricariidae pertencentes a Bacia do rio Piracicaba –SP**. 2004. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

CASATTI, L.; ROCHA, F. C.; PEREIRA, D. C. Habitat use by two species of *Hypostomus* (Pisces, Loricariidae) in southeastern Brazilian streams. **Biota Neotropica** . v. 5, n. 2. 2005.

CENTOFANTE, L.; BERTOLLO, L. A. C.; MOREIRA-FILHO, O. Cytogenetic characterization and description of a XX/XY<sub>1</sub>Y<sub>2</sub> chromosome system in catfish *Hartia carvalhoi* (Siluriformes, Loricariidae). **Citogenetic and Genome Research**. v. 112, p. 3-4. 2006.

CEREALI, S. S.; POMINI, E.; ROSA, R.; ZAWADZKI, C. H.; FROEHLICH, O.; GIULIANO-CAETANO, L. Karyotype description of two species of *Hypostomus* (Siluriformes, Loricariidae) of the Planalto da Bodoquena, Brazil. **Genetics and Molecular Research**. v. 7, n. 3, p. 583-591. 2008. 17

COATES, D. Protected areas and inland aquatic ecosystems. In: Secretariat of the Convention on Biological Diversity (CBD Technical Series n. 15). **Biodiversity issues for consideration in the planning, establishment and management of protected area sites and networks**. SCBD, Montreal, p: 58-62. 2004.

CRA (CENTRO DE RECURSOS AMBIENTAIS). Recursos Hídricos. In: **Avaliação da Qualidade das Águas. Relatório Técnico/Avaliação Ambiental**. Centro de Recursos Ambientais (Ed.), Salvador, Brasil, p. 15-389. 2001. Disponível em <http://www.cra.ba.gov.br>.

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

DIAS, K. A.; MORELLI, S. Estudo Citogenético de *Hypostomus variipictus* (Pisces, Loricariidae) do rio Uberabinha, Uberlândia / MG. **Horizonte Científico**. Uberlândia MG, v. 4. 2005.

ERRERO - PORTO, F. **Estudo citogenético e de polimorfismo cromossômico em populações do gênero *Rineloricaria* (Loricariidae, Siluriformes) da Bacia do Rio Paraná.** 2007. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Maringá. Maringá.

FENERICH, P. C.; OLIVEIRA, Nuclear DNA content in 20 species of Siluriformes (Teleostei: Ostariophysi) from the Neotropical region. **Genetics and Molecular Biology**. v. 27, n. 3, p. 350-354. 2004.

FENOCCHIO, A. S.; PASTORI, M. C.; RONCATI, H.; MOREIRA FILHO, O.; BERTOLLO, L. A. C. A cytogenetic survey of the fish fauna from Argentina. **Caryologia**, Itália, v. 56, n. 2, p. 197-204, 1993.

FERRARIS, JR., C. J. Checklist of catfishes, recent and fossil (Osteichthyes: Siluriformes), and catalogue of siluriform primary types . **Zootaxa 1418**. Magnolia Press. New Zealand. 628p. 2007.

FERREIRA, D. C.; CHIACHIO, M. C.; TAKAKO, A. K.; ANDREATA, A. A.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. Comparative cytogenetics of nine species of Hypoptopomatinae (Teleostei: Siluriformes: Loricariidae): the importance of structural rearrangements in chromosome evolution. **Caryologia**. v. 58, n. 4, p. 18 387-395, 2005.

GIULIANO-CAETANO, L. **Polimorfismo cromossômico Robertsoniano em populações de *Rineloricaria latirostris* (Pisces, Loricariinae).** Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. p. 78. 1998.

GIULIANO-CAETANO, L.; MOREIRA-FILHO, O.; BERTOLLO, L. A. C. Estudos citogenéticos em *Rineloricaria pentamaculata* (Langeani e Araújo, 1994). **Genetics and Molecular Biology**. v. 22, Suppl., p. 192. 1999.

GODINHO, H. P.; GODINHO, A. L. Ecology and conservation of fish in southeastern Brazilian river basins submitted to hydroelectric impoundments. **Acta Limnologica Brasiliensia**. v. 5, p. 187-197. 1994.

HILSDORF, A. W.; PETRERE JR., M. Conservação de peixes na Bacia do rio Paraíba do Sul. **Ciência Hoje**. v.30, n. 180. p. 62-65, 2002.

IGAM (INSTITUTO MINEIRO DE GESTÃO DE ÁGUAS). **Política Estadual de Recursos Hídricos**. IGAM, Belo Horizonte. 2002.

JEREP, F. C.; SHIBATTA, O. A.; ZAWADZKI, C. H.. A new species of *Hypostomus* Lacépède, 1803 (Siluriformes: Loricariidae) from the upper rio Paraná basin, Southern Brazil. **Neotropical Ichthyology**. v. 5 n. 4, p. 435-442. 2007.

KAVALCO, K. F. (2003). **Contribuição citogenética à análise da biodiversidade da ictiofauna das nascentes do rio Paraitinga**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de São Carlos. São Carlos. SP.

KAVALCO, K. F.; PAZZA, R.; BERTOLLO, L. A. C.; MOREIRA-FILHO, O. Heterochromatin characterization of four fish species of the family Loricariidae (Siluriformes). **Hereditas**. v. 141, n. 3, p. 237–242. 2004.

KAVALCO, K. F.; PAZZA, R.; BERTOLLO, L. A. C.; MOREIRA-FILHO O. Karyotypic diversity and evolution of Loricariidae (Pisces, Siluriformes). **Heredity**. v. 94, p. 180-186. 2005.

LARA, M. C. S. **Aspectos citogenéticos de quatro espécies de peixes da subfamília Ancistrinae (Siluriformes, Loricariidae) da Bacia do rio Paraná**. 1998. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná.

MARIOTTO, S.; ARTONI, R. F.; MIYAZAWA, C. S. Occurrence of sexual 19 chromosome, of the type ZZ/ZW in *Ancistrus cf. dubius* (Loricariidae, Ancistrinae) of the Paraguay river basin, Mato Grosso, Brazil. **Caryologia**. v. 57, n. 4, p. 327-331. 2004.

MARIOTTO, S.; MIYAZAWA *Ancistrus cf. dubius* (SILURIFORMES, ANCISTRINAE), a complex of species. I. Chromosomic characterization of four populations and occurrence of sexual chromosomes of type xx/xy, in the pantanal basin of mato grosso, Brazil. **Caryologia**. v. 59, n. 4, p. 299-304. 2006.

MARIOTTO, S.; CENTOFANTE, L.; MIYAZAWA, C. S.; BERTOLLO, L. A. C.; MOREIRA-FILHO, O. Chromosome polymorphism in *Ancistrus cuiabae* Knaack, 1999 (Siluriformes: Loricariidae: Ancistrini). **Neotropical Ichthyology**. v. 7, n. 4, p. 595-600. 2009.

MEDRADO, A. S.; FIGUEIREDO, A. V. A.; WALDSCHIMIDT, A. M.; AFFONSO, P. R. A. M.; CARNEIRO, P. L. S. Cytogenetic and morphological diversity in populations of *Astyanax fasciatus* (Teleostei, Characidae) from Brazilian northeastern river basins. **Genetics and Molecular Biology**. v. 31 ,n1, suppl., p. 208-214. 2008.

MELO, G. **Doces águas da Bahia**. Salvador: Superintendência de Recursos Hídricos/ D&M Photodesing. p. 160. 2006.

MENDES-NETO, E. O. Estudos citogenéticos em algumas espécies de Loricariidae (Teleostei, Siluriformes) da região de transposição do rio Piumhi par o rio São Francisco. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. p. 74. 2008.  
MICHELLE, J. L.; TAKAHASHI, C. S.; FERRARI, I. Karyotypic studies of some species of the family Loricariidae (Pisces). **Cytologia**. v. 42, p. 539-546. 1977.

MMA (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE). **Caderno da região hidrográfica Atlântico Leste**. Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Recursos Hídricos (Ed.), Brasília, DF. p. 156. 2006.

MURAMOTO, J.; OHNO, S.; ATKIN, N. B. On the diploid state of the fish order Ostariophysi. **Chromosoma**. v. 24, p. 59-66. 1968.

NELSON, J. S. **Fishes of the World**. 4 ed. John Willey & Sons, Inc., New York. p. 601. 2006. 20

OLIVEIRA, C.; GOSZTONYI, A. E. A Cytogenetic study of *Diplomystes mesembrinus* (Teleostei, Siluriformes, Diplomystidae) with a discussion of chromosome evolution in siluriformes. **Cariologia**. v. 53, n. 1, p. 31-37. 2000.

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

OLIVEIRA, R. R.; FELDBERG, E.; ANJOS, M. B.; ZUANON, J. Karyotype characterization and ZZ/ZW sex chromosome heteromorphism in two species of the catfish genus *Ancistrus* Kner, 1854 (Siluriformes: Loricariidae) from the Amazon basin. **Neotropical Ichthyology**. v. 5, n. 3, p. 301-306. 2007.

OLIVEIRA, R. R.; FELDBERG, E.; ANJOS, M. B.; ZUANON, J. Mechanisms of chromosomal evolution and its possible relation to natural history characteristics in *Ancistrus* catfishes (Siluriformes: Loricariidae). **Journal of Fish Biology**. v. 75, p. 2209-2225. 2009.

PAIVA, M. P. **Grandes represas do Brasil**. Brasília, Ed. Terra, 1982.

PIANKA, E. R. Niche overlap and diffuse competition. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**. v. 71, p. 2141-2145. 1974.

POST, A. Vergleichende Untersuchungen der Chromosomenzahlen bei Süsswasser Teleosteen. **Z. Zool. Evol. Frosch**. v. 3, p. 47-93. 1965.

RAPINI, A.; QUEIROZ, L. P.; GIULIETTI, A. M. PPBIO: The Program of Research on Biodiversity in the Brazilian Semi-arid. In: L.P. Queiroz, A. Rapini ; A.M. Giulietti (Ed.), **Towards greater knowledge of the Brazilian semi-arid biodiversity**. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, DF. v. 1, p. 27-32. 2006.

REIS, R. E.; WEBER, C.; MALABARBA, L. R. Review of the genus *Hypostomus* Lacepède, 1803 from southern Brazil, with descriptions of three new species (Pisces: Siluriformes: Loricariidae). **Revue Suisse de Zoologie**. v. 97, n. 3, p. 729-766. 1990.

- REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS JR, C. J. **Checklist of the freshwater fishes of South and Central América.** Porto Alegre: Edipucrs Brasil. 2003.
- REIS, R. E.; PEREIRA, E. H. L.; ARMBRUSTER, J. W. Delturinae, a new loricariid 21 catfish subfamily (Teleostei, Siluriformes), with revisions of *Delturus* and *Hemipsilichthys*. **Zoological Journal of the Linnean Society.** v. 147, n. 2, p. 277 – 299. 2006.
- RIBEIRO, A. C. Tectonic history and the biogeography of the freshwater fishes from the coastal drainages of eastern Brazil: an example of faunal evolution associated with a divergent continental margin. **Neotropical Ichthyology.** v. 4, p. 225-246. 2006.
- RUBERT, M.; ZAWADZKI, C. H.; GIULIANO-CAETANO, L. Cytogenetic Characterization of *Hypostomus nigromaculatus* (Siluriformes: Loricariidae). **Neotropical ichthyology.** v. 6, n. 1, p. 93-100. 2008.
- RUBERT, M. **Estudos citogenéticos em diferentes populaces do gênero *Hypostomus*. (Loricariidae, Hypostominae).** 2007. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Londrina, Londrina. PR. p. 93.
- SARMENTO-SOARES, L. M.; LEHMANN, P.; MARTINS-PINHEIRO, R. F. *Parotocinclus arandai*, a new species of hypoptopomatinae catfish (Siluriformes: Loricariidae) from the upper rios Jucuruçu and Buranhém, States of Bahia and Minas Gerais, Brazil. **Neotropical Ichthyology.** v. 7, n. 2, p. 191-198. 2009.
- SCAVONE, M. D.; JULIO JR., H. F. Cytogenetic analysis and probable supernumerary chromosomes of *Loricaria prolixa* and *Loricaria* sp. females (Loricariidae-Siluriformes) from the Paraná river basin. **Revista de Ictiologia.** v. 213, p. 41-47. 1994.
- SCAVONE, M. D.; JULIO JR., H. F. Cytogenetics analysis and heterochromatin distribution in ZZ / ZW sex chromosomes of the mailed catfish *Loricariichtys platymetopon* (Loricariidae: Siluriformes). **Brazilian Journal of Genetic.** v. 18, p. 31 -35. 1995.
- SECRETARIA DOS RECURSOS HÍDRICOS SANEAMENTO E HABITAÇÃO. **Plano Diretor de Recursos Hídricos Bacia do rio de Contas: Diagnóstico do sistema físico.** Relatório Técnico. Salvador: (SRHSH) Governo Do Estado Da Bahia, p. 16. 1993.
- SCHAEFER, S. A. Osteology of *Hypostomus plecostomus* (Linnaeus), with a phylogenetic analysis of the loricariid subfamilies (Pisces, Siluroidei). **Contr.Science, Natural History Mus. Los Angeles County.** v. 394, p. 1–31. 1987.
- SOUZA, A. C. P.; NASCIMENTO, A.; CARVALHO Jr, J. R.; BARROS, R. M. S.; FELDBERG, E.; NAGAMACHI; C. Y., PIECZARKA, J. C. Karyotypic analysis of *Baryancistrus aff. Niveatus* (ancistrinae, loricariidae) by C-banding, Ag- NOR, CMA3, DAPI and FISH. **Caryologia.** v. 57, n. 3, p. 219-223. 2004.

VRIJENHOEK, R. C. Conservation genetics of freshwater fish. **Journal of Fish Biology**. v. 53, p. 394-412. 1998.

WINEMILLER, K. O.; LESLIE, M. A. Fish Assemblages across a complex, tropical freshwater/marine ecotone. **Environment Biology of Fishes**. v.34, p.29-50, 1992.

ZAWADZKI, C. H.; WEBER, C.; PAVANELLI, C. S. Two new species of *Hypostomus* Lacépède (Teleostei: Loricariidae) from the upper rio Paraná basin, Central Brazil. **Neotropical Ichthyology**. v. 6, n. 3, p. 403-412. 2008.

## ARTIGO A

**CARACTERIZAÇÃO DA BIODIVERSIDADE DE *Hypostomus* aff. *unae* (SILURIFORMES, LORICARIIDAE) NA BACIA DO RIO DE CONTAS. EVIDÊNCIAS CROMOSSÔMICAS POPULACIONAIS.**

\* Este artigo será submetido à publicação na revista Neotropical Ichthyology  
**CARACTERIZAÇÃO DA BIODIVERSIDADE DE *Hypostomus* aff. *unae* (SILURIFORMES, LORICARIIDAE) NA BACIA DO RIO DE CONTAS. EVIDÊNCIAS CROMOSSÔMICAS POPULACIONAIS.**

**Jamille de Araújo Bitencourt<sup>1</sup>, Paulo Roberto Antunes de Mello Affonso<sup>2</sup>, Lucia Giuliano-Caetano<sup>1</sup>, Paulo Luis Souza Carneiro<sup>2</sup> e Ana Lúcia Dias<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Biologia Geral, Universidade Estadual de Londrina, CCB, CEP 86051-970, Londrina, Paraná, Brasil, fone (43) 3371-4527 (e-mail: anadias@uel.br)

<sup>2</sup>Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, DCB, CEP 45200-000, Jequié, Bahia, Brasil, fone (73) 35289661 (e-mail: paulomelloaffonso@yahoo.com.br)

## RESUMO

Foram analisadas citogeneticamente quatro populações de *Hypostomus* aff. *unae* (Loricariidae, Hypostominae) ao longo da bacia do rio de Contas (Nordeste do Brasil). Todas as populações compartilharam o mesmo número diplóide e RONS simples localizadas na região terminal do segundo par metacêntrico. Porém, quatro fórmulas cariotípicas foram estabelecidas para cada localidade amostrada:  $12m+16sm+48st/a$ ,  $12m+20sm+44st/a$ ,  $10m+14sm+52st/a$ ,  $10m+20sm+46st/a$ . Os sítios de DNAr, detectados pela FISH confirmaram os resultados obtidos pela impregnação com nitrato de prata. Os dados de bandamento C e coloração com fluorocromos revelaram diferenças interpopulacionais acentuadas. As populações dos rios de Contas e Preto do Costa apresentaram 17 pares com blocos heterocromáticos terminais e intersticiais conspicuos, ricos em pares de bases AT, além de heterocromatina associada às RONS. Contudo, essas marcações diferiram quanto à posição e par cromossômico envolvido. Já a população do rio Preto do Criciúma apresentou 8 pares com heterocromatina apenas nas regiões intersticiais, ricos em pares de bases AT e também intercalada à região organizadora de nucléolo. A população do rio Oricó apresentou 6 pares com bandas C intersticiais e terminais evidentes, coradas igualmente pelo CMA3 e DAPI, sem marcações associadas às RONS. Todas as populações apresentaram o par organizador nucleolar rico em bases GC. Os dados obtidos foram resolutivos para evidenciar a evolução cariotípica em *Hypostomus* aff. *unae* e demonstrar diferenças existentes entre as quatro populações analisadas, podendo representar importantes marcadores citotaxonomicos para essa espécie.

**Palavras-chave:** Citogenética animal. Loacarideo. Genética animal. Peixe. Heterocromatina.

## INTRODUÇÃO

De acordo com inventário recente, a ictiofauna neotropical de água doce é extremamente rica, compreendendo cerca de 4475 espécies válidas, mais 1550 espécies não descritas, devendo abranger mais de 6025 espécies (Reis *et al.*, 2003). Esta imensa variabilidade tem sido objeto de estudos citogenéticos e evolutivos, os quais têm se

intensificado nos últimos trinta anos com um importante impacto no conhecimento e conservação da biodiversidade de peixes neotropicais (Almeida-Toledo, 2006).

A família Loricariidae está entre os grupos mais especiosos e taxonomicamente complexos de teleósteos (Nelson, 2006). Ela encontra-se dividida em seis subfamílias: Lithogeninae, Neoplecostominae, Hypoptopomatinae, Loricariinae, Delturinae e Hypostominae, sendo a última subdividida em cinco tribos: Corymbophanini, Rhinelepini, Pterygoplichtini, Ancistrini e Hypostomini (Reis, 2006). De acordo com Ferraris Jr (2007), esta família compreende cerca de 710 espécies conhecidas, distribuídas em 96 gêneros, com várias novas espécies descritas todos os anos (Jerep *et al.*, 2007; Zawadski *et al.*, 2008; Sarmiento-Soares *et al.*, 2009). Dentre eles, o gênero *Hypostomus* está entre os mais abundantes da ictiofauna neotropical, com estimativas de aproximadamente 130 espécies (Zawadski *et al.*, 2008) e taxonomia extremamente confusa (Reis *et al.*, 1990). Contudo, estudos citogenéticos na família são ainda escassos, visto que apenas cerca de 15% das espécies apresentam alguma informação.

Embora reduzidos, esses dados já demonstram grande diversidade cariotípica entre as espécies de Loricariidae, com ampla variação numérica de  $2n=34$  em *Ancistrus* sp. (Oliveira *et al.*, 2009) a  $2n=96$  cromossomos em *Upsilonodus* sp. (Kavalco *et al.*, 2005). Esta diversidade sugere a ocorrência de vários rearranjos cromossômicos, principalmente fissões cêntricas e inversões pericêntricas, conduzindo a uma evolução cariotípica divergente dentro do grupo (Artoni & Bertollo, 2001). Tais resultados corroboram também a aplicabilidade da citogenética na análise de populações e espécies de peixes neotropicais, fornecendo informações valiosas para a compreensão das relações entre grupos, identificação de espécies crípticas e complexos de espécies, detecção de polimorfismos populacionais e inferências evolutivas (Oliveira *et al.*, 2009). Comparando-se os dados disponíveis entre as regiões do Brasil, os registros citogenéticos são ainda incipientes em populações naturais de bacias no nordeste brasileiro, as quais apresentam uma ictiofauna ainda pouco conhecida e alto grau de endemismo (Ribeiro, 2006), reforçando a necessidade de intensificar os estudos nessa região. Por essas razões, o presente trabalho visa caracterizar citogeneticamente populações de *Hypostomus* aff. *unae* da bacia costeira do rio de Contas, Bahia, fornecendo informações inéditas sobre a biodiversidade da ictiofauna regional e tendências sobre a evolução cromossômica no gênero *Hypostomus*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados e analisados 46 exemplares de *Hypostomus* aff. *unae*, sendo 10 (3 machos, 2 fêmeas e 5 imaturos) do canal principal da bacia do rio de Contas (13°51'51" S e 40°04'54" W), 10 (6 machos, 1 fêmeas e 3 imaturos) do rio Preto do Costa (13°45'84" S e 39°56'47" W), 15 (9 machos e 6 imaturos) do rio Oricó (14°08'03" S e 39°21'30" W), e 11 (4 machos, 4 fêmeas e 3 imaturos) do rio Preto do Criciúma (13° 55'45" S e 39° 57'57" W). Essas populações serão doravante identificadas por A (rio de Contas), B (rio Preto do Costa), C (rio Oricó) e D (rio Preto do Criciúma). Exemplares testemunhos foram identificados pelo Dr. Claudio Zawadski (UEM) e depositados na coleção ictiológica da Universidade Estadual de Maringá (UEM – NUPELIA), PR, Brasil.

Os cromossomos mitóticos foram obtidos de acordo com a metodologia descrita por Bertollo *et al.* (1978). A estimulação mitótica foi realizada por injeção prévia de solução de fermento biológico, segundo Lee e Elder (1980) ou solução composta por Munolan (antígeno bacteriano e fúngico) e água (1 comprimido: 0,5 ml de água), de acordo com Molina (2001). Os cromossomos foram classificados em: metacêntricos (m), submetacêntricos (sm), subtlocêntricos (st) e acrocêntricos (a), como comumente utilizado em peixes (Bertollo *et al.*, 1983; Morelli *et al.*, 1983; Portela *et al.*, 1988, entre outros). As regiões organizadoras de nucléolos foram detectadas pela impregnação por nitrato de prata - AgRONs (Howell & Black, 1980) e hibridação fluorescente *in situ* (FISH), de acordo com Heslop-Harrison *et al.*, (1991), com modificações de Cuadrado & Jouve (1994), utilizando a sonda de DNAr 18S obtida a partir do DNA genômico de *Prochilodus argenteus* (Prochilodontidae) (Hatanaka & Galetti Jr., 2004). O padrão de distribuição da heterocromatina foi determinado a partir do bandamento C (Sumner, 1972). Os sítios cromossômicos ricos em pares de bases GC e AT foram evidenciados por fluorocromos cromomicina A3 e DAPI, respectivamente (Schweizer, 1980) com modificações.

## RESULTADOS

Os exemplares de *H.* aff. *unae* apresentaram o número modal  $2n=76$  em todas as populações. Porém, diferenças inter-populacionais foram assinaladas, com estabelecimento de quatro fórmulas cariotípicas:  $12m+16sm+48st/a$  (NF= 104) para os 27 espécimes da população A,  $12m+20sm+44st/a$  (NF=108) para os espécimes da população B,

10m+14sm+52st/a (NF=100) para os espécimes da população C e 10m+20sm+46st/a (NF=106) para os espécimes da população D (**Figura 1a, b, c e d**).

Constrições secundárias localizadas na porção terminal do segundo par de cromossomos metacêntricos foram freqüentemente visualizadas, apresentando-se heteromórficas em todos os indivíduos e coincidentes com as regiões organizadoras de nucléolo, caracterizando assim um sistema de RONS simples (**Figura 1a, b, c e d, em detalhe**). Os sítios ativos de DNAr, detectados pela impregnação por nitrato de prata, foram confirmados pela FISH. Assim como as constrições secundárias e as RONS ativas, o tamanho dos cístrons ribossomais também mostrou-se usualmente heteromórfico entre os homólogos por FISH (**Figura 1a, b, c e d, em detalhe**).

Em relação à heterocromatina, as quatro populações amostradas apresentaram além de bandas C positivas centroméricas, bandas conspícuas intersticiais e/ou terminais em diversos pares de cromossomos acrocêntricos (**Figura 2**). Entretanto ocorrem algumas especificidades em relação à distribuição das bandas heterocromáticas entre as quatro populações. Assim, a população A se diferencia por apresentar marcações bem mais evidentes nos cromossomos, assim como por um número maior de cromossomos com blocos heteromórficos (pares 18, 21 e 37), enquanto que a população B evidenciou apenas um par cromossômico bem evidente com esta característica (par 22) (**Figura 2a e b, detalhe**).

Por sua vez, as populações C e D não apresentam cromossomos com blocos heterocromáticos heteromórficos. Contudo, enquanto que a população D mostra segmentos heterocromáticos associados com as RONS, bem como as populações A e B, esta característica encontra-se ausente na população C (**Figura 2c e d**).

A coloração com os fluorocromos base-específicos demonstrou, em todos as populações, um único par de cromossomos com marcações CMA3 positivas e DAPI negativas coincidentes com as RONS, caracterizando-as como ricas em bases GC (**Figura 1 em detalhe e Figura 3**). Entretanto, vários sítios ricos em AT, DAPI positivos, foram evidenciados entre as populações, ocupando principalmente regiões intersticiais e terminais de cromossomos acrocêntricos (**Figura 4**).

A partir dos métodos citogenéticos empregados, nenhuma evidência de cromossomos sexuais heteromórficos foi observada na espécie *H. aff. unae* foi indicada.

## DISCUSSÃO

Vários rearranjos Robertsonianos e inversões pericentricas conduziram a uma evolução cariotípica divergente na família Loricariidae (Artoni & Bertollo, 2001), o que pode ser observado pelos distintos números diplóides e formulas cariotípicas descritos em espécies dessa família. Tal diversidade pode ser particularmente observada em Hypostominae, cujo gênero *Hypostomus* apresenta números diplóides variando de  $2n=52$  em *H. emarginatus* (Artoni & Bertollo, 2001), a  $2n=84$ , em *Hypostomus sp 2-Rio Perdido NUP 4249* (Cereali *et al.*, 2008).

Até o momento, apenas cerca de 30 espécies das 117 já descritas para o gênero possuem informações citogenéticas (**Tabela 1**). Destas, 30% apresentam  $2n=76$ , 26% com  $2n=72$ , 13% com  $2n=74$  e 10% com  $2n=68$ , sendo que os demais números diplóides (52, 54, 64, 70, 80, 82 e 84) estão distribuídos entre os 21% restantes destas espécies. Dessa forma os números 76 e 72 representam, até agora, as condições mais frequentes no gênero.

**Tabela 1** – Dados citogenéticos compilados para espécies do gênero *Hypostomus*.

Espécie	Localidade	2n	Fórmula Cromossômica	B	Crom. Sexuais	Ref.
<i>Hypostomus</i>						
<i>H. affinis</i>	Ribeirão Jacuí (SP)	66	14m+14sm+12st+26a	---	-----	10
<i>H. ancistroides</i>	Afluentes do Rio Tibagi (PR)	68	16m+18sm+34st/a	---	-----	3
<i>H. ancistroides</i>	-----	68	10m+26sm+32st/a	---	-----	13
<i>H. ancistroides</i>	Rio Mogi-Guaçu (SP)	68	16m+18sm+34st/a	---	-----	3
<i>H. ancistroides</i>	Rio Araquá, Botucatu (SP)	68	18m+10sm+12st+28a	---	-----	1
<i>H. ancistroides</i>	-----	68	10m+27sm+31st/a (M) 10m+28sm+30st/a (F)	---	xx/xy	11
<i>H. albopunctatus</i>	Rio Mogi-Guaçu (SP)	74	10m+20sm+44st/ a	---	-----	3
<i>H. albopunctatus</i>	Rio Piracicaba (SP)	74	10m+20sm+44st/ a	---	-----	7
<i>H. aff. auroguttatus</i>	Rio Mogi-Guaçu (SP)	76	8m+30sm+38st/a	---	-----	3
<i>H. emarginatus</i>	Rio Araguaia (MT)	52	16m+30sm+6st/a	---	-----	6
<i>H. goyazensis</i>	Rio Vermelho, Goiás Velho (GO)	72	10m+16sm+10st+36a	---	-----	1
<i>H. macrops</i>	-----	68	10m+14sm+44st/a	---	-----	11

<b>Espécie</b>	<b>Localidade</b>	<b>2n</b>	<b>Fórmula Cromossômica</b>	<b>B</b>	<b>Crom. Sexuais</b>	<b>Ref.</b>
<i>H. paulinus</i>	-----	74	10m+20sm+44st/a	---	-----	11
<i>H. paulinus</i>	Ribeirão Três Bocas	76	6m+16sm+54st/a	---	-----	13
<i>H. plecostomus</i>	-----	54	24m/sm+12st+18a	---	-----	12
<i>H. regani</i>	Rio Mogi-Guaçu (SP)	72	10m+20sm+42st/a	---	-----	3
<i>H. regani</i>	Rio Araquá, Botucatu (SP)	72	12m+18sm+26st+16a	---	-----	1
<i>H. regani</i>	Ribeirão do Jacutinga (PR)	72	10m+18sm+44st/a	---	-----	13
<i>H. regani</i>	Rio Piumhi, São francisco (MG)	72	8m+16sm+20st+28a	---	-----	15
<i>H. strigaticeps</i>	Ribeirão três Bocas, Rio Jacutinga e Rio Taquari (PR)	72	10m+16sm+46st/a	---	-----	13
<i>H. strigaticeps</i>	Rio Mogi-Guaçu (SP)	74	8m+4sm+62st/a	---	-----	11
<i>Hypostomus</i> sp 3- <i>Ribeirão Salobrinha</i> <i>NUP 4247</i>	Ribeirão Salobrinha (MS)	82 83 84	6m+12sm+64st/a 6m + 12sm + 65st/a 6m+12sm+66st/a	1-2	-----	8
<i>Hypostomus</i> sp 2- <i>Rio Perdido NUP</i> <i>4249</i>	Rio Perdido (MS)	84	6m + 16sm + 62st/a	---	-----	8
<i>Hypostomus</i> sp.1	Rio Paranapanema (SP)	64	-----	---	-----	9
<i>Hypostomus</i> sp.1a	Ribeirão dos Patos (MG)	76	6m+8sm+16st+46a	---	-----	15
<i>Hypostomus</i> sp.1b	Ribeirão das Araras (MG)	76	6m+8sm+16st+46a	---	-----	15
<i>Hypostomus</i> sp.2	Ribeirão das Araras (MG)	74	10m+6sm+16st+42a	---	-----	15
<i>Hypostomus</i> sp.2	Ribeirão Jacutinga (SP)	68	-----	---	-----	9
<i>Hypostomus</i> sp.2	Ribeirão Alambari (SP)	68	-----	---	-----	9
<i>Hypostomus</i> sp. 3	Ribeirão Quinta (SP)	72	-----	---	-----	9
<i>Hypostomus</i> sp. 3	Ribeirão Edgardia (SP)	72	-----	---	-----	9
<i>Hypostomus</i> sp. 3	Rio Paranapanema (SP)	72	-----	---	-----	9
<i>Hypostomus</i> sp. 4	Ribeirão Hortelã (SP)	76	-----	---	-----	9
<i>Hypostomus</i> sp. 4	Rio Paranapanema (SP)	76	-----	---	-----	9
<i>Hypostomus</i> sp. A	Rio Rincão (SP)	70	18m+14sm+38st/a	---	-----	3
<i>Hypostomus</i> sp. B	Rio Mogi-Guaçu (SP)	72	12m+18sm+42st/a	---	-----	3
<i>Hypostomus</i> sp. B	Rio Mogi-Guaçu (SP)	72	13m+18sm+41st/a	---	-----	5
<i>Hypostomus</i> sp. C	Rio Mogi-Guaçu (SP)	72	10m+18sm+44st/a	---	-----	3
<i>Hypostomus</i> sp. D1	Rio Mogi-Guaçu (SP)	72	10m+26sm+36st/a	---	-----	3
<b>Espécie</b>	<b>Localidade</b>	<b>2n</b>	<b>Fórmula Cromossômica</b>	<b>B</b>	<b>Crom. Sexuais</b>	<b>Ref.</b>
<i>Hypostomus</i> sp. D2	Rio Mogi-Guaçu (SP)	72	14m+20sm+38st/a	---	-----	3

<i>Hypostomus</i> sp. E	Rio Mogi-Guaçu (SP)	80	8m+16sm+56st/a	---	-----	3
<i>Hypostomus</i> sp. F	Rio São Francisco (MG)	76	10m+16sm+50st/a	---	-----	2
<i>Hypostomus</i> sp. F	Rio São Francisco (MG)	75	10m+17sm+48st/a	---	-----	5
<i>Hypostomus</i> sp. G	Rio Araguaia (MT)	64	14m+24sm+26st/a. (M) 15m+24sm+25st/a. (F)	---	ZZ/ZW	4
<i>H. nigromaculatus</i>	Ribeirão três Bocas e Ribeirão dos apertados (PR)	76	6m+20sm+50st/a	---	-----	14
<i>H. nigromaculatus</i>	Rio Mogi-Guaçu (SP)	76	8m+20sm+48st/a	---	-----	14
<i>H. aff. unae</i>	Rio de Contas (BA)	76	12m+16sm+48st/a	---	-----	16
<i>H. aff. unae</i>	Rio Preto do Costa (BA)	76	12m+20sm+44st/a	---	-----	16
<i>H. aff. unae</i>	Rio Oricó (BA)	76	10m+14sm+52st/a	---	-----	16
<i>H. aff. unae</i>	Rio Preto do Criciuma (BA)	76	10m+20sm+46st/a	---	-----	16
<i>H. cf. wuchereri</i>	Rio Una (BA)	76	10m+18sm+48st/a	---	-----	17
<i>H. cf. wuchereri</i>	Rio Mutum (BA)	76	10m+18sm+48st/a	---	-----	17

- 1- Alves *et al.* (2006), 2- Artoni (1996), 3- Artoni & Bertollo (1996), 4- Artoni *et al.* (1998), 5- Artoni & Bertollo (1999), 6- Artoni & Bertollo (2001), 7- Camilo (2004), 8- Cereali *et al.* (2008), 9- Fenerich & Oliveira (2004), 10- Kavalco *et al.* (2005), 11- Michelle *et al.* (1977), 12- Muramoto *et al.* (1968), 13- Rubert (2007), 14- Rubert *et al.* (2008), 15- Mendes-Neto. (2008), 16- Presente estudo, 17- Bitencourt, 2010.

A partir de comparações com grupos basais relacionados, a presença de  $2n=54$  pode corresponder à uma característica plesiomórfica em Loricariidae (Artoni & Bertollo, 2001). Embora essa condição seja compartilhada por várias subfamílias de Loricariidae, ela está presente em apenas em algumas espécies de Hypostominae (Alves, *et al.*, 2005; Muramoto *et al.*, 1968; Artoni & Bertollo, 2001), e somente em *H. plecostomus* (Muramoto *et al.*, 1968) no gênero *Hypostomus* (**Tabela 1**).

Adicionalmente, a correlação entre um maior número de cromossomos metacêntricos e submetacêntricos em algumas espécies com menor número diplóide, e um maior número de cromossomos subtelo-acrocêntricos em algumas espécies com elevado número diplóide, evidenciam o provável papel dos rearranjos Robertsonianos, do tipo fissões centricas, na evolução cariotípica dos Loricariidae (Artoni & Bertollo, 2001). Assim, por exemplo, na tribo Ancistrini, *Ancistrus* sp. *trombetas* apresenta  $2n=34$  e fórmula cariotípica  $22m+8sm+3st+3a$  (Oliveira *et al.*, 2009) enquanto na subfamília Delturinae, *Upsilonodus* sp. apresenta  $2n=96$  e possui  $16m+8sm+72a$  (Kavalco *et al.*, 2005).

Com base nessas considerações, os dados citogenéticos ora obtidos sugerem que *H. aff. unae* apresentam um cariótipo também derivado, reforçando a hipótese do papel

das fissões centricas na historia carioevolutiva do gênero (Artoni & Bertollo, 2001; Kavalco *et al.*, 2005). Entretanto, é evidente que outros tipode rearranjos cromossômicos também contribuíram para a evolução cariotípica dos *Hypostomus*. Assim, mesmo mantendo um mesmo numero diplode ( $2n=76$ ), as diferentes formulas cariotípicas observadas entre as quatro populações amostradas sugerem que inversões pericentricas provavelmente atuaram na diferenciação cromossômica entre estas populações.

De fato, variações de fórmulas cariotípicas tem sido também observadas entre populações de *H. ancistroides*, *H. regani* (Artoni & Bertollo, 1996; Alves *et al.*, 2006; Rubert, 2007), *H. nigromaculatus* (Rubert *et. al.*, 2008). É evidente que não se pode descartar um certo grau de influência técnica na determinação das diferentes fórmulas cariotípicas, decorrentes do tamanho reduzido dos cromossomos, do grau de condensação da cromatina e, conseqüentemente, da identificação das diferentes classes de cromossomos presentes no cariótipos. Entretanto, o agrupamento dos cromossomos em apenas duas classes, ou seja m/sm e st/a, minimiza em parte essa problemática, destacando assim as diferenças mais reais entre as populações como pode ser observado na **Tabela 2**.

**Tabela 2** – Fórmulas cariotípicas das populações de *Hypostomus* aff. *unae* agrupadas nas classes m/sm e st/a.

<b>Populações</b>	<b>Fórmulas cariotípicas</b>
A	28m/sm + 48st/a
B	32m/sm + 44st/a
C	24m/sm+52st/a
D	30m/sm +46st/a

Além do numero diplóide conservado, as quatro populações se caracterizam por RONS simples, presentes na região terminal do braço longo do segundo par de cromossomos metacêntricos (**Figura 1a, b, c e d, detalhe**). Mantendo assim a possível condição plesiomórfica proposta para a família Loricariidae (Artoni, 1996).

Contudo, o tamanho das RONS mostrou-se usualmente heteromórfico entre os homólogos em todas as populações, sendo mais evidente na população D. Situações polimórficas, envolvendo diferenças no tamanho das RONS entre cromossomos homólogos são freqüentes entre espécies de peixes que apresentam RONS simples (Foresti *et al.*, 1981), possivelmente resultantes de duplicações/deleções, decorrentes de *crossing over* desigual e trocas entre as cromátides irmãs (Affonso *et al.*, 2002), podendo ainda apresentar caráter hereditário.

A hibridação *in situ* fluorescente utilizando sonda de DNA r 18S confirmou não só a localização dos genes ribossomais como também o heteromorfismo de tamanho entre as RONS homólogas, demonstrando que tal diferença é de fato estrutural e não meramente transcricional como poderia supor-se a partir das marcações Ag-RONS (**Figura 1a, b, c e d em detalhe**).

A co-localização de sítios de RONS e de heterocromatina é comumente evidenciada entre os *Hypostomus*, como verificado nas populações A, B e D, em *H. nigromaculatus* (Rubert *et al.*, 2008), *H. strigaticeps* (Rubert, 2007), e bem como em outros grupos de peixes (Artoni & Bertollo, 2001). Entretanto, é importante salientar que esse tipo de relação nem sempre se faz presente, a exemplo de *Upsilonodus sp.*, *Neoplecostomus microps* (Kavalco *et al.*, 2005) e da população C de *H. aff. unae* do presente trabalho. Por outro lado, tais populações apresentaram as RONS ricas em GC, conforme evidenciado pelos sinais positivos após a coloração com o fluorocromo Cromomicina A3.

A presença de uma grande quantidade de blocos heterocromáticos, principalmente na região intersticial dos cromossomos, parece ser uma condição ancestral nos Loricariidae, visto que tal característica é freqüentemente observada nessa família e em Callichthyidae (Kavalco *et al.*, 2004), ambas filogeneticamente relacionadas (Reis, 1998). Segundo Artoni & Bertollo (2001), dois padrões gerais de distribuição da heterocromatina podem ser destacados na subfamília Hypostominae: o primeiro caracterizado por uma menor heterocromatina, localizada preferencialmente na região terminal e/ou centromérica, associado a espécies com menor número diplóide; o segundo caracterizado por grandes segmentos intersticiais em vários cromossomos acrocêntricos, associado a espécies com maior número diplóide. Aparentemente, as populações de *H. aff. unae*, embora apresentando um número diplóide relativamente alto ( $2n=76$ ), não se encaixam estritamente no segundo padrão, conforme teoricamente é esperado, evidenciando uma maior complexidade no tocante à distribuição da heterocromatina nos *Hypostomus*.

Em geral, os exemplares aqui estudados, além de apresentarem blocos heterocromáticos mais conspicuos situados na região terminal e ocupando boa parte de cromossomos acrocêntricos, também exibiram um padrão de distribuição equilocal da heterocromatina intersticial, isto é, segmentos heterocromáticos situados em uma posição equidistante em vários cromossomos acrocêntricos, parecendo estar em conformidade com o modelo de distribuição proposto por Schweizer e Loidl (1987). Essa parece ser uma característica comum na família Loricariidae (Kavalco *et al.* 2004).

As diferenças na localização das bandas C entre as populações podem ser explicadas por inversões paracêntricas ou transposições, visto que a presença de blocos heterocromáticos terminais é mais comum no gênero *Hypostomus*. A partir daí é possível que estes blocos tenham sido amplificados e/ou acumulados por trocas desiguais evoluindo independentemente, não descartando a possibilidade de que os citótipos tenham se originados a partir de tais ampliações. Por outro lado, a ocorrência de blocos heterocromáticos heteromórficos como observado nas populações A (pares 18, 21 e 37) e B (par 22), pode ser explicada por *crossing over* desigual, como proposto para outras espécies de peixes (Mantovani *et al.*, 2000).

A presença de sítios cromossômicos DAPI positivos, ricos em AT, é rara em peixes, sendo detectadas apenas em algumas espécies de *Hypostomus* (Artoni & Bertollo, 1999). Entretanto esses sítios foram frequentemente evidenciados entre as populações A, C e D (**Figura 4a, c e d**). Já a população B apresentou vários sítios corados igualmente por CMA e DAPI indicando que os trechos ricos em GC e AT estejam intercalados, mas visualizados como um sinal único e sobreposto em função da resolução da técnica (**Figura 3b e 04b**). Representando mais uma característica diferencial entre as populações.

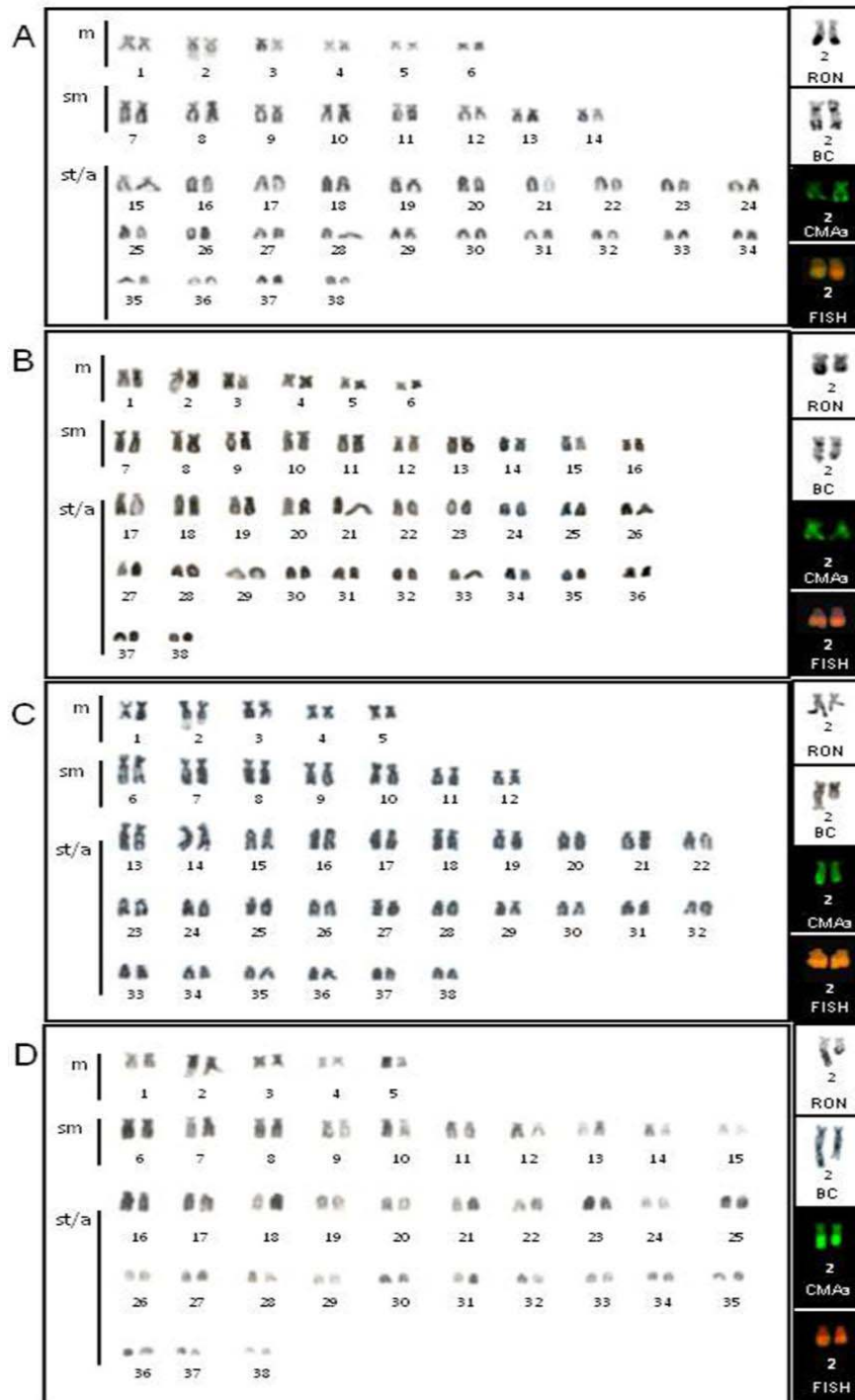
Ainda, a localização dos blocos ricos em AT em regiões equivalentes de distintos pares cromossômicos sugere que eles tenham uma origem comum e foram distribuídos por modelos de dispersão de heterocromatina para sítios equilocais em um determinado grupo de cromossomos (Schweizer & Loidl, 1987). Hipóteses similares têm sido propostas para explicar padrões preferenciais de distribuição de heterocromatina em algumas espécies de peixes com cariótipos derivados (Affonso & Galetti, 2005).

As variações macro e microestruturais observadas nas populações de *H. aff. unae* estudadas no presente trabalho podem estar correlacionadas aos padrões de distribuição e comportamento das espécies de *Hypostomus*. Os hábitos sedentários apresentados pelos siluriformes contribuem para a grande dificuldade apresentada por esses peixes em superar cachoeiras e corredeiras que se interpõem às suas raras migrações (Britski, 1981). Devido a

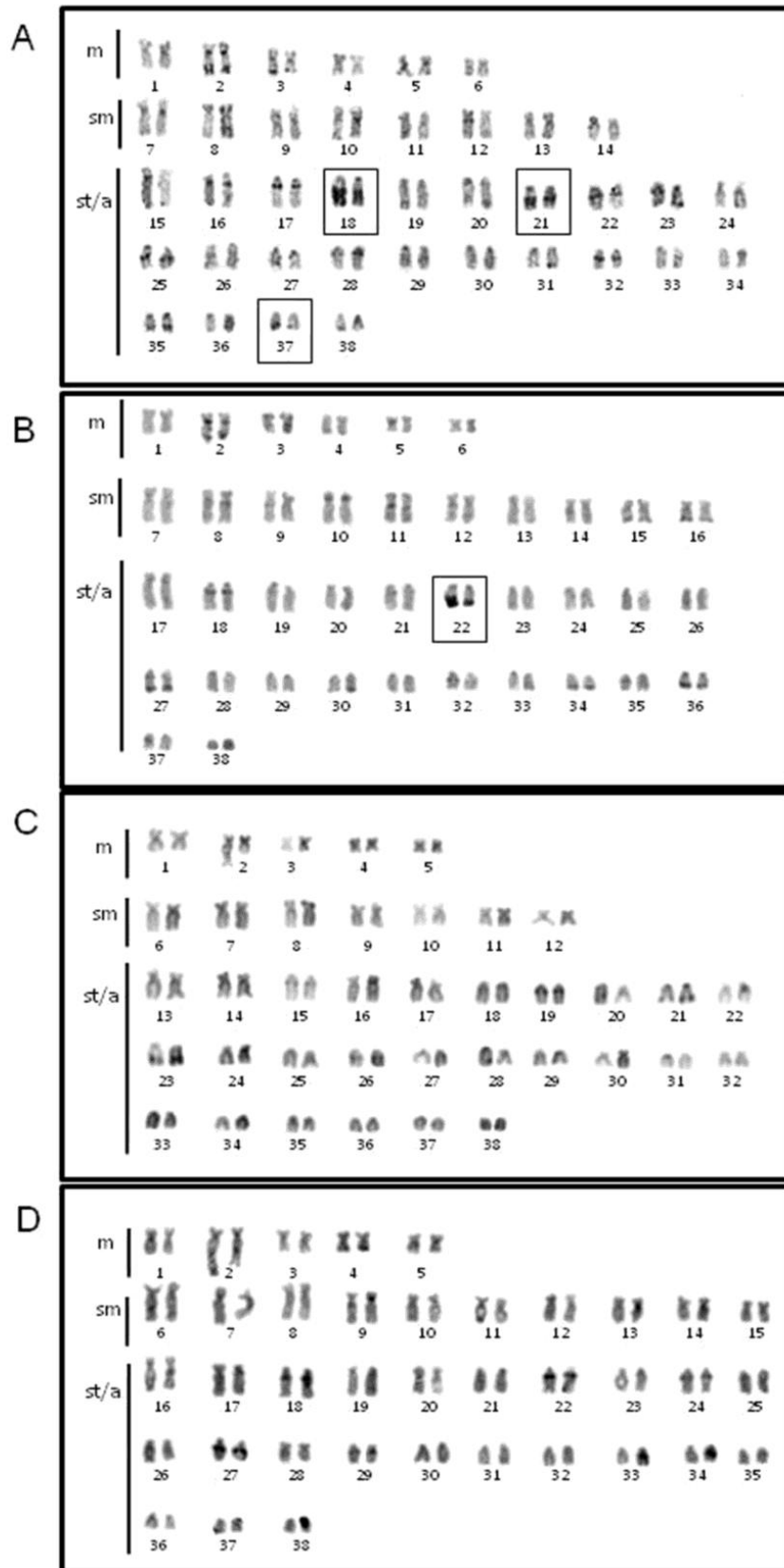
essa capacidade de deslocamento relativamente baixa, o endemismo é facilitado (Castro, 1999), o que poderia levar à fixação de rearranjos por deriva genética ou mesmo por seleção natural, caso tenham algum valor adaptativo, levando à diferenciação interpopulacional.

Os dados ora obtidos mostram a eficácia da análise da localização e da composição dos blocos heterocromáticos na identificação de polimorfismos cromossômicos e caracterização de espécies. Todavia, apesar da sua importância para o entendimento da evolução cariotípica, estudos sobre heterocromatina ainda são escassos entre Siluriformes, assim como em muitas espécies da ictiofauna neotropical, sobretudo de bacias isoladas do leste do Brasil. Neste sentido, o presente estudo representa o primeiro registro entre os loricaridae das bacias exclusivas do Nordeste brasileiro.

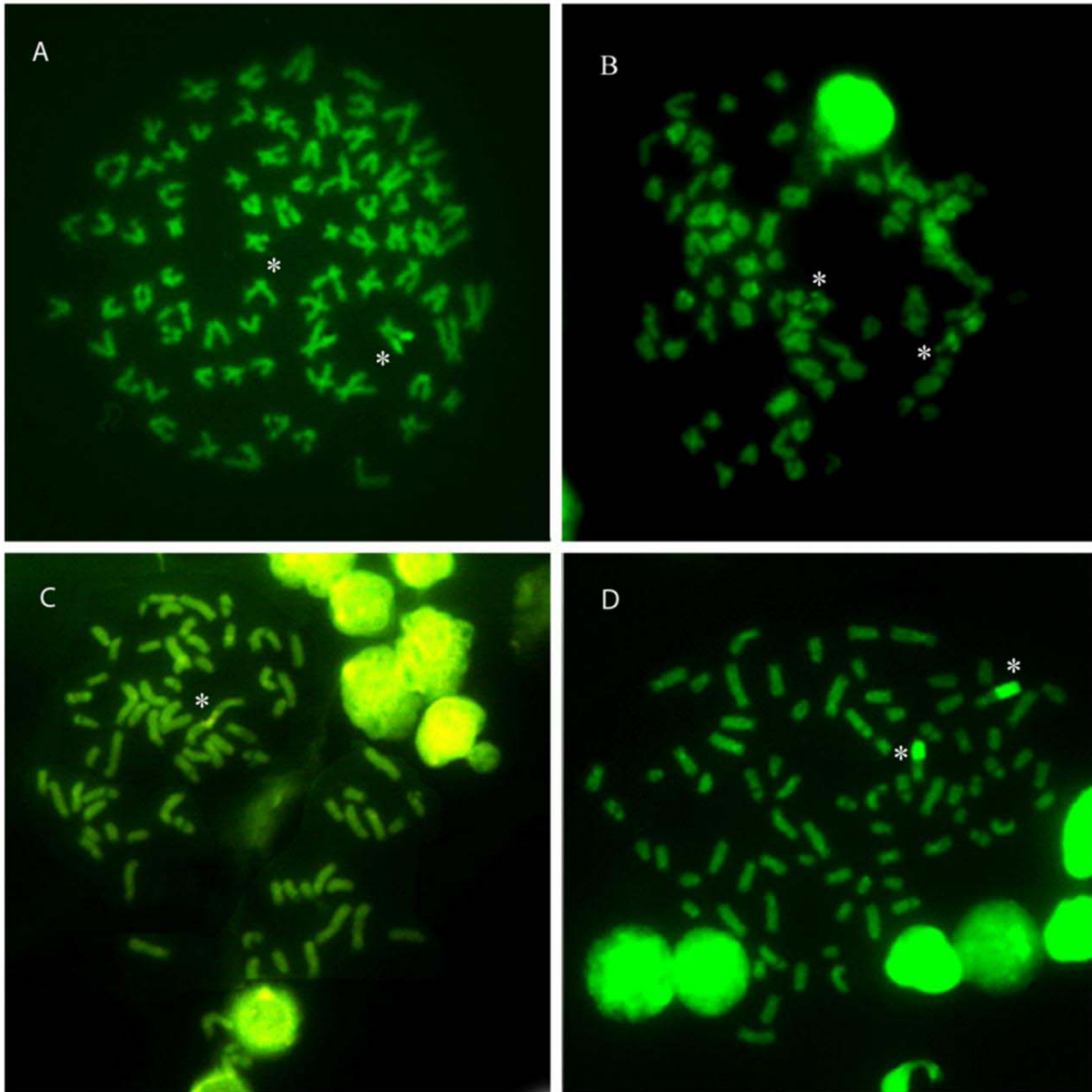
Nossos dados evidenciam que *Hypostomus* aff. *unae* apresenta uma evolução cariotípica divergente entre as populações analisadas, caracterizando distintas unidades evolutivas.



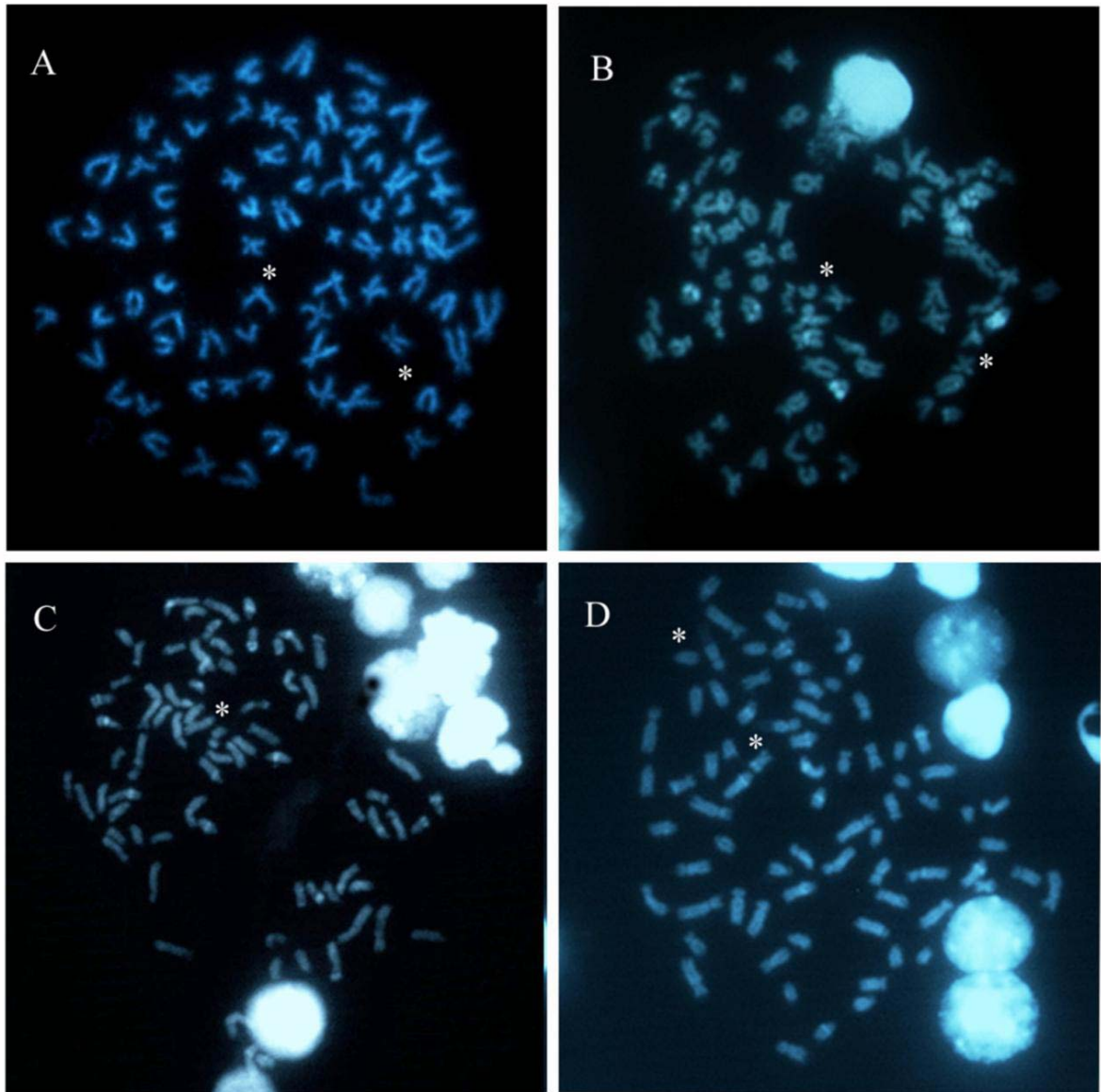
**Figura 1** – Cariótipos das populações de *Hypostomus aff. unae*. (A) rio de Contas, (B) Preto do Costa, (C) Oricó e (D) Preto do Criciúma. Em destaque o par portador das RONs após tratamento com nitrato de Prata, bandamento C, coloração com CMA3 e FISH com sonda de DNAr 18S. Observar em C a não ocorrência de heterocromatina associada às RONs.



**Figura 2** – Cariótipos de *Hypostomus aff. unae* após bandamento C. (A) População do rio das Contas, (B) População do rio Preto do Costa, (C) População do rio Oricó e (D) População do rio Preto do Criciúma. Em destaque os cromossomos com sítios heteromórficos em A e B.



**Figura 3** – Metáfases de *Hypostomus* aff. *unae* das populações do rio das Contas (A), Preto do Costa (B), Oricó (C) e Preto do Criciúma (D) após coloração com CMA 3. Os asteriscos indicam os pares cromossômicos portadores das RONS e as setas evidenciam os sítios positivos, ricos em pares de base GC na população do rio Preto do Costa.



**Figura 4** – Metáfases de *Hypostomus* aff. *unae* das populações do rio de Contas (A), Preto do Costa (B), Oricó (C) e Preto do Criciúma (D) após coloração com DAPI, evidenciando diversos cromossomos portadores de sítios positivos, ricos em pares de bases AT. Os asteriscos indicam os pares portadores das RONS.

## REFERÊNCIAS

- Affonso, P. R. A. M., W. Guedes, E. Pauls and P. M. Galetti Jr. 2002. Close karyotypical relationship between two species of marine angelfishes from South Atlantic: *Pomacanthus arcuatus* and *P. paru* (Perciformes, Pomacanthidae). *Caryologia*, 55 (4): 323-329.
- Affonso, P. R. A. M. and P. M. Galetti Jr. 2005. Chromosomal diversification of reef fishes from genus *Centropyge* (Perciformes, Pomacanthidae). *Genetica*, 123: 227-233.
- Almeida-Toledo, L. F. 2006. Breve historia de la citogenética de peces neotropicales de água dulce. Pp. 96-100. In: Nirchio, M & C. Oliveira. Citogenética de peces. Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela. 216 p.
- Alves, A. L., C. Oliveira and F. Foresti. 2005. Comparative cytogenetic analysis of eleven species of subfamilies Neoplecostominae and Hypostominae (Siluriformes: Loricariidae). *Genetica*, 124: 127–136.
- Alves, A. L., C. Oliveira, M. Nirchio, A. Granado and F. Foresti. 2006. Karyotypic relationships among the tribes of Hypostominae (Siluriformes: Loricariidae) with description of XO sex chromosome system in a Neotropical fish species. *Genetica*, 128:1-9.
- Artoni, R. F. 1996. Estudos citogenéticos na família Loricariidae com ênfase no gênero *Hypostomus* (Lacepede, 1803) (Pisces, Siluriformes). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.
- Artoni, R. F. and L. A. C. Bertollo. 1996. Cytogenetic studies on Hypostominae (Pisces, Siluriformes, Loricariidae). Considerations on karyotype evolution in the genus *Hypostomus*. *Caryologia*, 49: 81–90.
- Artoni, R. F., P. C. Venere and L. A. C. Bertollo. 1998. A heteromorphic ZZ/ZW sex chromosome system in fish, genus *Hypostomus* (Loricariidae). *Cytologia*, 63: 421-425.
- Artoni, R. F. and L. A. C. Bertollo. 1999. Nature and distribution of constitutive heterochromatin in fishes, genus *Hypostomus* (Loricariidae). *Genetica*, 106: 209-214.
- Artoni, R. F. and L. A. C. Bertollo. 2001. Trends in the karyotype evolution of Loricariidae fish (Siluriformes). *Hereditas*, 134 (3): 201–210. 40
- Bertollo, L. A. C., C. S. Takahashi and O. Moreira-Filho. 1978. Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). *Brazilian Journal of Genetics*, 1: 103-120.
- Bertollo, L. A. C., C. S. Takahashi and O. Moreira-Filho. 1983. Multiple sex chromosomes in the genus *Hoplias* (Pisces, Erythrinidae). *Cytologia*, 48: 1-12.

- Bitencourt, J. A. 2010. Análise citogenética de espécies do gênero *Hypostomus* (Loricariidae; Hypostominae) das bacias do rio de Contas e Recôncavo Sul/Bahia. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR. 99pp.
- Britski, H. A. 1981. Peixes de água doce. Pp. 84-93. In: Carvalho, J.C.M. (Coord). Atlas da fauna brasileira. Melhoramentos, São Paulo, SP.
- Camilo, F. M. 2004. Estudos citogenéticos em algumas espécies de peixes da família Loricariidae pertencentes à bacia do rio Piracicaba - SP. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.
- Castro, R. M. C. 1999. Evolução da ictiofauna de riachos sul-americanos: padrões gerais e possíveis processos causais. Pp. 139-155. In: Caramaschi, E. P., R. Mazzoni & Peres-Neto (eds). Ecologia de peixes de riachos. Série Oecologia Brasiliensis, VI. PPGE-UFRJ. Rio de Janeiro, Brasil.
- Cereali, S. S., E. Pomini, R. Rosa, C. H. Zavadzki, O. Froehlich and L. Giuliano-Caetano. 2008. Karyotype description of two species of *Hypostomus* (Siluriformes, Loricariidae) of the Planalto da Bodoquena, Brazil. *Genetics and Molecular Research*, 7 (3): 583-591.
- Cuadrado, A. and N. Jouve. 1994. Mapping and organization of highly-repeated DNA sequences by means of simultaneous and sequential FISH and C-banding in 6x-Triticale. *Chromosome Research*, 2: 231-338.
- Fenerich, P. C and C. Oliveira. 2004. Nuclear DNA content in 20 species of Siluriformes (Teleostei: Ostariophysi) from the Neotropical region. *Genetics and Molecular Biology*, 27 (3): 350-354.
- Ferraris, Jr., C. J. 2007. Checklist of catfishes, recent and fossil (Osteichthyes: Siluriformes), and catalogue of siluriform primary types. *Zootaxa* 1418. Magnolia Press. New Zealand. 628p. 41
- Foresti, F., L. F. Almeida-Toledo and S. A. Toledo – Filho. 1981. Polymorphic nature of nucleolus organizer regions in fishes. *Cytogenetic and Cell Genetic*, 31: 137-144.
- Hatanaka, T. and P. M. Galetti Jr. 2004. Mapping of 18S and 5S ribosomal RNA genes in the fish *Prochilodus argenteus* Agassiz, 1829 (Characiformes, Prochilodontidae). *Genetica*, 122: 239-244.
- Heslop-Harrison, J. S., T. Schwarzacher, K. Anamthaw-Jónsson, A. R. Leitch, M. Shi and I. J. Leitch. 1991. *In situ* hybridization with automated chromosome denaturation. *Technique-J. Methods Cellular and Molecular Biology*, 3: 109-116.
- Howell, W. M. and D. A. Black. 1980. Controlled silverstaining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia*, 36: 1014-1015.

- Jerep, F. C., O. A. Shibatta and C. H. Zawadzki. 2007. A new species of *Hypostomus* Lacépède, 1803 (Siluriformes: Loricariidae) from the upper rio Paraná basin, Southern Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 5 (4): 435-442.
- Kavalco, K. F., R. Pazza, L. A. C. Bertollo and O. Moreira-Filho. 2004. Heterochromatin characterization of four fish species of the family Loricariidae (Siluriformes). *Hereditas*, 141 (3): 237–242.
- Kavalco, K. F., R. Pazza, L. A. C. Bertollo and O. Moreira-Filho. 2005. Karyotypic diversity and evolution of Loricariidae (Pisces, Siluriformes). *Heredity*, 94: 180-186.
- Lee, M. R. & F. F. B., Elder. 1980. Yeast stimulation of bone marrow mitosis for cytogenetics investigations. *Cytogenetic and Cell Genetic*. 52: 36-40.
- Le Grande, W. H. 1981. Chromosomal evolution in North American catfishes (Siluriformes, Ictaluridae) with particular emphasis on the madtoms, *Noturus*. *Copeia*, 1: 33-52.
- Mantovani, M., L. D. S. Abel, C. A. Mestriner and O. Moreira-Filho. 2000. Accentuated polymorphism of heterochromatin and nucleolar organizer regions in *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae): tools for understanding karyotypic evolution. *Genética* 109: 161/168.
- Mendes-Neto, E. O. (2008). Estudos citogenéticos em algumas espécies de Loricariidae (Teleostei, Siluriformes) da região de transposição do rio Piumhi par o rio São 42 Francisco. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.
- Morelli, S., L. A. C. Bertollo, F. Foresti, O. Moreira-Filho and S. A. Toledo Filho. 1983. Cytogenetic considerations on the genus *Astyanax* (Pisces, Characidae). I. Karyotypic variability. *Caryologia*, 36: 235-244.
- Molina, W. F. 2001. An alternative method for mitotic stimulation in fish cytogenetics. *Chromosome Science*, 5:149-152.
- Muramoto, J., S. Ohno and N. B. Atkin. 1968. On the diploid state of the fish order Ostariophysi. *Chromosoma*, 24: 59-66.
- Michelle, J. L., C. S. Takahashi and I. Ferrari. 1977. Karyotypic studies of some species of the family Loricariidae (Pisces). *Cytologia*, 42: 539-546.
- Nelson, J. S. 2006. *Fishes of the World*. 4ed. John Willey & Sons, Inc., New York, 601p.
- Oliveira, C., F. Foresti and A. W. S. Hilsdorf. 2009. Genetics of neotropical fish: from chromosomes to populations. *Fish Physiology Biochemistry*, 35: 81–100.

- Oliveira, R. R., E. Feldberg, M. B. Anjos and J. Zuanon. 2009. Mechanisms of chromosomal evolution and its possible relation to natural history characteristics in *Ancistrus* catfishes (Siluriformes: Loricariidae). *Journal of Fish Biology*, (75): 2209-2225.
- Portela, A. L. B. S., P. M. Galetti Jr. and L. A. C. Bertollo. 1988. Considerations on the chromosome evolution of Tetragonopterinae (Pisces, Characidae). *Brazilian Journal of Genetics*, 11: 307-316.
- Reis, R. E., C. Weber and L. R. Malabarba. 1990. Review of the genus *Hypostomus* Lacepède, 1803 from southern Brazil, with descriptions of three new species (Pisces: Siluriformes: Loricariidae). *Revue Suisse de Zoologie*, 97 (3): 729-766.
- Reis, R. E. 1998. Systematics, biogeography, and the fossil record of the Callichthyidae: a review of the available data. Pp.351-362. In: Malabra, L.R., R. E. Reis, R. P. Vari, Z. M. S. Lucena and C.A.S. Lucena, (eds) *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes*. EDIPUCRS, Porto Alegre. Brazil.
- Reis, R. E., S. O. Kullander and C. J. Ferraris, Jr. 2003. Checklist of the freshwater fishes of South and Central America. Edipucrs, Porto Alegre, Brasil. 43
- Reis, R. E., E. H. L. Pereira and J. W. Armbruster. 2006. Delturinae, a new loricariid catfish subfamily (Teleostei, Siluriformes), with revisions of *Delturus* and *Hemipsilichthys*. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 147 (2): 277- 299.
- Ribeiro, A. C. 2006. Tectonic history and the biogeography of the freshwater fishes from the coastal drainages of eastern Brazil: an example of faunal evolution associated with a divergent continental margin. *Neotropical Ichthyology*, 4: 225-246.
- Rubert, M. 2007. Estudos citogenéticos em diferentes populações do gênero *Hypostomus* (Loricariidae, Hypostominae). Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Londrina. Paraná.
- Rubert, M., C. H. 2008. Zawadzki and L. Giuliano-Caetano. Cytogenetic characterization of *Hypostomus nigromaculatus* (Siluriformes: Loricariidae). *Neotropical Ichthyology*, 6 (1): 93-100.
- Sarmiento-Soares, L. M., P. Lehmann and R. F. Martins-Pinheiro. 2009. *Parotocinclus arandai*, a new species of Hypoptopomatinae catfish (Siluriformes: Loricariidae) from the upper rios Jucuruçu and Buranhém, States of Bahia and Minas Gerais, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 7 (2): 191-198.
- Schweizer, D. 1980. Simultaneous fluorescent staining of R bands and specific heterocromatic regions (DA/DAPI) in human chromosomes. *Cytogenetics and Cell Genetics*. 27: 190-193.

- Schweizer, D. and J. Loidl. 1987. A model for heterochromatin dispersion and the evolution of C-bands patterns. *Chromosomes Today*, 9.
- Sumner, A. T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental Cell Research*, 75: 304-306.
- Zawadzki, C. H., C. Weber and C. S. Pavanelli. 2008. Two new species of *Hypostomus* Lacépède (Teleostei: Loricariidae) from the upper rio Paraná basin, Central Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 6 (3): 403-412.

## **ARTIGO B**

**HETEROGENEIDADE DA HETEROCROMATINA EM *Hypostomus* aff. *unae*  
(Siluriformes, Loricariidae)**

\* Este artigo será submetido à publicação na revista Genética

**HETEROGENEIDADE DA HETEROCROMATINA EM *Hypostomus aff. unae*  
(Siluriformes, Loricariidae)**

**Jamille de Araújo Bitencourt<sup>1</sup>, Paulo Roberto Antunes de Mello Affonso<sup>2</sup>, Lúcia Giuliano-Caetano<sup>1</sup> e Ana Lucia Dias<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Biologia Geral, Universidade Estadual de Londrina, CCB, CEP 86051-970, Londrina, Paraná, Brasil, fone (43) 3371-4527 (e-mail: anadias@uel.br)

<sup>2</sup>Departamento de Ciências Biológicas, Universidade estadual do Sudoeste da Bahia, DCB, CEP 45200-000, Jequié, Bahia, Brasil, fone (73) 35289661 (e-mail: paulomelloaffonso@yahoo.com.br)

**RESUMO**

Análises citogenéticas usando bandamento C e digestão cromossômica com diversas endonucleases de restrição foram realizadas em quatro populações (A, B, C e D) de *Hypostomus aff unae* (Loricariidae, Hypostominae) da Bacia do rio de Contas (BA), nordeste do Brasil. Todas as populações apresentam  $2n=76$ , RONS simples no segundo par de cromossomos metacêntricos, porém, fórmulas cariotípicas exclusivas para cada uma delas. As populações A e B apresentaram blocos heterocromáticos terminais e intersticiais conspícuos na maioria dos cromossomos acrocêntricos, e equivalente às RONS, com diferenças referentes à posição e ao par envolvido. Já a população D apresentou marcações mais evidentes nas regiões intersticiais e também intercaladas à região organizadora de nucléolo, enquanto que blocos heterocromáticos intersticiais e terminais, não coincidentes com as RONS, foram observados na população C. Os dados obtidos a partir da digestão com as enzimas *Alu I*, *Bam HI*, *Hae III* e *Dde I*, revelaram grande heterogeneidade nas frações de heterocromatina, permitindo a identificação de diferentes famílias de DNA repetitivo nas populações, além de padrões específicos gerados nas regiões eucromáticas. A análise com enzimas de restrição mostrou ser altamente informativa, revelando diferenças populacionais e particularidades na composição do genoma em *H. aff. unae*.

**Palavras-chave:** Citogenética animal. Loacarideo. Genética animal. Peixe. Heterocromatina.

## INTRODUÇÃO

As endonucleases de restrição (ER) são uma ferramenta poderosa no estudo da organização do DNA (Lima-de-Faria *et al.*, 1980). Essas enzimas bacterianas reconhecem e clivam seqüências alvo na dupla fita de DNA, gerando um padrão de bandas cromossômicas altamente específico para cada uma delas (Lloyd & Thorgaard, 1988). A remoção de fragmentos de DNA torna possível o estudo de áreas específicas dos cromossomos, no que diz respeito a sua estrutura e a composição de bases (Lorite *et al.*, 1999; Sanchez *et al.*, 1990, 1991; Lozano *et al.* 1991; Bianchi *et al.*, 1985, entre outros). Devido a essa característica, o bandamento obtido com as ER representam um método sensível de análise da heterocromatina (Pieczarka *et al.* 1996), podendo revelar maior grau de heterogeneidade e melhores análises comparativas do que o tradicional bandamento C.

Apesar da aplicação de enzimas de restrição ter sido amplamente utilizada na análise cromossômica de uma variedade de espécies animais (Miller *et al.*, 1976; Kaelbling *et al.*, 1984; Lima-de-Faria *et al.*, 1980; Bianchi *et al.*, 1985; Marchi & Mezzanotte, 1988; Marchi & Mezzanotte, 1990; Juan *et al.* 1990; Pieczarka *et al.* 1996; entre outros), poucos estudos de diferenciação da heterocromatina utilizando ER em cromossomos de peixes estão disponíveis, sendo restritos a certos grupos como Characidae (Kantek, *et al.*, 2007; Maistro, *et al.*, 1999), Prochilodontidae (Maistro *et al.* 2000), Pimelodidae (Swarça, *et al.*, 2005; Carvalho & Dias, 2005), Salmonidae (Lloyd & Thorgaard, 1988; Sanchez *et al.*, 1990, 1991; Lozano *et al.*, 1991; Albuín *et al.*, 1994), Muraenidae (Cau *et al.*, 1988) e Scopthalmidae (Bouza *et al.*, 1994).

No gênero *Hypostomus*, a heterocromatina mostra-se associada à cromossomos heteromórficos (Cereali *et al.*, 2008; Kavalco, *et al.*, 2004; 2005) e sexuais (Artoni *et al.*, 1998), bem como a casos de polimorfismo (Rubert, *et al.*, 2008). Adicionalmente, as espécies de *Hypostomus* ainda apresentam variabilidade na natureza e distribuição de heterocromatina (Artoni & Bertollo, 1999). Contudo, os dados referentes a tal heterogeneidade foram obtidos através do emprego de bandamento C e fluorocromos, sendo a utilização da digestão enzimática, ainda inexistente no gênero e até mesmo na família Loricariidae.

O presente trabalho teve por objetivo analisar comparativamente cromossomos metafásicos de *Hypostomus* aff. *unae*, pelo bandamento C e enzimas de restrição, caracterizando a distribuição e natureza da heterocromatina entre distintas populações desta espécie.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados e analisados 46 exemplares de *Hypostomus* aff. *unae*, de quatro populações distintas, sendo 10 (3 machos, 2 fêmeas e 5 imaturos) do canal principal da bacia do rio de Contas ( 13o51'51" S e 40o04'54" W), 10 (6 machos, 1 fêmeas e 3 imaturos) do rio Preto do Costa (13°45'84" S e 39°56'47" W), 15 (9 machos e 6 imaturos) do rio Oricó (14°08'03" S e 39°21'30" W), e 11 (4 machos, 4 fêmeas e 3 imaturos) do rio Preto do Criciúma (13° 55'45" S e 39° 57'57" W). Exemplares testemunhos foram identificados por Dr. Claudio Zawadski (UEM) e depositados na coleção ictiológica do NUPELIA – UEM, Maringá, PR, Brasil. Essas quatro populações passaram a ser identificadas respectivamente por A, B, C e D.

A obtenção de cromossomos mitóticos seguiu a metodologia descrita por Bertollo *et al.* (1978). A estimulação mitótica foi realizada por injeção prévia de solução de fermento biológico, segundo Lee e Elder (1980) ou solução composta por Munolan (antígeno bacteriano e fúngico) e água (1 comprimido: 0,5 ml de água), de acordo com Molina (2001). Os cromossomos foram classificados em: metacêntricos (m), submetacêntricos (sm), subteloicêntricos (st) e acrocêntricos (a), como comumente utilizado em peixes (Bertollo *et al.*, 1983; Morelli *et al.*, 1983; Portela *et al.*, 1988, entre outros).

A detecção das regiões de heterocromatina C positivas foi realizada de acordo com Sumner (1972), com modificações. A digestão *in situ* por endonucleases de restrição foi realizada de acordo com Mezzanotte *et al.* (1983), com modificações. Foram adicionados 30 µl da solução de cada enzima utilizada (suspensa em tampão apropriado e H<sub>2</sub>O destilada), nas preparações cromossômicas. Seguindo-se a incubação das lâminas em câmara úmida à 37 °C por tempos e concentrações que variavam de acordo com a atividade de cada enzima (Tabela 1).

**Tabela 1** – Relação das enzimas de restrição (ER) utilizadas nas preparações cromossômicas de *Hypostomus aff. unae*, com as respectivos sítios de corte, concentrações e tempos de incubação em que se obtiveram os melhores resultados.

<b>Endonucleases de restrição</b>	<b>Sítio de corte</b>	<b>Concentração</b>	<b>Tempo de incubação</b>
<i>Alu I</i>	(5'- AG ↓ CT - 3')	0,4 U/ µl	4h
<i>Bam HI</i>	(5'- G ↓ GATCC - 3')	0,5 U	15h
<i>Hae III</i>	(5'-GG ↓ CC - 3')	6 U/ µl	14h
<i>Dde I</i>	(5'- C ↓ TNAG - 3')	2 U/ µl	4h

Após a incubação, as lâminas foram lavadas com água destilada e coradas com Giemsa 5% em tampão fosfato (pH 6,8) por 8 minutos.

## RESULTADOS

Os espécimes das quatro populações apresentam um número modal de  $2n=76$  cromossomos. Porém, distintos padrões de distribuição da heterocromatina foram evidenciados pelo bandamento C. Apesar das populações A e B apresentarem 17 pares com marcações conspícuas em regiões terminais e intersticiais de cromossomos acrocêntricos, além de heterocromatina centromérica e associada às RONS, elas diferiram quanto à posição e ao par envolvido (**Figura 1 e 02**). Blocos heterocromáticos heteromórficos foram também evidenciados em ambas as populações. Além do par portador das RONS, os pares 18, 21 e 37 nos espécimes da população A e o par 22 nos espécimes da população B apresentaram diferenças de tamanho entre os homólogos.

A população C apresentou 6 pares com marcações intersticiais e terminais, não coincidentes com as RONS (**Figura 3**), enquanto a população D apresentou 8 pares de cromossomos marcados em sua maioria nas regiões intersticiais de cromossomos acrocêntricos e também coincidentes com a região organizadora de nucléolo (**Figura 4**).

Os tratamentos com ER permitiram evidenciar diferenciações interpoblacionais a partir dos padrões obtidos em diferentes regiões cromossômicas, sobretudo na heterocromatina (**Tabela 2**).

Cinco tipos de heterocromatina portadoras de diferentes famílias de DNA foram identificadas na população A: (a) a heterocromatina dos pares cromossomos 2, 17, 21, 30, da porção centromérica da heterocromatina dos pares 1, 3, e 35, e da região terminal do par 29 foram digeridas por todas as enzimas; (b) os pares cromossômicos 16, 18 e 25 não apresentam nenhuma das seqüências; (c) os pares 7, 22, 23, 32 e apenas a heterocromatina terminal dos pares 1, 3 e 35 foram digeridas pela *Alu I*, *Bam HI* e *Dde I*; (d) o par 28 e a porção superior do bloco heterocromático do par 29 foram digeridas pela *Hae III*, *Bam HI* e *Dde I*; (e) e o par 37 foi digerida pela *Alu I* (**Figura 1**).

As famílias de DNA repetitivo detectadas na população B foram separadas em seis grupos: (a) a heterocromatina dos pares 2, 5, 10, 11, 16, 17, 28, 29 e 34 foram digeridas por todas as enzimas; (b) os pares cromossômicos 18, 22 e 30 não apresentavam nenhuma das seqüências alvo; (c) os pares 25 e 36 foram digeridos *Alu I*, *Bam HI* e *Hae III*; (d) a heterocromatina do par 8 foi digerida pela *Hae III* e *Dde I*; (e) o par 32 foi digerido pela *Alu I* e *Dde I*; (f) e o par 21 foi digerida *Alu I*, *Hae III* e *Dde I* (**Figura 2**).

Os dados referentes à digestão enzimática das regiões heterocromáticas da população C permitiu a separação desta em quatro grupos diferentes: (a) onde a região centromérica do par 21 e as extremidades do bloco terminal do par 23 não apresentaram nenhuma das seqüências; (b) o par 8 foi digerido apenas pela *Hae III*; (c) o par 15, a região central do bloco 23 e o par 26 apresentaram foram digeridos pela *Bam HI*; (d) o par 19 e a porção telomérica do par 21 foram digeridos *Bam HI* e *Dde I* (**Figura 3**).

A heterocromatina da população D foi dividida em quatro diferentes grupos: (a) o par 2 foi digerida por todas as enzimas; (b) os pares 4, 18, 22, 24 e 27 não apresentam nenhuma das seqüências; (c) o par 29 só apresenta sitio alvo para *Bam HI*; (d) e o par 33 foi digerido pela *Hae III* e *Dde I* (**Figura 4**).

Em todas as populações, a região organizadora de nucléolo (par 2) apresentou-se digerida por todas as enzimas, mesmo naquelas em que os blocos heterocromáticos não foram evidenciados pelo bandamento C.

Em relação ao padrão gerado nas regiões eucromáticas, algumas bandas conspícuas foram observadas, revelando-se específicas para cada enzima e população. De modo geral, a população A apresentou uma grande quantidade de cromossomos com marcações produzidas pela *Hae III*, enquanto que as populações B e C apresentaram mais marcações produzidas pela *Alu I*. Já a população do D mostrou um maior número de cromossomos com padrão de bandas geradas por todas as enzimas.

**Tabela 2** – Resultados da digestão enzimática da heterocromatina nos cromossomos das populações de *Hypostomus. aff unae* pelas enzimas *Alu I*, *Hae III*, *Dde I* e *Bam HI*. ( ) = heterocromatina digerida; ( ) = heterocromatina não digerida, (±) = heterocromatina parcialmente digerida;

População	Banda C Par.	Enzima de Restrição			
		<i>Alu I</i>	<i>Hae III</i>	<i>Dde I</i>	<i>Bam HI</i>
A	1	+	±	+	+
	2	+	+	+	+
	3	+	±	+	+
	7	+	-	+	+
	16	-	-	-	-
	17	+	+	+	+
	18	-	-	-	-
	21	+	+	+	+
	22	+	-	+	+
	23	+	-	+	+
	25	-	-	-	-
	28	-	+	+	+
	29	±	+	+	+
	30	+	+	+	+
	32	+	-	+	+
	35	+	±	+	+
37	+	-	-	-	
B	2	+	+	+	+
	5	+	+	+	+
	8	-	+	+	-
	10	+	+	+	+
	11	+	+	+	+
	16	+	+	+	+
	17	+	+	+	+
	18	-	-	-	-
	21	+	+	+	-
	22	-	-	-	-
	25	+	+	-	+
	28	+	+	+	+
	29	+	+	+	+
	30	-	-	-	-
32	+	-	+	-	
34	+	+	+	+	
36	+	+	-	+	
C	8	-	+	-	-
	15	-	-	-	+
	19	-	-	+	+
	21	-	-	±	±
	23	-	-	-	±
26	-	-	-	+	
D	2	+	+	+	+
	4	-	-	-	-
	18	-	-	-	-
	22	-	-	-	-
	24	-	-	-	-
	27	-	-	-	-
29	-	-	-	+	
33	-	+	+	-	

## DISCUSSÃO

A digestão dos cromossomos metafásicos por endonucleases de restrição (ER) produz uma diminuição geral na intensidade da coloração do cromossomo e o aparecimento de bandas com um padrão característico para cada enzima (Lima-de-Faria *et al.*, 1980). A diminuição de coloração da cromatina é tida como uma evidência direta da importância da remoção de fragmentos de DNA pelas enzimas de restrição (Miller *et al.*, 1983; Bianchi *et al.*, 1985; Kaelbling, *et al.*, 1984), mas outros fatores também influenciam nesse processo.

O difícil acesso da enzima ao DNA cromossômico também vem sendo apontada como possível causa dos padrões observados (Gosálvez *et al.*, 1986; Marchi & Mezzanotte, 1990). Burkholder & Weaver (1977), estudando as interações DNA – proteína na cromatina condensada e não condensada em ratos e humanos, constataram uma sensibilidade diferencial à digestão enzimática das frações da cromatina devido a diferenças na ligação das proteínas ao DNA, visto que estas o protegem contra a digestão enzimática. Porém, a relação desses fatores na diferenciação dos cromossomos ainda não é claramente compreendida. Adicionalmente, mudanças conformacionais da estrutura do cromossomo também têm sido sugeridas para explicar resultados produzidos por algumas ER nos cromossomos humanos (Mezzanotte *et al.*, 1985).

No presente trabalho, a utilização desses tratamentos, revelou a existência de uma grande heterogeneidade de frações da heterocromatina de *Hypostomus* aff. *unae*, por vezes localizadas em cromossomos distintos, no mesmo cromossomo ou pertencentes ao mesmo bloco heterocromático. Baseado nesses resultados foi possível detectar similaridades e diferenças intra e inter-populacionais, como observado na **Figura 5**. As enzimas clivaram e possivelmente retiraram o DNA das regiões eucromáticas e heterocromáticas, como evidenciado pela diminuição da coloração em algumas regiões dos cromossomos. Dessa forma, as bandas observadas são interpretadas em termos de ausência da seqüência alvo das enzimas e não remoção do DNA.

Os dados obtidos sugerem que algumas regiões de heterocromatina em diferentes cromossomos e populações possuem uma composição similar, enquanto outras teriam uma composição exclusiva. Assim, os padrões de bandamento gerados refletem diretamente a natureza molecular das regiões de heterocromatina (Sanchez *et al.*, 1991), não

sendo descartada também a possibilidade do acesso diferencial das enzimas às seqüências alvo.

A partir dessa acentuada heterogeneidade da heterocromatina, conclui-se que as populações de *H. aff. unae* possuem famílias de heterocromatina constituídas por diferentes seqüências de DNA altamente repetitivo. Uma situação semelhante pôde ser observada em *Salmo salar* (Albuín *et al.*, 1994) e *Salmo trutta* (Sanchez *et al.*, 1991), em que a utilização de ER permitiu a detecção de tipos distintos de heterocromatina em regiões particulares dos cromossomos.

De acordo com Schweizer & Loidl (1987), o arranjo não aleatório dos cromossomos durante a interfase pode favorecer a ligação de regiões cromossômicas e a dispersão da heterocromatina para sítios equilocais de um cromossomo para outro, como já proposto para a distribuição da heterocromatina intersticial em espécies do gênero *Hypostomus* (Artoni & Bertollo, 1999). Assim sendo, é provável que aqueles blocos heterocromáticos que compartilham a mesma composição tenham uma origem comum e tenham se dispersado no complemento cromossômico de *H. aff. unae*, posteriormente ao longo do processo de evolução cariotípica, eles poderiam ter sido amplificados ou acumulados por trocas desiguais, transposições e/ou duplicações regionais, como similarmente proposto para *Centropyge aurantonotus* (Affonso & Galetti Jr., 2005). Sendo assim, é possível que as divergências cromossômicas entre as populações tenham envolvido rearranjos na organização estrutural da heterocromatina e se fixaram nas populações por deriva genética ou mesmo por seleção natural, caso tenham algum papel adaptativo.

Apesar da detecção de diferenças inter-populacionais, tanto por bandamento C como com as enzimas, algumas regiões de heterocromatina se mantiveram resistentes a digestão das ERs nas populações, principalmente na população D, evidenciando uma maior diferença na composição do DNA ou organização da heterocromatina em relação às demais. Essa população também se apresenta mais divergente das demais pela alta freqüência de bandas C intersticiais ao invés de terminais (**Figura 5**).

Vale ressaltar que a região organizadora de nucléolo (par 2) apresentou-se digerida por todas as enzimas em todas as populações, demonstrando que as seqüências alvo destas apresentam-se intercaladas a essa região, mesmo na população C onde os blocos heterocromáticos não são evidentes pelo bandamento C. Tal comportamento difere do observado por Sanches *et al.* (1990), em que uma digestão diferencial ocorreu na RON, evidenciando a presença das seqüências alvo das enzimas *Dde* I e *Hae* III e uma quantidade moderada da *Alu* I, a qual digeriu parcialmente essa região.

Alguns pares de cromossomos com blocos heteromórficos ocorrem nas populações A (pares 18, 21 e 37) e na população B (par 22). Entretanto, apenas o par 21 da população A apresentou todas as seqüências alvo das enzimas utilizadas, enquanto que os demais apresentaram blocos heterocromáticos resistentes à digestão das mesmas.

Trabalhos utilizando enzimas de restrição são escassos na citogenética de peixes neotropicais, o que restringe análises cariotípicas mais pormenorizadas. Contudo, essa abordagem pode ser altamente informativa para espécies com grande quantidade de heterocromatina como a estudada no presente trabalho, podendo revelar particularidades na composição do genoma da espécie.

De fato, além da diferenciação na fórmula cariotípica, bem como entre os sítios cromossômicos GC e AT-ricos (Bitencourt *et al.*, em preparação) as quatro populações de *Hypostomus aff. unae* mostram-se também diferenciadas quanto aos padrões cromossômicos gerados pelas endonucleases de restrição, reforçando o grau de divergência evolutiva e a biodiversidade já fixada entre elas.

Banda C									
<i>Alu</i> I									
<i>Hae</i> III									
<i>Dde</i> I									
<i>Bam</i> HI									
Par	1	2	3	7	16	17	18	21	22
Banda C									
<i>Alu</i> I									
<i>Hae</i> III									
<i>Dde</i> I									
<i>Bam</i> HI									
Par	23	25	28	29	30	32	35	37	

**Figura 1** – Pares cromossômicos da população A de *Hypostomus aff. unae* evidenciando as bandas heterocromáticas C-positivas e o padrão de bandas gerado com as endonucleases de restrição: *Alu* I, *Hae* III, *Dde* I e *Bam* HI.

Banda C									
<i>Alu</i> I									
<i>Hae</i> III									
<i>Dde</i> I									
<i>Bam</i> HI									
Par	2	5	8	10	11	16	17	18	21
Banda C									
<i>Alu</i> I									
<i>Hae</i> III									
<i>Dde</i> I									
<i>Bam</i> HI									
Par	22	25	28	29	30	32	34	36	

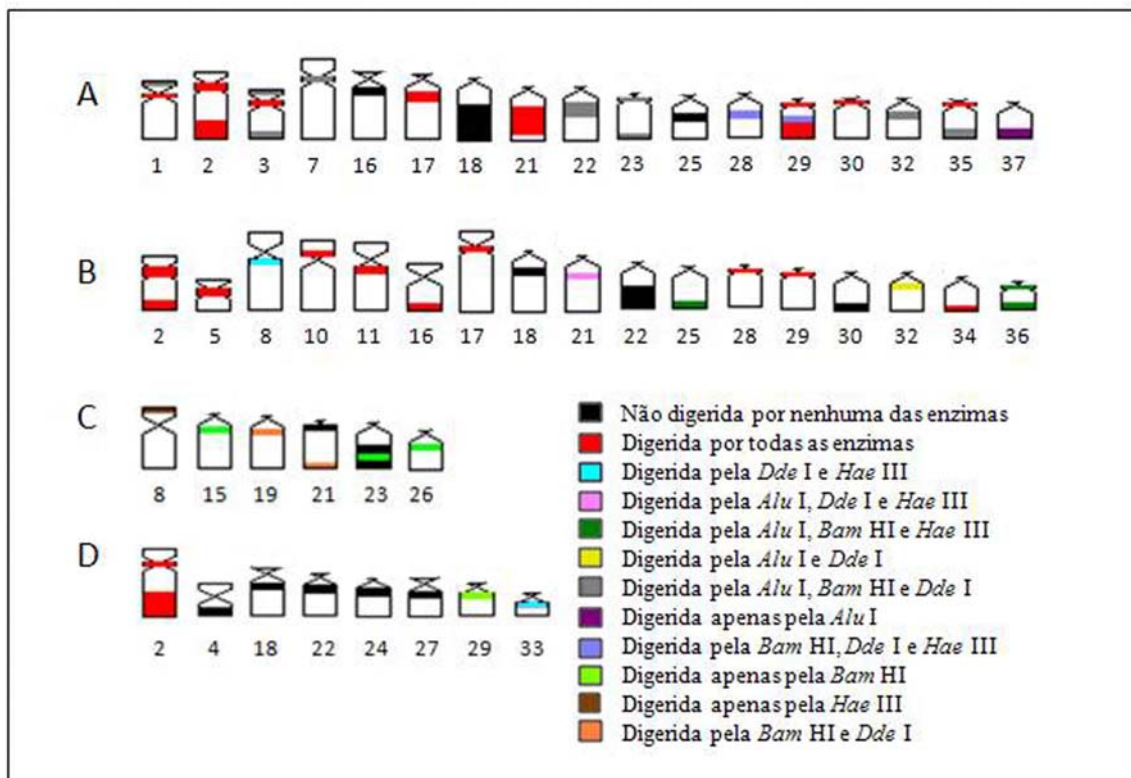
**Figura 2** – Pares cromossômicos da população B de *Hypostomus* aff. *unae* evidenciando as bandas heterocromáticas C-positivas e o padrão de bandas gerado com as endonucleases de restrição: *Alu* I, *Hae* III, *Dde* I e *Bam* HI.

Banda C						
<i>Alu</i> I						
<i>Hae</i> III						
<i>Dde</i> I						
<i>Bam</i> HI						
Par	8	15	19	21	23	26

**Figura 3** – Pares cromossômicos da população C de *Hypostomus* aff. *unae* evidenciando as bandas heterocromáticas C-positivas e o padrão de bandas gerado com as endonucleases de restrição: *Alu* I, *Hae* III, *Dde* I e *Bam* HI.

Banda C								
<i>Alu</i> I								
<i>Hae</i> III								
<i>Dde</i> I								
<i>Bam</i> HI								
Par	2	4	18	22	24	27	29	33

**Figura 4** – Pares cromossômicos da população D de *Hypostomus* aff. *unae* evidenciando as bandas heterocromáticas C-positivas e o padrão de bandas gerado com as endonucleases de restrição: *Alu* I, *Hae* III, *Dde* I e *Bam* HI.



**Figura 5** – Idiograma representativo dos pares cromossômicos das populações A, B, C e D de *Hypostomus* aff. *unae*, evidenciando o padrão geral de bandas após a digestão com as enzimas *Alu* I, *Bam* HI, *Hae* III e *Dde* I.

## REFERÊNCIAS

- Affonso PRAM, Galetti Jr PM (2005) Chromosomal diversification of reef fishes from genus *Centropyge* (Perciformes, Pomacanthidae). *Genetica* 123:227-233.
- Albuín M, Amaro R, Sanchez L (1994) Improving *Salmo salar* Karyotype: restriction enzyme and replication banding. *Cytobios* 78: 143-152.
- Artoni RF, Venere PC, Bertollo LAC (1998) A heteromorphic ZZ/ZW sex chromosome system in fish, genus *Hypostomus* (Loricariidae). *Cytologia* 63:421 -425.
- Artoni RF, Bertollo LAC (1999) Nature and distribution of constitutive heterochromatin in fishes, genus *Hypostomus* (Loricariidae). *Genetica* 106:209-214.
- Bertollo L.AC, Takahashi CS, Moreira-Filho O (1978) Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). *Brazilian Journal of Genetics* 1:103-120.
- Bianchi MS, Bianchi NO, Pantelias GE, Wolff S (1985) The mechanism and pattern of banding induced by restriction endonucleases in human chromosomes. *Chromosoma* 91:131-136.
- Bouza C, Sanchez L, Martínez P (1994) Karotypic characterization of turbot (*Scophthalmus maximus*) with conventional, fluorochrome and restriction endonuclease-banding techniques. *Mar Biol* 120:609-613.
- Burkholder GD, Weaver MG (1977) DNA-protein interactions and chromosome banding. *Exp Cell Res* 251-262.
- Carvalho RA, Dias AL (2005) Karyotypic characterization of *Iheringichthys labrosus* (Pisces, Pimelodidae): C-, G- and restriction endonuclease banding. *Genet Mol Res* 4 (4):663-667.
- Cau A, Salvadori S, Deiana AM, Bella JL, Mezzanotte R (1988) The characterization of *Muraena helena* L. mitotic chromosomes: karyotype, C-banding, nucleolar organizer regions, and in situ digestion with restriction endonucleases. *Cytogenet Cell Genet* 47:223-226.
- Cereali SS, Pomini E, Rosa R et al (2008) Karyotype description of two species of *Hypostomus* (Siluriformes, Loricariidae) of the Planalto da Bodoquena, Brazil. *Genet Mol Res* 7(3):583-591. 14
- Gosálvez J, Beia JL, López - Fernández C, Mezzanottet R (1986) Correlation between constitutive heterochromatin and restriction enzyme resistant chromatin in *Arcyptera tornosi* (Orthoptera). *Heredity* 59:173-180.

- Juan C, Gosálvez J, Petitpierre E (1990) Improving beetle karyotype analysis: restriction endonuclease banding of *Tenebrio molitor* chromosomes. *Heredity* 65:157-162.
- Kaelbling M, Miller DA, Miller OJ (1984) Restriction enzyme banding of mouse metaphase chromosomes. *Chromosoma* 90:128-132.
- Kantek DLZ, Noleto RB, Fenocchio AS, Cestari MM (2007) Cytotaxonomy, heterochromatic polymorphism and natural triploidy of a species of *Astyanax* (Pisces, Characidae) endemic to the Iguazu River Basin. *Braz Arch Biol Technol* 50(1):67-74.
- Kavalco KF, Pazzo R, Bertollo LAC, Moreira-Filho O (2004) Heterochromatin characterization of four fish species of the family Loricariidae (Siluriformes). *Hereditas* 141(3):237-242.
- Kavalco KF, Pazzo R, Bertollo LAC, Moreira-Filho O (2005) Karyotypic diversity and evolution of Loricariidae (Pisces, Siluriformes). *Heredity* 94:180-186.
- Lee, MR, Elder, FFB (1980). Yeast stimulation of bone marrow mitosis for cytogenetics investigations. *Cytogenetic and Cell Genectic* 52:36-40.
- Lima-de-Faria A, Isaksson M, Olsson E (1980) Action of restriction endonucleases on the DNA and chromosomes of *Muntiacus muntjak*. *Hereditas* 92:267-273.
- Lloyd MA, Thorgaard GH (1988) Restriction endonuclease banding of rainbow trout chromosomes. *Chromosoma* 96:171-177.
- Lorite P, Garcia MF, Carrillo JA, Palomeque T (1999) Restriction endonuclease chromosome banding in *Tapinoma nigerrimum* (Hymenoptera, Formicidae). *Hereditas* 131:197-201.
- Lozano R, Ruiz Rejon C, Ruiz Rejon M (1991) An analysis of coho salmon chromatin by means of C-banding, AG- and fluorochrome staining, and in situ digestion with restriction endonucleases. *Heredity* 66:403-409.
- Maistro EL, Foresti F, Oliveira C (1999) R- and G-band patterns in *Astyanax scabripinnis paranae* (Pisces, Characiformes, Characidae). *Genet Mol Biol* 22(2):201-204. 15
- Maistro EL, Oliveira C, Foresti F (2000) Cytogenetic analysis of A-and B-chromosomes of *Prochilodus lineatus* (Teleostei, Prochilodontidae) using different restriction enzyme banding and staining methods. *Genetica* 108:119-125.
- Marchi A, Mezzanotte R (1988) Restriction endonuclease digestion and chromosome banding in the mosquito, *Culiseta longiareolata* (Diptera: Culicidae). *Heredity* 60:21-26.

- Marchi A, Mezzanotte R (1990) Inter- and intraspecific heterochromatin variation detected by restriction endonuclease digestion in two sibling species of the *Anopheles maculipennis* complex. *Heredity* 65:135-142.
- Mezzanotte R, Bianchi U, Vanni R, Ferruci L (1983) Chromatin organization and restriction nuclease activity on human metaphase chromosomes. *Cytogenet Cell Genet* 36:562-566.
- Mezzanotte R, Ferrucci L, Vanni R, Sumner AT (1985) Some factors affecting the action of restriction endonucleases on human metaphase chromosomes. *Exp Cell Res* 161:247-253.
- Miller DA, Tantravahi R, Dev VG, Miller OJ (1976) Q- And C-Band chromosome markers in inbred strains of *Mus musculus*. *Genetics* 81:67-75.
- Miller DA, Choi JC, Miller JO (1983) Chromosome localization of highly repetitive human DNAs and amplified ribosomal DNA with restriction enzymes. *Science* 219:395-397.
- Molina, WF (2001) An alternative method for mitotic stimulation in fish cytogenetics. *Chromosome Science*, 5:149-152.
- Pieczarka JC, Nagamachi CY, Barros RMS, Mattevi MS (1996) Analysis of constitutive heterochromatin by fluorochromes and in situ digestion with restriction enzymes in species of the group *Callithrix argentata* (Callitrichidae, Primates). *Cytogenet Cell Genet* 72:325-330.
- Rubert M, Zawadzki CH, Giuliano-Caetano L (2008) Cytogenetic characterization of *Hypostomus nigromaculatus* (Siluriformes: Loricariidae). *Neotrop Ichthyol* 6(1):93-100.
- Sánchez L, Martínez P, Viñas A, Bouza C (1990) Analysis of the structure and variability of nucleolar organizer regions of *Salmo trutta* by C-, Ag-, and restriction endonuclease banding. *Cytogenet Cell Genet* 54:6-9 16
- Sanchez L, Martinez P, Bouza C, Vinas A (1991) Chromosomal heterochromatin differentiation in *Salmo trutta* with restriction enzymes. *Heredity* 66:241-249.
- Sumner AT (1972) A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp Cell Res* 75:304-306.
- Schweizer D, Loidl J (1987) A model for heterochromatin dispersion and the evolution of C-bands patterns. *Chrom today* 9: 61–79.
- Swarça AC, Fenocchio AS, Cestari MM, Dias AL (2005) First chromosome data on *Steindachneridion scripta* (Pisces, Siluriformes, Pimelodidae) from Brazilian rivers: Giemsa, CBG, G-, and RE banding. *Genet Mol Res* 4(4):734-741.

## **ARTIGO C**

**IDENTIFICAÇÃO DE UNIDADES EVOLUTIVAS DISTINTAS ENTRE POPULAÇÕES ALOPÁTRICAS DE *Hypostomus cf. wuchereri* (SILURIFORMES, LORICARIIDAE). EVIDÊNCIAS CARIOTÍPICAS.**

\* Este artigo será submetido à publicação na revista Journal of Fish Biology

**IDENTIFICAÇÃO DE UNIDADES EVOLUTIVAS DISTINTAS ENTRE POPULAÇÕES ALOPÁTRICAS DE *Hypostomus cf. wuchereri* (SILURIFORMES, LORICARIIDAE). EVIDÊNCIAS CARIOTÍPICAS.**

**Jamille de Araújo Bitencourt<sup>1</sup>, Paulo Roberto Antunes de Mello Affonso<sup>2</sup>, Lucia Giuliano-Caetano<sup>1</sup> e Ana Lucia Dias<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Biologia Geral, Universidade Estadual de Londrina, CCB, CEP 86051-970, Londrina, Paraná, Brasil, fone (43) 3371-4527 (email: anadias@uel.br)

<sup>2</sup>Departamento de Ciências Biológicas, Universidade estadual do Sudoeste da Bahia, DCB, CEP 45200-000, Jequié, Bahia, Brasil, fone (73) 35289661 (email: paulomelloaffonso@yahoo.com.br)

**RESUMO**

Duas populações alopátricas de *Hypostomus cf. wuchereri* (Siluriformes, Loricariidae) de duas bacias costeiras da Bahia (Brasil) foram caracterizadas citogeneticamente no presente trabalho. Ambas populações compartilham  $2n=76$ , fórmula cariotípica de  $10m+18sm+48st/a$  (NF=104) e RONS simples terminais no segundo par metacêntrico. Diferenças microestruturais foram detectadas através do bandamento C, coloração com fluorocromos CMA3 e DAPI, e digestão com as enzimas de restrição *Alu* I, *Bam* HI, *Hae* III e *Dde* I. A população do rio Una apresentou grandes blocos heterocromáticos terminais, compostos por sítios intercalares ricos em AT e GC, enquanto que a população do rio Mutum apresentou regiões de heterocromatina intersticiais e terminais menos evidentes, ricas em AT. As RONS das duas populações apresentaram-se ricas em GC. Cada enzima utilizada, gerou um padrão de bandas específico para cada população, tanto na euromatina como na heterocromatina. Adicionalmente a digestão enzimática permitiu a caracterização de diferentes famílias de heterocromatina. Com base nesses dados pode-se inferir que essas populações estão evoluindo independentemente, favorecidas pelo isolamento geográfico entre elas.

**Palavras-chave:** Citogenética animal. Loacarideo. Genética animal. Peixe. Heterocromatina.

## INTRODUÇÃO

A ictiofauna dos sistemas hidrográficos costeiros do leste do Brasil apresenta grande significado biogeográfico. As principais bacias da região (Paraguaçu, Contas, Jequitinhonha, Doce, Paraíba do Sul, Ribeira de Iguape, Itajaí e Jacuí) bem como várias outras pequenas drenagens adjacentes apresentam um alto grau de endemismo (Ribeiro *et al.*, 2006). De fato, cada vez mais espécies de peixes nessas bacias são descritas e/ou reavaliadas sob o ponto de vista taxonômico, confirmando a riqueza de espécies regionais (Oyakawa & Mattox, 2009; Sarmiento-Soares *et al.*, 2009; Zanata & Camelier, 2009).

Por sua vez, os estudos da biodiversidade dependem de informações sobre níveis de variabilidade intra e interpopulacional e caracterização de unidades evolutivas. As análises genéticas e citogenéticas constituem uma importante ferramenta para tais estudos, especialmente em grupos taxonomicamente controversos. Elas auxiliam na identificação de polimorfismos populacionais (Giuliano-Caetano, 1998), complexos de espécies (Bertollo *et al.*, 2000) e espécies crípticas (Medrado *et al.*, 2008). Contudo, apesar do grande número de trabalhos citogenéticos em bacias do sudeste brasileiro e, mais recentemente, na bacia Amazônica, pouco se sabe sobre as espécies do nordeste brasileiro (Medrado *et al.*, 2008).

*Hypostomus* é um dos gêneros mais especiosos entre os Siluriformes, compreendendo 117 a 130 espécies. Essa imprecisão quanto ao número de espécies descritas é devido ao reconhecimento de *Aphanotorulus*, *Isorineloricaria* e *Squaliforma* como gêneros válidos por Ferraris Jr. (2007), enquanto Armbruster (2004; 2007) os considera sinônimos de *Hypostomus*. Desde então, novas espécies vem sendo continuamente descritas, revelando a grande diversidade de formas do gênero (Jerep *et al.*, 2007; Zawadski *et al.*, 2008) que compõem um grupo dominante nos rios brasileiros, incluindo as bacias do Leste.

A espécie *Hypostomus wuchereri* foi descrita por Gunther em 1864 para os “rios do Brasil”. Apesar da indefinição da localidade-tipo, acredita-se que o autor referia-se à bacia do rio Paraguaçu, na Bahia (Reis *et al.*, 2003). Contudo, devido à falta de levantamentos mais amplos, não se sabe a real distribuição dessa espécie, até o momento, restrita à bacia do Paraguaçu e do São Francisco (citado como *Hypostomus* cf. *wuchereri* por Garavello & Garavello, 2004).

Portanto, o presente trabalho tem por objetivo caracterizar citogeneticamente duas populações de *Hypostomus* cf. *wuchereri* de bacias costeiras da Bahia (Bacia do rio de

Contas e Recôncavo Sul), fornecendo informações inéditas sobre a biodiversidade da ictiofauna regional e contribuindo para estudos taxonômicos e biogeográficos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Doze exemplares (7 machos e 5 imaturos) de *Hypostomus* cf. *wuchereri* foram coletados no rio Mutum (13°43'18'' S e 39°51'20''W), bacia do rio de Contas, município de Jequié (BA), e seis (1 macho e 5 imaturos) no rio Una (13°21'55" S e 39°04'35" W), bacia do Recôncavo Sul, município de Valença (BA). Exemplares testemunhos foram identificados pelo Dr. Claudio Zawadski (Universidade Estadual de Maringá-UEM) e depositados na coleção ictiológica do NUPELIA – UEM, Maringá, PR, Brasil.

A obtenção de cromossomos mitóticos seguiu a metodologia de Bertollo *et al.* (1978). A estimulação mitótica foi realizada através da injeção prévia nos animais de solução de fermento biológico, descrita por Lee e Elder (1980). Os cromossomos foram classificados em grupos: metacêntricos (m), submetacêntricos (sm), subtelocêntricos (st) e acrocêntricos (a), como comumente realizado em peixes (Bertollo *et al.*, 1983; Morelli *et al.*, 1983; Portela *et al.*, 1988, entre outros). As regiões organizadoras de nucléolos foram detectadas pela impregnação por nitrato de Prata-AgRONS (Howell & Black, 1980). O padrão de distribuição da heterocromatina foi determinado pelo bandamento C (Sumner, 1972). Para a determinação dos sítios ricos em pares de bases GC e AT foram utilizados os fluorocromos Cromomicina A3 e DAPI, respectivamente (Schweizer, 1978), com modificações. A digestão *in situ* por endonucleases de restrição foi realizada de acordo com Mezzanotte *et al.* (1983), utilizando as enzimas *Alu* I (5' - AG↓CT - 3') com concentração de 0,4 U/μl por 4h, *Bam* HI (5' - G↓GATCC - 3') com 0,5 U/μl por 15h, *Hae* III (5' - GG↓CC - 3') com 6 U/μl por 14h e *Dde* I (5' - C↓TNAG - 3') com 2U/μl por 4h.

## RESULTADOS

Todos os exemplares de *H. cf. wuchereri* apresentaram número modal de  $2n=76$ , com fórmula cariotípica de  $10m+18sm+48st/a$  (NF=104) independentemente da população analisada (Figura 1).

A impregnação pela prata evidenciou um sistema de RONS simples, com marcações na região terminal do braço longo no segundo par de cromossomos metacêntricos em ambas as populações (Figura 1 em detalhe). Tais marcações apresentaram-se usualmente heteromórficas entre os homólogos e coincidentes com constrições secundárias.

Por outro lado, o padrão de distribuição de heterocromatina diferiu significativamente entre as populações. A população do rio Una apresentou 6 pares de cromossomos acrocêntricos com grandes blocos terminais (pares 17, 21, 24, 26 e 31) e um par acrocêntrico com uma discreta marcação intersticial (par 30) (Figura 2a). Os espécimes do rio Mutum apresentaram bandas C mais conspícuas na região terminal de um par de cromossomos submetacêntricos (par 8) e três pares acrocêntricos (21, 26 e 29) e na região intersticial de quatro pares de cromossomos acrocêntricos (16, 18, 28 e 31) (Figura 2b). Não foram visualizados blocos heterocromáticos associados às RONS ou heterocromatina centromérica nas duas populações.

O tratamento com os fluorocromos base-específicos revelou, em ambas as populações, um único par de cromossomos com marcações CMA3 positivas e DAPI negativas coincidentes com as RONS, caracterizando-as como ricas em bases GC (Figura 1 em detalhe, e figura 3a e c). Entretanto, a população do rio Mutum apresentou sítios ricos em AT equivalentes aos blocos heterocromáticos evidentes no bandamento C (Figura 3b). Por outro lado, a população do rio Una apresentou blocos com marcações intercalares de CMA3 e DAPI, revelando uma marcante heterogeneidade de sítios ricos em GC e AT de cromossomos acrocêntricos (Figura 3c e d).

Os dados correspondentes à composição da heterocromatina com base nas seqüências alvo das enzimas selecionadas nas populações do rio Una e Mutum estão sumarizados na Tabela 1, evidenciando diferentes tipos de heterocromatina de ambas as populações.

A população do rio Una apresentou três grupos de heterocromatina: as regiões de banda C dos pares 26, 30 e 31 foram digeridas por todas as enzimas; o par 24 e a extremidade do bloco heterocromático de um cromossomo do par 17 foram digeridos

apenas pela *Dde I*; e o par 21 e a região central do bloco heterocromático de um cromossomo do par 17 foram digeridos pela *Dde I* e pela *Bam HI* (Figura 4).

**Tabela 1** – Resultados da digestão enzimática da heterocromatina C-positiva, presente nos pares cromossômicos de *Hypostomus cf. wuchereri*, utilizando as endonucleases de restrição *Alu I*, *Hae III*, *Dde I* e *Bam HI*. ( ) = heterocromatina digerida; ( ) = heterocromatina não digerida; (±) = heterocromatina parcialmente digerida.

População	Banda C	Enzima de Restrição			
	Par.	<i>Alu I</i>	<i>Hae III</i>	<i>Dde I</i>	<i>Bam HI</i>
Rio Una (Bacia do rio de Contas)	17	–	–	+	±
	21	–	–	+	+
	24	–	–	+	–
	26	+	+	+	+
	30	+	+	+	+
	31	+	+	+	+
Rio Mutum (Bacia do Recôncavo Sul)	8	+	+	+	+
	16	–	–	–	+
	18	+	–	+	+
	21	+	–	+	+
	26	+	–	–	+
	28	+	–	+	+
	29	–	–	–	–
	31	–	–	–	+

Já na população do rio Mutum, a heterocromatina foi separada em 5 grupos: a heterocromatina do par 8 apresentou-se rica nas seqüências alvo de todas as enzimas; os pares 18, 21 e 28 foram digeridos pela *Alu I*, *Dde I* e *Bam HI*; os pares 16 e 31 foram digeridos apenas pela *Bam HI*; o par 26 digerido pela *Alu I* e *Bam HI*; e o par 29 não apresentou nenhuma das seqüências-alvo das enzimas, permanecendo intacto (**Figura 5**).

Em relação às regiões eucromáticas, a população do rio Una apresentou as seqüências alvo da *Hae III* e *Dde I* distribuídas uniformemente ao longo de toda a eucromatina e um padrão de bandas gerado pela *Alu I*. Já na população do rio Mutum, as enzimas *Hae III* e *Dde I* produziram uma grande quantidade de bandas ao longo dos cromossomos, enquanto que a seqüência alvo da *Alu I* apresentou-se distribuída uniformemente. Por sua vez, o tratamento com a *Bam HI* não mostrou diferenças evidentes entre as duas populações.

## DISCUSSÃO

Numeros diplóides e de cromossomos acrocêntricos relativamente altos, como observado em *H. cf. wuchereri*, parece representar um caráter derivado neste gênero, visto que o numero diplóide de  $2n=54$  pode ser uma condição plesiomórfica para a família Loricariidae (Artoni & Bertollo, 2001). Desse modo, sugere-se que as fissões cêntricas tenham desempenhado um importante papel na evolução cariotípica de *H. cf. wuchereri*, levando ao aumento do número diplóide e de cromossomos portadores de apenas um braço nessa espécie. Situação similar é observada também para *Hypostomus* aff. *unae* ( $2n=76$ ) da bacia do rio de Contas (Bitencourt *et al.*, em preparação). Os dados até agora disponíveis indicam que os números diplóides de 76 e 72 são os mais freqüentes no gênero, sendo observados em 30% e 26%, das espécies de *Hypostomus*, respectivamente.

As regiões organizadoras de nucléolos (RONs) em *Hypostomus* são variáveis em número e posição. Além de um freqüente polimorfismo de tamanho dessas regiões entre cromossomos homólogos, a presença de espécies com RONs simples (Artoni & Bertollo, 1999; 2001) ou múltiplas (Kavalco *et al.*, 2005; Rubert *et al.* 2008) é também observada, sendo esta última a condição mais freqüente no gênero (Artoni & Bertollo, 2001).

A presença de um sistema de RONs simples na espécie estudada parece caracterizar a manutenção da condição plesiomórfica da família Loricariidae e dos peixes de modo geral (Artoni, 1996). Assim como a maioria das espécies de *Hypostomus*, o tamanho das RONs apresentou-se usualmente heteromórfico entre os homólogos e coincidentes com as constrições secundárias em *H. cf. wuchereri*. Tais polimorfismos de tamanho nas RONs entre cromossomos homólogos são muito freqüentes em espécies portadoras de um único par organizador nucleolar (Foresti *et al.*, 1981). Essa diferença é possivelmente resultante de duplicações/deleções ou *crossing over* desiguais, conforme também já proposto por vários autores (Galetti, 1998; Affonso *et al.*, 2002). Deve ser ressaltado, porém, que tais diferenças foram detectadas por impregnação pelo nitrato de Prata, envolvendo assim a atividade dos sítios de DNAr e não a sua estrutura propriamente dita. Assim sendo, análises complementares por hibridação *in situ* com sondas de 18S ou 45S poderão confirmar se tais polimorfismos são também estruturais.

Diferentemente da população do rio Una, a qual apresenta blocos terminais conspicuos, os espécimes de *H. cf. wuchereri* do rio Mutum apresentam alguns dos cromossomos com heterocromatina intersticial e marcações terminais menos evidentes

(Figura 2a e b). Artoni & Bertollo (2001), evidenciaram que algumas espécies de Hypostominae com elevado número diplóide apresentam grandes segmentos intersticiais de heterocromatina em vários cromossomos acrocêntricos, enquanto que outras espécies com menor  $2n$  apresentam menos heterocromatina, localizada na região terminal e/ou centromérica. Dessa forma, os dados ora obtidos em *H. cf. wuchereri*, sugerem que o padrão de distribuição de heterocromatina pode ser mais variável entre os hypostominae que o previamente proposto.

A localização dos blocos heterocromáticos na espécie estudada pode ser derivada por inversões ou transposições da heterocromatina originalmente terminal de alguns cromossomos acrocêntricos para a porção intersticial de outros, devido ao arranjo não aleatório dos cromossomos durante a intérfase segundo Schweizer & Loidl (1987). Isto explicaria a distribuição equilocal da heterocromatina observada entre os cromossomos não homólogos na população do rio Mutum, como já proposto para *Hypostomus* sp E e *Hypostomus* sp F por Artoni & Bertollo (1999).

Essas diferenças inter-populacionais são ainda mais acentuadas com a utilização de técnicas mais refinadas para análise composicional da heterocromatina, como a utilização de fluorocromos e enzimas de restrição, revelando peculiaridades sobre a estrutura cromossômica destas populações.

Os dados disponíveis na literatura mostram que regiões ricas em GC são comuns em *Hypostomus* (Artoni *et al.*, 1998; Artoni & Bertollo, 1999; Kavalco *et al.*, 2004) e que, embora a presença de sinais positivos para DAPI seja uma condição rara em peixes, algumas espécies do gênero também apresentaram essa característica (Artoni & Bertollo, 1999). Em geral, as RONS em *Hypostomus* são ricas em GC, o que pode ser observado em três populações de *H. nigromaculatus* (Rubert *et al.*, 2008), em *Hypostomus* sp 2- rio Perdido NUP 4249 (Cereali *et al.*, 2008) e nos exemplares aqui analisados.

A localização dos blocos ricos em AT na população do rio Mutum está em regiões equivalentes de distintos pares cromossômicos que, provavelmente, foram distribuídos por modelos de dispersão de heterocromatina para sítios equilocais (Schweizer & Loidl, 1987), a exemplo do proposto para outras espécies de peixes (Mantovani *et al.*, 2000; Affonso & Galetti, 2005). No caso da população do rio Una, a heterocromatina parece ter seguido um caminho evolutivo diferenciado com a presença de blocos ricos em AT e GC em vários cromossomos do complemento, condição rara em vertebrados inferiores. A origem desse padrão pode ser explicada pela provável inserção de seqüências ricas em GC na heterocromatina originalmente rica em AT. Uma vez estabelecida, essa seqüência heterogênea

poderia ser também dispersa para regiões equidistantes, em distintos pares cromossômicos conforme descrito anteriormente. Contudo, a origem dessas seqüências GC intercalares permanece uma questão a ser elucidada.

A utilização da digestão *in situ* com quatro endonucleases de restrição, *Alu* I, *Hae* III, *Bam* HI e *Dde* I, facilitou o pareamento dos cromossomos homólogos e a detecção de diferentes famílias de DNA altamente repetitivo. As regiões coradas fracamente representam a perda de heterocromatina digerida por essas enzimas, enquanto as bandas geradas indicam regiões resistentes à digestão devido à ausência de seqüências alvo e/ou conformação da cromatina e associação com proteínas (Gosalvez *et al.*, 1987; Burkholder & Weaver, 1977).

Em geral, os diferentes tratamentos com endonucleases de restrição produziram uma marcante heterogeneidade nos cromossomos das populações de *Hypostomus cf wuchereri*, concluindo-se que estas possuem famílias de heterocromatina constituídas por diferentes seqüências de DNA altamente repetitivo. Poucas semelhanças foram encontradas entre as populações, à exceção da heterocromatina dos pares 26, 30 e 31 da população do rio Una e o par 8 da população do rio Mutum, os quais foram digeridos por todas as enzimas, em ambas as populações (**Figura 6**).

Uma situação contraditória pode ser observada no que se refere à atividade da enzima *Hae* III. Como essa enzima corta regiões ricas em GC, seria esperado que os blocos heterocromáticos presentes nos pares 17, 21, 24 e 25 da população do rio Una apresentassem uma porção digerida por esta enzima, visto que são evidenciados pela CMA3 e, portanto, ricos em GC. De acordo com Gosalvez *et al.* (1987), os efeitos da digestão enzimática nos cromossomos podem ser explicados tanto pela presença e ausência de suas seqüências alvo, como pela habilidade destas em cortar a seqüência alvo, a qual pode não estar acessível ou, ainda, pelo tamanho de seus alvos específicos. Dessa forma, é possível que alguns desses fatores esteja implicado na ausência de digestão desses sítios heterocromáticos, os quais se mantiveram inalterados após o tratamento com a *Hae* III.

Outra peculiaridade na digestão enzimática observada na população de *H. cf wuchereri* do rio Una diz respeito às bandas heteromórficas entre os cromossomos homólogos do par 17 após tratamento com *Bam* HI, a qual digeriu apenas a região central do bloco heterocromático de um dos homólogos (**Figura 4**). Este resultado demonstra a heterogeneidade existente em frações da heterocromatina, reforçando a diferença entre as populações analisadas.

Diferenças em outras áreas dos cromossomos não referentes aos blocos heterocromáticos também foram detectadas. Dessa forma, as enzimas produziram um padrão

de bandas divergente em ambas as populações, principalmente no que se refere a atividade das enzimas *Hae* III, *Dde* I e *Alu* I. As diferenças existentes no padrão de digestão indicam caminhos evolutivos distintos, frente as duas populações de *H. cf. wuchereri*, dando origem as distintas famílias de DNA repetitivo detectadas entre elas.

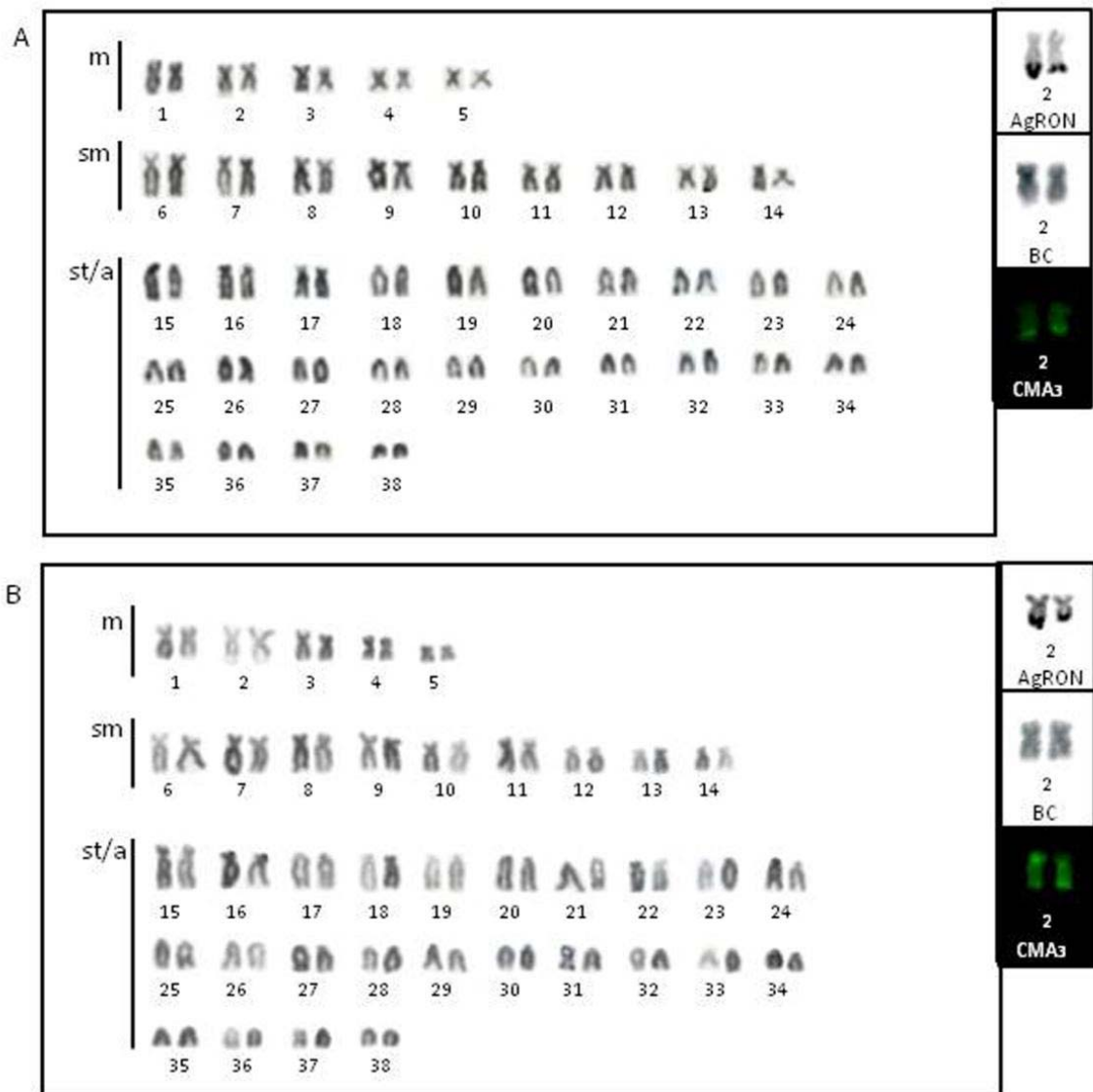
Assim sendo, apesar de compartilhar o mesmo número diplóide e formula cariotípica, as populações de *H. cf. wuchereri* do rio Una e Mutum apresentam diferenças microestruturais acentuadas. O estabelecimento da diferenciação na microestrutura cromossômica entre as populações de *H. cf. wuchereri* aqui estudadas, possivelmente se deve a histórias evolutivas distintas favorecidas pelo isolamento geográfico entre as bacias onde essas populações se encontram, sugerindo que possíveis pressões seletivas ou efeitos de deriva alteraram a organização cromossômica dessas populações.

Os dados disponíveis na literatura, tais como intervalo de distribuição de alguns grupos de peixes e a identificação de espécies endêmicas, sugerem a existência de unidades biogeográficas ou mesmo sub-províncias, ao longo das bacias costeiras do leste do Brasil, como as amostradas nesse trabalho (Bizerril, 1994; Ribeiro, 2006).

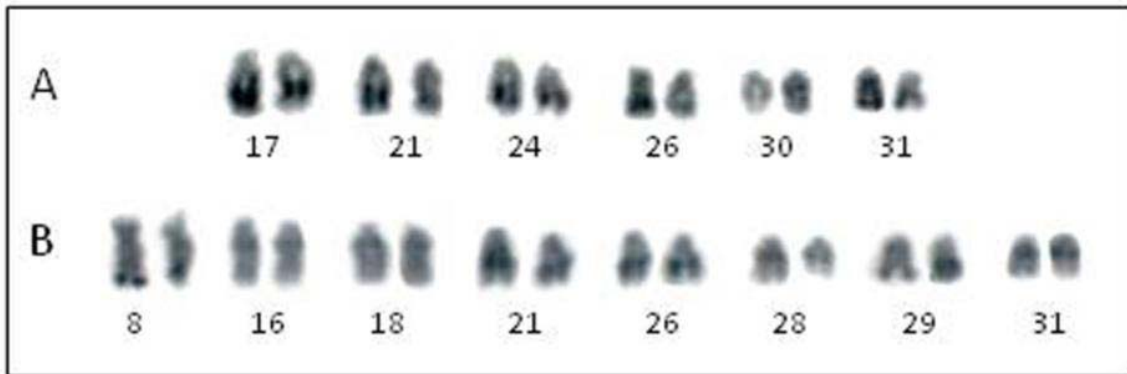
De fato, múltiplos e sucessivos eventos de encurtamento e alargamento das placas tectônicas afetaram as margens continentais e podem ter favorecido tanto a divisão quanto a conectividade entre várias bacias adjacentes (Lundberg *et al.*, 1998, Pamponet *et al.*, 2008). A última transgressão marinha sobre o continente poderia ter levado à separação entre populações costeiras previamente conectadas, promovendo assim a sua diversificação alopátrica (Beheregaray *et al.*, 2002).

Um cenário evolutivo similar ao observado em *H. cf. wuchereri* foi descrito para *Hoplías malabaricus* (Characiformes, Erythrinidae), onde diferenças relacionadas ao conteúdo de heterocromatina indicam certo grau de diferenciação genética entre as populações das bacias do rio Itapicuru e do rio de Contas, sistemas hidrográficos costeiros da Bahia (Jacobina *et al.*, 2009).

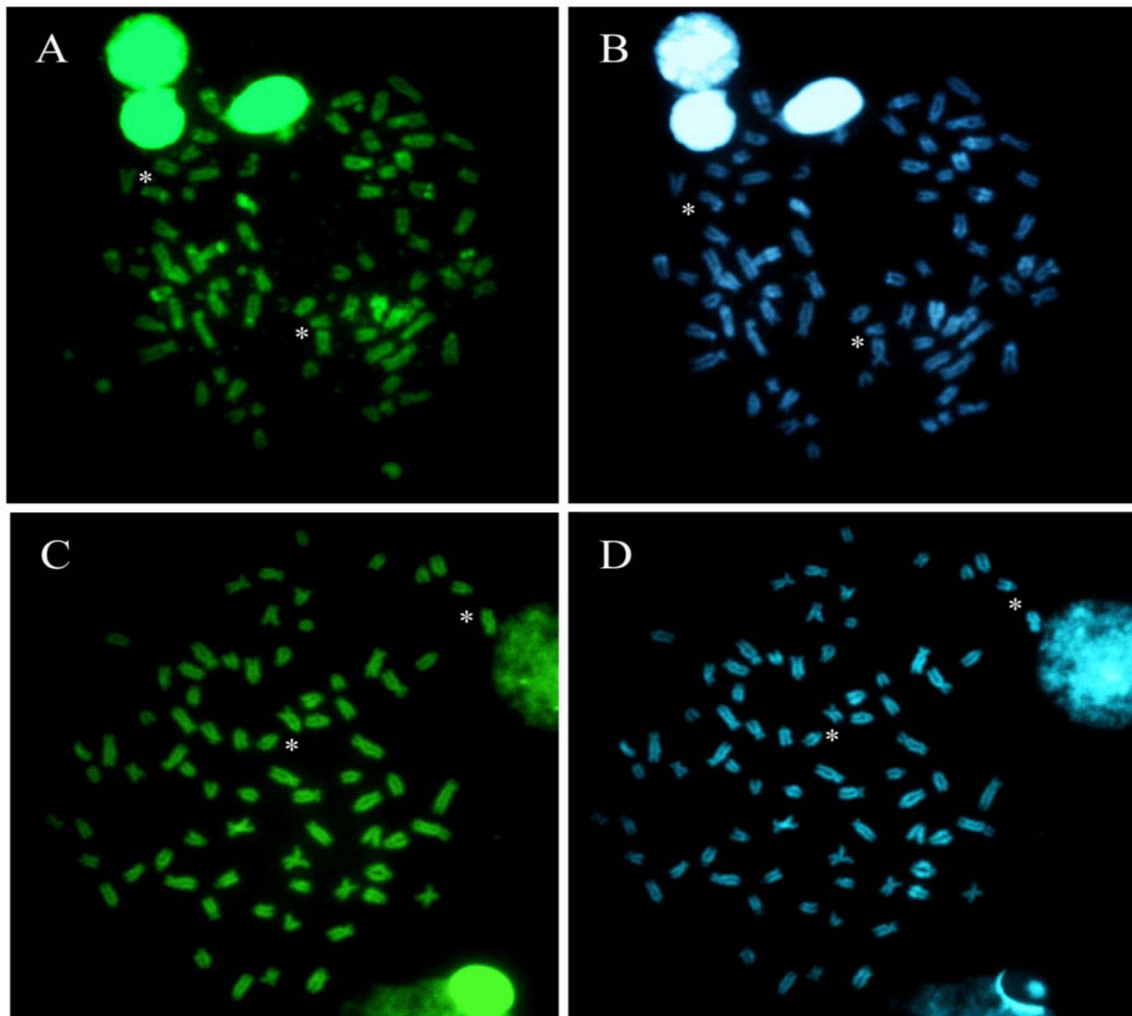
Com base nos dados obtidos, pode-se inferir que as populações de *H. cf. wuchereri*, estejam evoluindo independentemente, podendo futuramente constituir espécies distintas, já que encontram-se em bacias relacionadas, mas independentes, mantendo algumas similaridades como a macroestrutura cariotípica.



**Figura 1** – Cariótipos de *Hypostomus cf. wuchereri*. (A) População do rio Mutum, (B) População do rio Una. Em destaque os portadores das regiões organizadoras de nucléolo (RONs) após a coloração com nitrato de Prata, (Ag RONs), bandamento C (BC) e coloração com cromomicina A3 (CMA3).



**Figura 2** – Pares cromossômicos com sítios heterocromáticos em *Hypostomus cf. wuchereri*. (A) População do rio Una, (B) População do rio Mutum.



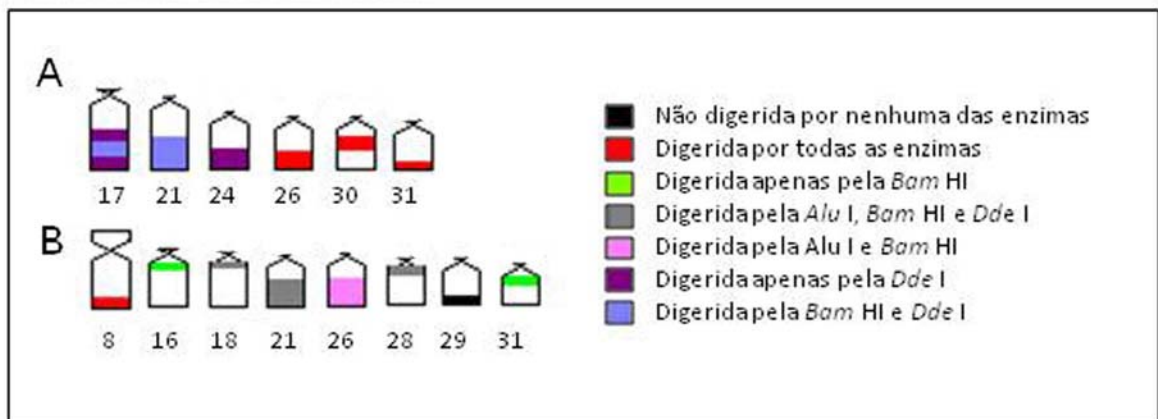
**Figura 3** – Cromossomos de *Hypostomus cf. wuchereri* submetido a coloração com os fluorocromos cromomicina A3 (CMA3) e DAPI. População do rio Mutum: A e B. População do rio Una: C e D. Os asteriscos indicam os cromossomos portadores das RONS. A, e C,= CMA3 e B e D= DAPI.

Banda C						
<i>Alu</i> I						
<i>Hae</i> III						
<i>Dde</i> I						
<i>Bam</i> HI						
Par	17	21	24	26	30	31

**Figura 4** – Pares cromossômicos de *Hypostomus* cf. *wuchereri* da população do rio Una evidenciando as regiões heterocromáticas C-positivas e o padrão de bandas correspondentes obtidos com as endonucleases de restrição: *Alu* I, *Hae* III, *Dde* I e *Bam* HI.

Banda C								
<i>Alu</i> I								
<i>Hae</i> III								
<i>Dde</i> I								
<i>Bam</i> HI								
Par	8	16	18	21	26	28	29	31

**Figura 5** – Pares cromossômicos de *Hypostomus* cf. *wuchereri* da população do rio Mutum evidenciando as regiões heterocromáticas C-positivas e o padrão de bandas correspondentes obtidos com as endonucleases de restrição: *Alu* I, *Hae* III, *Dde* I e *Bam* HI.



**Figura 6** – Idiograma representativo dos pares cromossômicos das populações de *Hypostomus* cf. *wuchereri* evidenciando o padrão geral de bandas após a digestão com as enzimas *Alu* I, *Bam* HI, *Hae* III e *Dde* I. População do rio Una (A), População do rio Mutum(B)

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

1- As quatro populações de *Hypostomus* aff. *unae* e as duas *Hypostomus* cf. *wuchereri* analisadas apresentaram número modal de  $2n=76$  com grande quantidade de cromossomos acrocêntricos, correspondente à uma provável sinapomorfia dentro de *Hypostomus*.

2- Formas cariotípicas distintas foram estabelecidas para cada população amostrada de *H.* aff. *unae*, evidenciando que inversões pericêntricas atuaram na diversificação das populações, enquanto que as populações de *H.* cf. *wuchereri* compartilham a mesma fórmula cariotípica.

3- Todas as populações das duas espécies, apresentaram um sistema de RONS simples com heteromorfismos de tamanho entre os homólogos, mantendo uma provável condição plesiomórfica da família Loricariidae.

4- A técnica de FISH confirmou a presença de sítios de DNAr 18S na região terminal do segundo par de cromossomos metacêntricos em *H.* aff. *unae*, e demonstrou que a diferença entre os homólogos é de fato estrutural.

5- Distintos padrões da distribuição heterocromatina foram observados entre as populações nas populações referentes à quantidade de pares envolvidos, localização dos blocos heterocromáticos e composição de pares de bases AT e GC.

6- As populações de *H.* aff. *unae* dos rios de Contas e Preto do Costa apresentaram sítios ricos em AT em regiões terminais e intersticiais em distintos pares cromossômicos, enquanto que a população do rio Preto do Criciúma apresentou tais sítios restritos às regiões intersticiais. Já a população do rio Oricó apresentou marcações intersticiais e terminais evidentes, coradas igualmente pelo CMA3 e DAPI, referentes aos blocos de heterocromáticos.

7- Todas as populações analisadas apresentaram as RONS ricas em GC porém, apenas os exemplares de *H.* aff. *unae* do rio de Contas, rio Preto do Costa e rio Preto do Criciúma apresentaram a heterocromatina associada a essas regiões, evidenciada pelo bandamento C.

8- Em *H.* cf. *wuchereri*, grandes blocos terminais com marcações intercalares com CMA3 e DAPI foram evidenciados, revelando uma marcante heterogeneidade ao longo da heterocromatina dos seis pares de cromossomos acrocêntricos na população do rio Una,

enquanto que na população do rio Mutum foram detectadas regiões de heterocromatina intersticiais e terminais menos evidentes, ricas em bases AT.

9- Cromossomos heteromórficos foram detectados apenas nas populações do rio de Contas e do rio Preto do Costa de *H. aff. unae* através da técnica de bandamento C, assim como na população de *H. cf. wuchereri* do rio Una pela digestão com *BamHI*.

10- Uma marcante heterogeneidade de frações de heterocromatina foi evidenciada com a utilização de enzimas de restrição, detectando diferenças microestruturais e permitindo a detecção de famílias de heterocromatina em todas as populações analisadas.

11- Os exemplares de *H. aff. unae* e *H. cf. wuchereri* apresentam uma evolução cariotípica divergente entre as populações analisadas, caracterizando distintas unidades evolutivas.

## REFERÊNCIAS

- Affonso, P. R. A. M. & Galetti Jr., P. M. (2005). Chromosomal diversification of reef fishes from genus *Centropyge* (Perciformes, Pomacanthidae). *Genetica* 123, 227-233.
- Affonso, P. R. A. M., Guedes, W., Pauls, E. & Galetti Jr., P. M. (2002). Close karyotypical relationship between two species of marine angelfishes from South Atlantic: *Pomacanthus arcuatus* and *P. paru* (Perciformes, Pomacanthidae). *Caryologia* 55 (4), 323-329.
- Armbruster, J. W. (2004). Phylogenetic relationships of the suckermouth armoured catfishes (Loricariidae) with emphasis on the Hypostominae and the Ancistrinae. *Zoological Journal of the Linnean Society* 141, 1-80.
- Armbruster, J. W., Tansey, L. A. & N., Lujan, K. (2007). *Hypostomus rhanthos* (Siluriformes: Loricariidae), a new species from southern. *Zootaxa*. Venezuela. 1553, 59-68
- Artoni, R. F. (1996). Estudos citogenéticos na família Loricariidae com ênfase no gênero *Hypostomus* (Lacepede, 1803) (Pisces, Siluriformes). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.
- Artoni, R. F., Venere, P. C. & Bertollo, L. A. C. (1998). A heteromorphic ZZ/ZW sex chromosome system in fish, genus *Hypostomus* (Loricariidae). *Cytologia* 63, 421 -425.
- Artoni, R. F. & Bertollo, L. A. C. (1999). Nature and distribution of constitutive heterochromatin in fishes, genus *Hypostomus* (Loricariidae). *Genetica* 106, 209-214.
- Artoni, R. F. & Bertollo, L. A. (2001). Trends in the karyotype evolution of Loricariidae fish (Siluriformes). *Hereditas* 134 (3), 201–210.
- Beheregaray, L. B., Sunnucks, P. & Briscoe, D. A. (2002). A rapid fish radiation associated with the last sea level changes in southern Brazil: the silverside *Odontesthes perugiae* complex. *Proceeding of the Royal Society of London B* 269, 65-73.
- Bertollo, L. A. C., Takahashi, C. S. & Moreira-Filho, O. (1978). Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). *Brazilian Journal of Genetics* 1, 103-120.
- Bertollo, L. A. C., Takahashi, C. S. & Moreira-Filho, O. (1983). Multiple sex chromosomes in the genus *Hoplias* (Pisces, Erythrinidae). *Cytologia* 48, 1-12. 33
- Bertollo, L. A. C., Born, G. G., Dergam, J., Fenocchio, A. S. & Moreira-Filho, O. (2000). A biodiversity approach in the neotropical Erythrinidae fish, *Hoplias malabaricus*.

- Karyotypic survey, geographic distribution of cytotypes and cytotaxonomic considerations. *Chromosome Research* 8, 603-613.
- Bizerril, C. R. S. F. (1994). Análise taxonômica e biogeográfica da ictiofauna de água doce do leste do Brasil. *Acta Biologica Leopoldensia* 16 (1), 51-80.
- Burkholder, G. D. & Weaver, M. G. (1977). DNA-protein interactions and chromosome banding. *Experimental Cell Research* 110, 251-262.
- Cereali, S. S., Pomini, E., Rosa, R., Zavadzki, C. H., Froehlich, O. & Giuliano-Caetano, L. (2008). Karyotype description of two species of *Hypostomus* (Siluriformes, Loricariidae) of the Planalto da Bodoquena, Brazil. *Genetics and Molecular Research* 7 (3), 583-591.
- Ferraris, Jr., C. J. (2007). *Checklist of catfishes, recent and fossil (Osteichthyes: Siluriformes), and catalogue of siluriform primary types*. pp. 628. New Zealand: Magnolia Press.
- Foresti, F., Almeida-Toledo, L. F. & Toledo - Filho, S. A. (1981). Polymorphic nature of nucleolus organizer regions in fishes. *Cytogenetics and Cell Genetics* 31, 137-144.
- Galetti Jr., P. M. (1998). Chromosome diversity in neotropical fishes: NOR studies. *Italian Journal of Zoology* 65, 53-56.
- Garavello, J. C. & Garavello, J. P. (2004). Spatial distribution and interaction of four species of the catfish genus *Hypostomus lacépède* with bottom of rio São Francisco, canindé do São Francisco, Sergipe, Brazil (Pisces, Loricariidae, Hypostominae). *Brazilian Journal of Biology* 64(3B), 591-598.
- Giuliano-Caetano, L. (1998). Polimorfismo cromossômico Robertsoniano em populações de *Rineloricaria latirostris* (Pisces, Loricariinae). Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos.
- Gosálvez, J., Beïia, J. L., López - Fernández, C. & Mezzanottet, R. (1987). Correlation between constitutive heterochromatin and restriction enzyme resistant chromatin in *Arcyptera tornosi* (Orthoptera). *Heredity* 59, 173-180.
- Howell, W. M. & Black, D. A. (1980). Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia* 36, 1014-1015. 34
- Jacobina, U., Affonso, P. R. A. M., Carneiro, P. L. S. & Dergam, J. A. (2009). Biogeography and comparative cytogenetics between two populations of *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) (Ostariophysi, Erythrinidae) from coastal basins in the State of Bahia, Brazil. *Neotropical Ichthyology* 7(4), 617-622.
- Jerep, F. C., Shibatta, O. A. & Zavadzki, C. H. (2007). A new species of *Hypostomus Lacépède*, 1803 (Siluriformes: Loricariidae) from the upper rio Paraná basin, Southern Brazil. *Neotropical Ichthyology* 5 (4), 435-442.

- Kavalco, K. F., Pazza, R., Bertollo, L. A. C. & Moreira-Filho, O. (2004). Heterochromatin characterization of four fish species of the family Loricariidae (Siluriformes). *Hereditas* 141 (3), 237–242.
- Kavalco, K. F., Pazza, R., Bertollo, L. A. C. & Moreira-Filho, O. (2005). Karyotypic diversity and evolution of Loricariidae (Pisces, Siluriformes). *Heredity* 94 180-186.
- Lee, M. R & Elder, F. F. B. (1980). Yeast stimulation of bone marrow mitosis for cytogenetics investigations. *Cytogenetics and Cell Genetics* 52, 36-40.
- Lundberg, J. G., Marshall L. G., Guerrero, J., Horton, B., Malabarba M. C. S. L. & Wesselingh, F. (1998). The stage for neotropical fish diversification: A history of tropical South America rivers.. In: *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes* (Malabarba, L. R., ed.), pp.13-48. Porto Alegre: Edipucrs.
- Mantovani, M., Abel, L. D. S., Mestriner, C. A. & Moreira-Filho O. (2000). Accentuated polymorphism of heterochromatin and nucleolar organizer regions in *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae): tools for understanding karyotypic evolution. *Genetica* 109, 161/168.
- Medrado, A. S., Figueiredo, A. V. A., Waldschmidt, A. M., Affonso, P. R. A. M. & Carneiro, P. L. S. (2008). Cytogenetic and morphological diversity in populations of *Astyanax fasciatus* (Teleostei, Characidae) from Brazilian northeastern river basins. *Genetics and Molecular Biology* 31, 208-214.
- Mezzanotte, R., Bianchi, U., Vanni, R. & Ferruci, L. (1983). Chromatin organization and restriction nuclease activity on human metaphase chromosomes. *Cytogenetics and Cell Genetics* 36, 562-566. 35
- 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, 235-244.
- Oyakawa, O. T. & Mattox, G. M. T. (2009). Revision of the Neotropical trahiras of the *Hoplias lacerdae* species-group (Ostariophysi: Characiformes: Erythrinidae) with description of two new species. *Neotropical Ichthyology* 7 (2), 117-140.
- Pamponet, V. C. C., Carneiro, P. L. S., Affonso, P. R. A. M., Miranda, V. S, Silva Junior, J. C., Oliveira, C. G. & Gaiotto, F. A. (2008). A multi-approach analysis of the genetic diversity in populations of *Astyanax* aff. *bimaculatus* Linnaeus, 1758 (Teleostei, Characidae) from Northeastern Brazil. *Neotropical Ichthyology* 6 (4), 621-630.

- Portela, A. L. B. S., Galetti Jr., P. M. & Bertollo, L. A. C. (1988). Considerations on the chromosome evolution of Tetragonopterinae (Pisces, Characidae). *Brazilian Journal of Genetics* 11, 307-316.
- Reis, R. E., Kullander, S. O. & Ferraris, J. R. (2003). *Checklist of the freshwater fishes of South and Central America*, pp729. Porto Alegre: Edipucrs.
- Ribeiro, A. C. (2006). Tectonic history and the biogeography of the freshwater fishes from the coastal drainages of eastern Brazil: an example of faunal evolution associated with a divergent continental margin. *Neotropical Ichthyology* 4, 225-246.
- Rubert, M., Zawadzki, C. H. & Giuliano-Caetano, L.. (2008). Cytogenetic characterization of *Hypostomus nigromaculatus* (Siluriformes: Loricariidae). *Neotropical Ichthyology* 6(1), 93-100.
- Sarmiento-Soares, L. M., Lehmann, P. & Martins-Pinheiro, R. F. (2009). *Parotocinclus arandai*, a new species of Hypoptopomatinae catfish (Siluriformes: Loricariidae) from the upper rios Jucuruçu and Buranhém, States of Bahia and Minas Gerais, Brazil. *Neotropical Ichthyology* 7(2), 191-198.
- Sumner, A. T. (1972). A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental Cell Research* 75, 304-306.
- Schweizer, D. (1980). Simultaneous fluorescent staining of R bands and specific heterochromatic regions (DA/DAPI) in human chromosomes. *Cytogenetics and Cell Genetics*. 27, 190-193.
- Schweizer, D. & Loidl, J. (1987). A model for heterochromatin dispersion and the evolution of C-bands patterns. *Chromosomes today* 9, 61-74.
- Zanata, A. & Camelier, P. (2009). *Astyanax vermilion* and *Astyanax burgerai*: new characid fishes (Ostariophysi: Characiformes) from Northeastern Bahia, Brazil. *Neotropical Ichthyology* 7(2), 175-184.
- Zawadzki, C. H., Weber, C. & Pavanelli, C. S. (2008). Two new species of *Hypostomus* Lacépède (Teleostei: Loricariidae) from the upper rio Paraná basin, Central Brazil. *Neotropical Ichthyology* 6 (3), 403-412.