

WAGNER MARTINS SANTANA SAMPAIO

ESTUDOS CITOGENÉTICOS EM *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) NA
REGIÃO DA SERRA DOS CARAJÁS, NAS BACIAS HIDROGRÁFICAS DO
TOCANTINS-ARAGUAIA E DO XINGU.

Dissertação apresentada à
Universidade Federal Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Biologia Animal,
para obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2011

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

S192e
2011

Sampaio, Wagner Martins Santana, 1985-
Estudos citogenéticos em *Hoplias malabaricus* (Bloch,
1794) na região da Serra dos Carajás, nas bacias
hidrográficas do Tocantins-Araguaia e do Xingu / Wagner
Martins Santana Sampaio. – Viçosa, MG, 2011.
xii, 49f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Jorge Abdala Dergam dos Santos.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f. 33-49

1. Peixe. 2. Citogenética. 3. *Hoplias malabaricus*.
4. Carajás, Serra dos (PA). 5. Traíra (Peixe). 6. Cariótipos.
7. Heterocromatina. 8. Peixe - Brasil, Norte. I. Universidade
Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 597.48

WAGNER MARTINS SANTANA SAMPAIO

ESTUDOS CITOGENÉTICOS EM *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) NA
REGIÃO DA SERRA DOS CARAJÁS, NAS BACIAS HIDROGRÁFICAS DO
TOCANTINS-ARAGUAIA E DO XINGU.

Dissertação apresentada à
Universidade Federal Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Biologia Animal,
para obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

APROVADA: 25 março de 2011



Prof. Rubens Pazza



Profª. Karine Kavalco



Prof. Jorge Abdala Dergam dos Santos
(Orientador)

Dedico este trabalho

Ao meu filho (Gabriel) e a minha esposa (Patrícia), pelo amor incondicional. Tenham certeza que vocês foram sempre presença em minha vida.

A minha mãe (Lucirley) pelo amor, por ter me ensinado que tudo acontece no seu devido tempo.

Ao meu pai (Heldo) pela amizade sincera. Quem diria que nosso maior prazer a “pescaria” se tornaria meu objeto de trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar minha família em especial aos meus pais (Heldo Santana Sampaio e Lucirley Martins Santana Sampaio) por mais uma vez terem apoiado as minhas aventuras em busca do conhecimento. Ajuda financeira, mas principalmente pelo amor e amizade e por nunca terem me deixado desistir dos meus sonhos. A minha esposa e ao meu filho pela paciência de terem vivido durante 2 anos longe de mim. Agradeço as minhas queridas irmãs (Jaqueline e Luciana) pelo amor e por sempre torcerem pelo meu sucesso.

Também agradeço aos meus tios Isabel, Vanaldo, Wilder pelo apoio logístico também durante as coletas e pela torcida sempre positiva. Bem como o pessoal do Armazém Goiás por terem liberado o acesso da sua fazenda na bacia do Xingu.

Devo agradecer as pessoas que participaram das coletas como meu Pai, meu primo Wilder Jr, aos amigos Dejacir e Jandelson (que mais uma vez, fez todo possível pela coleta no rio Araguaia).

A minha esposa que me ajudou a processar todos os bichos boa parte das vezes sem as condições mínimas necessárias de um laboratório, mas que foi fundamental para garantir o sucesso do trabalho.

Ao Professor Jorge Dergam pela oportunidade do desenvolvimento profissional, se hoje sei o tipo de profissional que quero ser, devo a ele. Aos Professores do programa pela excelente formação. Aos outros laboratórios da UFV que disponibilizaram sua infra-estrutura (Micorriza, Silvia Pompolo, Biocafé). Ao Prof. Moreira-Filho e ao Daniel Blanco da USFCAR por disponibilizarem a realização do o FISH desse trabalho. Ao Prof. Rubens Pazza da UFV campus de Rio Paranaíba por ter disponibilizado o laboratório para realização do FISH. Embora este ainda não tenha ficado pronto, sei que ficará para o artigo. Aos professores Rubes Pazza, Karine Kavalco e Gisele Lessa, pela participação na banca.

Aos amigos do **Lado Certo**: Ao professor e amigo Anderson Fernandes pela parceria profissional nesses seis anos de formação, esta etapa é a ratificação de que o fruto não cai longe do pé. Ao amigo Frederico Belei, pela parceria profissional formada durante o mestrado. Ao amigo Pierre Penteado pela atenção mesmo distante. E a todos os companheiros do laboratório pela busca conjunta do

conhecimento. Aos amigos do **Lado Bom**, pois ninguém é de ferro! Cristian, Bruno, Negão, pela convivência harmoniosa na republica que foi fundamental pra concretização dessa etapa. Aos amigos de mestrado Giancarlo (Mandraque), Andrezão, Henriqueta, Maria Clara que fizeram do aprendizado mais fácil e muito mais divertido. A galera do Cafofo do Ozama (Tião, Léo...) pela parceria.

Agradeço ao meu Araguaia, onde cresci e aprendi amar e a esperar diante de cada curva uma nova paisagem e uma linda surpresa. Obrigado por ter me proporcionado sucesso profissional e só me resta à promessa de lutar pela sua conservação.

A capes pela bolsa tornando os últimos seis meses mais brandos financeiramente.

BIOGRAFIA

Wagner Martins Santana Sampaio, filho de Heldo Santana Sampaio e Lucirley Martins Santana Sampaio, nasceu em 25 de maio de 1985, em Rubiataba, no Estado de Goiás.

Residente em Redenção, Pará, concluiu o ensino fundamental no Colégio Educacional Cristo Rei em 1999.

Em 2000 iniciou o ensino médio no Colégio Disciplina em Goiânia, mas concluiu o ensino médio na cidade de Ribeirão Preto, São Paulo, no Sistema COC de Educação – Unidade Ribeirânia em 2002.

Em 2004 ingressou no curso de Ciências Biológicas da Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus de Tangará da Serra, Mato Grosso, no qual se graduou em agosto de 2008.

Em janeiro de 2009 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal (Manejo e Conservação de Fauna Silvestre), pelo departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa – MG.

SUMÁRIO

ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES	vii
ÍNDICE DE TABELAS	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
INTRODUÇÃO.....	1
JUSTIFICATIVA.....	15
OBJETIVOS.....	16
MATERIAL E MÉTODOS	17
RESULTADOS	22
DISCUSSÃO.....	27
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	32
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Os sete cariomorfos segundo Bertollo <i>et al.</i> (2000).	12
Figura 2. Mapa de distribuição dos cariomorfos de <i>Hoplias malabaricus</i> adaptado de Bertollo <i>et al.</i> 2000.	14
Figura 3. Mapa dos pontos de coletas nas bacias do Araguaia e do Xingu.	17
Figura 4. A) <i>Hoplias malabaricus</i> sínfese mandibular em forma de V; B) <i>Hoplias aimara</i> sínfese mandibular em forma de U.....	18
Figura 5. Classificação Cromossômica segundo Levan <i>et al.</i> (1964).	21
Figura 6. Cariótipos do cariomorfo 2n=40 C de populações de <i>H. malabaricus</i> do rio Araguaia. A) Coloração Giemsa; B) Banda C/DAPI; C) NORs: As setas indicam as regiões argentofílicas dos cromossômicos.; D) Banda C: As setas indicam os blocos heterocromáticos nos cromossômicos.; E) CMA ₃ : As setas indicam regiões ricas em bases GC; F) As setas indicam a ausência de marcações de pares de base AT.	23
Figura 7. Cariótipo do cariomorfo 2n=40 de populações de <i>H. malabaricus</i> do rio Xingu. A) Coloração Giemsa; B) Banda C/DAPI: Os pares destacados evidenciam cromossomos com marcações heterocromáticas biteloméricas; C) NORs: As setas indicam as regiões argentofílicas dos cromossômicos.; D) Banda C: As setas indicam os blocos heterocromáticos nos cromossômicos.; E) CMA ₃ : As setas indicam regiões ricas em bases GC; F) As setas indicam a ausência de marcações de pares de base AT.	25

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 Citogenética em <i>Hoplias malabaricus</i> região Amazônica.....	13
Tabela 2 Esforço amostral total e por sexo e localidades de coleta.....	17
Tabela 3 Resumo dos resultados citogenéticos das populações estudadas nas bacias do Araguaia e do Xingu. Posição dos blocos heterocromáticos: C: centromérica; T: Telomérica, BT; Bitelomérica.....	26

RESUMO

SAMPAIO, Wagner. Martins. Santana. M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2011. **Estudos citogenéticos em *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) na região da Serra dos Carajás, nas bacias hidrográficas do Tocantins-Araguaia e do Xingu.** Orientador: Jorge Abdala Dergam dos Santos. Co-orientadores: Gisele Mendes Lessa Del Giudice e Sérgio Luis Pinto da Matta.

A região neotropical concentra a mais rica fauna de peixes do mundo. O Brasil incorpora as bacias hidrográficas mais importantes dessa região e conseqüentemente à maior diversidade íctica. A bacia amazônica é a mais importante em volume de água e em espécies de peixes. As bacias do Xingu e do Tocantins-Araguaia representam duas importantes bacias que formam o sistema hídrico amazônico. A ictiofauna neotropical é dominada por peixes que têm uma associação relativamente antiga com os habitats de água doce, como as ordens dos Characiformes e Siluriformes. Os Characiformes são um dos mais complexos táxons de peixes da América do Sul, com destaque para a família Erythrinidae, um pequeno grupo dividido em três gêneros amplamente distribuídos pela América do Sul, *Hoplias*, *Hoplerythrinus* e *Erythrinus*. O gênero *Hoplias* é um dos táxon mais estudados dentro dos peixes neotropicais, principalmente sobre o ponto vista citogenético. *Hoplias malabaricus*, a espécie nominal mais abundante, representa um interessante modelo para estudos de evolução dos peixes neotropicais, por apresentar grandes variações cariotípicas ($2n=39$ a $2n=42$) representadas por sete cariomorfos que se distribuem em todas as grandes bacias da América do Sul e que representam um complexo de espécies. O objetivo do presente trabalho foi estudar citogeneticamente populações de *H. malabaricus* na região das Serra dos Carajás, nos limites geográficos das bacias do Araguaia e do Xingu, a fim de entender a relação dessa região com os processos evolutivos do complexo de espécies. As coletas ocorreram em afluentes dos rios Fresco (bacia do Xingu), Pau D'Arco, Arraia e Araguaia (bacia do Araguaia). Os peixes foram submetidos às técnicas citogenéticas seguindo protocolos específicos. Os resultados indicaram a presença do cariomorfo $2n=40C$ na bacia do Araguaia, com fórmula cariotípica igual $2n=11m+9sm$ e número fundamental (NF) igual a 80. Na bacia do Xingu registrou-se um novo cariomorfo $2n=40$, com fórmula cariotípica $2n=15m+5sm$ e NF=80. Os

resultados da bacia do Tocantins-Araguaia corroboram outros estudos na bacia, os quais indicam pelo menos três cariomorfos $2n=40$ e um $2n=42$ nesta drenagem, com simpatria entre os cariomorfos 40C e 40F. O presente trabalho registra o primeiro registro de cariomorfo $2n=40$ para a bacia do Xingu. Os resultados da bacia do rio Xingu também estão dentro do esperado para a bacia amazônica, onde há registro de simpatria entre os cariomorfos $2n=40$ e $2n=42$. O cariomorfo do Xingu apresentou padrão de banda C/CMA₃ semelhante ao dos $2n=42$ e que foi interpretado como caracteres plesiomórficos. As variações encontradas no presente trabalho entre os cariomorfos do Araguaia, e do Xingu, aparentemente são resultados de variações geográficas fixadas nas populações e não apenas em polimorfismos. Os resultados sugerem que os padrões de variação dos cariomorfos $2n=40C$ devem ser re-analisados para refletirem melhor as tendências evolutivas do complexo *H. malabaricus*.

ABSTRACT

SAMPAIO, Wagner. Martins Santana M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, march of 2011. **Cytogenetic studies in *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) in the Serra dos Carajás, in the watersheds of Tocantins-Araguaia and Xingu.** Adviser: Jorge Abdala Dergam dos Santos. Co-advisers: Gisele Mendes Lessa Del Giudice e Sérgio Luis Pinto da Matta.

The Neotropical region concentrates the richest fish fauna of the world. Brazil incorporates the most important watersheds in this region, and in consequence the greatest ichthyofaunal diversity and the Amazon basin has the largest amount of fishes species. The basins of the Xingu and Tocantins-Araguaia are two important basins that compound the Amazon River system. The Neotropical ichthyofauna is dominated by fishes that have a relatively old association with freshwater habitats. The Characiformes are the largest and most complex group of fishes in South America, and among them, the family Erythrinidae is divided into three genera widely distributed throughout South America: *Hopleryrinus*, *Erythrinus* and *Hoplias*. This last genus, *Hoplias*, represents an important model for cytogenetic studies because of its specific biological characteristics. *Hoplias Malabaricus*, the most relevant species, represents an interesting model for evolutionary studies of Neotropical fishes, by presenting large karyotypical variation ($2n = 39$ to $2n = 42$), represented in seven cytotypes distributed in patterns apparently related to the geological events which caused the formation of South America. Given the history of Neotropical fish diversification, the aim of this work was to cytogenetically study the species *H. malabaricus* found in the Serra dos Carajás region, in the geographical boundaries of the basins of the Araguaia and Xingu, with the goal of understanding the relationship of this region with the complex evolutionary processes of *H. malabaricus*. The samples were collected in tributaries of the Fresco River (Xingu basin) and the Pau D'Arco, Arraia and Araguaia rivers (Araguaia basin). The fishes were subjected to cytogenetic techniques following the specified protocols. The results indicated the presence of $2n = 40C$ karyomorphs in the Araguaia basin, with the karyotype formula of $2n = 11m + 9 sm$ and fundamental number (NF) equal to 80. In the Xingu basin, new karyomorph $2n=40$ was recorded, with the karyotype formula $2n = 15m + 5 sm$ and $NF = 80$. The results of the Tocantins-Araguaia basin corroborated other studies

of this basin, which indicated at least three karyomorphs with $2n = 40$ and $2n = 42$, with higher sympatry between the 40C and 40F cytotypes. This paper reported the first record of a $2n = 40$ karyomorph for the Xingu basin. The results of the Xingu River basin are also expected for the Amazon basin, where no sympatry has been recorded between the $2n = 40$ and $2n = 42$ karyomorphs. The Xingu karyomorph presents more plesiomorphic features related to the cytotypes $2n = 42$ in relation to the standard $2n = 40C$ karyotype (standard C-band/CMA3). The variations found between karyomorphs of the Araguaia and Xingu in the present work are apparently the results of fixed geographical variations in populations and not only in polymorphisms. Although no major changes have occurred in karyotypes of *H. malabaricus* populations, recent evolutionary processes have occurred in the group and may result in the formation of new karyomorphs.

INTRODUÇÃO

Geomorfologia das bacias do Araguaia e do Xingu: Ictiofauna

O padrão de distribuição dos animais no planeta possibilitou a sua divisão em seis grandes regiões zoogeográficas. E a história geomorfológica de cada região está intrinsecamente ligada à história biogeográfica e evolutiva da fauna que as compõem. Dentro dessas regiões, a Neotropical, correspondente a toda a América Latina, destaca-se por compor a maior biodiversidade do mundo. Assim, a América do Sul e o Brasil por representarem a maior porção dessa região, incorporam a parcela mais significativa dessa biodiversidade (Hubert & Reno, 2006; Berra 2007; Lévêque *et al.*, 2008).

Nesse contexto, a importância da fauna aquática Neotropical aumenta consideravelmente, pois em nosso continente está inserido o maior sistema fluvial, com alguns dos maiores rios do mundo (Böhlke *et al.*, 1978; Schaefer, 1998; Montoya-Burgos, 2003). O Brasil ocupa uma posição privilegiada porque possui em seu território as bacias hidrográficas mais importantes da América do Sul, o que lhe concede também a maior importância em número de espécies de peixes (Schaefer, 1998). Entre estas, está a bacia amazônica que é a mais importante em volume de água e em espécies de peixes. As bacias do Tocantins-Araguaia e do Tapajós-Xingu representam importantes bacias formadoras do grande sistema hídrico amazônico (UNEP, 2004) possuindo dois importantes interflúvios, um na Serra do Roncador e o outro na Serra dos Carajás.

A região hidrográfica do Tocantins-Araguaia compõe a maior bacia hidrográfica inteiramente brasileira e a quarta maior bacia fluvial do continente (Latrubesse & Stevaux, 2006). Em termos de disponibilidade hídrica, possui uma área que ocupa 11% do território nacional (921 mil km²) e abrange os estados do Pará, Tocantins, Goiás, Mato Grosso, Maranhão e o Distrito Federal (ANA, 2006).

O rio Araguaia faz parte da bacia hidrográfica do Tocantins-Araguaia, considerada como um dos sistemas fluviais de grande importância da América do Sul por sua complexa formação geomorfológica, a qual tem uma intrínseca relação com o fato de sua área de drenagem incluir importantes regiões fitogeográficas. A

bacia incorpora regiões de floresta amazônica e de cerrado (*hotspots* mundial) (Myers *et al.*, 2000), além de ecótonos, entre cerrados e amazônia, cerrados e caatinga e cerrados e pantanal mato-grossense (Dias *et al.*, 2000; Aquino *et al.*, 2007) concentrando dessa forma uma importante biodiversidade (Latrubesse & Stevaux, 2006). O rio Araguaia é dividido em três grandes canais: alto, médio e baixo Araguaia, abrangendo uma área de aproximadamente 377.000 km². Esta drenagem tem sua nascente a 850 m de altitude, na Serra do Caiapó e após percorrer 720 km o rio se divide em dois braços: um mantém o nome de rio Araguaia enquanto o outro braço forma o rio Javaés, formando a Ilha do Bananal, considerada a maior ilha fluvial do mundo (Lima, 2004; Tokarski, 2006; Gonçalves & Nicola, 2002). Essa última região descrita acima merece destaque por ser uma importante unidade geomorfológica, que ocupa aproximadamente 23% da bacia fluvial (Latrubesse & Stevaux, 2006) denominada planície do Bananal. Formada no período Pleitosceno (Nascimento, 1991; Valente, 2003; Lundberg *et al.*, 1998), essa planície configura uma malha hídrica privilegiada que é abastecida por vários afluentes do rio Araguaia que ali deságuam e por um característico sistema lacustre constituindo, assim, a bacia do Bananal ou micro bacia do Araguaia – Bananal (Galink & Arruda, 2000; Lima, 2004; ANA, 2006; Valente, 2003).

A bacia do Tapajós-Xingu ocupa uma área de aproximadamente 980 Km² abrangendo quatro estados brasileiros: Pará, Mato Grosso, Rondônia e Amazonas. A ecorregião do Tapajós-Xingu, embora se localize na sua maior parte no bioma amazônico, apresenta uma imensa diversidade de fitofisionomias, principalmente nas áreas de transição entre cerrado e floresta, na região da Serra do Cachimbo e da Serra dos Carajás, que contribuem configurar a enorme biodiversidade característica desta drenagem (CETEM, 2010).

A bacia do rio Xingu possui aproximadamente 530.000 km², sendo o quarto maior tributário da bacia amazônica e se desenvolve no sentido sul-norte, desde a região Centro-Oeste até região Norte, com unidades de drenagens geocronologicamente diferentes (Brasil, 1982; CETEM, 2010). Essa região se caracteriza por possuir um processo mais estável de sedimentação e erosão (Sioli, 1984, Latrubresse *et al.*, 2005). A bacia do Xingu se encontra limitada a leste pela bacia do Tocantins - Araguaia, na região da Serra do Roncador e das Serra dos Carajás (Carrasquilla *et al.*, 1997; Barthém & Fabré, 2003; Lowe-McConnel, 1991).

Todo o trecho de divisa dessa bacia, correspondente ao médio curso, situa-se na depressão da Amazônia Meridional, recoberta por florestas ombrófilas, onde encaves de savanas ou contatos savana/floresta ombrófila se destacam em correspondência aos planaltos residuais aí existentes (Salomão *et al.*, 2007, (CETEM, 2010).

A fauna de peixes do sistema amazônico é estimada em aproximadamente 3.000 espécies (15% do total de espécies descritas no mundo), representando assim a maior diversidade de peixes do planeta (Val & Almeida-Val, 1995). A ictiofauna da bacia do Tocantins-Araguaia é muito semelhante à bacia Amazônica incorporando grande parte dessa diversidade pela sua conexão com a foz do rio Amazonas (Lowe-McConnell, 1991; Santos *et al.*, 2004, Melo *et al.*, 2005; Merona *et al.* 2010), porém o processo histórico da formação geomorfológica desta bacia, é responsável pelo alto grau de endemismo, conferindo à região um enorme valor natural. (Paiva-Pinto, 1995; Dias *et al.*, 2000; Zuanon *et al.*, 2001; Santos *et al.*, 2004). A ictiofauna da bacia do Tocantins-Araguaia é estimada em 10% da fauna de peixes do sistema amazônico (Santos *et al.*, 1984; Dias *et al.*, 2000; Zuanon *et al.*, 2001; Santos *et al.*, 2004).

A bacia do Xingu-Tapajós também está ligada ao sistema Amazônico e incorpora significativa parcela dessa biodiversidade (21%) (Camargo *et al.*, 2004; Buckup & Santos, 2010). A diversidade da fauna aquática desta drenagem está relacionada à sua paisagem, com inúmeras cachoeiras e corredeiras, resultantes de diversos eventos geológicos no sentido montante - jusante, que influenciaram no padrão de distribuição da ictiofauna e no alto grau de endemismo (Kullander 1991, Jegu, 1992a, Isbrucker & Nijssen, 1991; Zuanon, 1999; Camargo *et al.*, 2004; Isaac *et al.*, 2002).

A história geológica da bacia Amazônica está relacionada ao processo de abertura do Atlântico Sul no Triássico e ao erguimento dos Andes do Cretáceo ao Mioceno (Géry, 1969; Ploeg, 1991, Latrubesse *et al.*, 2005). A história da ictiofauna Amazônica teve seu início antes do erguimento dos Andes, a prova desse fato é existência de peixes datados para Triássico (Piramboia (*Lepidosiren*)) e a existência de grupos irmãos (Curimatidae, Anastomidae e Prochilodontidae) nos dois lados dos Andes, efeitos desse evento vicariante. A composição da atual ictiofauna das bacias do Araguaia e do Xingu está intrinsecamente relacionada a esses eventos

geológicos. Essa relação se dá mais recentemente com o erguimento dos Andes, formando regiões de interflúvio no Planalto dos Parecis (Serra do Roncador) onde dividem suas nascentes, e na sua porção média no Planalto Sul-Amazônico (Serra dos Carajás), um escudo cristalino muito mais antigo e estável (Bahia *et al.*, 2007; Valente, 2003, Latrubesse *et al.*, 2005). A semelhança da ictiofauna dos rios Araguaia e Xingu com outros rios amazônicos podem ser consequência de vias de dispersão norte-sul que já existiram entre o escudo cristalino guianense e essas bacias (Lowe-McConnell, 1991; Jegú, 1992b; Lundberg, 2001; Melo *et al.*, 2005). As interrupções dessas vias ocorreram nos períodos glaciais e interglaciais durante o Quaternário e possibilitaram compartilhamento de grupos irmãos de peixes e processos de diferenciação e especiação entre os mesmos por vicariância (Jégu, 1992b; Lundberg *et al.*, 1998; Huber & Renno, 2006).

A semelhança da ictiofauna e o alto grau de endemismo correlacionado entre estes sistemas hídricos são resultados dos diversos processos geológicos e ambientais que formaram essas drenagens (Carmago *et al.*, 2004; Hubert & Renno, 2006; Lowe-McConnell, 1991). Lowe-McConnell (1991) cita a ocorrência de 20% de espécies comuns entre as duas bacias. Ribeiro *et al.* (no prelo) aponta similaridade de riqueza entre a bacia do Xingu e Tocantins-Araguaia em 92,5%. Jegú (1992b) cita esta relação positiva principalmente entre peixes reofílicos, como espécies do gênero *Acnodon*, demonstrando a existência de vias de dispersão entre essas bacias.

O padrão de distribuição, a similaridades da fauna de peixes e os processos de diferenciação e radiação desses organismos nas bacias do Araguaia e do Xingu ainda precisam ser melhor esclarecidos (Jégu & Keith, 1999).

A ictiofauna Neotropical é dominada por peixes que têm uma associação relativamente antiga com os habitats de água doce, como as ordens Characiformes e Siluriformes (Lovejoy *et al.*, 2006). Nesse contexto, os Characiformes merecem ênfase, por representam peixes exclusivamente de água doce e com uma variação morfológica representada em 12 famílias com aproximadamente 1.460 espécies distribuídas em 240 gêneros, demonstrando grande variabilidade adaptativa à diversidade de habitats da região neotropical (Vari & Malabarba, 1998; Santos *et al.*, 2004; Nelson, 2006). Entre os Characiformes, a família Erythrinidae, composta por 14 espécies válidas divididos em três gêneros (*Hoplias*, *Erythrinus* e *Hopleryrinus*)

(Oyakawa, 2003) destaca-se por sua ampla distribuição geográfica, por ser um grupo antigo (Mio-Plioceno) (Lundberg, 1998; Gayet *et al.*, 2003) e por ainda ter questões taxonômicas e filogenéticas a serem melhor elucidadas (Oyakawa, 1998). Dentro da família Erythrinidae o gênero *Hoplías* é o mais complexo e atinge maior diversidade na região Amazônica. *Hoplías malabaricus* é uma das espécies mais estudadas dentro da família e entre os peixes neotropicais, por suas diversas características que podem auxiliar no entendimento do padrão de diversificação dos peixes neotropicais. Tais como: ser um complexo de espécies, ampla distribuição geográfica e outras características fisiológicas e ecológicas que lhe confere diversas vantagens adaptativas (Bertollo *et al.*, 2000).

Citogenética

A citogenética tem por objetivo estudar todo e qualquer assunto relacionado aos cromossomos, núcleo e nucléolos, ou seja, aceita-se que as principais características da hereditariedade em todos os sistemas biológicos são controladas por cromossomos (Bernard, 1980; Guerra, 1988; Nirchio & Oliveira, 2006). Os cromossomos como unidades de herança trouxeram muitas vantagens evolutivas, como, a economia de unidades segregacionais, a eficiência na segregação e a diminuição do risco de ganho ou perda de outras unidades individuais, além de introduzir a possibilidade de uma divisão funcional entre os componentes cromossômicos (Swanson *et al.*, 1969 *in* Nirchio & Oliveira, 2006). Os estudos citogenéticos atualmente são voltados principalmente ao conjunto cromossômico de uma espécie. A descrição das características do conjunto cromossômico de uma espécie é conhecida como cariótipo (Guerra, 1988). As comparações cariotípicas das espécies, somadas a estudos relacionados à biologia molecular e à taxonomia, formaram uma ferramenta de maior aplicabilidade para a resolução de problemas ligados à evolução dos organismos (Artoni *et al.*, 2000). Portanto, para se realizar estudos citogenéticos com resultados confiáveis é necessário o uso de técnicas que assegurem uma boa caracterização do conjunto cromossômico.

Coloração Convencional

A utilização de técnicas básicas como a coloração convencional com giemsa possibilita análises sobre o conjunto cromossômico, permitindo entender questões a respeito do status taxonômico, relações filogenéticas, além de elucidação de espécies crípticas (Moreira-Filho & Bertollo, 1991).

Banda C

As técnicas citogenéticas evoluíram muito desde 1970. Atualmente as técnicas mais utilizadas e importantes no estudo dos cromossomos são as técnicas de bandamento. Bandamento cromossômico é definido por Summer (1990) como uma variação longitudinal na propriedade de coloração ao longo de um cromossomo. O termo bandamento refere-se tanto para processo de produção de bandas cromossômicas quanto para o padrão dessas bandas. Existe uma grande diversidade tanto no processo de bandamento quanto no padrão (Summer, 1990). Entre suas aplicações estão o pareamento cromossômico, a detecção de variações estruturais, além de permitir localizar com exatidão a região do cromossomo que foi afetada por determinada anomalia, o que seria impossível com a coloração convencional. Dessa maneira, o bandamento possibilita uma melhor compreensão das alterações que se estabelecem em cada cariótipo (Guerra, 1988).

Por volta de 1930, o citogeneticista alemão, Emil Heitz demonstrou que algumas partes específicas dos cromossomos mantinham-se condensados durante todo o ciclo nuclear. Esses estudos mostraram a existência de dois tipos de cromatina: a heterocromatina e a eucromatina (Mello, 1978; Tremethick, 2006).

Na década de 1970 foram desenvolvidas técnicas que evidenciam regiões ricas em heterocromatina constitutiva, e uma das técnicas mais importantes é a Banda C e a partir dela, surgiram outras técnicas. A técnica da Banda C envolve a solubilização diferencial de fragmentos de DNA, principalmente da região eucromática dos cromossomos metafásicos, por três tratamentos diferenciais: o ácido clorídrico (HCl) que tem como efeito a depuração, o tratamento com base fraca – $\text{Ba}(\text{OH})_2$ cujo efeito é a forte degradação de proteínas e o banho com solução salina (2XSSC) quente, que provoca a quebra da cadeia do DNA entre a posição do carbono β da pentose e o grupamento fosfato. A configuração física da região heterocromática dificulta a perda de DNA e proteínas como ocorre de maneira

drástica na região eucromática (Summer, 1990). A Banda C tem auxiliado no pareamento de cromossomos homólogos e na avaliação de alterações cromossômicas que se estabelece em cada cariótipo (Guerra, 1988). Segundo Summer (2003), a heterocromatina se distribui em blocos ao longo do cromossomo. Sua distribuição varia muito, podendo ser encontrada nas regiões pericentroméricas, periteloméricas ou intersticiais dos cromossomos. Usualmente os blocos de heterocromatina são heteromórficos, isto é, diferem no tamanho entre indivíduos da mesma espécie e entre homólogos do mesmo indivíduo (Summer, 2003).

Impregnação com Nitrato de Prata – Banda Ag-NOR

De acordo com Schwarzaher & Wachtler (1983) nunca são achados ao mesmo tempo os tipos diferentes de nucléolos em uma célula em particular, ou seja, normalmente um tipo particular de nucléolo é restringido a um tipo de célula com uma atividade específica, além de ter transições entre tipos de nucléolos que estão associadas com certa atividade. Dessa forma, pode se sugerir que os diferentes tipos de nucléolos reflitam em níveis diferentes de atividade funcional. O nucléolo, que é o sítio de transcrição e processamento do RNA ribossômico (rRNA), constitui-se de RNA, proteínas e DNA ribossomal (rDNA). A definição moderna a respeito de NOR são regiões cromossomais do nucléolo que contém genes para os RNAs ribossomais 5,8S, 18S e 28S (Schwarzaher & Wachtler, 1983). Nos cromossomos mitóticos metafásicos as NORs aparecem em muitas espécies como regiões particularmente mais finas, denominada como constrição secundária. Podendo ser evidenciada através de procedimentos para marcar proteínas ácidas (Summer, 2003; Schwarzaher & Wachtler, 1983). A detecção da atividade nucleolar, bem como das regiões organizadoras de nucléolo, pode ser efetuada através da metodologia de coloração por impregnação com nitrato de Prata (Ag-NOR), proposta por Howell & Black (1980). Tal método implica na precipitação da prata em proteínas envolvidas com a atividade transcricional do rDNA nucleolar, que são mais argentofílicas que as demais.

Fluorocromos base específicos

Sequências específicas dos cromossomos são atualmente o foco dos estudos de genômica comparativa e de organização genômica. Um dos caminhos para se obter essas seqüências específicas é através dos fluorocromos, corantes que excitados a luz de comprimento de onda específico fluorescem (Henning *et al.*, 2008).

Os fluorocromos são divididos em duas classes segundo a afinidade pelas bases AT ou CG. Na primeira classe temos o 4'-6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) e a quinacrina, na segunda classe temos a cromomicina (CMA₃) e a mitramicina (Schweizer, 1976; Pieczarka *et al.*, 2006). Os fluorocromos não coram igualmente os diferentes tipos de heterocromatina, pois alguns são mais específicos e se comportam de forma variada entre os vertebrados. Em geral, a CMA₃ aparece associada às regiões organizadoras de nucléolos, enquanto o DAPI está ligado às regiões heterocromáticas (Schweizer, 1980). O fato é que os fluorocromos são utilizados na citogenética para produzir informações a respeito da composição de pares de bases de certas regiões dos cromossomos (Schweizer, 1976).

Citogenética de Peixes: Complexo *Hoplias malabaricus*

Os peixes constituem o grupo mais antigo e numeroso entre vertebrados e encontram-se amplamente distribuídos, assumindo diferentes formas e nichos, compondo um interessante grupo para estudos genéticos e evolutivos (Reis *et al.*, 2003; Nelson, 2006; Martins, 2006).

Os estudos citogenéticos em peixes neotropicais tiveram início em 1960 por pesquisadores europeus e em 1970 por pesquisadores brasileiros (Oliveira, 2005). A citogenética em peixes neotropicais tem gerado informações importantes na compreensão das relações de parentesco entre ou dentro de diferentes ordens, famílias, gêneros ou espécies de peixes (Marques, 2003). Em peixes há registro de grandes variações cromossômicas que podem significar a adaptabilidade das espécies aos diferentes ambientes em que ocorrem. Martins (2006) atribui essa característica marcante no genoma dos peixes à rapidez com que as mudanças podem ocorrer, sugerindo uma plasticidade genômica não evidenciada em nenhum outro grupo de vertebrados.

Atualmente, os estudos citogenéticos em peixes encontram-se em franco desenvolvimento. Os bancos de dados citogenéticos contêm hoje cerca de 3.000 itens com informações de diversas bacias, com números haplóides e diplóides, números fundamentais, fórmulas cariotípicas, números de regiões organizadoras de nucléolos (NORs), bandamento, existência de cromossomos supranumerários e sexuais, além de conteúdo de DNA de mais de 1000 espécies de peixes (Oliveira, 2007; Oliveira *et al.*, 2009). Porém, ainda há a necessidade do estabelecimento de um número maior de espécies e dados a serem descritos do que os registrados nesses bancos de dados (Souza, 2001).

A última revisão geral a respeito dos estudos citogenéticos em peixes neotropicais revela que a maior parte das pesquisas se concentra em espécies de água doce (Oliveira *et al.*, 2009). As informações citogenéticas estão disponíveis para 475 espécies de Characiformes, 318 espécies de Siluriformes, 48 espécies de Gymnotiformes, 199 espécies de água doce que não pertencem a superordem Ostariophysi e 109 espécies de peixes marinhos (Oliveira, 2005; Oliveira *et al.*, 2009). Porém ainda há uma grande discrepância quanto à natureza dos dados disponíveis para cada grupo, isto é, são conhecidos os números haplóides e/ou diplóides para inúmeras espécies, porém poucas tiveram seu cariótipo descrito. Estes estudos descrevem para peixes de água doce números diplóides variando de $2n=20$ a $2n=134$. As pesquisas citadas por Oliveira (2005; 2009) confirmam os estudos de Almeida-Almeida-Toledo & Foresti (2001) evidenciando que para apenas 62 espécies e/ou populações locais são conhecidos cromossomos sexuais. Cromossomos supranumerários estão descritos para 23 espécies de peixes neotropicais. Os estudos com bandamento como o Ag-NORs (Região Organizadoras de Nucléolos) e outros bandamentos (BANDA C e outros) são descritos respectivamente para 1.204 espécies e/ou populações e 1.032 espécies e/ou populações.

As espécies neotropicais apresentam-se cariotipicamente divididas em dois grupos: O primeiro formado por peixes com alta mobilidade e de populações compostas por um grande número de indivíduos que mantém suas constituições cromossômicas estáveis. O outro se caracteriza por apresentar peixes com mobilidade e densidade populacional reduzida e no geral com ampla variação cariotípica interespecífica e intraespecífica (Oliveira *et al.*, 1988). Entre os grupos de

peixes neotropicais, a ordem Characiformes destaca-se por representar bem a complexidade dessa ictiofauna, pois possui grande amplitude no número diplóide, variando de $2n=28$ a $2n=102$. Suas famílias estão representadas das duas formas: uma com ampla variabilidade cariotípica (Characidae e Erythrinidae) e outra com pequena variação na estrutura cariotípica (Anostomidae, Prochilodontidae e Curimatidae) (Artoni *et al.*, 2000).

A ictiofauna Amazônica apresenta uma diversidade cariotípica muito rica, com diferentes padrões de regiões organizadoras de nucléolo (NORs) e heterocromatina constitutiva (Banda C). Cromossomos sexuais são encontrados em 2,8% do total de peixes analisados (Porto *et al.*, 1992). Porto *et al.* (1992) destaca a ordem Characiformes como a mais estudada citogeneticamente nessa região. Os números diplóides descritos variam de $2n = 22$ a $2n = 102$, sendo as famílias Erythrinidae, Lebiasinidae e Characidae as mais complexas.

A família Erythrinidae é uma pequena família dentro dos Characiformes. Sua ampla distribuição geográfica e sua datação geológica antiga fizeram desse grupo uma das principais ferramentas para elucidação da história evolutiva dos peixes neotropicais. A família Erythrinidae apresenta números diplóides variando de $2n=39$ (*Hoplias malabaricus*) à $2n=54$ (*Erythrinus erythrinus*), havendo casos de triploidia $3n=72$ (*Hoplerythrinus unitaeniatus*) (Giuliano-Caetano & Bertollo, 1988; Bertollo *et al.*, 2000; Cioffi *et al.*, 2010a), variações no padrão e nos números de bandas cromossômicas (NOR, Banda C e Fluorocromos), além da existência de cromossomos B e diversos sistemas de cromossomos sexuais (Oliveira *et al.*, 2007).

Dentro da família Erythrinidae e dos peixes neotropicais *Hoplias malabaricus* talvez seja a espécie mais estudada citogeneticamente. *Hoplias malabaricus* é considerada um complexo de espécies (Bertollo *et al.*, 2000), por apresentar uma grande variabilidade cariotípica e padrão morfológico muito semelhante. Bertollo *et al.* (2000) reconhece sete cariomorfos com base no número diplóide, morfologia cromossômica e sistemas de cromossomos sexuais. As distribuições biogeográficas desses cariomorfos são bem diversificadas, alguns restritos a determinadas bacias e outros com ampla distribuição, havendo ocorrência de simpatria, mas sem ocorrência de hibridização. Os cariomorfos descritos para *Hoplias malabaricus* podem ser divididos em dois grupos: Onde Grupo I engloba os cariomorfos A, B, C e D, e o Grupo II os cariomorfos E, F e G (Figura 01). Bertollo *et al.* (2000) relatam que

essa divisão permite entender melhor as relações evolutivas e filogenéticas entre os cariomorfos.

Estudos citogenéticos em *Hoplias malabaricus* na região Amazônica registram a ocorrência de cinco (A, C, E, F e G) dos sete cariomorfos reconhecidos por Bertollo *et al.* (2000), havendo a ocorrência de oito sítios em simpatria (Bertollo, *et al.*, 2000; Vitorino *et al.*, 2007a; Oliveira *et al.*, 2007; Lima, 2008; Blanco *et al.*, 2010). Para o sistema Tocantins-Araguaia existe o registro de três cariomorfos (A, C e F), com ocorrências de simpatria entre os cariomorfos A e C na região do alto e médio Araguaia (Bertollo *et al.*, 2000; Vitorino *et al.*, 2007a; Blanco, 2010) e entre o cariomorfos F e C no baixo Tocantins (Bertollo *et al.*, 2000). Para a bacia do Xingu os registros indicam a ocorrência do cariomorfo A na região do médio Xingu (Blanco *et al.*, 2010) (Fig.02; Tab. 01).

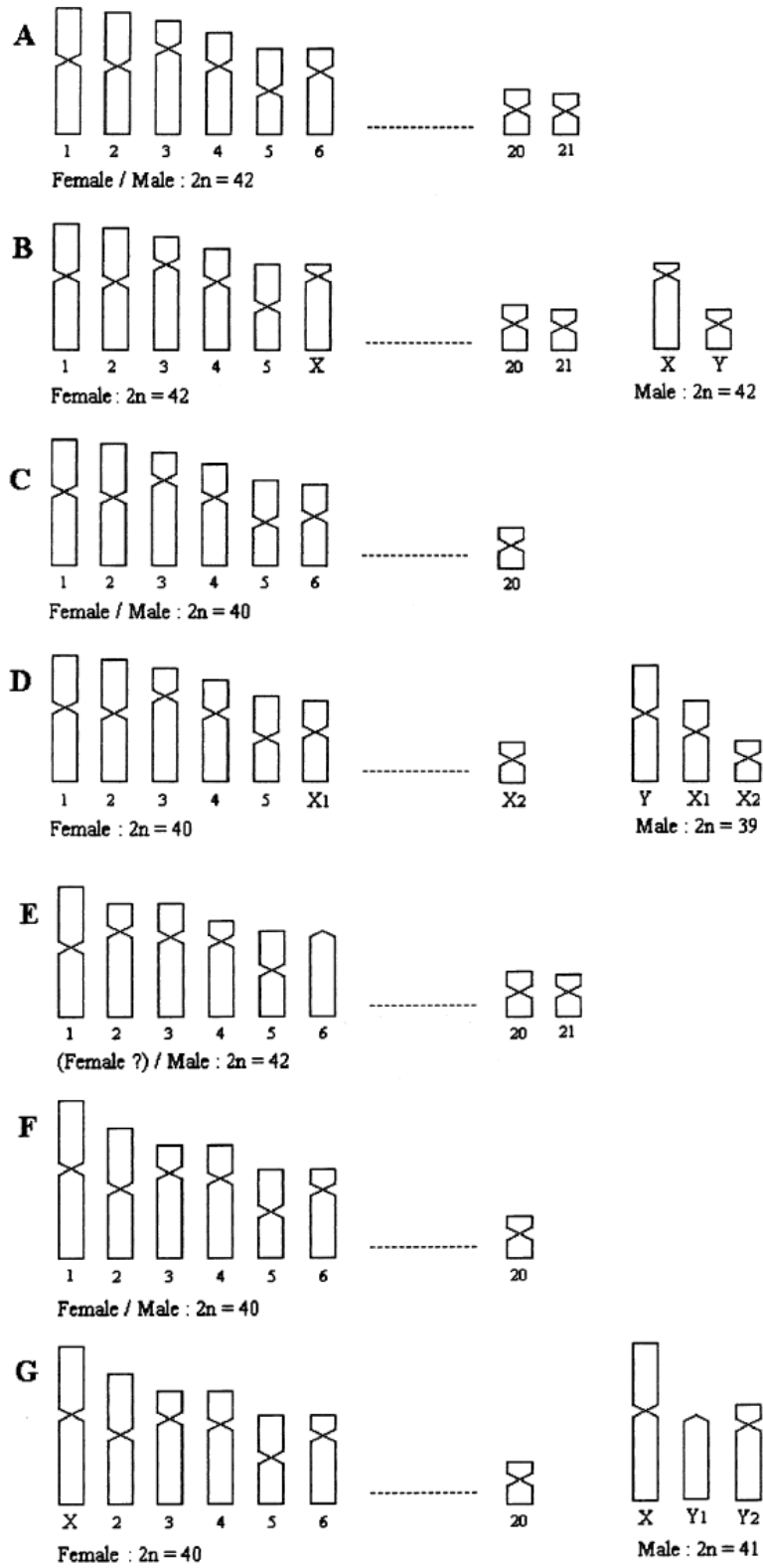


Figura 1 - Os sete cariomorfos segundo Bertollo et al.(2000).

Tabela 1 Citogenética em *Hoplias malabaricus* região Amazônica

Localidade	Citótipo	2n	Fórmula Cariotípica	NF	NOR	Banda C	Sexual	Referência
Manaus	C	40	M/Sm	80	Múltipla	Centromérica	N	Bertollo et al., 1997b
Manaus	A	42	m/sm	84	N	N	N	Bertollo et al., 2000
Manaus, Mindu	A	42	24m + 18sm	84	Múltipla	centromérica	N	Born e Bertollo, 2001
Porto Velho	G	40/41	m/sm	80/81	N	N	XX, XY1Y2	Bertollo et al., 2000
Porto Velho	C	40	m/sm	80	Múltipla	Centromérica	N	Bertollo et al., 1997
Aripuanã	C	40	m/sm	80	Múltipla	centromérica	N	Bertollo, 1983
Aripuanã	G	40/41	m/sm	80/81	Múltipla	Centromérica	XX, XY1Y2	Bertollo et al., 1997a
Goias Velho	C	40	m/sm	80	Múltipla	Centromérica	N	Bertollo et al., 1997b
Suriname	C	40	m/sm	80	Múltipla	Centromérica	N	Bertollo et al., 1997b
Tucuruí	C	40	m/sm	80	Múltipla	Centromérica	N	Bertollo et al., 1997; Bertollo et al., 2000
Tucuruí	F	40	m/sm	80	Múltipla	Centromérica	N	Bertollo et al., 1997; Bertollo et al., 2000
Rio Peixe Boi	C	40	m/sm	80	Múltipla	Centromérica	N	Farias et al., 1999
Rio 2 de Agosto	A	42	30m + 10 sm	84	Múltipla	centromérica	N	Born e Bertollo, 2001
Pontal do Araguaia	?	40	N	N	N	N	N	Rosa et al., 2002
Araguaiana	?	42	N	N	N	N	N	Rosa et al., 2002
Barra do Garça	?	40	m/sm	N	Múltipla	N	XX, XY	Vitorino et al., 2007a
Barra do Garça	C	40	m/sm	N	Múltipla	N	N	
Barra do Garça	A	42	m/sm	N	Múltipla	N	N	Vitorino et al., 2007b
Rio Trombetas	E	42	m/sm	84	N	N	N	Bertollo et al., 2000
Rio Trombetas	G	40/41	m/sm	80/81	N	N	XX, XY1Y2	Bertollo et al., 2001
Rio Sangue	?	40	18m + 16 sm + 6 st	80	Múltipla	Centromérica	N	Giongo et al., 2007a; Lima, 2008
Rio Arinos	A	42	20m + 22sm	84	Múltipla	Centromérica	N	Giongo et al., 2007b; Lima, 2008
Rio Papagaio	A	42	18m + 24sm	84	Simple	Centromérica	N	Lima, 2008
São Miguel do Araguaia	A	42	18m + 24sm	84	Múltipla	Centromérica	N	Blanco et al., 2010
Rio Sete de Setembro	A	42	20 m + 22 sm	84	Múltipla	Centromérica	N	Blanco et al., 2010
Baixo Amazonas	C	40	20m+20sm	80	Múltipla	Centromérica	N	Oliveira et al., 2010
Baixo Amazonas	A	42	22m+20sm	84	Múltipla	Centromérica	N	Oliveira et al., 2010

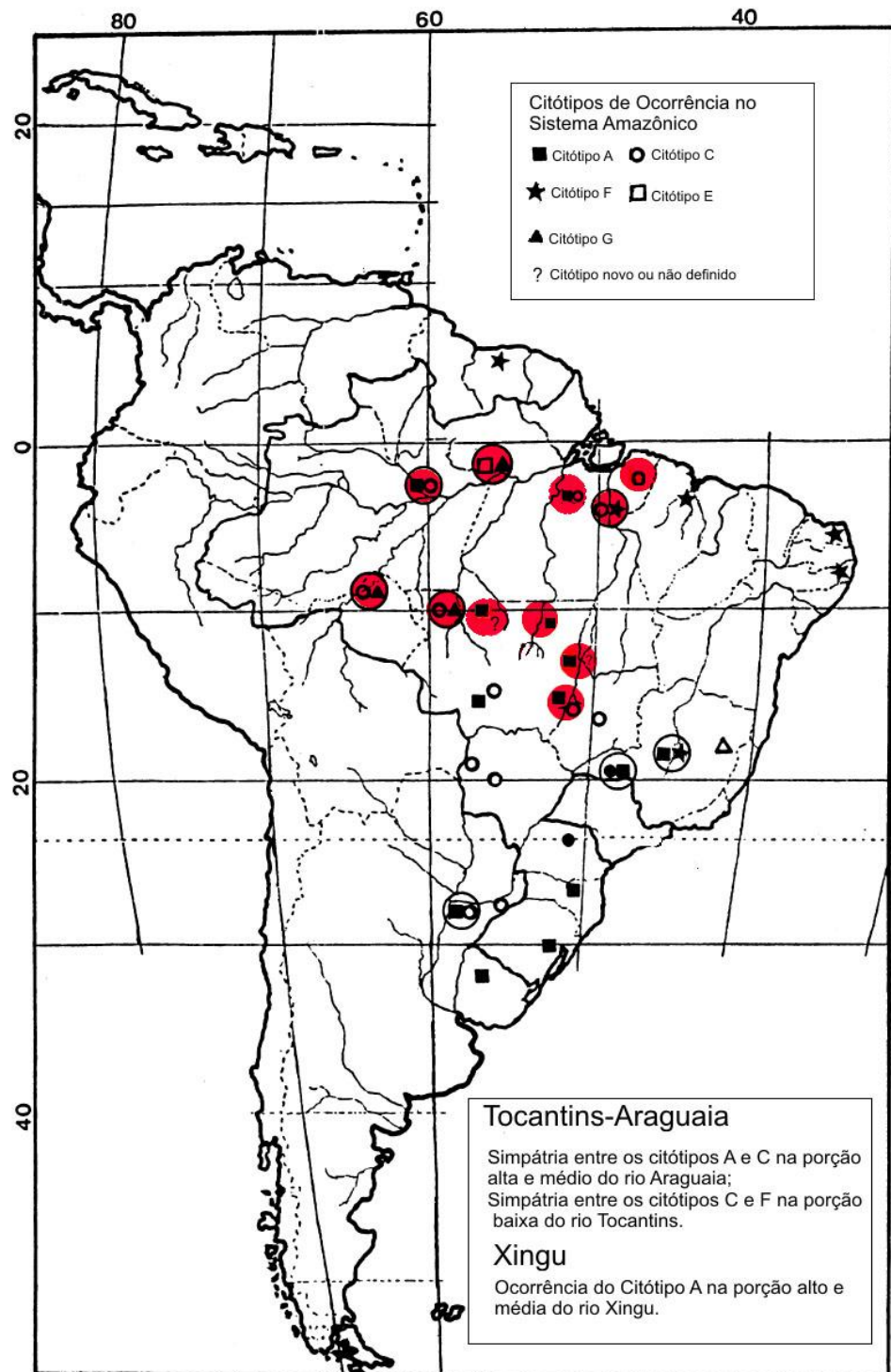


Figura 2. Mapa de distribuição dos cariomorfos de *Hoplias malabaricus* adaptado de Bertollo *et al.* 2000.

JUSTIFICATIVA

Estudos em grandes bacias hidrográficas do Brasil são fundamentais, uma vez que em nosso país estão situados os maiores sistemas hídricos do mundo, com uma fauna aquática de valor imensurável, que vem sofrendo graves e contínuas agressões (Barletta *et al.*, 2010). Souza (2001) alerta que os problemas e questões a serem investigados crescem muito mais rapidamente que número de novas espécies descobertas. Perante a esse potencial pouco explorado, e ainda disponível na natureza, os estudos revelam-se limitados, gerando questões que têm exigido estudos específicos que vão além da sistemática (Vari & Malabarba, 1998) como, por exemplo, estudos a respeito da genética evolutiva.

Em comparação com outros grupos de vertebrados, o conhecimento sobre a sistemática, evolução, ecologia, fisiologia, etologia, morfologia e genética nos peixes, está relacionados aos tamanhos dos sistemas fluviais, ao elevado número de espécies, ao alto custo logístico, além de seu habitat que dificulta a captura, à observação e à determinação de parâmetros biológicos (Böhlke *et al.*, 1978; Barletta *et al.*, 2010). Nos últimos anos os esforços para melhor conhecer fauna de peixes aumentaram significativamente. Porém, no Brasil ainda são poucos os estudos que têm relacionado diferentes áreas das ciências biológicas no sentido de melhor utilizar os dados sobre a variabilidade genética de populações naturais de peixes e sua relação com o ambiente visando a conservação deste importante recurso natural (Priorli *et al.*, 2002; Wasko *et al.*, 2002; Hatanaka & Galetti, 2003; Piorski *et al.*, 2008).

Estudar a ictiofauna das bacias do Araguaia e do Xingu no interflúvio Serra dos Carajás é importante, por essa região ser considerada uma área prioritária para conservação da biodiversidade e concentrar altos índices de diversidade, endemismo, espécies raras e ameaçadas e principalmente por ainda ser carente de estudos (Dias *et al.*, 2000; MMA, 2002; Camargo *et al.*, 2004; Martinelli, 2007; Develey & Goerck, 2009; Nogueira *et al.*, 2010), além de estarem ameaçados pela expansão agrícola, pela exploração mineral e pela expansão dos empreendimentos hidroelétricos na região.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Estudar citogeneticamente populações de *Hoplias malabaricus* nas bacias do Araguaia e do Xingu, na região da Serra dos Carajás a fim de entender a relação dessas regiões com os processos evolutivos dos peixes neotropicais.

Objetivos Específicos

- Determinar o número e a morfologia cromossômica da espécie em estudo;
- Localizar as regiões de heterocromatina e evidenciar as regiões organizadoras de nucléolos;
- Realizar coloração com fluorocromos base-específicos DAPI/CMA₃;
- Comparar os cariomorfos encontrados na região de estudo.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de Estudo:

As coletas foram realizadas nos tributários dos principais afluentes das bacias do rio Araguaia e do Xingu, na região da Serra dos Carajás (Fig. 3; Tab.02).

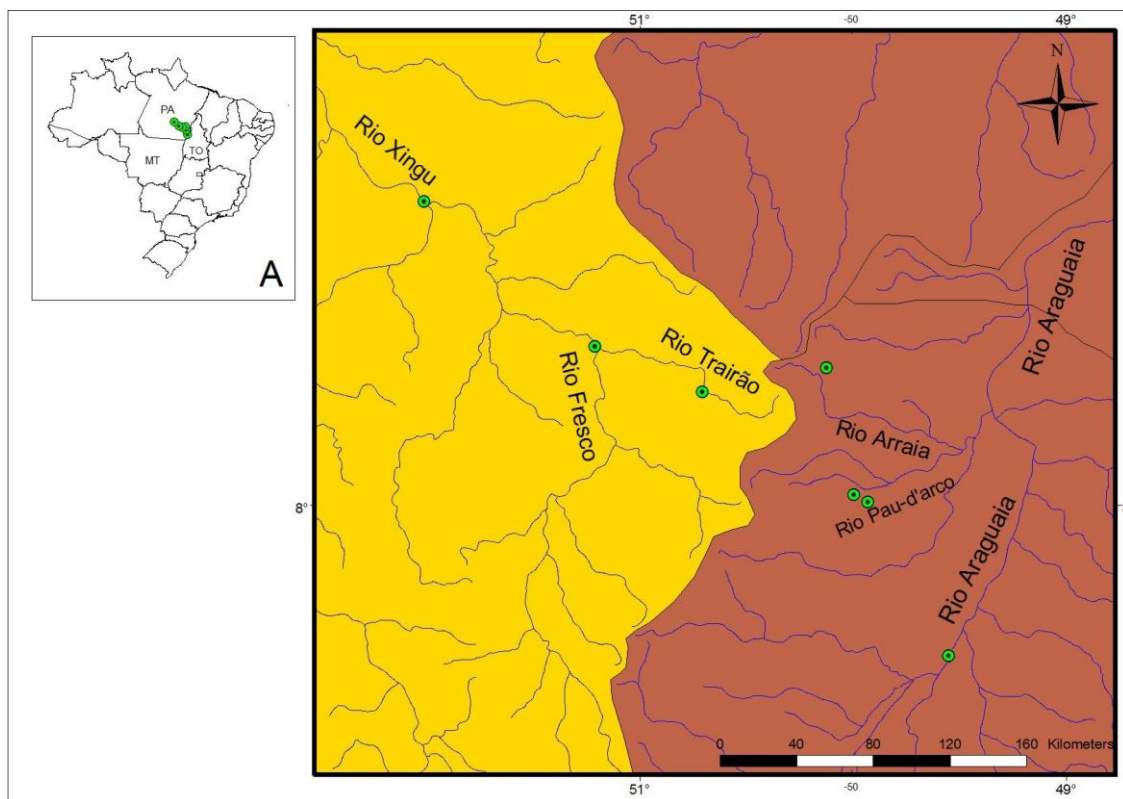


Figura 3. Mapa dos pontos de coletas nas bacias do Araguaia e do Xingu.

Tabela 2 Esforço amostral total e por sexo e localidades de coleta

Localidade	Bacia	Coordenada Geográfica	Esforço Amostral total	Esforço Amostral por Sexo
Rio Araguaia	Araguaia	8°52'34.85"S 49°43'14.36"O	5	3 ♂ 2 ♀
Rio Salobo	Araguaia	7°25'49.91"S 50° 6'59.22"O	25	8 ♂ 17 ♀
Córrego Mutum	Araguaia	8° 3'27.69"S 49°55'14.87"O	12	3 ♂ 9 ♀
Córrego Caba Saco	Araguaia	8° 1'28.75"S 49°59'16.18"O	13	7 ♂ 6 ♀
Rio Trairão	Xingu	7°32'28.84"S 50°41'53.85"O	17	4 ♂ 13 ♀
Rio Fresco / Xingu	Xingu	6°38'55.94"S 52°0'15.22"O	8	2 ♂ 6 ♀

Coleta e Processamento do Material

A amostragem ocorreu nos períodos de janeiro de 2009 e de julho 2010. Os espécimes foram coletados com linha de anzol e redes de espera. Os peixes aos serem coletados foram transferidos para tambores aerados até o sacrifício. O material foi processado em acampamentos montados pela equipe nas fazendas ou nas margens dos rios. Para o processamento foram utilizados reagentes químicos básicos de citogenética e uma centrífuga. Os materiais processados foram condicionados em caixas térmicas e posteriormente transferidos para laboratório.

Amostragem e Identificação das Espécies

Foram coletados 80 espécimes, 53 fêmeas e 27 machos (Tab. 02). Os espécimes coletados foram identificados com auxílio das descrições feitas por Oyakawa *et al.* (2009), uma vez que na bacia do Xingu há duas espécies do gênero *Hoplias* (*H. malabaricus* e *H. aimara*) (Fig. 4).

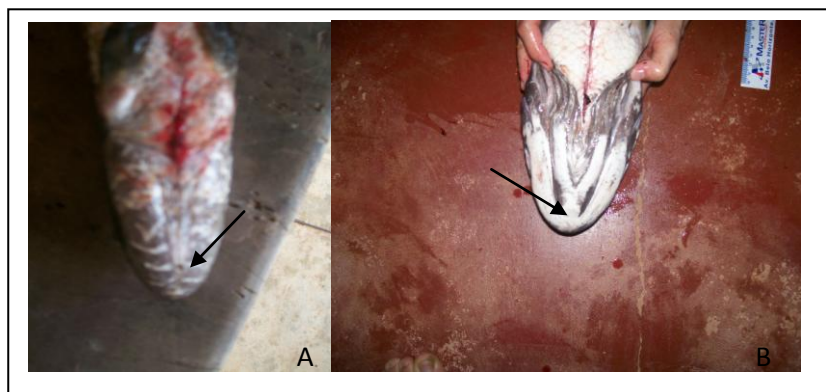


Figura 4. A) *Hoplias malabaricus* sínfese mandibular em forma de V; B) *Hoplias aimara* sínfese mandibular em forma de U.

Citogenética:

Obtenção dos Cromossomos Mitóticos Metafásicos

A técnica utilizada para obtenção de cromossomos mitóticos metafásicos a partir dos rins anterior e posterior seguiu o protocolo proposto por Bertollo *et al.* (1978). Este método consiste no tratamento químico, com aplicação de colchicina (0,025% para 1mL/100g de peso corporal) na região peritoneal, depois o animal foi

mantido em ambiente aerado por 40 minutos. Em seguida, o animal foi sacrificado para retirada dos rins, este foi transferido para cubetas contendo solução hipotônica (KCl 0,075M) onde foi dissociado e incubado em estufa a 37°C por 20min. Em seguida o material foi transferido para tubo de centrifuga onde recebeu cerca 2ml de fixador (Solução: 1 ácido acético:3 metanol) e centrifugado por 10 minutos. Após esse tempo o sobrenadante foi descartado e acrescentado cerca de 6ml de fixador e o material foi dissociado com pipeta de pasteur e este processo foi repetido mais duas vezes. Após a última centrifugação foi acrescentado 1,5 ml de fixador o material foi ressuspenso e transferido para *eppendorf*. Para análise a solução obtida foi gotejada (2 ou 3 gotas) em lâmina aquecida em água destilada a 60°C.

Coloração Convencional

Esta técnica tem por objetivo visualizar os cromossomos para identificação de número diplóide, morfologia cromossômica e número fundamental. Para sua realização as lâminas foram coradas com Giemsa 5%, em tampão fosfato (pH 6,8) durante 5 minutos, as lâminas foram lavadas em água corrente e secas ao ar, em seguida analisadas em microscopia óptica.

Impregnação por Nitrato de Prata (Banda Ag-NOR)

A detecção das regiões organizadoras de nucléolo foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Howell & Black (1980). Sobre a lâmina com material cromossômico foram adicionadas duas gotas de água destilada, duas gotas de gelatina (1g/100 mL de água destilada e 0,5 ml de ácido fórmico) e quatro gotas de solução Nitrato de Prata (50%). As soluções foram espalhadas uniformemente sob a lâmina com o auxílio de uma lamínula e coberta com a mesma. Em seguida, a lâmina foi incubada em estufa à 70°C em câmara úmida por aproximadamente 8 minutos, dependendo do monitoramento da coloração da mesma. Após a coloração esperada ter sido atingida lavou-se a lâmina em água corrente possibilitando que a lamínula fosse retirada pela própria água e as metáfases foram observadas em microscopia óptica.

Bandamento C

Para o estudo da heterocromatina constitutiva, foram utilizados protocolos de bandamento C baseado em SUMNER (1972). As adaptações seguiram as proposições da equipe do laboratório de Sistemática Molecular da UFV sob coordenação do Prof. Jorge Dergam. Todos envolvem três tratamentos químicos: com o ácido clorídrico (HCl) 0,2 N a 42 °C por 10 minutos, com base fraca (Ba(OH)₂) 5% à 42 °C por 1 minuto e 8 segundos e o banho com solução salina (2XSSC) a 60 °C por 1 hora. Ao fim do tratamento as lâminas foram coradas com Giemsa ou DAPI.

Coloração com Fluorocromo DAPI/CMA₃

A técnica seguiu protocolo de Verma & Babu (1995) com modificações feitas por Fernandes (2004): Após a obtenção dos cromossomos mitóticos metafásicos mergulhou-se as lâminas por 5 minutos em tampão McIlvaine, após secá-la ao ar, pingou-se 150 µL de CMA₃ (0,5 mg/ml) sobre a lâmina e cobriu-se com lamínula (limpa e seca) deixando a mesma por 45 minutos no escuro. Após esse tempo retirou-se a lamínula em água corrente e mergulhou a lamínula por 5 minutos em tampão McIlvaine espera secar em escuro, mergulha a lâmina em solução de DAPI (0,6 mg/ml) por 30 minutos enxaguar novamente por 5 minutos em tampão McIlvaine, esperar secar em escuro. Após seca pingou-se sobre a lâmina uma gota de sacarose e cobrir com lamínula (limpa e seca) sem deixar fazer bolha. Após o processo incubou-se as lâminas em escuro em estufa 37°C por no mínimo 3 dias e no máximo 10 dias após o processo para análise em microscópio de fluorescência.

Análise dos dados

Para análise dos dados foi feito a digitalização das imagens através de microscópios acoplados a um sistema de digital de captura de imagem, com objetiva de imersão com aumento de 100x e processadas em computador. Os cariótipos foram montados com auxílio de softwares de análise de imagem, seguindo a classificação cromossômica proposta por Levan *et al.* (1964), cujo o critério é a razão entre braços (RB: maior/braço menor) (Fig. 5). Para identificação de possíveis

heteromorfismos cromossômicos foi utilizado à chave cromossômica proposta por Pazza & Kavalco (2004)

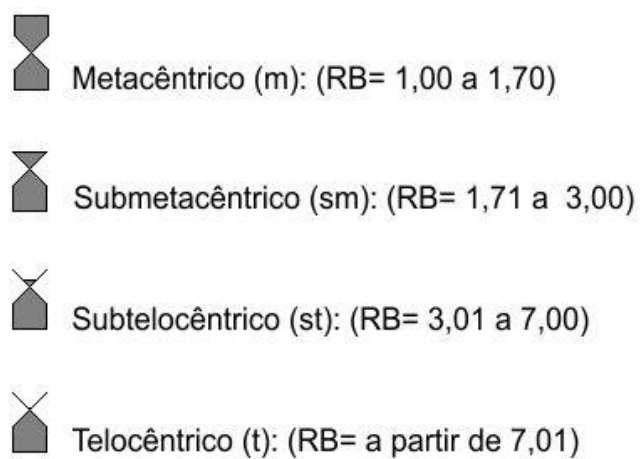


Figura 5. Classificação Cromossômica segundo Levan et al. (1964).

RESULTADOS

Bacia do rio Araguaia

Todas as populações estudadas apresentaram número diplóide $2n=40$ e não foi observado cromossomo sexual. O cariótipo pertencente à bacia do rio Araguaia é constituído por 11 pares de cromossomos metacêntricos e 9 pares de cromossomos submetacêntricos. Assim a fórmula cariotípica de $2n= 11m + 9sm$, o número fundamental observado foi de $NF=80$ (Fig. 6A; Tab. 03).

A coloração com impregnação por nitrato de prata evidenciou quatro cromossomos com marcações, sendo que três teloméricas em cromossomos metacêntricos e submetacêntrico com marcação bitelomérica (Fig. 6C; Tab. 03).

O bandamento C evidenciou marcações centroméricas para a maioria dos cromossomos, com alguns cromossomos com marcações centroméricas e biteloméricas, e um par de cromossomos metacêntricos e um par cromossomos submetacêntricos apresentaram uma grande banda heterocromática no braço curto (Fig. 6B, 5D; Tab. 03). Foram registrados nos dois primeiros pares de metacêntricos (pares 01 e 02) e submetacêntricos (pares 12 e 13) grandes blocos heterocromáticos na porção centromérica, além de outros dois pares de cromossomos pequenos com blocos grandes também na porção centromérica (pares 06, 09, 16 e 18) e com marcações teloméricas (pares 17 e 20).

Os resultados obtidos a partir do CMA_3 evidenciaram bandas ricas em CG nas regiões centroméricas e teloméricas de um par de cromossomos metacêntricos e em dois pares de cromossomos submetacêntricos, já o DAPI não evidenciou nenhuma banda rica em AT (Fig. 06E; 05F; Tab. 03). Não foram encontradas diferenças no padrão de bandas entre os sexos de nenhuma das populações analisadas.

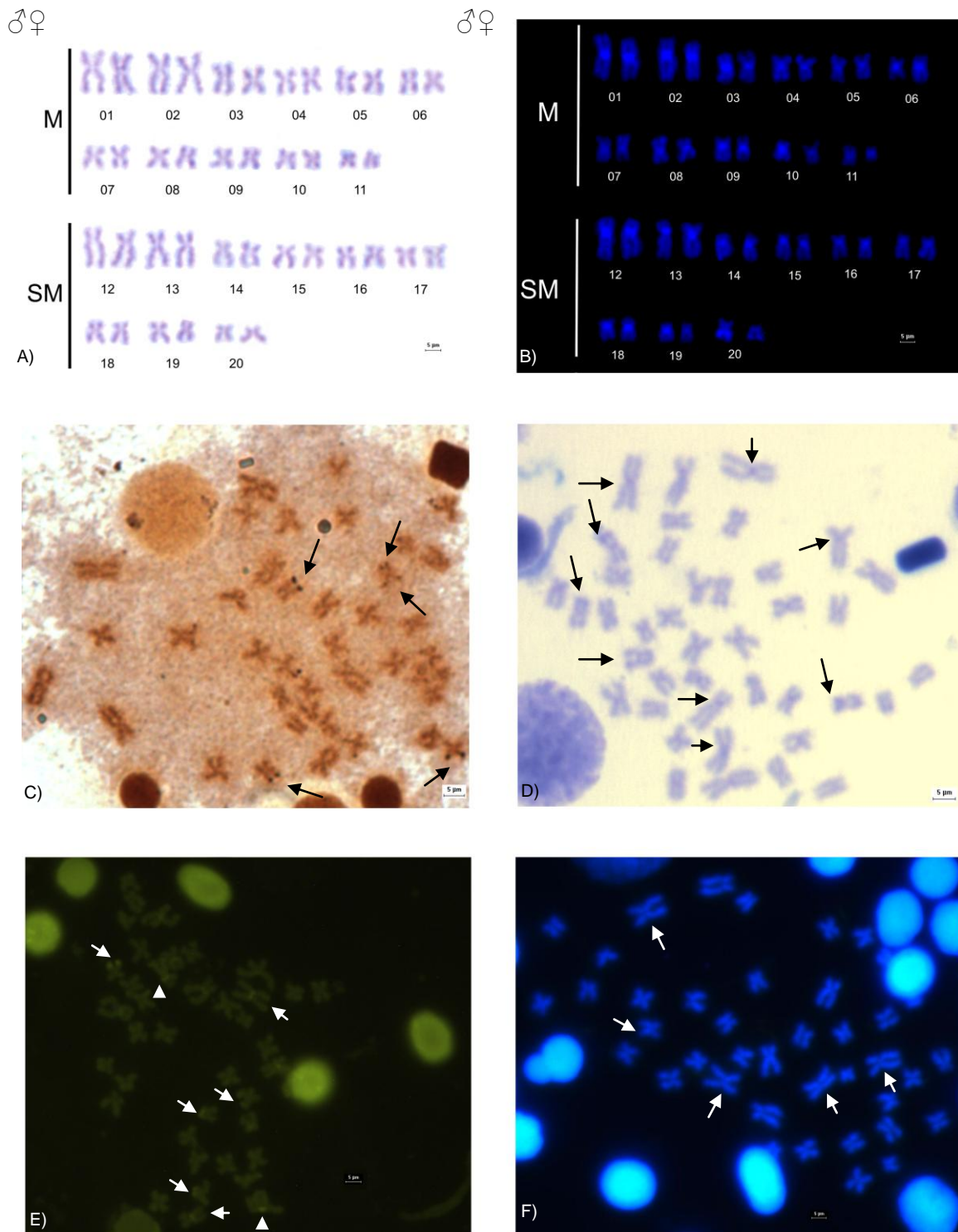


Figura 6. Cariótipos do cariomorfo $2n=40$ C de populações de *H. malabaricus* do rio Araguaia. A) Coloração Giemsa; B) Banda C/DAPI; C) NORs: As setas indicam as regiões argentofílicas dos cromossômicos.; D) Banda C: As setas indicam os blocos heterocromáticos nos cromossômicos.; E) CMA_3 : As setas indicam regiões ricas em bases GC; F) As setas indicam a ausência de marcações de pares de base AT.

Bacia do rio Xingu

As populações estudadas apresentaram número diplóide $2n=40$, não sendo observado cromossomo sexual. O cariótipo pertencente à bacia do rio Xingu é constituído por 15 pares de cromossomos metacêntricos e 5 pares de cromossomos submetacêntricos, sendo a fórmula cariotípica de $2n= 15 m + 5 sm$ e número fundamental observado para todas as populações foi o de $NF=80$ (Fig. 7A; Tab. 03).

A coloração por impregnação com nitrato de prata evidenciou cinco marcações teloméricas em cromossomos metacêntricos e submetacêntricos (Fig. 7C; Tab. 03).

O bandamento C evidenciou marcações centroméricas para a maioria dos cromossomos, com alguns cromossomos com bandas centroméricas e biteloméricas (pares 04, 06, 07, 08, 09, 12, 15) (Fig. 7B, 7D; Tab. 03).

O fluorocromo base - específico CMA_3 evidenciou bandas ricas em CG em dois pares cromossômicos com bandas centroméricas, em dois pares cromossômicos com bandas teloméricas e um par de cromossomos com banda bitelomérica; já para o DAPI não foi evidenciada nenhuma banda rica em AT (Fig 6E; 6F; Tab. 03). Não foram encontradas diferenças nos padrões das bandas em relação aos sexos em nenhuma das populações.

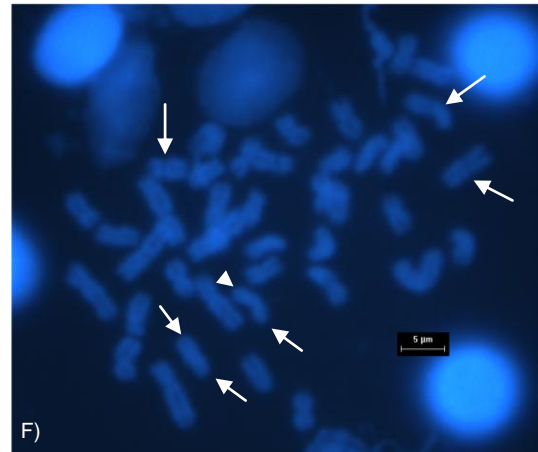
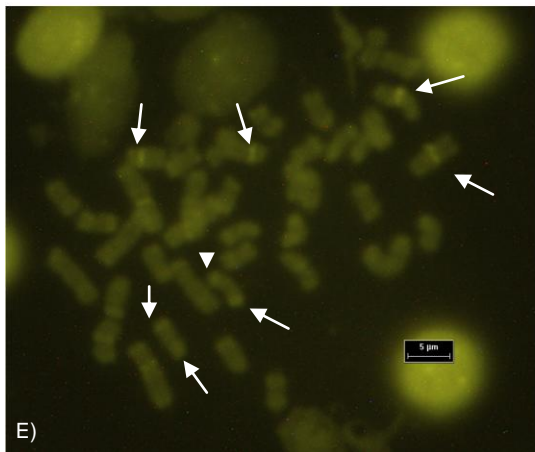
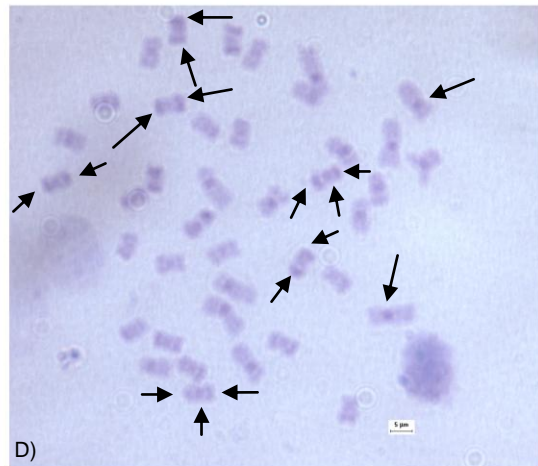
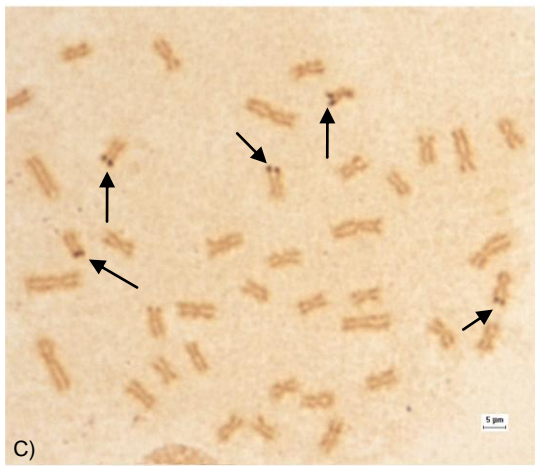
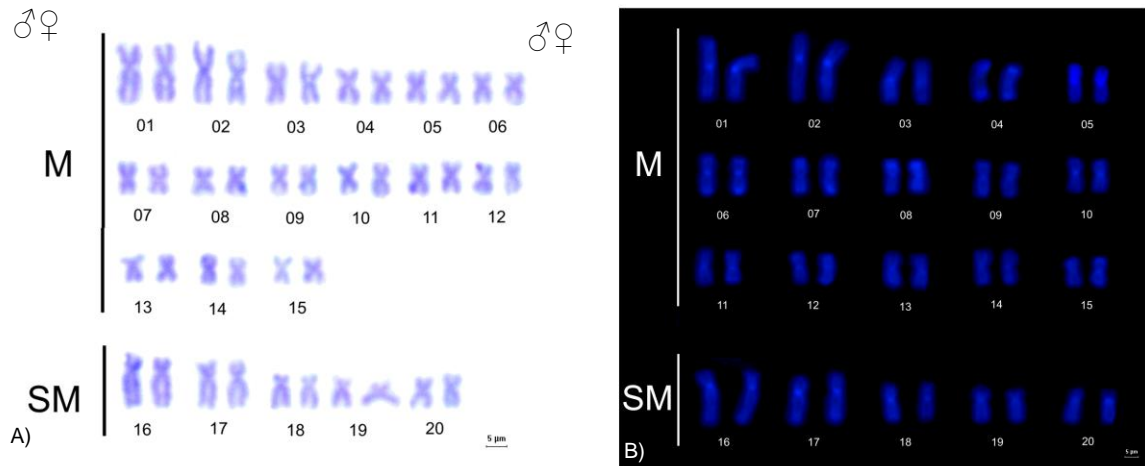


Figura 7. Cariótipo do cariomorfo $2n=40$ de populações de *H. malabaricus* do rio Xingu. A) Coloração Giemsa; B) Banda C/DAPI: Os pares destacados evidenciam cromossomos com marcações heterocromáticas biteloméricas; C) NORs: As setas indicam as regiões argentofílicas dos cromossômicos.; D) Banda C: As setas indicam os blocos heterocromáticos nos cromossômicos.; E) CMA_3 : As setas indicam regiões ricas em bases GC; F) As setas indicam a ausência de marcações de pares de base AT.

Tabela 3 Resumo dos resultados citogenéticos das populações estudadas nas bacias do Araguaia e do Xingu. Posição dos blocos heterocromáticos: C: centromérica; T: Telomérica, BT; Bitelomérica

Bacia	Sexo	2n	Fórmula Cariotípica	Número Fundamental	Ag-NORs	Banda C	CMA3	DAPI
Araguaia	♂/♀	40	11m + 9sm	80	5	C, T e T	8 C e T	Ausente
Xingu	♂/♀	40	15m + 5sm	80	5	C, T e BT	8 C, T e BT	Ausente

DISCUSSÃO

Os cariótipos coletados nas localidades da bacia do Araguaia assemelham-se ao cariomorfo “padrão” $2n=40C$ indicado por Bertollo *et al.* (2000) para as bacias do baixo Paraná e amazônica. Já os cariótipos encontrados neste estudo na bacia do Xingu indicam que o cariomorfo $2n=40C$, apresenta populações amazônicas que diferem em vários aspectos do cariomorfo padrão, como a morfologia cromossômica e bandamento C/CMA₃. Essas características assemelham essas populações às traíras $2n=42$, como padrões biteloméricos de Banda C/CMA₃, já indicados em outros estudos para estes cariomorfos (Vicari *et al.*, 2003; Vicari *et al.*, 2006; Cioffi *et al.*, 2009a; Cioffi *et al.*, 2009b; Blanco *et al.*, 2010).

A diferença apresentada entre os cariótipos da bacia do Araguaia e do Xingu quanto à fórmula cariotípica, podem ser explicados por rearranjos cromossômicos do tipo inversão pericêntrica. Esse tipo de rearranjo envolve a mudança de posição do centrômero, o que não resulta na mudança do número cromossômico, apenas na morfologia (Imai & Muruyama, 1978). Provavelmente essa sutil mudança aumentou o número de cromossomos metacêntricos para a bacia do Xingu e pode ter envolvido cromossomos submetacêntricos, sem alteração do número fundamental (NF). As inversões pericêntricas entre essas populações podem ter surgido como resultado de evolução alopátrica, relacionada ao isolamento dessas populações pela Serra dos Carajás, assim como já se foi observado em outros estudos de *H. malabaricus* (Born & Bertollo, 2001, Jacobina *et al.* 2009; Blanco *et al.*, 2010). As inversões pericêntricas são consideradas como as principais responsáveis pela variabilidade cariotípica em diversos grupos de peixes, principalmente naqueles que conservam o número diplóide, como Acestorhynchinae e Cynopotaminae (Falcão & Bertollo, 1985); Serrasalminae (Cestari & Galleti-Jr, 1992; Nakayama *et al.*, 2008; Sampaio, 2008), Neoplecostominae (Kavalco *et al.*, 2005), Ariidae (Sczepanski *et al.*, 2010) entre outros.

A bacia do Araguaia se caracteriza pela simpatria entre os cariomorfos A (Bertollo *et al.*, 1997; Born & Bertollo, 2001; Blanco *et al.*, 2010) e C (Oliveira *et al.*, 2007, Vitorino *et al.*, 2007b). As diferenças encontradas em relação a outros estudos que também evidenciaram o cariomorfos C podem ser explicadas por rearranjos cromossômicos do tipo inversão pericêntrica (Dergam & Bertollo, 1990; Bertollo *et*

al., 1997; Oliveira *et al.*, 2007, Vitorino *et al.*, 2007b). Já as diferenças com o cariomorfo A podem ser conseqüências de rearranjos do tipo fusão/fissão cromossômica (Bertollo *et al.*, 1997; Born & Bertollo, 2001; Oliveira *et al.*, 2007, Vitorino *et al.*, 2007b; Blanco *et al.*, 2010). Nesse sentido, as variações do cariomorfo C onde foram encontrados sistema sexual simples (XX, XY) por Vitorino *et al.* (2007b) seria uma característica derivada decorrente de inversões pericêntricas (Cioffi *et al.*; 2009a; Cioffi & Bertollo, 2010). Aparente exceção seria o cariomorfo 2n=40D o qual evolui de um ancestral 2n=40C por meio de uma translocação não recíproca (Dergam & Bertollo, 1990; Bertollo *et al.*, 2000). Os cariomorfos encontrados em simpatria na bacia do Araguaia estão isolados reprodutivamente na maior parte da bacia, pois não se têm registros de formas cariotípicas intermediárias. As diferenças evidenciadas podem ser resultados dos isolamentos geográficos dessas populações pela formação geomorfológica do próprio sistema fluvial (Oliveira *et al.*, 2009) ocasionando mudanças no regime hídrico entre lântico e lótico e impondo barreiras geográficas (como corredeiras, lagos marginais e a ilha do bananal). Sampaio (2008) sugere que a região do Araguaia - Bananal possa ser uma barreira geográfica para muitos organismos, mas também pode ser uma zona natural de hibridização para outras, como é a situação de *Serrasalmus rhombeus*. Sendo *H. malabaricus* uma espécie sedentária, apresenta populações mais limitadas e suscetíveis a variações intrapopulacionais, explicando assim a grande diversidade cariotípica para o grupo (Bertollo *et al.*, 1997; Rosa *et al.*, 2010).

O cariomorfo 2n=40 encontrado na bacia do Xingu apresenta uma morfologia nova ainda não registrada em outras regiões (Bertollo *et al.*, 1997; Bertollo *et al.*, 2000; Born & Bertollo, 2001; Oliveira *et al.*, 2007; Lima, 2008; Blanco *et al.*, 2010). As diferenças na fórmula cariotípica encontrada neste trabalho quando comparadas com as demais registradas em cariomorfos 2n=40 dentro e fora da região amazônica, podem ser explicados por rearranjos do tipo inversão pericêntrica (Dergam & Bertollo, 1990; Bertollo *et al.*, 2000).

Os resultados obtidos a partir da impregnação com nitrato de prata evidenciaram Ag-NORs múltiplas e teloméricas corroborando outros estudos para *H. malabaricus* na bacia amazônica (Bertollo *et al.*, 1997; Born & Bertollo, 2001; Vitorino *et al.*, 2007a,b; Lima, 2008; Blanco *et al.*, 2010). O padrão de NORs para as

bacias do Araguaia e do Xingu, não diferiram no número de marcações, porém a primeira apresentou um cromossomo com marcação bitelomérica. Marcações biteloméricas são comumente encontradas em populações de *Hoplias malabaricus* pertencentes dos cariomorfos $2n=42$ (Bertollo, 1996; Born & Bertollo, 2001; Vicari *et al.*, 2003; Vicari *et al.*, 2006;). As NORs não diferiram quanto a gênero para as duas bacias, não estando relacionadas a cromossomos sexuais, como já foi registrado para *H. malabaricus* $2n=40$ (Vitorino *et al.*, 2007a,b;). A presença Ag-NOR em número ímpar pode ser efeito de um heteromorfismo acentuado, decorrentes de crossing - over desiguais gerando uma expressão diferencial dessas NORs (Vicari *et al.*, 2005; Blanco *et al.*, 2010).

O padrão de variação de Banda C evidenciou que ambas as populações apresentaram concentração de blocos heterocromáticos nas regiões centroméricas e teloméricas dos cromossomos, corroborando outros estudos em populações de *H. malabaricus* dentro e fora da bacia amazônica (Dergam & Bertollo, 1990; Bertollo *et al.*, 1997; Born & Bertollo, 2001; Born & Bertollo, 2006; Vicari *et al.*, 2006; Lima, 2008, Jacobina *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2009; Blanco *et al.*, 2010). O padrão das bandas heterocromáticas difere na quantidade de cromossomos com blocos centroméricos e biteloméricos entre as duas bacias. As marcações biteloméricas ocorreram em maior número na bacia do Xingu, além da existência de um par com marcações apenas biteloméricas, restritas a esta bacia. Os padrões centroméricos de Banda C na população da bacia do Araguaia são característicos do cariomorfo C (Bertollo & Dergam, 1990; Bertollo *et al.*, 1997a). O presente trabalho aponta semelhança entre o padrão de bandamento C do Araguaia com os encontrados por Blanco *et al.* (2010) para o cariomorfo $2n=42A$ na mesma bacia. Já os resultados encontrados para a bacia do Xingu não apresentam semelhanças com os de Blanco *et al.* (2010) na mesma bacia para o cariomorfo A. Almeida-Toledo (1998) sugere que a heterocromatina esteja associada à evolução cariotípica de peixes, porém diferenças nos padrões de bandamento C entre populações de *H. malabaricus* isoladas por eventos vicariantes sugerem que essas mudanças correspondem a diferenciações intraespecíficas (Jacobina, 2008; Lima, 2008; Blanco *et al.*, 2010).

O DAPI, quando aplicado a cromossomos de peixes apresenta poucas ou nenhuma banda positiva, como já foi observado em trairões (*Hoplias aimara* e *Hoplias intermedius*) das bacias amazônica e do São Francisco (Blanco *et al.*, 2011),

Steindachneridion (Swarça *et al.*; 2008), *Arapaima* (Rosa *et al.*, 2009) e Ariidae (Sczepanski *et al.*, 2010). No presente trabalho a homogeneidade dos cromossomos tratados com DAPI, indicam a ausência de grandes sítios ricos em pares de base AT, podendo estar distribuídas de forma homogênea nas regiões eucromáticas e heterocromáticas.

O CMA₃ geralmente apresenta bandas positivas em peixes, as quais estão frequentemente associadas às NORs. Essa associação tem sido indicada em espécies do gênero *Hoplias* (Born & Bertollo, 2001; Vicari *et al.*, 2005; Vicari *et al.*, 2006; Born & Bertollo, 2006; Morelli *et al.*, 2007; Cioffi *et al.*, 2009a; Cioffi *et al.*, 2009b; Santos *et al.*, 2009; Blanco *et al.*, 2010; Cioffi & Bertollo, 2010; Blanco *et al.*, 2011). No presente trabalho as marcações de CMA₃ na bacia do Araguaia, evidenciando duas marcações teloméricas em cromossomos submetacêntricos correspondente aos sítios Ag-NORs, além de um par de cromossomos com marcações centroméricas não correspondente aos sítios argentofílicos. Os resultados da bacia do Xingu o CMA₃ evidenciou marcações em pares não correspondentes aos sítios Ag-NORs, com marcações biteloméricas e centroméricas associadas aparentemente às regiões heterocromáticas demonstradas no bandamento C (Galleti-Jr, 1998).

Embora exista uma relação positiva entre fluorocromos ricos em CG com sítios de NORs, esta relação não é obrigatória e pode apresentar grande variabilidade quanto ao número, posição e tamanho dos cistrons nos cromossomos de peixes (Galleti-Jr, 1998; Nirchio & Oliveira, 2006). Os resultados da bacia do Xingu fogem do padrão esperado para os cariomorfos 2n=40 (Lima, 2008; Blanco *et al.*, 2010; Santos *et al.*, 2009), se assemelhando ao padrão encontrado em populações de cariomorfos 2n=42 (Vicari *et al.*, 2003; Cioffi *et al.*, 2009a).

Bertollo *et al.* (2000) descreveram 7 cariomorfos baseados na macroestrutura cromossômica (morfologia e número), embora pequenas diferenças nessa morfologia cromossômica tenham sido aceitas como parte da variação natural de algumas populações (e.g., Born & Bertollo, 2001; Cioffi *et al.*, 2009b; Blanco *et al.*, 2010). As diferenças encontradas na microestrutura cromossômica (padrões de bandamento) no presente trabalho entre os cariomorfos do Araguaia e do Xingu, aparentemente são resultados de variações geográficas fixadas nas populações.

O cariomorfo encontrado no Xingu pode ser resultado de rearranjos cromossômicos que fixaram essas diferenças cariotípicas e isolaram reprodutivamente e geneticamente essa população das demais descritas em simpatria e alopatria na região. As diferenças entre as duas populações poderiam teoricamente surgir como resultado de efeitos de deriva genética, propícios em espécies que sobrevivem em pequenas populações (Sczepanski *et al.*, 2010). Porém, considerando que estudos moleculares em andamento indicam que o DNA mitocondrial das traíras $2n=42$ é mais basal que as traíras $2n=40$ (Santos & Dergam, não publicado), é possível que as semelhanças do cariomorfo da bacia do Xingu com os cariomorfos $2n=42$ representem plesiomorfias cariotípicas que já não existem no cariomorfo “padrão” $2n=40C$ indicado por Bertollo *et al.* (2000). Considerando a ecologia das traíras, é tentador relacionar a evolução cariotípica delas a eventos associados a mudanças extremas na estrutura populacional da espécie, conforme proposto pelos modelos clássicos de evolução cromossômica (White, 1973; Spirito, 1998). Por outro lado, a presença de características típicas dos cariomorfos $2n=42$ no cariomorfo $2n=40$ da bacia do Xingu sugere um cenário alternativo de evolução cromossômica, envolvendo populações de maior porte, conforme proposto por Kirkpatrick & Barton (2006), no qual os próprios rearranjos podem ser locais onde mutações vantajosas seriam fixadas em cada população. Assim, os processos de diferenciação dos cariomorfos $2n=40$ em outras bacias neotropicais podem ter envolvido gargalos demográficos que aceleraram sua diferenciação do padrão característico do cariomorfo $2n=42$. Os dados obtidos reforçam a necessidade de maiores estudos das relações filogenéticas entre os cariomorfos da bacia amazônica.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- O cariomorfo da bacia do Araguaia corresponde ao cariomorfo $2n=40C$, proposto por Bertollo *et al.* (2000);
- O cariomorfo da bacia do Xingu representa uma nova configuração, uma vez que, não foi possível encaixá-lo em nenhum dos sete cariomorfos propostos por Bertollo *et al.* (2000).
- Seguindo a proposta de classificação Bertollo *et al.* (2000) dos cariomorfos de *H. malabaricus* o resultado encontrado na bacia do Xingu seria o citótipo “H”.
- O padrão de banda C/CMA₃ nas populações do Xingu se assemelham mais aos padrões dos cariomorfos $2n=42$, reforçando a idéia de Santos & Dergam (dados não publicados) que os cariomorfos $2n=42$ são basais em relação aos $2n=40$.
- O cariomorfo da bacia do Xingu sugere que a evolução cariotípica de *H. malabaricus* pode ter ocorrido em grandes populações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DA ÁGUA (ANA). 2006. A região hidrográfica dos rios Tocantins e Araguaia. **Superintendência de Planejamento de Recursos Hídricos**. Disponível em <<http://www.ana.gov.br>> acessado em 03 de novembro de 2010.

Almeida-Toledo, L. F. & Foresti, F. 2001. Morphologically differentiated sex chromosomes in neotropical freshwater fish. **Genetica** **111**: 91–100.

Aquino, S., Stevaux, J. C. & Latrubesse, M. E., 2005. Regime hidrológico e aspectos do comportamento morfohidráulico do rio Araguaia. **Revista Brasileira de Geomorfologia**, **2**: 29-41.

Artoni, F. R., Vicari, M. R. & Bertollo, L. A. C. 2000. Citogenética de peixes neotropicais: métodos, resultados e perspectivas. **Biological and Health Sciences**, **6**: 41-60.

Bahia, R. B. C., Martins-Neto, A. M., Barbosa, S. M. & Pedreira, J. A. 2007. Análise da evolução tectonossedimentar da Bacia dos Parecis através de métodos potenciais. **Revista Brasileira de Geociências**, **37**: 639-649.

Barletta, M., Jaureguizar, A. J., Baigun, C., Fountoura, N. F., Agostinho, A. A., Almeida-Val, V. M. F., Val, A. L., Torres, R. A., Jimenes-Segura, L. F., Giarrizzo, T., Fabré, N. N., Batista, V. S., Lasso, C., Taphorn, D. C., Costa, M. F., Chaves, P. T., Viera, J. P. & Corrêa, M. F. M. 2010. Fish and aquatic habitat conservation in South America: a continental overview with emphasis on neotropical systems. **Journal of Fish Biology**, **76**: 2118-2176.

Barthem, R. B. & Fabré, N. N. 2003. Biologia e diversidade dos recursos pesqueiros da Amazônia. Pp. 11-55. In: **A pesca e os recursos pesqueiros na Amazônia brasileira** (M.L. Rufino, ed.). Pro-Várzea, Manaus.

Bernard, J. **Citogenética de Populações**. Temas de Biologia, vol. 15. 1 ed. Ed. Da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1980.

Berra, T. M. 2007. Freshwater Fish Distribution. Chicago, IL: University of Chicago Press.

Bertollo, L. A. C. 1996. The nucleolar organizer regions of Erythrinidae fish. An uncommon situation in the genus *Hoplias*. **Cytologia**, **61**: 75-81.

Bertollo, L. A. C., Born, G. G., Dergam, J. A., 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.

Bertollo, L. A. C., Moreira-Filho, O. & Fontes, M. S. 1997. Karyotypic diversity and distribution in *Hoplias malabaricus* (Pisces, Erythrinidae): Cytotypes with $2n = 40$ chromosomes. **Brazilian Journal of Genetics**, **20**: 237-242.

Bertollo, L. A. C., Takahashi, C. S. & Moreira-Filho, O. 1978. Cytotaxonomic considerations on *Hoplias Lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). **Revista Brasileira de Genetica**, **1**: 103-120.

Blanco, D. R., Lui, R. L., Bertollo, L. A. C., Diniz, D. & Moreira-Filho, O. 2009. Characterization of invasive fish species in a river transposition region: evolutionary chromosome studies in the genus *Hoplias* (Characiformes, Erythrinidae). **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, **20**: 1-8.

Blanco, D. R., Lui, R. L., Bertollo, L. A. C., Margarido, V. P. & Moreira-Filho, O. 2010. Karyotypic diversity between allopatric populations of the group *Hoplias malabaricus* (Characiformes: Erythrinidae): evolutionary and biogeographic considerations. **Neotropical Ichthyology**, **8**: 361-368.

Blanco, D. R., Lui, R. L., Vicari, M. R., Bertollo, L. A. C. & Moreira-Filho, O. 2011. Comparative cytogenetics of giant trahiras *Hoplias aimara* and *H. intetmedius* (Characiformes, Erythrinidae): chromosomal characteristics of minor and major ribosomal DNA and cross-species repetitive centromeric sequences mapping differ among morphologically identical karyotypes. **Cytogenetic and Genome Research**, **132**: 71-78.

Bohlke, J. E., Weitzman, S. H. & Menezes, N. A. 1978. Estado atual da sistemática dos peixes de água doce da América do Sul. **Acta Amazonica**, **8**: 657-677.

Born, G. G. & Bertollo, L. A. C. 2006. A new sympatric region for distinct karyotypic forms of *Hoplias malabaricus* (Pisces, Erythrinidae). **Brazilian Journal of Biology**, **66**: 205-210.

Born, G.G. & Bertollo, L. A. C. 2001. Comparative cytogenetics among allopatric populations of the fish, *Hoplias malabaricus*. Cytotypes with $2n = 42$ chromosomes. **Genetica**, **110**: 1–9.

Brasil. Ministério do Interior. 1982. Projeto de Desenvolvimento Integrado da Bacia do Araguaia-Tocantins (Brasília, DF). **Diagnóstico da Bacia do Araguaia-Tocantins**: recursos naturais. Brasília: PRODIAT.

Buckup, P. A. & Santos, G.M. 2010. Ictiofauna da Ecorregião Tapajós-Xingu: fatos e perspectivas. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ictiologia**, **98**: 3-9.

Camargo, M., Giarrizzo, T. & Isaac, V. 2004. Review of the geographic distribution of fish fauna of the Xingu river basin, Brazil. **Ecotropica**, **10**: 123–147.

Campbell Jr, K. E., Frailey, C. D. & Pittman, L. R. 2006. The Pan-Amazonian Ucayali Peneplain, late Neogene sedimentation in Amazonia, and the birth of the modern Amazon River system. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology** **239**: 166–219.

Carrasquilla, A., Porsani, M. & Tavares, A. ANO Prospecção de águas subjerraneas no alto Xingu - Pará – com métodos geofísicos eletromagnéticos. **Revista Brasileira de Geociências**, **27**: 221-228.

Cestari, M. M. & Galetti, P. M. 1992. Chromosome evolution in the genus *Serrasalmus* and cytotaxonomic considerations about Serrasalminae (Characidae, Pisces). **Brazilian Journal of Genetics**, **15**: 555-567.

CETEM. 2010. **Delineamento da ecorregião auática Xingu-Tapajós**. Pp. 259. Relatório Técnico elaborado para o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Cioffi, M. B., Martins, C. & Bertollo, L. A. C. 2009a. Comparative chromosome mapping of repetitive sequences. Implications for genomic evolution in the fish, *Hoplias malabaricus*. **BMC Genetics**, **10**: 1-11.

Cioffi, M. B., Martins, C., Centofante, L., Jacobina, U. & Bertollo, L. A. C. 2009b. Chromosomal Variability among Allopatric Populations of Erythrinidae Fish *Hoplias malabaricus*: Mapping of Three Classes of Repetitive DNAs. **Cytogenetic and Genome Research**, **125**: 132-141.

Cioffi, M. B. & Bertollo, L. A. C. 2010. Initial steps in XY chromosome differentiation in *Hoplias malabaricus* and the origin of an X1X2Y sex chromosome system in this fish group. **Heredity**, **105**: 554-561.

Cioffi, M. B., Martins, C. & Bertollo, L. A. C. 2010a. Chromosome spreading of associated transposable elements and ribosomal DNA in the fish *Erythrinus erythrinus*. Implications for genome change and karyoevolution in fish. **BMC Evolutionary Biology (Online)**, v: **10**: 2-9.

Cioffi, M. B., Martins, C., Vicari, M. R., Rebordinos L. & Bertollo, L. A. C. 2010b. Differentiation of the XY Sex Chromosomes in the Fish *Hoplias malabaricus*

(Characiformes, Erythrinidae): Unusual Accumulation of Repetitive Sequences on the X Chromosome. **Sexual Development**, **4**: 176-185.

Dergam, J. A. & Bertollo, L. A. C. 1990. Karyotypic diversification in *Hoplias malabaricus* (Osteichthyes, Erythrinidae) of the São Francisco and Alto Paraná basins. **Brazilian Journal of Genetics**, **13**: 755-766.

Develey, P. F. & Goerck, J. M. 2009 Brazil. Pp 99 – 112 in: Devenish, C., Díaz Fernández, D. F., Clay, R. P., Davidson, I. & Yépez Zabala, I. Eds. Important Bird Areas Americas - Priority sites for biodiversity conservation. Quito, Ecuador: BirdLife International (BirdLife Conservation Series No. 16

Dias, A., Latrubesse, E. & Galinkin, M. 2000. Pp 120. **Projeto corredor ecológico Bananal-Araguaia**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente.

Falcão, J. N. & Bertollo, L. A. C. 1985. Chromosome characterization in Acestrorhynchinae and Cynopotaminae (Pisces, Characidae). **Journal Fish Biology**, **27**: 603-610.

Fernandes, A. M. 2004. **Bandeamento Cromossômico com enzimas de restrição e fluorocromos no gênero *Melipona* (Hymenoptera: Apidae)**. Dissertação Mestrado em Genética e Melhoramento. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Galetti Jr., P. M. 1998. 'Chromosome diversity in neotropical fishes: NOR studies', **Italian Journal of Zoology**, **65**: 1, 53 — 56

Galetti-Jr, P. M. & Martins, C. 2004. Contribuição da hibridação in situ para o conhecimento dos cromossomos dos peixes. Pp 61-88. In: Guerra, M. **FISH: Conceitos e Aplicações na Citogenética**. (1 ed.) Editora da SBG, Ribeirão Preto, São Paulo.

Gayet, M., Jégu, M., Bocquentin, J., & Negri, F. R. 2003. New characoids from the upper Cretaceous and Paleocene of Bolivia and the Mio-Pliocene of Brazil:

phylogenetic position and paleobiogeographic implications. **Journal of Vertebrate Paleontology**, **23**: 28-46.

Géry, J. 1969. The fresh-water fishes of South America, p.828-848. In: J. Fitkau; J. Illies; H. Klinge, G.H. Schwabe and H. Sioli (Eds). **Biogeography and ecology in South America**. The Hague, W. Junk N.V. Publishers.

Giuliano-Caetano, L. & Bertollo, L. A. C. 1988. Karyotype variability in *Hoplerythrinus unitaeniatus* (Characiformes, Erythrinidae). I. Chromosome polymorphism in the rio Negro population (Manaus, state of Amazonas). **Brazilian Journal of Genetics** **11**: 299-306.

Gonçalves, J. & Nicola, R. 2002. Araguaia - Do tranqüilo balanço das águas à turbulência anunciada: lutar é preciso. Mobilização para Conservação das Áreas Úmidas do Pantanal e Bacia do Araguaia. **Coalizão Rios Vivos Ecoa – Ecologia e Ação**.

Guerra, M. S. 1988. **Introdução à citogenética geral**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan.

Hatanaka, T. & Galetti-Jr, P. M. 2003. RAPD markers indicate the occurrence of structured populations in a migratory freshwater fish species. **Genetics and Molecular Biology**, **26**: 19-25.

Henning, F., Trifonov, V. & Almeida-Toledo, L. F. 2008. Use of chromosome microdissection in fish molecular cytogenetics. **Genetics and Molecular Biology**, **31**: 279-283.

Howell, W. M. & Black, D. A. 1986. Controlled silver- staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: as 1-step method. **Experimentia**, **36**: 1014–1015.

Hubert, N. & Renno, F. J. 2006. Historical biogeography of South American freshwater fishes. **Journal of Biogeography**, **33**: 1414–1436.

Imai, H. T. & Maruyama, T. 1978. Karyotype evolution by pericentric inversion as a stochastic process. **Journal of Theoretical Biology**, **70**: 253-261.

Isaac, V., Camargo, M., Giarrizzo, T., Mourão Junior, M., Carvalho Junior, J.R., & Zuanon, J.A.S. 2002. **Levantamento da ictiofauna na região da UHE Belomonte, Altamira, PA**. Eletronorte.

Isbrücker, I.J.H., & Nijssen, H. 1991. *Hypancistrus zebra*, a new genus and species of uniquely pigmented Ancistrine loricariid fish from the Rio Xingu, Brazil (Pisces: Siluriformes: Loricariidae). **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, **1**: 345–350.

Jacobina, U. P. 2008. **Varição cariotípica em populações de *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) (Teleostei: Erythrinidae) em lagos do sudeste do Brasil**. Dissertação de Mestrado em Biologia Animal. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Jacobina, U. P., Carneiro, A., Souza, P. L. & 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**: 617-622.

Jégu, M. 1992a. Nouveaux genre et espèce du Rio Xingu, Amazonie, Brésil (Teleostei: Serrasalminidae). **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, **3**: 235-252.

Jégu, M. 1992b. Influência das alterações climáticas do quaternário sobre a distribuição e evolução dos peixes na Amazônia. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. **Revista Brasileira de Genética**, **15**:1-3.

Jégu, M. & Keith, P. 1999. Le bas Oyapock limite septentrionale ou simple étape dans la progression de la faune des poissons d'Amazonie occidentale. **Sciences de la vie (Paris)**, **322**: 1133–1143.

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.

Kirkpatrick, M. & Barton, N. 2006. Chromosome Inversions, Local Adaptation and Speciation. **Genetics**, **173**: 419–434.

Kullander, S.O. 1991. *Geophagus argyrostictus*, a new species of cichlid fish from the Rio Xingu, Brazil. **Cybium**, **15**: 129–138.

Latrubesse, M. E. & Stevaux, C. J. 2006. Características físico-bióticas e problemas ambientais associados à planície aluvial do Rio Araguaia, Brasil Central. **Revista Goiana de Geociências**, **5**: 65-73.

Latrubesse, M. E., Stevaux, C. J. & Sinha, R. 2005. Grandes Sistemas Fluviais tropicais: Uma visão geral. **Revista Goiana de Geociências**, **1**: 01 -18.

Levan, A., Fredga, K. & Sandberg, A. A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosome. **Hereditas.**, **52**: 201-220.

Lévêque, C., Oberdorff, T., Paugy, D., Stiassny, M.L.J. & Tedesco, P.A. 2008. Global diversity of fish (Pisces) in freshwater. **Hydrobiologia**, **595**:545-567.

Lima, J. E. F. W. 2004. **Diagnóstico do fluxo de sedimentos em suspensão na BACIA Araguaia-Tocantins**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, ANEEL: ANA.

Lima, C. B. 2008. **Varição citogenética em *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) nos limites das Bacia alto Paraguai e Amazonica**. Dissertação de Mestrado em Genética e Melhoramento. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Lovejoy, R. N., Albert, S. J. & Crampton, G. R., W. 2006. Miocene marine incursions and marine/freshwater transitions: Evidence from Neotropical fishes. **Journal of South American Earth Sciences**, **21**: 5-13.

Lowe-McConnell, R.H. 1991. Natural history of fishes in Araguaia and Xingu Amazonian tributaries, Serra do Roncador, Mato Grosso, Brazil. **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, **2**: 63-82.

Lundberg, J. 2001. Freshwater Riches of the Amazon. **Natural History**; **110**: 36-43. 2001.

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. Pp 13-48 In: Malabarba, L.R., R.E. Reis, R.P. Vari, Z.M.S. Lucena; C.A.S. Lucena (eds). **Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes**. Edipucrs, Porto Alegre.

Marques, D.K.S. 2003. **Caracterização genética do pirarucu *Arapaima Gigas* (CUVIER) (Teleostei, Osteoglossidae) da bacia Tocantins-Araguaia, estado do Mato Grosso..** Tese de Doutorado em Genética e Evolução. Universidade Federal de São Carlos, UFSCar.

Martinelli, G. 2007. Mountain Biodiversity in Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, **30**: 587-597.

Martins, C. 2006. Compreendendo o genoma dos peixes. **Boletim Sociedade Brasileira de Ictiologia**, n. 83.

Mello, M. L. S. 1978. Heterocromatina. **Revista Ciência e Cultura**, **30**: 290-303.

Melo, C.E., Lima, J.D., Melo, T.L. & Pinto-Silva, V. 2005. **Peixes do rio das Mortes: identificação e ecologia das espécies mais comuns**. Cuiabá: Pp 147. Unemat.

Merona, B., Juras, A., Santos G. M. & Cintra, I. 2010. **Os peixes e a pesca no baixo Rio Tocantins: vinte anos depois da UHE Tucuruí. Brasília:** Pp 218. Eletronorte.

Ministério do Meio Ambiente (MMA). 2002. Biodiversidade Brasileira: Avaliação e identificação de áreas prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição dos benefícios da biodiversidade nos biomas brasileiros. 404p.

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

Moreira-Filho, O. & Bertollo, L.A.C. 1991. *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae): a species complex. **Revista Brasileira. Genética**, **14**: 331-357.

Morelli, S, Vicari, M. R. & Bertollo, L. A. C. 2007. Evolutionary cytogenetics in species of the Hoplias lacerdae , Miranda Ribeiro, 1908 group. A particular pathway concerning the other Erythrinidae fish. **Brazilian Journal of Biology**, **67**: 897-903.

Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Fonseca, G.A.B. & Kent, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, **403**: 853-849.

Nakayama, C. M., Feldberg, E. & Bertollo, L. A. C. 2008. Mapping of ribosomal genes and chromosomal markers in three piranha species of the genus *Serrasalmus* (Characidae, Serrasalminae) from the Amazon basin. **Genetics and Molecular Biology**, 868-873.

Nascimento, L. S. A. M. 1991. Geomorfologia do estado de Goiás. **Boletim Goiano de Geografia**, **12**: 7-29.

Nelson, J. S. 2006. **Fishes of The World. New York.** Pp. 600. John Wiley & Sons.

Nirchio, M. & Oliveira, C. 2006. **Citogenética de peces.** Pp 216. Caracas: Universidad de Oriente.

Nogueira, C., Buckup, P. A., Menezes, N. A., Oyakawa, O. T., Kasecker, T. P., Ramos-Neto, M. B., da Silva, J. M. C. & Gratwicke, B. 2010. Restricted-Range Fishes and the Conservation of Brazilian Freshwaters. **Plos One**, **5**: e11390.

Oliveira, C. et al., 2007. Base de dados de citogenética de peixes neotropicais. Disponível em: <<http://www.ibb.unesp.br/laboratorios/Freshwater%20Neotropical%20fishes.pdf>>acessado em dezembro de 2010.

Oliveira, C., Foresti, F. & Hilsdorf, A. W. S. 2009. Genetics of neotropical fish: from chromosomes to populations. **Fish Physiology and Biochemistry**, **35**: 81-100.

Oliveira, C., Toledo, L. F. A., Foresti, F., Britski, H. A. & Toledo-Filho, S. A. 1988. Chromosome formulae of Neotropical freshwater fishes. **Revista Brasileira de Genética**, **11**: 577-624.

Oliveira, C. 2005. Revisão dos estudos citogenéticos em peixes neotropicais. **Boletim Sociedade Brasileira de Ictiologia**, **80**: 7-9.

Oyakawa, O. T. 1998. Relações filogenéticas das famílias Pyrrhulinidae, Lebiasinidae e Erythrinidae (Osteichthyes: Characiformes), 200p. Unpublished Ph.D. Dissertation, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Oyakawa, O. T. 2003. Family Erythrinidae. Em *Check List of the Freshwater Fishes of South America* (Reis, R. E., Kullander, S. O. & Ferraris Jr, C.J., eds.), pp 238-240. Porto Alegre: Edipucrs.

Oyakawa, O. T. & Mattox, G. 2009. Revision of the Neotropical trahiras of the *Hoplias lacerdae* species-group (Ostariophysi: Characiformes: Erythrinidae) with descriptions of two new species. **Neotropical Ichthyology**, **7**: 117-140.

Paiva-Pinto. M. 1995. Ictiofauna: **Conhecimento científico para gestão ambiental — Amazônia, cerrado e pantanal**. In: Absy, L. M. Gestão ambiental. 2. Cerrado. 3. Pantanal. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis.

Pazza, R. & Kavalco, K. F.. Key for the Identification of Sex Chromosomes and Chromosomal Polymorphisms. **Cytologia**, **69**: 297-300.

Pieczarka, J. C., Nagamachi, C. Y., Souza, A. C. P., Milhomem, S. S. R., Castro, R. R.N. & Nascimento, A. L. 2006. An adaptation to DAPI-banding to fishes chromosomes. **Caryologia (Firenze)**, **59**: 43-46.

Pinkel, D., Straume, T. & Gray, J. W. 1986. Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, **83**: 2934-2938.

Piorski, N. M., Sanches, A., Costa, L. F. C., Hatanaka, T., Avila, M. C., Freitas, P. D. & Galetti-Jr, P. M. 2008. Contribution of conservation genetics in assessing neotropical freshwater fish biodiversity. **Brazilian Journal of Biology**, **68**: 1039-1050.

Ploeg, A. 1991 **Revision of the South American cichlid genus *Crenicichla* Heckel, 1840, with descriptions of fifteen new species and considerations on species groups, phylogeny and biogeography**. Amsterdam (Netherlands). Academisch Proefschrift, Universiteit van Amsterdam.

Porto, J. I. R, Feldberg, E., Nakayama, C. M. & Falcão, J. N. 1992. A checklist of chromosome numbers and karyotypes of amazonian freshwater fishes. **Revista de Hydrobiología tropical**, **25**: 287-299.

Prioli, S. M. A. P., Prioli, A. J., Júlio-JR., H.F. & Pavanelli, C. S., 2002. Identification of *Astyanax altiparanae* (Teleostei, Characidae) in the Iguaçu River, Brazil, based on mitochondrial DNA and RAPD markers. **Genetics and Molecular Biology**, **25**: 421-430.

Reis, R. E., Kullander, S. O. & Ferraris, C. J. Jr. 2003. **Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America**. Edipucrs, Porto Alegre, 742p.

Rieseberg, L. H. 2001. Chromosomal rearrangements and speciation. **TRENDS in Ecology & Evolution, 16**: 351-358.

Rosa, R., Rubert, M., Caetano-Filho, M. & Giuliano-Caetano, L. 2009. Conserved cytogenetic features in the Amazonian arapaima *Arapaima gigas* (Schinz, 1822) from Jamari River, Rondônia, Brazil. **The Open Biology Journal, 2**: 91-94.

Rosa, R., Rubert, M., Giuliano-Caetano, L. & Martins-Santos, I. C. 2010. Differential chromosomal markers between sympatric karyomorphs of the fish *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) (Characiformes: Erythrinidae). **Comparative Cytogenetics, 4**: 175-184.

Ribeiro, M.C.L.B., Perdigão, V.S.J., Rosa, J.W.C., Rosa, J.W.C., Santos, M.V. A Formação de Águas Emendadas: Uma Explicação Biogeográfica. In: Fernando Fonseca, organizador. Estação Ecológica de Águas Emendadas. Governo do Distrito Federal. (no prelo)

Salomão, R. P., Vieira, I. C. G., Chieno, S., Rosa, N. A., Almeida, S. S., Amaral, D. D. & Menezes, M. P. M. 2007. As florestas de Belo Monte na grande curva do rio Xingu, Amazônia oriental. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Ciências Naturais, 2**: 57-153.

Sampaio, W. M. S. 2008. Microbacia do Araguaia - Bananal: ponto estratégico para o entendimento genético e evolutivo da ictiofauna neotropical. Monografia apresentada ao Departamento de Ciências Biológicas. Universidade do Estado de Mato grosso, Tangará da Serra.

Santos, G. M., Juras, A. A., Merona, B. & Jegu, M. 2004. **Peixes do baixo rio Tocantins. 20 anos depois da Usina Hidrelétrica Tucuruí. Brasília:** Pp 215. Eletronorte.

Santos, G. M., Jegu, M. & Merona, B. 1984. **Catálogo dos peixes comerciais do baixo rio Tocantins. Brasília:** Pp 86. Eletronorte.

Santos, U, Volcker, C. M., Belei, F. A., Cioffi, M. B., Bertollo, L. A. C., Paiva, S. R. & Dergam, J. A. 2009. Molecular and karyotypic phylogeography in the Neotropical *Hoplias malabaricus* (Erythrinidae) fish in eastern Brazil. **Journal of Fish Biology**, **75**: 2326-2343.

Schaefer, S. A. 1998. Conflict and resolution: impact of new taxa on phylogenetic studies of neotropical cascudinhos (Siluroidei: Locariidae). Pp 375-400. In Malabarba, L. R., R. E. Reis, R. P. Vari, Z. M. S. Lucena; C.A.S. Lucena (eds.). **Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes**. Edipucrs, Porto Alegrel.

Schwarzaher, G.H. & Wachtler, F. 1983. Nucleolus orgaziner regions and nucleoli. **Human Genetics: 63**:89-99.

Schweizer, D. 1976. Reverse fluorescent chromosome banding with chromomycin and DAPI. **Chromosoma**, **58**: 307-324.

Sczepanski, T. S., Noleto, R. B., Cestari, M. M. & Artoni, R. F. 2010. A comparative study of two marine catfish (Siluriformes, Ariidae): Cytogenetic tools for determining cytotaxonomy and karyotype evolution. **Micron (Oxford. 1993)**, **41**: 193-197.

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

Sioli, H. 1984. The Amazon and its main affluents: Hydrography, morphology of the river courses, and river types. In: SIOLI, H. (Ed.). The Amazon: Limnology and

landscape ecology of a mighty tropical river and its basin, Dordrecht, Dr. W. Junk Publishers. **Monographie Biologica**; **56**: 127-165.

Souza, I. L. **rDNAS nucleares e bandamentos cromossômicos nos Caracídeos Salmininae E *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characiformes)**. São Carlos (SP), 2001. Tese de Doutorado em Genética e Evolução. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

Spirito F. 1998. The role of chromosomal change in speciation. In: Howard DJ, Berlocher SH (editors). **Endless forms: species and speciation**. Pp. 320–329. New York, USA: Oxford University Press.

Summer, A. T. 1990. **Chromossome banding**. Pp 434. London: /Unwin Hyman.

Summer, A. T. 2003. Chromossomes: organization and function. **Blackwell Science**. 287p.

Sumner, A. T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. **Experimental Cell Research**, vol. **75**: 304-306.

Swarça A. C., Fenocchio, A. S., Cestari, M. M. & Dias, A. L. 2003. Analysis of heterochromatin by combination of C-banding and CMA3 and DAPI staining in two fish species (Pimelodidae, Siluriformes). **Genetica**, **119**: 87-92.

Swarça, A. C., Dias, A. L., Cestari, M. M. & Fenocchio, A. S. 2008. Analyses of the NORs in two species of south American Pimelodidae fishes by means of several cytogenetic techniques. **Folia Biologica**, **60**: 31-35.

Tokarski, D. J. 2006. **Estudo regional da região hidrográfica do Tocantins-Araguaia**. Relatório Parcial, minuta do caderno regional. Pp. 288. In: Plano Nacional de Recursos hídricos. Panorama e estado dos recursos hídricos. Ministério do Meio Ambiente: MMA.

Tremethick, D. 2006. Chromatin: the dynamic link between structure and function. **Chromosome Research**, **14**:1–4.

UNEP, 2004. Barthem, R. B., Charvet-Almeida, P., Montag, L. F. A. & Lanna, A.E. **Amazon Basin, Global International Waters Assessment. Regional assessment 40b**. University of Kalmar, Kalmar, Sweden.

Val, A. L. & Almeida-Val, V. M. F. 1995. **Fishes of the Amazon and their Environment. Physiological and Biochemical Features. Heidelberg** : Pp 224. Springer-Verlag.

Valente, R. C. 2003. **Controles físicos na evolução das unidades geoambientais da bacia do rio Araguaia, Brasil central. Goiânia (GO), 2007**. Tese de Doutorado em Ciências Ambientais. Universidade Federal de Goiás, Goiânia .

Vari, P. R. & Malabarba, R. L. 1998. Neotropical ichthyology: An Overview. Pp 1-11 In: Malabarba, L. R., R. E. Reis, R. P. Vari, Z. M. S. Lucena & C. A. S. Lucena (eds). **Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes**. Edipucrs, Porto Alegre.

Verma, R. S. & Babu, A. 1995. **Human chromosomes**. Pp 419. Principles and techniques. New York: Mc Graw Hill Inc.

Vicari, M. R., Artoni, R. F. & Bertollo, L. A. C. 2005. Comparative cytogenetics of *Hoplias malabaricus* (Pisces, Erythrinidae): a population analysis in adjacent hydrographic basins. **Genetics and Molecular Biology**, **28**: 103-110.

Vicari, M. R., Artoni, R. F. & Bertollo, L. A. C.. Heterochromatin polymorphism associated with 18S rDNA: a differential pathway among *Hoplias malabaricus* fish populations. 2003. **Cytogenetic and Genome Research**, **101**: 24-28.

Vicari, M. R., Pazza, R., Artoni, R. F., Margarido, V. P. & Bertollo, L. A. C. 2006. Cytogenetics and biogeography: Considerations about the natural origin of *Hoplias*

malabaricus (Characiformes, Erythrinidae) on the Iguaçu river. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, **49**: 297-303.

Vitorino, C. A., Souza, I. L. & Venere, P. C. 2007a. Confirmação de um novo citótipo para *Hoplias malabaricus* (Characiformes, Erythrinidae). In: Encontro de Biólogos do CRBio-01 (SP,MT,MS), Cuiabá, MT. **Anais do 18º Encontro de Biólogos do CRBio-01 (SP,MT,MS)**.

Vitorino, C. A., Silva, L. P., Venere, P. C. & Souza, I. L. 2007b. Citogeografia dos peixes erythrinídeos *Hoplias malabaricus* (traíra) e *Hoplerethrinus unitaeniatus* (jeju) do médio araguaia. In: Congresso de Ecologia do Brasil, Caxambu, MG. **Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil**.

Wasko, A. P. & Galetti Jr., P. M. 2002. RAPD analysis in the Neotropical fish *Brycon lundii*: genetic diversity and its implications for the conservation of the species. **Hydrobiologia**, **474**: 131-137.

Wichman, H. A., Payne, C. T., Ryder, O. A., Hamilton, M. J., Maltbie, M. & Baker, R. J. 1991. Genomic distribution of heterochromatic sequences in equids: implications to rapid chromosomal evolution. **Journal of Heredity**, **82**: 369-377.

White, M. J. D. 1973. Chromosomal Polimorphism in natural Populations. 231-284. In: **Animal Cytology and Evolution**. (3º ed.) The University Press Crambridge.

Zuanon, J. A. S. 1999. História Natural da ictiofauna de corredeiras do rio Xingu, na região de Altamira, Pará. Tese de Doutorado em Ecologia. Universidade de Campinas, Campinas.

Zuanon, J. A. S. 2001. **Estudo das espécies ícticas e opções de manejo piscícola no parque estadual do Cantão - estado do Tocantins**. Fundação Djalma Batista - Convênio FDB / INPA. 221p.