

**LORENE CARLA DOS REIS**

**PRIMEIRO REGISTRO DE *Pimelodus microstoma* STEINDACHNER, 1877  
(SILURIFORMES: PIMELODIDAE) NA BACIA DO RIO PARAÍBA DO SUL,  
MINAS GERAIS, BRASIL A PARTIR DE DADOS CARIOTÍPICOS E DE  
BARCODING**

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

Orientador: Jorge A. Dergam dos Santos

Coorientadora: Natália Martins Travenzoli

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2021**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

R375p  
2021

Reis, Lorene Carla, 1982-

Primeiro registro de *Pimelodus microstoma* Steindachner, 1877 (Siluriformes: Pimelodidae) na bacia do rio Paraíba do Sul, Minas Gerais, Brasil a partir de dados cariotípicos e de barcoding / Lorene Carla Reis. – Viçosa, MG, 2021.

74 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndice.

Orientador: Jorge Abdala Dergam dos Santos.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Mandi (Peixe) - Distribuição geográfica - Paraíba do Sul, Rio, Bacia (RJ, SP e MG). 2. Mandi (Peixe) - Citogenética.

I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Animal. Programa de Pós- Graduação em Biologia Animal.

II. Título.

CDD 22. ed. 597.49

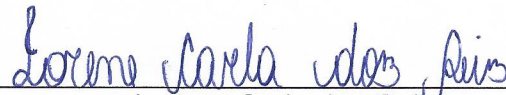
**LORENE CARLA DOS REIS**

**PRIMEIRO REGISTRO DE *Pimelodus microstoma* STEINDACHNER, 1877  
(SILURIFORMES: PIMELODIDAE) NA BACIA DO RIO PARAÍBA DO SUL,  
MINAS GERAIS, BRASIL A PARTIR DE DADOS CARIOTÍPICOS E DE  
BARCODING**


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

APROVADA: 03 de março de 2021.

Assentimento:



\_\_\_\_\_  
Lorene Carla dos Reis  
Autora



\_\_\_\_\_  
Jorge Abadala Dergam dos Santos  
Orientador

## AGRADECIMENTOS

Não posso deixar de agradecer a Deus, muitas vezes me sentir comparada, incapaz Ele me ofereceu forças, ânimo e coragem para continuar e alcançar minha meta... se não fosse as mãos dEle estendidas sobre mim não teria alcançado meu objetivo.

A mim.

Ao Prof. Jorge Abdala Dergam dos Santos, meu orientador, por todos os ensinamentos e oportunidades, e por toda a confiança e amizade. Obrigada.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de estudos.

Aos tripulantes do Beagle: Késsia, José, Victor, Priscilla, Cidmar, Linda, Nath Travenzoli, Natalia Vicente, Fernanda, Lucas, Bruno, Simone, Manu Karine, Wander, Fred, Pedro Yan, Vinícius, Larissa, Igor, Thais, Dani, Mari ... Perdão se me esqueci de alguém, cada um teve sua importância. Obrigada pela amizade, pelos momentos de descontração, e por todo o apoio.

Um agradecimento especial à Késsia (meu amuleto da sorte) por todas as ajudasssssssssss... você foi FUNDAMENTAL para esse trabalho...

Ao José, muito obrigada pelos ensinamentos, amizade, companheirismo, incentivo... você foi uma peça ÍMPAR para este trabalho. Uma amizade construída no mestrado que vai além do Brasil.

Ao Cidmar, sempre disposto a me ajudar...obrigada pelos ensinamentos, amizade, este trabalho também é seu...voa Garotoo tem um mundão aguardando por você!

Vituuu, obrigada pela amizade e convívio, e por sempre me ajudar no que fosse preciso, mesmo a distância.

A Linda, sempre me animando ir ao laboratório nesta reta final... Ôh, Linda !

A Gisele Amaro Teixeira, nesta reta final sempre disposta a me ajudar no que fosse preciso.

A Natália Martins Travenzoli, minha coorientadora, obrigada pelos ensinamentos.

À secretária da Pós-Graduação Adnilson, por toda a ajuda e paciência com os processos e dúvidas da pós.

Ao Raul Silveira Melo, e a empresa Vert Consultoria Ambiental, pelas doações dos espécimes.

A minha família, peça fundamental, a quem serei sempre grata. Papai, você é um exemplo de profissional, que nunca desiste. Com você aprendi a nunca medir esforços. Mamãe, seu afeto, preocupação e carinho são características que levo para minha vida pessoal, modelo de equilíbrio. Amo muito vocês!!

Minhas irmãs Tati e Wilma (In memoriam) obrigada pelo incentivo e carinho de sempre.

As minhas sobrinhas Débora e Joice e ao meu sobrinho Leandro Junio, tia Loh ama vocês!

A toda a minha família, tias e tios, primas e primos em especial a Magali e Thais, obrigada pelo incentivo sempre. Obrigada em especial, aos meus avós Manoel, Elmita e Nazaré que sempre cuidaram de mim, e que mesmo não estando mais aqui, sei que certamente estão muito orgulhosos e contentes. Amo vocês. Saudades eternas.

Ao Gleidson, pela paciência, apoio, conselhos, risadas, amor e carinho, por ser meu melhor amigo e por me dar forças para que eu nunca desistisse dos meus sonhos... te amo.

A Elenir, que está sempre me mandando energias positivas, sempre ali com um ombro amigo para conversar, ler um artigo, me ajudar nas revisões, ou para darmos altas risadas... adoro!!!!!!

A Damaris, obrigada pela amizade, pelo apoio e por sempre me ajudar no que fosse preciso, mesmo distante....Do Budegas → Mundoo

A Dona Lena, Senhor Ivanil e pelo acolhimento, carinho,... sou eternamente grata pelo que vocês fazem por mim.

Às minhas amigas queridas que Viçosa, Kamila, Nat, Ludi, Lari, Rosi... Selo Chanel Qualidade. Obrigada pela amizade, pelas risadas, pelo apoio e por estarem sempre do meu lado.

**VALEU A PENA TER VOCÊS TODOS COMIGO!**

## RESUMO

REIS, Lorene Carla dos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2021. **Primeiro registro de *Pimelodus microstoma* Steindachner, 1877 (Siluriformes: Pimelodidae) na bacia do rio Paraíba do Sul, Minas Gerais, Brasil a partir de dados cariotípicos e de barcoding.** Orientador: Jorge Abdala Dergam dos Santos. Coorientadora: Natália Martins Travenzoli.

Pimelodidae possui 114 espécies que são amplamente distribuídas ao longo da região Neotropical. *Pimelodus* é o gênero com o maior número de espécies e filogeneticamente um grupo polifilético. Dentre as espécies do gênero, *Pimelodus microstoma* Steindachner, 1877 (Siluriformes: Pimelodidae) é uma espécie típica da bacia do rio Alto Paraná do estado de São Paulo, que morfológicamente apresenta um padrão de cor cinza uniforme com apenas alguns pontos escuros (às vezes muito fracos ou ausentes), presença de uma nadadeira adiposa longa, boca pequena e um barbilhão maxilar pequeno. Citogeneticamente, essa espécie se caracteriza por apresentar conservadorismo no número diploide ( $2n$ ), no padrão de distribuição da heterocromatina e na localização dos sítios Ag-RONs. Nesse contexto, este estudo descreve a primeira ocorrência de *P. microstoma* na bacia do rio Paraíba do Sul nos rios Pomba e Novo, no estado de Minas Gerais, Brasil, afim de melhor contribuir para o entendimento de processos evolutivos, de problemas taxonômicos, biogeográficos e filogenéticos. Foram aplicadas técnicas convencionais de análises cromossômicas (Giemsa, banda C e AgRONs), padrões de marcação das sondas de DNA repetitivo ( $GA_{(15)}$  e  $CA_{(15)}$ ) além de análises filogenéticas moleculares utilizando o gene citocromo oxidase subunidade I (COI). Os indivíduos de *P. microstoma* apresentaram o mesmo o padrão morfológico, citogenético e molecular dos indivíduos de *P. microstoma* do rio Mogi-Guaçu, pertencente à bacia do Alto Paraná, estado de São Paulo. Foi observado um conservadorismo no número diploide de  $2n=56$  cromossomos, uma pequena quantidade de heterocromatina distribuída na região dos telômeros de alguns cromossomos. Além de sítios de marcações das AgRONs presentes no braço maior do par de cromossomos submetacêntrico 17. Os microssatélites  $CA_{(15)}$  e  $GA_{(15)}$  apresentaram um padrão de distribuição preferencial nas regiões terminais da maioria dos cromossomos. A filogenia obtida com o gene COI indicou a falta de estruturação na rede de haplótipos com baixa distância molecular entre as espécies

de *P. microstoma* nas bacias do rio Paraíba do Sul e do Alto Paraná. Sendo assim, estes dados corroboram que os representantes de *P. microstoma* de ambas as bacias compreendem ser uma única espécie. Portanto, *P. microstoma* é uma espécie introduzida no rio Paraíba do Sul por evento de cabeceira, sendo sua identificação confirmada por análises morfológicas, citogenéticas e moleculares, representando assim o primeiro registro da espécie fora da bacia do Alto Paraná.

Palavras-chave: Dissertação. Bacia do rio Paraíba do Sul. Biogeografia. Citogenética Clássica e Molecular. Filogenia Molecular.

## ABSTRACT

REIS, Lorene Carla dos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2021. **First record of *Pimelodus microstoma* Steindachner, 1877 (Siluriformes: Pimelodidae) in the Paraíba do Sul river basin, Minas Gerais, Brazil from karyotype and barcoding data.** Adviser: Jorge Abdala Dergam dos Santos. Co-Adviser: Natália Martins Travenzoli.

Pimelodidae has 114 species that are widely distributed throughout the Neotropics. *Pimelodus* is the genus with the largest number of species, and, phylogenetically, it is a polyphyletic group. *Pimelodus microstoma* Steindachner, 1877 (Siluriformes: Pimelodidae) is a typical species from the Alto Paraná basin in the state of São Paulo, Minas Gerais, Brazil, which morphologically presents a uniform gray color pattern with only a few dark spots (sometimes very light or absent), presence of a long adipose fin, small mouth and jaw. Cytogenetically, this species is characterized by conservatism in the diploid number ( $2n$ ), heterochromatin distribution pattern and location of Ag-RONs sites. In this context, this study describes the occurrence of *P. microstoma* in the Paraíba do Sul river basin in the Pomba and Novo rivers, in the state of Minas Gerais, Brazil, in order to better contribute to the understanding of evolutionary processes, and taxonomic, biogeographical and phylogenetic issues. Conventional chromosomal analysis techniques (Giemsa, C band and AgRONS), repetitive DNA probes  $GA_{(15)}$  and  $CA_{(15)}$  marking patterns, and molecular phylogenetic analyzes using the subunit I cytochrome oxidase gene (COI) were applied. The individuals of *P. microstoma* presented the same morphological, cytogenetic and molecular patterns as individuals of *P. microstoma* from the Mogi-Guaçu river, which belong to the Alto Paraná basin, state of São Paulo. A conservatism was observed in the diploid number of  $2n = 56$  chromosomes, with small amount of heterochromatin distributed in the region of the telomeres of some chromosomes, besides the AgRON marking sites be present in the larger arm of the submetacentric chromosome pair 17. Microsatellites ( $CA_{(15)}$  and  $GA_{(15)}$ ) showed a distribution pattern preferentially in the terminal regions of most chromosomes. The phylogeny obtained with the COI gene indicated the lack of structure in the haplotype network, with low molecular distance between *P. microstoma* species in the Paraíba do Sul and Alto Paraná basins. Therefore, these data corroborate that the representatives of *P. microstoma* from both basins are a single species. Therefore, *P.*

*microstoma* is a species introduced in the Paraíba do Sul river by headwater piracy event, being its identification confirmed by morphological, cytogenetic and molecular analyzes, and thus representing the first record of the species outside the Alto Paraná basin.

Keywords: Dissertation. Biogeography. Classical and Molecular Cytogenetics.

Molecular Phylogeny. Paraíba do Sul River Basin.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Bacia do rio Paraíba do Sul.....	20
Figura 2 – Locais de coletas dos espécimes na bacia Paraíba do Sul.....	47
Figura 3 – Cariótipo da espécie <i>P. microstoma</i> da bacia Paraíba do Sul: Giemsa (a); padrões heterocromáticos obtidos com a banda C (b); NORs simples obtidas através de impregnação por prata (c) e FISH com as sondas GA <sub>(15)</sub> (d) e CA <sub>(15)</sub> (e). ....	52
Figura 4 – Em (a) rede de haplótipos: em verde <i>P. microstoma</i> das bacias hidrográficas Paraíba do Sul e Alto Paraná. Em azul: <i>P. fur</i> da bacia do São Francisco. Os traços em cada ramificação referem-se ao número de etapas mutacionais entre os haplótipos. Em (b) Árvore de Neighbor Joining de 28 sequências usando distâncias genéticas, com comprimentos de ramificação equivalentes ao número de substituições de bases por local. ....	55
Quadro 1 - Espécies de <i>Pimelodus microstoma</i> coletados nos rios da Bacia Paraíba Sul com seus respectivos números de voucher .....	48

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL.....	11
1.1	Caracterização morfológica.....	11
1.2	Caracterização citogenética clássica .....	12
1.3	Caracterização citogenética molecular.....	14
1.4	Filogenia no gênero pimelodus .....	17
1.5	Caracterização das bacias hidrográficas.....	20
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23
2.	OBJETIVOS.....	42
2.1	Objetivos gerais .....	42
2.2	Objetivos específicos .....	42
1.	INTRODUÇÃO.....	44
2.	MATERIAIS E MÉTODOS .....	46
2.1	Análises Morfológicas .....	47
2.2	Análises Citogenéticas .....	48
2.3	Análises Moleculares .....	49
3.1	Resultados Morfológicos e Citogenéticos .....	50
3.2	Resultados Moleculares .....	53
3.	DISCUSSÃO.....	56
	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	61
	APÊNDICE A - Chave provisória de espécies de <i>Pimelodus microstoma</i> do Alto Rio Paraná segundo Ribeiro & Lucena (2007). .....	71
	APÊNDICE B - Espécie <i>Pimelodus microstoma</i> código, número de tombo, localização, drenagem e país de origem e dados. Resumo e dados de COI publicados anteriormente baixados no bold e genbank.....	73
	APÊNDICE C - Medições morfométricas e merísticas de espécimes de <i>P. microstoma</i> do alto rio Paraná e do rio Paraíba do Sul, Brasil. Os resultados são apresentados em porcentagem (%) e o comprimento padrão em milímetros (mm)..	74

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

### 1.1 Caracterização morfológica

A ordem Siluriforme é composta por cerca de 3.730 espécies válidas de peixes, distribuídas em 40 famílias e 490 gêneros (Nelson, 2016; Fricke et al., 2020), das quais 1.000 destas espécies ocorrem no Brasil (Buckup et al., 2007). Essas espécies possuem ampla distribuição, sendo encontrados comumente em fundos de rios, desde ilhas até ambientes costeiros em todos os continentes, exceto na Antártida (Grande & Eastman 1986; Britski 1991).

Conhecidos como acaris, mandis, bagres e cascudos caracterizam-se por apresentarem hábitos predominantemente crepusculares, noturnos e serem sedentários (Britski 1991). Exibem desde pequeno até grande porte, apresentando hábitos sedentários (os quais contribuem para a grande dificuldade apresentada por estes peixes em superar cachoeiras ou corredeiras que se interpõem às suas raras migrações), sendo encontrados no fundo de rios, escondendo-se por entre as pedras e vegetação (Britski 1991). Quanto à morfologia, as espécies dessa ordem caracterizam-se pela ausência de escamas no corpo, sendo o mesmo envolto total ou parcialmente por uma pele espessa ou placas ósseas. Além disso, os espécimes não apresentam dentes, mas possuem placas dentárias e três pares de barbilhões. As nadadeiras são raiadas, com o primeiro raio das nadadeiras dorsal e peitoral transformado em um acúleo forte e pungente, a nadadeira adiposa é bem desenvolvida e a nadadeira caudal possui formato variável (Mess 1974; Britski et al. 1988; Nelson 2016).

Dentre as famílias dessa ordem, a família Pimelodidae é endêmica da região Neotropical, compreende 114 espécies válidas (Fricke Eschmeyer and Fong 2020) e exhibe maior diversidade de espécies nas bacias do Amazonas, Paraná e Orinoco e

grandes rios das Guianas (Lundberg & Littman 2003). O gênero *Pimelodus* Lacepède 1803 é o mais diversificado, sendo amplamente distribuído em toda a região Neotropical, apresentando 30 espécies válidas (Eschmeyer et al., 2020). *Pimelodus* não evidencia uma hipótese de filogenia monofilética, pois a inclusão de espécies no gênero é baseada em caracteres não-cladísticos, propostos até o século XIX, o que provavelmente levará muitas espécies a serem realocadas após estudos filogenéticos (Ribeiro et al. 2008; 2011). A ausência de monofiletismo é evidente no estudo filogenético de Lundberg, et al. (2011), em que as espécies analisadas de *Pimelodus* foram separadas em quatro clados com outros diferentes gêneros. O grupo *Pimelodus* (*sensu* Lundberg et al. 2011) inclui espécies de *Pimelodus* com exceção de *Pimelodus ornatus* Kner, 1858 e *Pimelodus* cf. *altissimus* Eigenmann e Pearson, 1942 e um clado irmão formado por *Iheringichthys* e *Parapimelodus*.

Nesse gênero, a inserção das espécies é feita com base em um diagnóstico morfológico (Ribeiro, et al., 2008). Assim, a semelhança nos padrões morfológicos e o grande número de representantes no gênero são fatores dificultam a verdadeira identificação taxonômica das espécies *Pimelodus* (Ribeiro & Lucena 2006).

## 1.2 Caracterização citogenética clássica

Os peixes das ordens Characiformes e Siluriformes são os que possuem o maior número de estudos citogenéticos (Artoni et al. 2000; Silva et al. 2012; Travenzoli et al. 2015; Conde-Saldaña et al. 2017, 2019; Cunha et al. 2018). Em Siluriformes, as análises cromossômicas evidenciaram uma grande variação em número diploide entre as espécies, tais como a presença de 20 cromossomos em *Pterolebis longipinnis* e de até 134 cromossomos em *Corydoras aeneus* (Oliveira et

al. 2000; 2006). Embora os estudos citogenéticos tenham revelado aspectos importantes sobre a história evolutiva de suas espécies, das 114 espécies de Pimelodidae, apenas 34 apresentam análises citogenéticas (Girardi et al. 2018). Os dados disponíveis para a família indicam o predomínio de  $2n = 56$  cromossomos (Girardi et al. 2018), que é sugerido como o número diploide ancestral para a ordem Siluriformes (Oliveira & Gosztanyi 2000; Moraes-Neto et al. 2011), um aspecto que foi contestado por Eler et al (2007) no estudo da posição basal do doradídeo *Wertheimeria maculata*. Do total de espécies, apenas seis possuem o número diploide diferente de 56 cromossomos, sendo elas: com  $2n = 50$  cromossomos *Calophysus macropteros*, *Pinirampus pirinampu* e *Luciopimelodus plati* (Ramirez-Gil et al. 1998; Vasconcelos & Martins-Santos, 2000; Sánchez et al. 2010). *Pimelodus fur* e *Megalonema platanum* exibem  $2n = 54$  cromossomos (Sánchez et al. 2000; Garcia & Moreira-Filho 2008; Carvalho-Costa et al. 2011) e *Pimelodus blochii* com  $2n = 58$  cromossomos (Della-Rosa et al. 1980).

Além da grande variação do número de cromossomos, as espécies dessa família também se caracterizam por apresentar pouca quantidade de heterocromatina nos cromossomos (Girardi et al. 2018). Nos cariótipos dessas espécies, os blocos heterocromáticos geralmente estão localizados nas regiões terminais, centroméricas e/ou pericentroméricas dos cromossomos (Dias & Foresti 1993; Garcia & Moreira-Filho 2005; Ferreira et al. 2014; Swarça et al. 2017; 2018). O padrão é semelhante ao observado nas regiões organizadoras de nucléolos (RONS) e evidenciam marcações localizadas na região terminal do braço longo de um par de cromossomos subtelocêntricos (23 ou 24) (Dias & Foresti 1993; Borin & Martins-Santos 2002; Treco & Dias 2009; Carvalho et al. 2010; 2011; Matoso et al. 2011; Swarça et al. 2013; 2017; 2018; Girardi et al. 2018; Malimpensa et al. 2018).

Embora os dados citogenéticos sejam relativamente escassos em Pimelodidae, os padrões de marcações cromossômicas, somados às informações morfológicas, têm auxiliado na identificação de espécies simpátricas e nas relações citotaxonômicas entre espécies da família (Swarça et al. 2007).

### **1.3 Caracterização citogenética molecular**

Diversos grupos de eucariotos apresentam variações na quantidade de DNA, o que não se relaciona com a quantidade de genes apresentados, já que isso ocorre independentemente da complexidade do organismo (Gregory 2005). Esses padrões de variação podem estar atribuídos as diferentes quantidades de DNAs repetitivos (Doolittle & Sapienza 1980; Cavalier-Smith 1985; Kidwell 2002; Gregory et al. 2007). Atualmente, sequências de DNAs repetitivos estão sendo muito utilizadas em peixes, pois evidenciam dados consistentes que auxiliam na melhor compreensão do genoma, tanto na estrutura quanto na organização (Silva et al. 2013; Utsunomia et al. 2014; Barbosa et al. 2015), na evolução genômica de espécies, na detecção de homeologias cromossômicas, na diversificação de cromossomos sexuais e origem de cromossomos B (Vicari et al. 2010), na elucidação de problemas taxonômicos (Bellafronte et al., 2005; Blanco et al., 2011), filogenéticos (Teixeira et al. 2009), mapeamento de genomas (Ferreira et al. 2010), diferenciações populacionais (Martinez, et al. 2011), relações biogeográficas (Vicari et al. 2005), entre outros.

DNAs repetitivos são sequências de DNA que se repetem diversas vezes, constituindo assim grandes frações do genoma eucarioto (Lewin 2014), a maioria dos DNAs repetitivos está localizada nas porções heterocromáticas (Griffiths et. al. 2006), sendo classificados em codificador, quando apresenta funções biológicas

bem definidas e não codificador quando o conjunto de sequência dispersas no genoma ou se repetem in tandem (Griffiths et al. 2006).

Dentre os codificantes, temos os DNAs ribossomais (rDNA) que vêm sendo utilizados com grande frequência em estudos citogenéticos em peixes neotropicais (Griffiths et al. 2006). Os rDNAs, são sequências repetitivas dispostas in tandem que codificam RNA ribossômico muito conservadas evolutivamente e podem ser encontradas em todos os eucariotas (Eickbush & Eickbush, 2007). O rDNA em eucariotas superiores é organizado em duas famílias multigênicas distintas, sendo a família maior é formada pelo rDNA 45S, que inclui os genes rDNA 18S, 5.8S e 28S e a família menor, é constituída pelo rDNA 5S (Martins & Wasco 2004). Essas sequências possuem alto grau de conservação molecular, consideradas importantes marcadores citotaxonômicos onde auxiliam no entendimento da estrutura do genoma e nas relações evolutivas em muitos grupos de peixes (Martins & Galetti Jr. 1999; 2000; Silva et al. 2013; Traldi et al. 2012; 2013; 2016; Swarça et al. 2017).

Dentre os DNAs repetitivos não codificantes, temos os microsatélites, minissatélites e DNA satélites, ou dispersos pelo genoma como os elementos transponíveis. (Charlesworth et al. 1994; Sumner 2003). Os microsatélites ou sequências simples repetidas (Simple Sequence Repeats - SSRs) sequências curtas de DNA, constituídos de 1 a 6 nucleotídeos com repetições in tandem. Localizam-se em sua maioria nas regiões não codificantes do genoma, podendo ocorrer em regiões codificantes (Toth; Gáspári; Jurka, 2000). Muito utilizados em estudos sobre a evolução do genoma de diversos organismos (Schneider et al. 2015), abrangendo peixes (Cioffi et al. 2011; Terencio, et al. 2015; Yano et al. 2014; Scacchetti et al. 2015; Pucci et al. 2016; Gouveia, et al. 2017; de Moraes et al. 2017; Utsunomia et al. 2018).

Os satélites ou satDNAs têm cerca de 100 a 300 pares de bases (pb), número de cópias pode ser 1.000-10.000 no genoma, sendo o principal componente da heterocromatina (John 1988; Martins 2007). Em virtude das sequências de satDNA serem organizadas de forma espécie-específicas (Martins 2007; Milani et al. 2017), muitos estudos citogenéticos em peixes neotropicais estão analisando essas sequências (Mestriner et al. 2000; Jesus et al. 2003; Vicari et al. 2010). Os minissatélites (VNTR – Variable Number of Tandem Repeat) possuem 10 a 60 pares de base (pb), 5-50 cópias no genoma, podem ser considerados bons marcadores individuais e específicos por apresentar intensa dinâmica evolutiva (Martins 2007), sendo utilizado em estudos sobre evolução cariotípica de peixes, devido ao mapeamento físico dessa sequência ser possível detectar rearranjos cromossômicos (Margarido & Moreira-Filho 2008; Cioffi & Bertollo, 2012; Rosa et al. 2012; Traldi et al. 2013; Pucci et al. 2016).

Enquanto os elementos transponíveis, ou transposons, se encontram dispersos no genoma em diversas cópias, podendo promover a variabilidade do genoma, produzindo mutações reguladoras e rearranjos cromossômicos (Charlesworth, et al. 1994; Sumner 2003; Syvanen 1984). Essas sequências são caracterizadas por apresentar terminações repetidas invertidas e a presença genes codificantes para a enzima transposase (Charlesworth, et al. 1994).

Os estudos citogenéticos moleculares em Siluriformes são escassos, principalmente para espécies de regiões neotropicais. A maioria das análises para o gênero *Pimelodus* utiliza isozimas (Renesto et al. 2000) e amplificação aleatória de marcadores de DNA polimórfico (RAPD) (Almeida et al. 2003). Em Pimelodidae, dados moleculares também são escassos, e em sua maioria, apresentam mapeamento físico dos genes 45S e 5S DNAr (revisado em Girardi et al. 2018;

Malimpensa et al. 2018; Swarça, et al. 2018). Esses estudos indicaram que a maioria das espécies estudadas em Pimelodidae possuem sítios 5S rDNA em pelo menos um par com localização intersticial, pericentromérica ou subterminal, exceto *P. maculatus* (Ferreira et al. 2014; Girardi et al. 2018) e *Iheringichthys labrosus* (Lütken, 1874) (Carvalho & Dias 2007) que evidencia a região telomérica.

A maioria das espécies de peixes apresentam esses sítios de rDNA na posição intersticial, supondo que este padrão não é por acaso, podendo representar alguma vantagem em relação à organização dessas sequências em vertebrados (Martins & Galetti Jr 2001).

Espécies do grupo *Pimelodus* sensu Lundberg et al. (2011) apresentam esses sítios ribossomais localizados nos braços longos, e o restante das espécies de Pimelodidae nos braços curtos dos cromossomos. Sendo assim, sítios ribossomais evidenciados nos cariótipos podem ser considerados um importante marcador citotaxonômico para o grupo.

#### **1.4 Filogenia no gênero pimelodus**

Os Siluriformes possuem uma história evolutiva particular, por isso têm sido o foco de muitas pesquisas. Considerado como um modelo para a investigação de relações continentais históricas e padrões biogeográficos por exemplo, variação versus dispersão (Grande et al. 1986; Gayet et al. 2003; Diogo 2004; Peng et al. 2006; Betancur 2009; Nakatani et al. 2011; Chen et al. 2013). Embora, análises de relógios moleculares sugiram uma origem muito mais antiga (97-180 Ma) do grupo (Peng et al. 2006; Nakatani et al. 2011; Chen et al. 2013), ainda não existe uma elucidação entre gêneros e o monofiletismo do grupo (Lundberg et al. 1988, 1991b, Pinna 1998).

Além das dificuldades na identificação taxonômica e na obtenção de uma relação filogenética entre as espécies, outro problema observado na ordem é sua grande diversificação devido a vários eventos biogeográficos terem moldado a distribuição moderna das diferentes famílias. Portanto, tanto a linha do tempo quanto o modo (deriva continental versus dispersão intercontinental) da distribuição dos siluriformes ainda são incertos (Diogo 2004; Hardman 2005; Lundberg et al. 2007; Nakatani et al. 2011; Chen, et al. 2013).

Diogo (2004) analisou duas hipóteses biogeográficas que retratam a diversificação dos Siluriformes e uma terceira hipótese foi proposta. Na primeira hipótese, conhecida como "hipótese tradicional", foi sugerido que conexões existentes do Paleoceno, exatamente no Eoceno, além de passagens continentais para as áreas da Laurásia deram passagem para os siluriformes para a Gondwana. Já a segunda hipótese, denominada como "hipótese marinha", sugere uma origem e dispersão marinha, levando à atual distribuição mundial de bagres. E a terceira hipótese, propõe um complexo de arranjos biogeográficos envolvendo dispersões pré e pós-deriva, eventos vicariantes e possíveis migrações marinhas.

Incertezas taxonômicas são comuns entre os peixes neotropicais, e grande parte delas vem sendo investigada por meio de metodologias moleculares, especialmente a do DNA barcoding (Pereira et al. 2013), a qual tem sido também empregada para o estabelecimento de relações filogenéticas (Ramirez & Galetti Jr. 2015). A identificação e classificação de peixes siluriformes baseada apenas em caracteres morfológicos podem gerar uma identificação muitas vezes equivocada (Hebert et al. 2003), dessa maneira os caracteres morfológicos são mormente utilizados no diagnóstico e delimitação das espécies (Ribeiro et al. 2008). Muitas

espécies têm sido realocadas após a realização de estudos filogenéticos e moleculares (Garavello & Shibatta 2007; Girardi et al. 2018).

Com o intuito de diferenciação de espécies próximas, pesquisadores vêm utilizando dados morfológicos e citogenéticos. Contudo, ferramentas moleculares são eficientes quando essa identificação se torna complicada. A abordagem molecular acrescenta informações importantes para a elucidação das relações filogenéticas, estudos populacionais, entre outros (Peixoto 2011).

A biologia molecular vem sendo amplamente utilizada com inúmeras finalidades, dentre elas a detecção de variabilidade genética, viabilizando a obtenção de um número grande de marcadores moleculares (microsatélites e sequências de DNA nuclear e mitocondrial) (Oliveira et al. 2006; Sunnucks 2000).

Uma ferramenta molecular que vem sendo utilizada para auxiliar a identificação das espécies e para a realização de comparação de populações e o sequenciamento do gene COI (Nwani et al 2010; Quezada-Romegelli 2010; Ardura et al. 2010; Wong 2011).

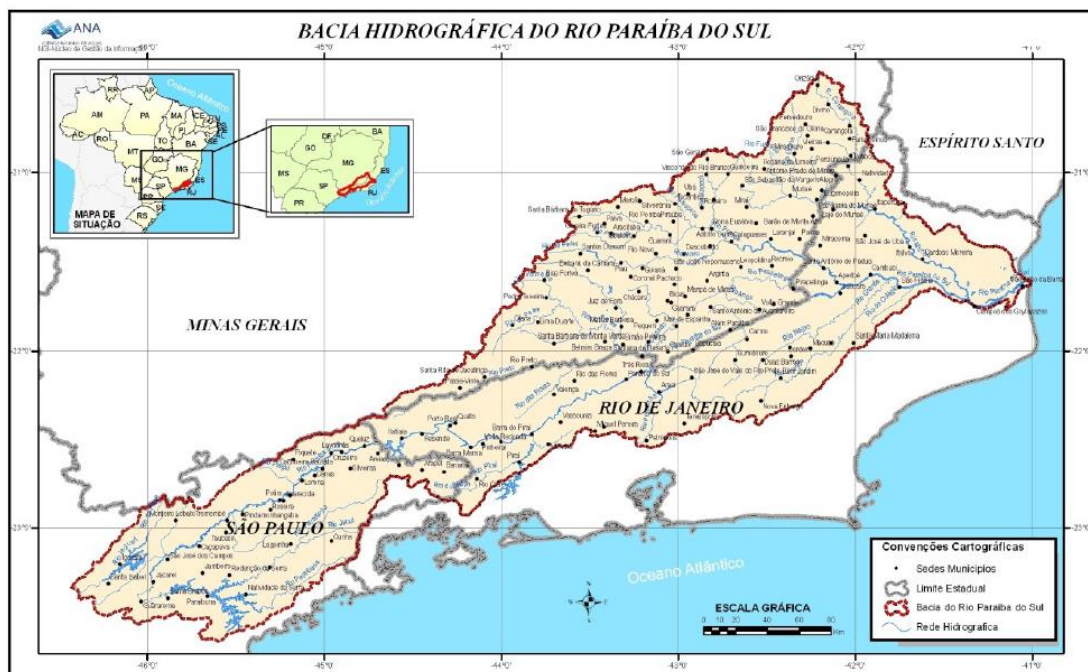
A caracterização dos cariótipos e de marcadores cromossômicos pode contribuir para uma melhor classificação das espécies, bem como a elucidação de relações incertas em gêneros problemáticos, como é o caso de *Pimelodus*. Nesse sentido, no presente estudo utilizamos as análises da sistemática filogenética e seus métodos de inferência como ferramenta, a fim de comparar as populações da espécie previamente considerada como *Pimelodus fur*, provenientes dos rios Novo e Pomba, da bacia do rio Paraíba do Sul no estado de Minas Gerais, Brasil.

Assim os estudos integrativos do grupo têm se concentrado na descrição e caracterização da variabilidade cariotípica, enquanto análises moleculares

geralmente têm sido aplicadas para elucidar as intrincadas inter-relações filogenéticas entre suas famílias.

### 1.5 Caracterização das bacias hidrográficas

A bacia do Rio Paraíba do Sul ocupa uma área de aproximadamente 57.000 km<sup>2</sup>, distribuídos da seguinte forma: 22.600 km<sup>2</sup> no estado do Rio de Janeiro, 20.900 km<sup>2</sup> em Minas Gerais e 13.500 km<sup>2</sup> em São Paulo (Baena 2002). Localizada entre os paralelos 20° 26' e 23° 38' S e os meridianos de 41° 00' e 46° 30'W (Baena 2002) (Fig. 1). Abrange os Estados de Minas Gerais – com as nascentes e afluentes dos rios Preto, Pomba e Muriaé –, de São Paulo, onde ficam suas cabeceiras, e do Rio de Janeiro percorre o maior trecho do rio Paraíba do Sul quase 540 km até o seu encontro com o Oceano Atlântico (AGEVAP- Agência da Bacia do Rio Paraíba do Sul).



Fonte: <https://images.app.goo.gl/bdaBsEEWh73ZLtp8>

**Figura 1 – Bacia do rio Paraíba do Sul**

Já a bacia do Alto Paraná ocupa uma área de aproximadamente 900 mil km<sup>2</sup> fazendo parte da porção sul do Escudo Brasileiro, abrangendo toda a drenagem do Rio Paraná à montante do antigo Salto de Sete Quedas (Bonetto 1986, Britski & Langeani 1988). Existe a possibilidade de conexão entre essas duas bacias, mas para evidenciar tais conexões precisaríamos de estudos filogenéticos e biogeográficos dos grupos de peixes que ocorrem em ambas as bacias e também evidências geológicas desses eventos de captura de fluviais. Pensando nisso, as espécies de *Pimelodus* descritas para a bacia do Rio Paraíba do Sul são: *Pimelodus maculatus* (Lacépède 1803), *P. fur* (Lütken 1874), *P. eigenmanni* (Van der Stigchel 1946) e *P. hartti* (Steindachner 1877) (Bizerril 1999). Em contrapartida, a espécie *P. microstoma* é típica da bacia alto rio Paraná no estado de São Paulo, a qual apresenta as seguintes espécies do gênero: *P. maculatus* (Lacépède 1803), *P. fur* (Lütken 1874), *P. microstoma* (Steindachner 1877), *P. paranaensis* (Britski & Langeani, 1988) e *P. platicirris* (Borodin 1927) (Oyakawa & Menezes 2011). A relação biogeográfica entre a bacia do Alto Paraná e as bacias costeiras tem sido alvo de diversos estudos.

Assim, Hermann Von Ihering em 1894 publicou pela primeira vez sobre a possibilidade de conexões antigas entre as drenagens das duas bacias.

“Pensamos que em tempo remoto, o rio Paraíba, desde, as suas nascentes até Guararema, foi afluente do rio Tietê, e isto, provavelmente na mesma época em que a grande lagoa terciária de Tremembé ocupou o vale do Paraíba desde Jacareí até Cachoeira. Esta lagoa esteve em conexão franca com o oceano (*sic*), o que é provável pela presença dos bagres.”

“Seria, pois, devido a modificações geológicas que mais tarde foi interrompida a antiga conexão entre os dois rios e que a Paraíba, invertido completamente no seu curso original, ganhou a bacia da lagoa de Tremembé e com ele desaguou ao norte. Estou bem longe de dar esta hipótese como resultado demonstrado; mas parece-me que será lícito, às vezes, fazer ver os problemas ciência tem de elucidar, e se, um dia, pudermos dispor dos necessários dados zoogeógrafos e geológicos, sem dúvida poderemos reconstruir a história do rio Paraíba”.

A bacia do rio Paraíba do Sul é limitada ao oeste pela Serra do Espinhaço e ao leste pela Serra da Mantiqueira (Buckup 2011; Ribeiro et al. 2006), está intimamente conectada ao eixo Rio-São Paulo, onde se localizam os dois maiores centros de produção e consumo da nação (Baena 2002).

As bacias costeiras do leste do Brasil são compostas por drenagens de porte pequeno ou médio, o que as isola das bacias continentais presentes no escudo Cristalino Brasileiro (sendo consideradas distintas unidades biogeográficas) (Vari 1988; Weitzman et al. 1988; Bizerril 1994; Ribeiro 2006; Buckup 2011). Essas bacias caracterizam por exibirem elevada diversidade de espécies e gêneros endêmicos compartilhados entre sistemas de drenagens hoje isolados se por apresentar um padrão biogeográfico supostamente determinado pelos processos geomorfológicos locais e alterações eustáticas no nível do mar durante o Quaternário (Bizerril 1994; Weitzman 1988; Buckup 2011; Thomaz et al. 2015b).

O Alto Paraná sofre com as atividades tectônicas desde o início do Terciário o que o torna uma área bem complexa (Ab'Saber 1998). Essas atividades geológicas são as principais causas de diferentes eventos de captura de cabeceiras, bem como entre os rios Tietê e Paraíba do Sul (Castro et al. 2003), responsáveis também pela distribuição de algumas de suas espécies em drenagens vizinhas, tais como: rios Paraíba do Sul, Ribeira de Iguape e algumas drenagens litorâneas menores (Langeani 1989; Weitzman & Malabarba 1999, Ribeiro et al. 2006, Serra et al. 2007), ou ainda no Rio São Francisco (Britski et al. 1988, Britto & Castro 2002). Malabarba (1998) sugere que através do antigo modelamento do vale do rio Paraíba possa ter havido conexões pretéritas entre o rio Tietê e drenagens costeiras, o que pode ter ocorrido também em outras porções do Alto Paraná.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AB'Sáber, A.N. 1998. Megageomorfologia do território brasileiro. *In*: Cunha, S.B. & Guerra, A.J.T., (Orgs.). *Geomorfologia do Brasil*. Rio de Janeiro: Bertrand Brasil. p.71-106.
- AGEVAP. «Diagnóstico dos Recursos Hídricos da Bacia do Paraíba do Sul». Acesso em 20 de jun. de 2020.
- Almeida F. S.; Sodré L. M. K.; Contel E. P. B. (2003). Population structure analysis of *Pimelodus maculatus* (Pisces, Siluriformes) from the Tietê e Paranapanema Rivers (Brazil). *Genetics and Molecular Biology*, 26: 301-305.
- Ardura, A.; Linde, A.R.; Moreira, J.C. & Garcia-Vazquez, E. (2010). DNA barcoding for conservation and management of Amazonian commercial fish. *Biological Conservation*, 143: 1438–1443.
- Artoni, R. F. et al. (2000). Citogenética de peixes Neotropicais: Métodos, Resultados e Perspectivas: *Biological and Health Science*, 6: 43-60.
- Baena, L. G. N. (2002). Regionaliza o de vazões para a bacia do rio Paraíba do Sul, a montante de volta redonda, a partir de modelo digital de eleva o hidrologicamente consistente. Tese (Doutorado), UFV, Viçosa.
- Barbosa, P.; De Oliveira, L. A.; Pucci, M. B.; Santos, M. H.; Moreira-Filho, O.; Vicari, M. R.; Viviane Nogaroto, V.; Almeida, M. C.; Ferreira Artoni, R. F. (2015). Identification and chromosome mapping of repetitive elements in the *Astyanax scabripinnis* (Teleostei: Characidae) species complex. *Genetica*, 143: 55-62.
- Bellafronte, E.; Margarido, V. P.; Moreira filho, O. (2005). Cytotaxonomy of *Parodon nasus* and *Parodon tortuosus* (Pisces: Characiformes). A case of synonymy

- confirmed by cytogenetic analyses. *Genetics and Molecular Biology*, 28: 710-716.
- Betancur- R, R. (2009). Molecular phylogenetics and evolutionary history of arid catfishes revisited: a comprehensive sampling. *BMC Journal of Evolutionary Biology*, 9: 175.
- Betancur-R, R.; Broughton, R.E, Wiley, E. O.; Carpenter, K.; Lopez, J. A.; Li, C. et al. (2013). The tree of life and a new classification of bony fishes. *PLOS Currents*.
- Bizerril, C. R. S. F. (1994). Análise taxonômica e biogeográfica da ictiofauna de água doce do leste brasileiro. *Acta Biological Leopoldensia*, 16: 51-80.
- Bizerril, C. R. S. F. (1999). A Ictiofauna da Bacia do Rio Paraíba do Sul. *Biodiversidade e Padrão*.
- Blanco, D. R.; Lui, R. L.; Vicari, M. R.; Bertollo, L. A. C. (2011). Comparative cytogenetics of giant trahiras *Hoplias aimara* and *H. intermedius* (Characiformes, Erythrinidae): Chromosomal characteristics of minor and major ribosomal DNA and cross-species repetitive centromeric sequences mapping differ among morphologically identical karyotypes. *Cytogenetic and Genome Research*, 132: 71-78.
- Bonetto, A. A. (1986). The Paraná river system. In *The ecology of river systems* (B.R. Davies & K.F. Walker, eds.). Dr. W.Junk Publishers, Dordrecht, p. 541-555.
- Borin, L. A.; Martins-Santos, I.C. (2002). Cytogenetic aspects in species of the genus *Pimelodus* (Pisces, Siluriformes, Pimelodidae) of the river Paraná Basin. *Cytologia*, 67: 199-204.
- Britski, H. A.; Langeani, F. (1988). *Pimelodus paranensis* sp.n., um novo Pimelodidae (Pisces), Siluriformes do Alto Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 5: 409-417.

- Britski, H. A. (1991). Peixes de água doce. In: Carvalho, J.C.M. Atlas de fauna brasileira. São Paulo: Melhoramentos, 84-93.
- Britto, M. R. & Castro, R. M. C. (2002). New Corydoradine catfish (Siluriformes: Callichthyidae) from the upper Paraná and São Francisco: the sister group of *Brochis* and most of *Corydoras* species. *Copeia*, 1006-1015.
- Buckup, P. A.; Menezes, N. A.; Ghazzi, M. S. (2007). Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil. Rio de Janeiro: Museu Nacional- Universidade Federal do Rio de Janeiro, 23-195.
- Buckup, P. A. (2011). The Eastern Brazilian Shield. In: Albert JS, Reis RE, editors. Historical biogeography of neotropical freshwater fishes. Berkeley: University of California, 203-210.
- Carvalho, R. A.; Dias, A. L. (2007). Interindividual size heteromorphism of NOR and chromosomal location of 5S rRNA genes in *Iheringichthys labrosus*. *Brazilian Journal of Biology*, 50: 141-146.
- Carvalho, R. A.; Laudicina, A.; Giuliano-Caetano, L.; Martins-Santos, I. C.; Dias, A. L. (2010). Cytogenetics analysis of the 18S, 5S rDNA and B chromosome of *Iheringichthys labrosus* (Lütken, 1874) (Siluriformes, Pimelodidae). *Brazilian Journal of Biology*, 70: 631-636.
- Carvalho, R. A.; Sanchez, S.; Swarça, A. C.; Fenocchio, A. S.; Martins-Santos, I. C. and Dias, A. L. (2011). Chromosomal analyses in *Megalonema platanum* (Siluriformes: Pimelodidae), an endangered species from South American rivers. *Neotropical Ichthyology*, 9: 177-182
- Castro, R. M. C.; Casatti, L.; Santos, H. F.; Ferreira, K. M.; Ribeiro, A. C.; Benine, R. C.; Dardis, G. Z. P.; Melo, A. L. A.; Abreu, T. X.; Bockmann, F. A.; Carvalho,

- M.; Gibran, F. Z. & Lima, F. C. T. (2003). Estrutura e composição da ictiofauna de riachos do Rio Paranapanema, sudeste e sul do Brasil. *Biota Neotrop*, 3:1.
- Cavalier-Smith, T. (1985). Selfish DNA and the origin of introns. *Nature*, 315: 283–284.
- Charlesworth, B.; Snlegowski, P.; Stephan, W. (1994). The evolutionary dynamics of repetitive DNA in eukaryotes. *Nature*, 371: 215-220.
- Chen, W- J.; Lavoue´, S.; Mayden, R. L. (2013). Evolutionary origin and early biogeography of otophysan fishes (Ostariophysi: Teleostei). *Evolution*, 67: 2218-2239.
- Cioffi, M. B.; Kejnovsky, E.; Bertollo, L. A. C. (2011). The Chromosomal Distribution of Microsatellite Repeats in the Genome of the Wolf Fish *Hoplias malabaricus*, Focusing on the Sex Chromosomes. *Cytogenetic and Genome Research*, 132:289-296.
- Cioffi, M. B.; Bertollo, L. A. C. (2012). Chromosomal distribution and evolution of repetitive DNAs in fish. In: *Repetitive DNA*. Karger Publishers, 197-221.
- Conde-Saldaña, C. C., Albornoz-Garzón, J. G.; López-Delgado, E. O.; Villa-Navarro, F. A. (2017). Ecomorphological relationships of fish assemblages in a trans-Andean drainage, Upper Magdalena River Basin, Colombia. *Neotropical Ichthyology*, 15:4.
- Conde-Saldaña, C. C.; Cunha, S. M.; Albornoz-Garzón G. J.; Barreto, V. A. C., Ibagón, N.; Villa-Navarro, A. F.; Dergam, A. J. (2019). Karyotypic Divergence of Two Co-Occurring Species of Andean Climbing Catfishes (Siluriformes: Loricarioidei: Astroblepidae) *Zebrafish*, 106-114.
- Cunha, S. M.; Fregonezi, R. A.; Fava, L.; Hilsdorf, S. W. A.; Campos, O. A. L.; Dergam, A. J. (2018). Phylogeography and Historical Biogeography of

- the *Astyanax bimaculatus* Species Complex (Teleostei: Characidae) in Coastal Southeastern South America. *Zebrafish*, 115-127.
- de Moraes, R. L. R.; Bertollo, L. A. C.; Marinho, M. M. F.; Yano, C. F.; Hatanaka, T.; de Moraes, R. L. R.; Bertollo, L. A. C.; Marinho, M. M. F.; Yano, C. F.; Hatanaka, T.; Barby, F. F.; Troy, W. P. and Cioffi, M. B. (2017). Evolutionary relationships and cytotaxonomy considerations in the genus *Pyrrhulina* (Characiformes, Lebiasinidae). *Zebrafish*, 14: 536-546.
- Della-Rosa, V. A.; Ferrari, I.; Takahashi, C. S.; Moreira Filho, O.; Foresti, F. (1980). Estudos citogenéticos de peixes da Amazônia.II. Ordem siluriformes. *Ciência e Cultura*, 32:735.
- Dias, A. L.; Foresti, F. (1993). Cytogenetic studies on fishes of the family Pimelodidae (Siluroidei). *Revista brasileira de genética*, 16: 585-600.
- Diogo R. (2004). Phylogeny, origin and biogeography of catfishes: support for a Pangean origin of 'modern teleosts' and reexamination of some Mesozoic Pangean connections between the Gondwanan and Laurasian supercontinents. *Animal Biology Journal*, 54: 331–351.
- Doolittle, W. F.; Sapienza, C. (1980). Selfish genes, the phenotype paradigm and genome evolution. *Nature*, 284: 601-603.
- Eickbush, T. H.; Eickbush, D. G. (2007). Finally orchestrated movements: evolution of the ribosomal RNA genes. *Genetics*, 175: 477-485.
- Eler, E. S.; Dergam, J. A.; Venere, P. C.; Paiva, L. C.; Miranda, M. A.; Oliveira, A. A.(2007). The karyotypes of the thorny catfishes *Wertheimeria maculata* Steindachener, 1877 and *Hassar wilderi* Kindle, 1895 (Siluriforme: Doradidae) and doradids chromosomal evolution. *Genética*, 130: 99-103.

- Eschmeyer, W. N.; Fricke, R.; Van der Laan, R. editors. (2020). Catalog of fishes: genera, species, references [Internet]. San Francisco: California Academy of Science.  
<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp> Acesso em 20 de jun. de 2020
- Ferreira, D. C.; Oliveira, C.; Foresti, F. (2010). Chromosome mapping of retrotransposable elements Rex1 and Rex3 in three fish species in the subfamily Hypoptopomatinae (Teleostei, Siluriformes, Loricariidae). *Genetics and Molecular Biology*, 132: 64-70.
- Ferreira, M.; Bressane, K. C. O.; Moresco, A. R. C.; Moreira-Filho, O.; Almeida-Toledo, L. F.; Garcia, C. (2014). Comparative application of direct sequencing, PCR-RFLP, and cytogenetic markers in the genetic characterization of *Pimelodus* (Siluriformes: Pimelodidae) species: Possible implications for fish conservation. *Genetics and Molecular Research*, 13: 4529-4544.
- Fricke, R.; Eschmeyer, W. N.; & Fong, J. D. (2020). Eschmeyer's catalog of fishes: species by family/subfamily. (<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>). Electronic version accessed 11.26.2020.
- Garavello, J. C.; Shibatta, O. A. (2007). A new species of the genus *Pimelodus* La Cépède, 1803 from the rio Iguaçu basin and a reappraisal of *Pimelodus ortmanni* Haseman, 1911 from the rio Paraná system, Brazil (Ostariophysi: Siluriformes: Pimelodidae). *Neotropical Ichthyology*, 3: 285-292.
- Garcia, C.; Moreira-Filho, O. (2005). Cytogenetical analyses in three fish species of the genus *Pimelodus* (Siluriformes: Pimelodidae) from rio São Francisco:

- considerations about the karyotypical evolution in the genus. *Neotropical Ichthyology*, 3: 285-290.
- Garcia, C.; Moreira-Filho, O. (2008). Localization of ribosomal genes in three *Pimelodus* species (Siluriformes, Pimelodidae) of the São Francisco River: 5S genes as species markers and conservation of the 18S rDNA sites, *Genetics and Molecular Biology*, 31: 261-264.
- Gayet, M.; Otero, O. (1999). Analysis of the palaeodiversification of the Siluriformes (Osteichthyes, Teleostei, Ostariophysi). *Geobios*, 32: 235–246.
- Gayet, M.; Meunier, F. J. (2003). Paleontology and palaeobiogeography of catfishes. In: Arratia G, Kapoor BG, Chardon M, Diogo R, editors. *Catfishes*. Volume 2. Enfield, NH: Science Publishers, 491– 522.
- Girardi, S. C.; Pavanelli, C. S.; Margarido, V. P. (2018). Contributions to the systematic of Pimelodidae (Osteichthyes, Siluriformes): basic and molecular cytogenetics on seven species of *Pimelodus* from three Brazilian hydrographic system. *Neotropical Ichthyology*, 16.
- Gouveia, J. G.; Wolf, I. R.; VilaS-Boas, L. A.; Heslop-Harrison, J. S.; Schwarzacher, T.; Dias, A. L. (2017). Repetitive DNA in the catfish genome: rDNA, microsatellites, and Tc1-mariner transposon sequences in *Imparfinis* species (Siluriformes, Heptapteridae). *Journal of heredity*, 108, 650-657.
- Grande, L.; Eastman, J. T. (1986). A review of Antarctic ichthyofaunas in the light of new fossil discoveries. *Paleontology*, 29: 113-137.
- Gregory, T. R. (2005). Synergy between sequence and size in Large-scale genomics. *Nature Reviews Genetics*, 6: 699–708.

- Gregory, T. R.; NicoL, J. A.; Tamm, H.; Kullman, B.; Kullman, K.; Leitch, I. J.; Murray, B. G.; KaprauN, D. F.; Greilhuber, J.; Bennett, M. D. (2007). Eukaryotic genome size databases. *Nucleic Acids Research*, 35: 332–338.
- Griffiths, A. J.; Wessler, S. R.; Gelbart, W. M.; Suzuki, D. T. & Miller, J. H. (2006). *Introdução à Genética*. 8a ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 123,181, 184,192.
- Hardman, M. (2005). The phylogenetic relationships among non-diplomystid catfishes as inferred from mitochondrial cytochrome b sequences; the search for the ictalurid sister taxon (Otophysi: Siluriformes). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 37: 700-720.
- Hebert, P. D. N.; Cywinska, A.; Ball, S. L.; Dewaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 270: 313-321.
- Ihering, H. V. (1894). Observações sobre peixes fósseis de Taubaté. *Revista do Museu paulista*, 2:145-148 (transcrição da artigo publicado no jornal o Estado de São Paulo, em 12 de junho de 1894).
- Jesus, C. M.; Galetti Jr.; P. M.; Valentini, S. R.; Moreira-Filho, O. (2003). Molecular characterization and chromosomal localization of two families of satellite DNA in *Prochilodus lineatus* (Pisces, Prochilodontidae), a species with B chromosomes. *Genetica*, 118: 25-32.
- John, B. (1988). The biology of heterochromatin. In: Verma, R.S. *Heterochromatin*. Cambridge: Cambridge University Press, 1-147.
- Kidwell, M. G. (2002). Transposable elements and the evolution of genome size in eukaryotes. *Genetica*, 49–63.

- Kner, R. (1858). Ichthyologische Beiträge. II. Abtheilung. Sitzungsberichten der kaiserlichen Akademie der Wissenschaften, mathematisch-naturwissenschaftliche Klasse, 26: 373-448.
- Langeani, F. (1989). Ictiofauna do Alto curso do rio Tietê (SP): Taxonomia. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual da Paulista, São José do Rio Preto, 231p.
- Lewin, B. (2014). The Content of the Genome. In: Gene XI, 100–119.
- Lundberg, J.; Linares, O.; Antonio, M.; Nass, P. (1988). *Phractocephalus hemioliopus* (Pimelodidae: Siluriformes) from the upper Miocene Urumaco formation, Venezuela: a further case of evolutionary stasis and local extinction among south American fishes. *Journal of Vertebrate Paleontology*, 8: 131–138.
- Lundberg, J.; Mago-Leccia, F.; Nass, P. (1991b). *Exallodontus aguanai*, a new genus and species of Pimelodidae (Pisces: Siluriformes) from deep river channels of South America, and delimitation of the subfamily Pimelodinae. *Proceedings Biological Society Washington*, 104: 840–869.
- Lundberg, J. G.; Littmann, M. W. (2003). Pimelodidae. In: Reis, R. E.; Kullander, S.O.; Ferraris Jr., C.J. (Eds.). *Check list of the Freshwater Fishes of South and Central America*. Porto Alegre: EDIPUCRS, 432–446.
- Lundberg, J. G.; Sullivan, J. P.; Rodiles-Hernandez, R.; Hendrickson, D. A. (2007). Discovery of African roots for the Mesoamerican Chiapas catfish, *Lacantunia enigmatica*, requires an ancient intercontinental passage. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 156: 39-53.
- Lundberg, J. G.; Sullivan, J. P.; Hardman, M. (2011). Phylogenetics of the South American catfish family Pimelodidae (Teleostei: Siluriformes) using nuclear

and mitochondrial gene sequences. Proceedings of the *Academy of Natural Sciences of Philadelphia*.

- Malabarba, M. C. (1998). Phylogeny of fossil Characiformes and paleobiogeography of the Tremembé Formation, São Paulo, Brazil. In Phylogeny and classification of Neotropical fishes (L. R. Malabarba, R. E. Reis, R. P. Vari, Z. M. S. Lucena & C. A. S. Lucena, eds.). EDIPUCRS, Porto Alegre, 69-84.
- Malimpensa, G. C.; Traldi, J. B.; Toyama, D.; Henrique-Silva, F.; Vicari, M. R.; Moreira-Filho, O. (2018). Chromosomal Mapping of Repeat DNA in *Bergiaria westermanni* (Pimelodidae, Siluriformes): Localization of 45S rDNA in B Chromosomes. *Cytogenetic and Genome Research*, 154: 99-106.
- Margarido, V. P.; Moreira-Filho, O. (2008). Karyotypic differentiation through chromosome fusion and number reduction in *Imparfinis hollandi* (Ostariophysi, Heptapteridae). *Genetics and Molecular Biology*, 31: 235-238.
- Martinez, J. F.; Lui, R. L.; Blanco, D. R.; Traldi, J. B.; Silva, L. F.; Venere, P. C.; Souza, I. L.; Moreira-Filho, O. (2011). Comparative cytogenetics of three populations from the *Rhamdia quelen* species complex (Siluriformes, Heptapteridae) in two Brazilian hydrographic basins. *Caryologia*, 64: 121-128.
- Martins, C.; Galetti Jr, P. M. (1999). Chromosomal localization of 5S rDNA genes in *Leporinus* fish (Anastomidae, Characiformes). *Chromosome Research*, 8: 363-367.
- Martins, C.; Galetti Jr, P. M. (2000). Conservative distribution of 5S rRNA loci in *Schizodon* (Pisces, Anastomidae) chromosomes. *Chromosome Research*, 8: 353-355.
- Martins, C.; Galetti-Jr, P. M. (2001). Two 5S rDNA arrays in Neotropical fish species: is it a general rule for fishes? *Genetica*, 111:439–446.

- Martins, C.; Wasko, A. P. (2004). Organization and evolution of 5S ribosomal DNA in the fish genome. Pp. 335-363. In: Williams, C. R. (Ed.). Focus Genome Research. New York: Nova Science Publishers, 424.
- Martins, C. (2007). Chromosomes and repetitive DNAs: a contribution to the knowledge of fish genome. In: Fish Cytogenetics. New York: Science Publisher, 421-432.
- Matoso, D. A.; Val, V. M. F. A.; Silva, M.; Moraes-Neto, A.; Almeida, M. C.; Vicari, M. R.; Moreira-Filho, O.; Artoni, R. F. (2011). Chromosomal polymorphism in *Steindachneridion melanodermatum* Garavello, 2005 (Siluriformes, Pimelodidae): a reappraisal the existence of sex chromosome system in the species. *Fish Biology Fisheries*, 21:497-508.
- Mess, G. F. (1974). Auchenipteridae and Pimelodidae. *Zoologische* 85: 1-9.
- Milani, D.; Ramos, É.; Loreto, V.; Martí, D. A.; Cardoso, A. L.; Moraes, K. C. M.; Martins, C. and Mello, D. C. C. (2017). The satellite DNA AflaSAT-1 in the A and B chromosomes of the grasshopper *Abracris flavolineata*. *BMC Genetics*, 18:81.
- Moraes-Neto, A.; Silva, M. D.; Matoso, D. A.; Vicari, M. R.; Almeida, M.C.D.; Collares-Pereira, M. J.; Arton, R. F. (2011). Karyotype variability in Neotropical catfishes of the family Pimelodidae (Teleostei: Siluriformes). *Neotrop Ichthyol*, 9: 97-105.
- Nakatani, M.; Miya, M.; Mabuchi, K.; Saitoh, K.; Nishida, M. (2011). Evolutionary history of Otophysi (Teleostei), a major clade of the modern freshwater fishes: Pangaeen origin and Mesozoic radiation. *BMC Journal of Evolutionary Biology*, 11: 177.

- Nelson, J. S. (2016). *Fishes of the world*. Hoboken: John Wiley & Sons, New Jersey, 5: 707.
- Nwani, C. D.; Becker, S.; Braid, H. E.; Ude, E. F.; Okogwu, O. I. & Hanner, R. (2011). DNA barcoding discriminates freshwater fishes from southeastern Nigeria and provides river system-level phylogeographic resolution within some species. Mitochondr DNA. Early Online: 1–9
- Oliveira, C.; Gosztanyi A. E. (2000). A cytogenetic study of *Diplomystes mesembrinus* (Teleostei, Siluriformes, Diplomystidae) with a discussion of chromosome evolution in Siluriforms. *Caryologia*, 53: 31-37.
- Oliveira, R. R.; Souza, I. L.; Venere, P. C. (2006). Karyotype description of three species of Loricariidae (Siluriformes) and occurrence of the ZZ/ZW sexual system in *Hemiancistrus spilomma* Cardoso & Lucinda, 2003: *Neotropical Ichthyology*, 4:93-97.
- Oliveira, E. J.; Padua, J.G.; Zucchi, M.I.; Vencovsky, R. & M.L. Carneiro Vieira. (2006). Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. *Genetics and Molecular Biology*, 29: 294-307.
- Oyakawa, O. T.; Menezes, N. A. (2011). Checklist of fresh water fishes from São Paulo State, *Brazil. Biota Neotropica*, 11(1a).
- Peixoto, M. S. (2011). Studies on the phylogenetic and biogeographical relationships of species of the genus *Pimelodella* (Siluriformes, Heptapteridae) Eigenmann & Eigenmann, 1888 Alto Paraná. Tese, (Doutorado em Ciências, na Área de Biologia/Genética), Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo.
- Peng, Z. G.; He, S. P.; Wang, J.; Wang, W.; Diogo, R. (2006). Mitochondrial molecular clocks and the origin of the major Otocephalan clades (Pisces: Teleostei): a new insight. *Gene*, 370: 113–124.

- Pinna, M. C. C. (1998). Phylogeny and classification of neotropical fishes, chap. Phylogenetic relationships of neotropical Siluriformes (Teleostei: Ostariophysi): historical overview and synthesis of hypotheses. Edipucrs, Porto Alegre, Brazil, 279–330.
- Pucci, M. B.; Barbosa, P.; Nogaroto, V.; Almeida, M. C.; Artoni, R. F.; Scacchetti, P. C.; Alves, J. C. P.; Foresti, F.; Moreira-Filho, O.; Vicari, M. R. (2016). Chromosomal spreading of microsatellites and (TTAGGG)<sub>n</sub> sequences in the *Characidium zebra* and *C. gomesi* genomes (Characiformes: Crenuchidae). *Cytogenetic and Genome Research*, 149: 182-190.
- Quezada-Romegialli, C.; Fuentes, M. & Veliz, D. (2010). Comparative population genetics of *Basilichthys microlepidotus* (Atheriniformes: Atherinopsidae) and *Trichomycterus areolatus* (Siluriformes: Trichomycteridae) in north central Chile. *Environmental Biology of Fishes*, 89:173-186.
- Ramirez-Gil, H.; Feldberg, E.; Almeida-Val, V. M. F.; VAL, A. L. (1998). Karyological, biochemical, and physiological aspects of *Callophysus macropterus* (Siluriformes, Pimelodidae) from the Solimões and Negro Rivers (Central Amazon). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 31: 1449-1458.
- Renesto, E.; Zawadzki, C. H.; Revaldaves, E. (2000). Genetic evidence for two species of the genus *Pimelodus* Lacépède, 1803 (Siluriformes, Pimelodidae) in the Iguaçú River (Brazil). *Genetics and Molecular Biology*, 23: 809-813.
- Ribeiro, F. R. V.; Lucena, C. A. S. (2006). A new species of *Pimelodus* LaCépède, 1803 (Siluriformes: Pimelodidae) from the rio São Francisco drainage, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 4: 411-418.

- Ribeiro, F. R. V.; Lucena, C. A. S.; Lucinda, P. H. F. (2008). Three new *Pimelodus* species (Siluriformes: Pimelodidae) from the rio Tocantins drainage, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 6: 455-464.
- Ribeiro, F. R. V.; Lucena, C. A. S.; Oyakawa, O. T. (2011). A new species of *Pimelodus* La Cépède, 1803 (Siluriformes: Pimelodidae) from rio Ribeira de Iguape basin, Brazil. *Neotropical ichthyology*, 9: 127-134.
- Rosa, K. O.; Ziemniczak, K.; De Barros, A. V.; Nogaroto, V.; Almeida, M. C.; Cestari, M. M.; Artoni, R. F.; Vicari, M. R. (2012). Numeric and structural chromosome polymorphism in *Rineloricaria lima* (Siluriformes: Loricariidae): fusion points carrying 5S rDNA or telomere sequence vestiges. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 22: 739-749.
- Sánchez, S.; Fenocchio, A. S.; Jorge, L. C. (2000). Estudios citogenéticos en peces de la familia Pimelodidae (Pisces, Siluriformes) de la cuenca del río Paraná, Argentina. Análisis cromosómico de dos especies de Luciopimelodinae. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas*.
- Sánchez, S.; Swarça, A. C.; Fenocchio, A. S. (2010). Cytogenetic Studies and Evolutive Considerations in Species of the *Calophysus* Group (Siluriformes, Pimelodinae). *Cytologia*, 75: 223-227.
- Scacchettl, P. C.; Utsunomia, R.; Pansonato-Alves, J.; Vicari, M. R.; Artoni, R.; Oliveira, C.; Foresti, F. (2015). Chromosomal mapping of repetitive DNAs in *Characidium* (Teleostei, Characiformes): genomic organization and diversification of ZW sex chromosomes. *Cytogenetic and Genome Research*, 146: 136-143.
- Schneider, C. H.; Gross, M. C.; Terencio, M. L.; De Tavares, É. S. G. M.; Martins, C.; Feldberg, E. (2015). Chromosomal distribution of microsatellite repeats in

- Amazon cichlids genome (Pisces, Cichlidae). *Comparative Cytogenetics*, 9: 595.
- Serra, J. P.; Carvalho, F. R.; Langeani, F. (2007). Ichthyofauna of the rio Itatinga in the Parque da Neblinas, Bertioga, São Paulo: composition and biogeography. *Biota Neotropica*, 7:1.
- Silva, C. P. ; Santos, U.; Travenzoli, M. N.; Zanuncio, C. J.; Cioffi, B. M.; Dergam, A. J. (2012). The unique karyotype of *Henochilus wheatlandii*, a critically endangered fish living in a fast-developing Region in Minas Gerais State, Brazil. *Plos One*, 7: e42278.
- Silva, D. M. Z. A.; Pansonato-Alves, J. C.; Utsunomia, R.; Daniel, S. N.; Hashimoto, D.T.; Porto-Foresti; Foresti, (2013). Chromosomal organization of repetitive DNA sequences in *Astyanax bockmanni* (Teleostei, Characiformes): dispersive location, association and co-localization in the genome. *Genetica*, 141: 329-336.
- Sumner, A. T. (2003). *Chromosomes – organization and function*. Malden, Blackwell Publishing, 275.
- Sunnucks, P. (2000). Efficient genetic markers for population biology. *Trends in Ecology & Evolution* 15: 199-203.
- Steindachner, F. (1877). Die Süßwasserfische des südöstlichen Brasilien (III). *Sitzungsberichten der kaiserlichen Akademie der Wissenschaften, mathematisch-naturwissenschaftliche Klasse*, 74: 559-694.
- Swarça, A. C.; Fenocchio, A. S.; Dias, A. L. (2007). An update cytogenetic review for species of the Families Pseudopimelodidae, Pimelodidae and Heptapteridae (Pisces, Siluriformes). Suggestion of a cytotaxonomical classification. *Caryologia*, 60: 338-48.

- Swarça, A. C.; Sanchez, S.; Dias, A. N.; Fenocchio, A. S. (2013). Cytogenetics of the Porthole Shovelnose Catfish *Hemisorubim platyrhynchos* (Valenciennes, 1840) (Siluriformes, Pimelodidae), a widespread species in South American rivers. *Comparative Cytogenetics*, 7: 103-110.
- Swarça, A. C.; Dias, A. L.; Fenocchio, A. S. (2017). Cytogenetic studies in the redtail catfish, *Phractocephalus hemioliopterus* (Bloch & Schneider, 1801) (Siluriformes, Pimelodidae) a giant fish from Amazon basin. *Comparative Cytogenetics*, 11: 119.
- Swarça, A. C.; Orsi, M. L.; Takagui, F. H.; Dias, A. L.; Dergam, J. A.; Fenocchio, A. S. (2018). First chromosome data on *Steindachneridion doceanum* (Siluriformes: Pimelodidae): a critically endangered catfish endemic of the Doce River basin, Brazil. *Neotropical ichthyology*, 16: 4.
- Syvanen M. (1984). The evolutionary implications of mobile genetic elements. *Annual Review of Genetics*; 18: 271–93.
- Teixeira, W. G.; Ferreira, I. A.; Cabral-de-Mello, D. C.; Mazzuchelli, J.; Valente, G. T.; Pinhal, D.; Poletto, A. B.; Venere, P. C.; Martins, C. (2009). Organization of repeated DNA elements in the genome of the cichlid fish *Cichla kelberi* and its contributions to the knowledge of fishgenomes. *Cytogenet and Genome Research*, 125: 224–234.
- Terencio, M. L.; Schneider, C. H.; Gross, M. C.; Do Carmo, E. J.; Nogaroto, V.; Almeida, M. C.; Artoni, R. F.; Vicari, M. R., Feldberg, E. (2015). Repetitive sequences: the hidden diversity of heterochromatin in prochilodontid fish. *Comparative Cytogenetics*, 9: 465.
- Thomaz, A. T.; Malabarba L. R.; Bonatto, S. L.; Knowles, L. L. (2015b) Testing the effect of palaeodrainages versus habitat stability on genetic divergence in

- Riverine systems: study of a Neotropical fish of the Brazilian coastal Atlantic Forest. *Journal of Biogeography*, 42: 2389-2401.
- Toth, G.; Gáspári, Z.; Jurka, J. (2000). Microsatellites in Different Eukaryotic Genomes: Survey and Analysis. *Genome Research*, 10: 967–981.
- Totti, M. E. (2013). Histórico de criação e implantação do comitê de bacia hidrográfica do baixo Paraíba do Sul. *Revista. UFMG, Belo Horizonte*, v. 20: 272-289.
- Traldi, J. B.; Vicari, M. R.; Blanco, D.R.; Martinez, J. F.; Artoni, R. F.; Moreira-Filho, O. (2012). First karyotype description of *Hypostomus iheringii* (Regan, 1908): a case of heterochromatic polymorphism. *Comparative Cytogenetics*, 6: 115.
- Traldi, J. B.; Blanco, D. R.; Vicari, M. R.; Martinez, J. F.; Lui, R. L.; Artoni, R. F.; Moreira-Filho, O. (2013). Physical mapping of (GATA)<sub>n</sub> and (TTAGGG)<sub>n</sub> sequences in species of *Hypostomus* (Siluriformes, Loricariidae). *Journal of Genetics*, 92: 127-130.
- Traldi, J. B.; Vicari, M. R.; Martinez, J. F.; Blanco, D. R.; Lui, R. L.; Moreira-Filho, O. (2016). Chromosome analyses of *Apareiodon argenteus* and *Apareiodon davisii* (Characiformes, Parodontidae): an extensive chromosomal polymorphism of 45S and 5S ribosomal DNAs. *Zebrafish*, 13: 19-25.
- Travanzoli, N. M.; Silva, P. C.; Santos, U.; Zanuncio, J. C.; Oliveira, C.; Dergam, J. A. (2015) Cytogenetic and Molecular Data Demonstrate that the Bryconinae (Ostariophysi, Bryconidae) Species from Southeastern Brazil Form a Phylogenetic and Phylogeographic Unit. *PLoS ONE*, 10(9): e0137843. doi:10.1371/journal.pone.0137843.
- Treco, F. R.; Dias, A. L. (2009). Karyotypes of two species of the genus *Pimelodus* (Siluriformes, Pimelodidae). *Folia Biol (Kraków)*, 57: 43-48.

- Utsunomia, R.; Pansonato-Alves; J. C.; Scacchetti, P. C.; oliveira, C.; Foresti, F. (2014). Scattered organization of the histone multigene family and transposable elements in *Synbranchus*. *Genetics and Molecular Biology*, 37: 30-36.
- Utsunomia, R.; Melo, S.; Scacchetti, P. C.; Oliveira, C.; Machado, M. A.; Pieczarka, J. C.; Nagamachi, C. Y.; and Foresti, F. (2018). Particular chromosomal distribution of microsatellites in five species of the genus *Gymnotus* (Teleostei, Gymnotiformes). *Zebrafish*, 1-6.
- Vari, R. P. (1988). The Curimatidae, a lowland neotropical fish family (Pisces: Characiformes): distribution, endemism and phylogenetic biogeography. In: Vanzolini PE, Heyer WR, editors. *Proceedings of a Workshop on Neotropical Distribution Patterns*. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências; 343-377.
- Vasconcelos, C. de; Martins-santos, I. C. (2000). Chromosome polymorphism in species of the Pimelodidae family (Pisces, Siluriformes). *Hereditas*, 132: 103-109.
- 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.; Nogaroto, V.; Noletto, R. B.; Cestari, M. M.; Cioffi, M. B.; Almeida, M. C.; Moreira- Filho, O.; Bertlho, L. A. C.; Artoni, R. F. (2010). Satellite DNA and chomossomes in Neotropical fishes: Methods, applications and perspectives. *Journal of Fish Biology*, 76: 1094-1116.
- Weitzman, S. H; Menezes N. A.; Weitzman M. J. (1988). Phylogenetic biogeography of *Glandulocaudini* (Teleostei, Characiformes, Characidae) with comments on

the distribution of other freshwater fishes in eastern and southeastern Brazil. In: Vanzolini PE, Heyer WR, editors. Proceedings of a Workshop on Neotropical Distribution Patterns. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 379-427.

- Weitzman, S. H. e Malabarba, L. R. (1999). Systematics of *Spintherobolus* (Teleostei: Characidae: Cheirodontinae) from Eastern Brazil. Ichthyological Exploration of Freshwaters 10:1-43.
- Wong, L.L.; Peatman, E.; Lu, J.; Kucuktas, H.; He, S.; Zhou, C.; Na-Nakorn, U. & Liu, Z. (2011). DNA Barcoding of Catfish: Species Authentication and Phylogenetic Assessment. PLoS ONE. 6(3): e17812.
- Yano, C. F.; Poltronieri, J.; Bertollo, L. A. C.; Artoni, R. F.; Liehr, T.; Cioffi, M. B. (2014). Chromosomal Mapping of Repetitive DNAs in *Triportheus trifurcatus* (Characidae, Characiformes): Insights into the Differentiation of the Z and W Chromosomes. PloS One, 9:1-7.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivos gerais

Caracterizar a população da espécie de *Pimelodus microstoma* que ocorrem na bacia do Paraíba do Sul, utilizando uma abordagem integrativa com a combinação de caracteres morfológicos, citogenéticos e moleculares e sua comparação com a população de *P. microstoma* da bacia Alto Paraná.

### 2.2 Objetivos específicos

I. Realizar as medições morfométricas das espécies *Pimelodus microstoma* do Paraíba do Sul Minas Gerais, Minas Gerais e comparar o padrão encontrado com as espécies de *P. microstoma* do Alto Paraná, São Paulo a fim de obter informações acerca do grau de diferenciação da espécie.

II. Caracterizar citogeneticamente a espécie *Pimelodus microstoma* dos rios Novo e Pomba da bacia Paraíba do Sul, utilizando dados relativos ao cariótipo, regiões de heterocromatina (bandamento C), regiões organizadoras de nucléolo (NORs) e identificar e analisar os padrões de marcação das sondas de DNA repetitivo (GA)(15) e (CA)(15);

III. Caracterizar molecularmente a espécie *P. microstoma* dos rios Novo e Pomba da bacia Paraíba do Sul, Minas Gerais utilizando o gene citocromo oxidase subunidade I (COI).

**ARTIGO**

**Primeiro registro de *Pimelodus microstoma* Steindachner, 1877  
(Siluriformes: Pimelodidae) na bacia do rio Paraíba do Sul, Minas Gerais,  
Brasil a partir de dados cariotípicos e de barcoding**

Lorene Carla dos Reis

Laboratório de Sistemática Molecular – Beagle, Departamento de Biologia Animal,  
Universidade Federal de Viçosa, Av. P. H. Rolfs, s/n, Centro, Viçosa, 36570-900,  
Minas Gerais, Brasil.

## 1. INTRODUÇÃO

Os Siluriformes, comumente conhecidos como acaris, mandis, bagres e cascudos podem ser facilmente identificados por possuírem características morfológicas peculiares. A maioria de seus representantes é habitante de águas doces das regiões tropicais (Britski et al., 1988; 1991; de Pinna, 1998). Esses peixes possuem ampla distribuição, sendo encontrados desde ilhas até ambientes costeiros de todos os continentes, exceto na Antártida (Grande & Eastman, 1986).

Pimelodidae, com 114 espécies válidas (Fricke, Eschmeyer and Fong, 2020) já foi considerada uma das maiores famílias de bagres neotropicais, assim como a mais diversificada (Mees, 1974) foi considerada por Fowler (1950) a terceira em importância dentre os peixes de água doce da América do Sul e são encontrados em toda a América Central e América do Sul, com exceção da parte sul deste continente (Nelson, 2016).

A espécie *Pimelodus microstoma* foi descrita em 1877 por Steindachner baseada em três espécimes coletados por Johann Natterer entre 1818 a 1835 em viagens feitas ao Brasil. Identificados inicialmente como *P. maculatus*, esses exemplares foram renomeados e validados por Steindachner (1877) como *P. microstoma* com base na sua localidade-tipo "Brasil, von Irisanga [= Orissanga, São Paulo], Rio Branco e Barra do Rio Negro", (Ribeiro & Lucena, 2007).

A espécie *P. microstoma* é uma das 24 espécies do gênero parafilético Neotropical *Pimelodus* (Lundberg & Littmann, 2003). Eigenmann & Eigenmann (1888,1890) não foram capazes de demonstrar a validade e distinção entre *P. microstoma* e *Pimelodus fur* (Lütken, 1874) (localidade-tipo: Rio das Velhas, bacia do rio São Francisco). Assim, subsequentes autores como Gosline, 1945, Fowler, 1951 trataram *P. microstoma* como sinônimo júnior de *P. fur*, uma espécie conhecida da

bacia do São Francisco e essa interpretação era seguida até agora, na bacia do Paraíba do Sul (Bizerril, 1999).

Por outro lado, a espécie *P. fur* ocorre na bacia do rio São Francisco (Ribeiro & Lucena, 2006; Barbosa et al., 2017) e exibe padrão de coloração uniforme com pequenos pontos escuros concentrados na porção ântero-lateral do tronco (Garavello & Shibatta, 2007). *Pimelodus microstoma* ocorre na bacia do Alto Rio Paraná, e possui corpo de coloração similar à de *P. fur*, distinguindo-se das demais espécies do gênero pela presença de uma nadadeira adiposa longa, boca pequena e um barbilhão maxilar pequeno (Ribeiro & Lucena, 2006; 2007), sendo semelhante aos padrões encontrados em *P. microstoma* que ocorre na bacia Paraíba do Sul. Apesar de serem muito semelhantes ambas as espécies diferem morfologicamente no número de rastros branquiais e largura do espaço interorbital (Ribeiro & Lucena, 2006; 2007) e nos seus cariótipos, tanto na número diploide quanto no número fundamental (número de braços cromossômicos).

Segundo Malimpensa (2019) *P. microstoma* da bacia do Alto Rio Paraná exibe o mesmo número diploide,  $2n = 56$  cromossomos, o cariótipo  $20M+18SM+12ST+6A$  e  $NF = 106$ . e *P. fur* rio das Velhas, bacia do rio São Francisco  $2n=54$  cromossomos,  $32M+8SM+6ST+8A$  e  $NF=100$ . Fundamentado em características morfológicas e estudos filogenéticos dentro da ordem Siluriformes, Pinna (1993) demonstrou a natureza polifilética dos indivíduos pertencentes à conhecida família Pimelodidae, estes foram reagrupados nas seguintes famílias: Pimelodidae, Heptapteridae (Rhamdiidae) e Pseudopimelodidae. As famílias Heptapteridae (Rhamdiidae) e Pseudopimelodidae foram elevadas da categoria de subfamília para família.

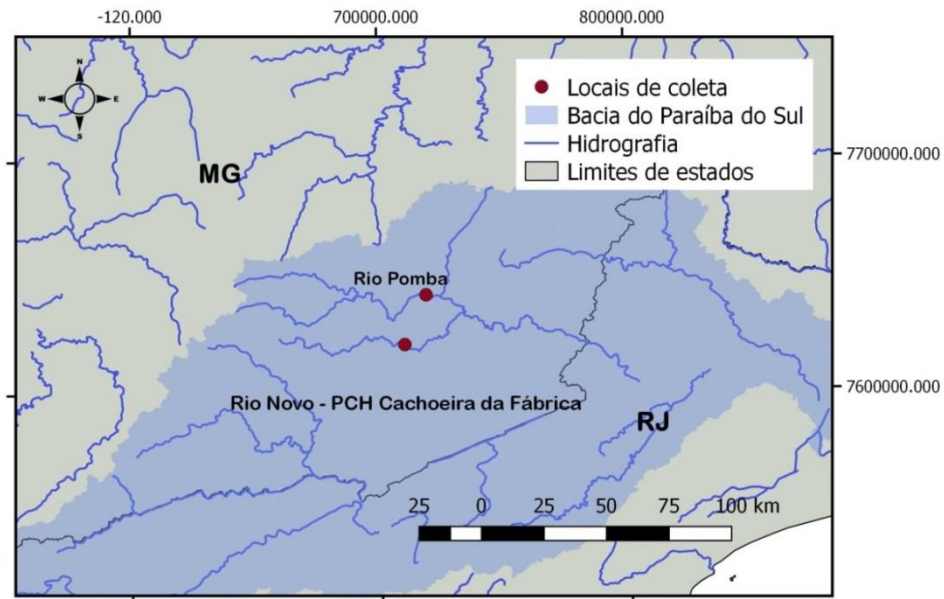
A associação de análises morfológicas, que são de grande relevância para a taxonomia, com análises citogenéticas e filogenéticas, tais como os estudos com DNA barcoding (utilizando o gene mitocondrial Citocromo Oxidase I (COI) (Hebert et al., 2003)), é uma importante ferramenta na identificação de espécies, permitindo assim a redução ou eliminação de incertezas taxonômicas

O sudeste brasileiro é considerado uma das regiões periféricas de distribuição de peixes neotropicais de água doce e é de particular interesse biogeográfico por ter alto grau de endemismo e baixa riqueza de espécies (Albert et al., 2011 b). Neste contexto, este estudo baseou-se em análises morfológicas, citogenéticas e moleculares a fim de elucidar a ampliação da distribuição de *P. microstoma* Steindachner, 1877 para bacia do rio Paraíba do Sul, sudeste do Brasil a fim de entender melhor os padrões de distribuição desta espécie.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

Quarenta espécimes foram coletados provenientes dos rios Novo (Pequena Central Hidrelétrica- PCH) em Cachoeira da Fábrica (UTM-23K 710119/7620976) e rio Pomba (UTM- 23K 0718913/7642228) em Cataguases (Fig. 2).

Ambos os rios pertencem à bacia do rio Paraíba do Sul no estado de Minas Gerais, Brasil. Os espécimes foram capturados com redes de espera de diferentes malhas e posteriormente transportados ao laboratório de Sistemática Molecular (Beagle), na Universidade Federal de Viçosa (UFV), no estado de Minas Gerais, com a permissão de coleta SISBIO 14975-1.



**Figura 2** – Locais de coletas dos espécimes na bacia Paraíba do Sul.

Os espécimes foram anestesiados e eutanasiados com óleo de cravo na concentração de 300mg.L<sup>-1</sup> (Lucena et al., 2013), conforme aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Viçosa (permissão 36/2019). Posteriormente, fixados em solução de formol 10%, transferidos para solução de álcool 70% e tombados na coleção ictiológica do Museu de Zoologia João Moojen da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

## 2.1 Análises Morfológicas

Foram aferidos os caracteres merísticos e cromáticos, conforme Ribeiro & Lucena (2007) (Anexo 1). Posteriormente, medidas morfométricas foram aferidas e registradas com a precisão de 0,1 mm mais próxima, tiradas do lado esquerdo do peixe sempre que possível com o auxílio de uma lupa Estereoscópica Binocular Olympus SZ61 Model Z2-ILST e de paquímetros digital com precisão de 0,01mm. As medições e contagens seguiram Lundberg e McDade (1986) e

Lundberg et al. (1991) com as modificações de Lundberg e Parisi (2002) e Ribeiro e Lucena (2006, 2010).

Todas as medidas foram expressas como porcentagens do comprimento padrão (SL), exceto as subunidades da cabeça, as quais foram expressas como porcentagens do comprimento da cabeça (HL). As contagens de raios finos incluem todos os raios e os rastros branquiais foram contados no primeiro arco branquial (ceratobranquial e hipobranquial). Os dados morfométricos foram calculados e comparados entre os espécimes de *P. microstoma* do Alto Paraná segundo artigo do Ribeiro & Lucena (2010) e *P. microstoma* do Paraíba do Sul.

## 2.2 Análises Citogenéticas

Um total de 26 indivíduos de *P. microstoma* foi utilizado nas análises citogenéticas.

Quadro 1 – Espécies de *Pimelodus microstoma* coletados nos rios da Bacia Paraíba Sul com seus respectivos números de voucher

<b>Espécie</b>	<b>Sexo / nº de indivíduos</b>	<b>Localidade</b>	<b>Voucher</b>
<i>Pimelodus</i> sp.	Macho (4)	Rio Pomba (UTM-23K 0718913/7642228) Cataguases- MG	MZUFV 7119
	Fêmea (8)		
<i>Pimelodus</i> sp.	Macho (9)	Rio Novo (UTM-23K 710119/7620976) PCH Cachoeira da Fábrica- MG	MZUFV 7118,7120
	Fêmea (5)		

Os cromossomos metafásicos mitóticos foram obtidos a partir do rim anterior conforme descrito por Bertollo et al. (1978) e Camilo (2004). Em seguida, as preparações foram coradas com Giemsa 10%, fotografadas Olympus BX53, com câmera DP73F Olympus, utilizando-se o software CellSens Imaging. Os

cromossomos foram posteriormente medidos com auxílio do software Image-Pro Plus®. Posteriormente, classificados de acordo com a razão de braços (braço cromossômico mais longo / braço cromossômico mais curto) em metacêntricos (1,00–1,69), submetacêntricos (1,70–2,99), subtelocêntricos (3,00–6,99) e acrocêntricos (a partir de 7,01) para determinação da fórmula cariotípica, segundo Levan et al. (1964). A caracterização da região de heterocromatina constitutiva foi obtida a partir do protocolo proposto por Sumner (1972) e as regiões organizadoras nucléolos (NORs) evidenciadas por precipitação de nitrato com prata (Howell & Black, 1980). As sondas de oligonucleotídeos com sequências repetitivas GA(15) e CA(15) foram marcadas diretamente com fluorocromo Cy3 (Sigma (St. Louis, MO, USA) utilizando a técnica de Hibridação Fluorescente in situ (FISH) segundo Pinkel et al. (1986), com modificações (desnaturação em formamida 70% a 75 °C por 5 min). Todas as imagens das metáfases foram obtidas em microscópio

### **2.3 Análises Moleculares**

O DNA foi extraído com CTAB 2% (Doyle J.J. and Doyle J.L,1987) de 13 espécimes de *P. microstoma* provenientes da bacia Paraíba do Sul para análise de Citocromo Oxidase I (COI) (Nwani et al, 2010; Quezada-Romegelli, 2010; Ardura et al., 2010; Wong, 2011). As análises incluíram doze sequências da bacia do Alto Paraná, da plataforma BOLDSYSTEMS e 3 espécimes de *P. fur* da bacia São Francisco, da plataforma Genbak, completando 28 amostras do fragmento COI (Apêndice 2). As amplificações foram feitas com os iniciadores COIFishF.2 (5'-TTRTGGRGCTACAAICCC-3') e COIFishF.1 (5'TACTTCIGGGTGICCRAAGAAYCA-3') (Colatreli et al., 2012). Os ciclos utilizados na PCR foram: 35x (93°- 1min.) (93°- 10 seg.) (50°- 45seg) (72°- 1min e 30 seg.) (72°- 7min.) e (10°- ∞)

As sequências foram alinhadas usando o software Geneious Pro 4.8.5 (Drummond et al., 2012a). Os dados da sequência foram montados, editados, alinhados seguindo os métodos de Lujan et al. (2015). Os alinhamentos foram gerados usando Muscle (Edgar, 2004) sob parâmetros padrão. A matriz foi visualmente verificada para detectar desalinhamentos óbvios e possíveis casos de erros de sequenciamento; a presença de códons de parada foi verificada usando Geneious Pro 4.8.5. A variação nucleotídica, os padrões de substituição e as distâncias genéticas foram examinados usando o software Mega 6 (Tamura, Stecher, Peterson, Filipski, and Kumar 2013). Os melhores modelos de evolução de nucleotídeos para a subunidade 1 do Citocromo Oxidase (COI) foram selecionados usando o Modeltest 3.06 (Posada & Crandall, 1998) sob o critério de informação teórica Bayesian Information Criterion (BIC; Schwarz, 1978). A diversidade de haplótipos foi estimada através do programa DnaSP v5 (Librado and Rozas, 2009). A rede de haplótipos foi construída usando o programa Rede 4.5.1.6 (<http://fluxus-technology.com>) com a opção “Median join” (Bandelt et al., 1999).

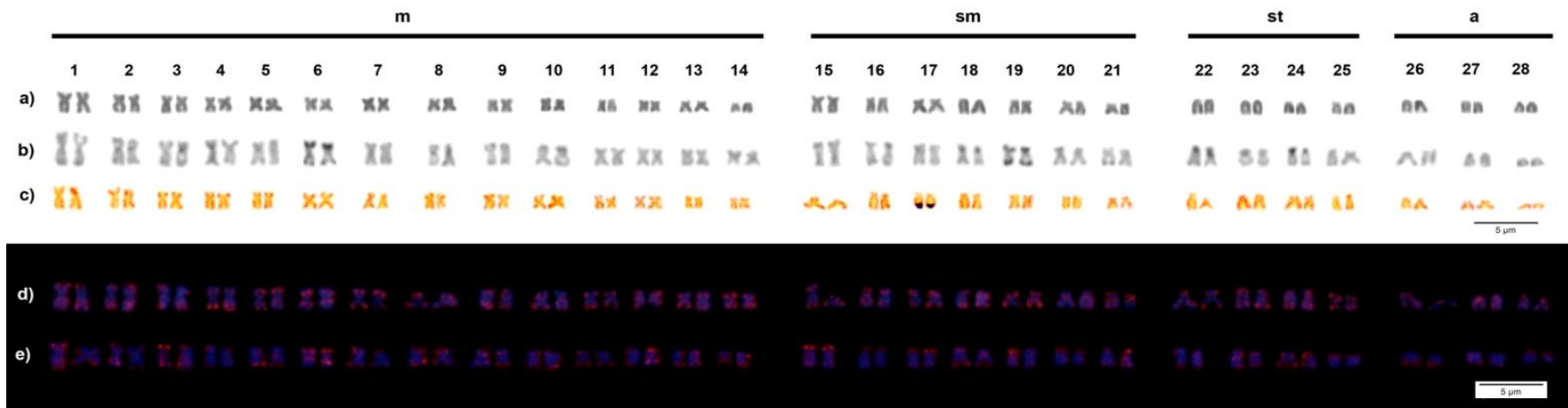
### **3. RESULTADOS**

#### **3.1 Resultados Morfológicos e Citogenéticos**

Os dados morfométricos não mostraram diferenças na comparação entre os sintipos de *P. microstoma* do Alto Paraná e *P. microstoma* do Paraíba do Sul (Tabela 1).

Citogeneticamente a espécie *P. microstoma* da bacia Paraíba do Sul, Minas Gerais apresentou um número diploide  $2n = 56$  cromossomos, número fundamental (FN) = 106 e fórmula cariotípica constituída por  $28m+12sm+10st+6a$  (Fig. 3a). O bandeamento C evidenciou blocos de heterocromatina na região terminal do braço

maior do par metacêntrico número 6 e do par submetacêntricos 19 e na região centromérica da maioria dos outros pares (Fig. 3b). As RONS foram identificadas apenas na porção terminal do par de cromossomos número 17 (Fig. 3c). Os microssatélites  $CA_{(15)}$  e  $GA_{(15)}$  apresentaram um padrão de distribuição semelhantes, ambos localizados exclusivamente nas regiões terminais dos cromossomos que também mostraram marcações intersticiais no par de cromossomos número 6. Não foi observado sistemas de cromossomos sexuais diferenciados, nem a ocorrência de cromossomos supranumerários.



**Figura 3** – Cariótipo da espécie *P. microstoma* da bacia Paraíba do Sul: Giemsa (a); padrões heterocromáticos obtidos com a banda C (b); NORs simples obtidas através de impregnação por prata (c) e FISH com as sondas GA<sub>(15)</sub> (d) e CA<sub>(15)</sub> (e).

### 3.2 Resultados Moleculares

O conjunto de dados das sequências do COI combinada de 28 amostras resultou em uma matriz com 567 pares de bases (pb) alinhados e editados. Desses, 507 são sítios conservados e 58 sítios variáveis. A composição de base para este fragmento (COI) foi de 27,9% de adenina, 27% de citosina, 27,2% de timina e 17,9% de guanina.

Analisando as distâncias intraespecíficas das espécies podemos observar que tanto as espécies da bacia Paraíba do Sul quanto às espécies de *P. microstoma* da bacia Alto Paraná apresentaram uma distância genética de 0,16%; e os *P. fur* da bacia do São Francisco exibiram 0% de distância genética (Tabela 2).

Os espécimes de *P. microstoma* da bacia Alto Paraná e os representantes de *P. microstoma* da bacia Paraíba do Sul, apresentaram 0,2% de distância genética interespecífica. Entre os representantes de *P. fur* da bacia do São Francisco com os *P. microstoma* da bacia Paraíba do Sul a distância genética foi de 2,9%; e entre os representantes de *P. fur* da bacia do São Francisco com os *P. microstoma* da bacia Alto Paraná avaliou uma distância genética de 3% (Tab. 2).

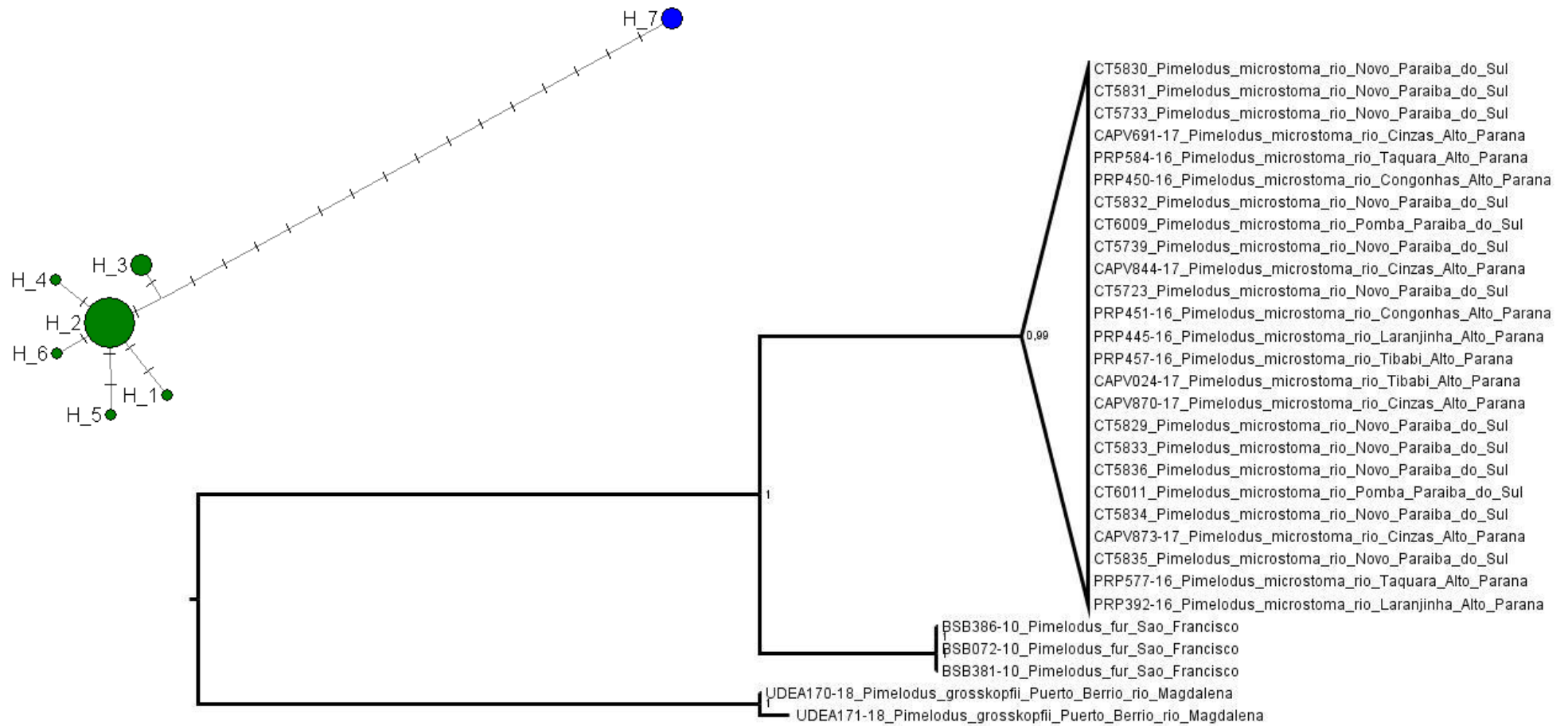
**Tabela 1** – Distância genética entre as espécies de *Pimelodus microstoma* e *Pimelodus fur*, em porcentagem (%) (preto) e em desvio padrão (azul)

Espécies	1	2	3
1. <i>P. microstoma</i> 'Paraiba_do_Sul'	0,16 ± 0,08		
2. <i>P. microstoma</i> 'Alto_Parana'	0,2 ± 0,1	0,16 ± 0,1	
3. <i>P. fur</i> 'Sao_Francisco'	2,9 ± 0,7	3 ± 0,7	0 ± 0

As sequências do gene COI resultaram em sete haplótipos. (Fig. 43). O haplótipo I foi formado por um espécime coletado na bacia Alto Paraná, rio Laranjinha, setor Paranapanema (N=1). O haplótipo II foi formado por espécimes

coletados em ambas as bacias. Na bacia do Alto Paraná nos rios: Congonhas (N=2), rio Laranjinha (N=1); rio Taquara (N=1), rio Tibabi (N=2) e rio das Cinzas (N=3) todos pertencentes ao setor Paranapanema e na bacia Paraíba do sul no rio Novo (N=8) e no rio Pomba (N=1). O haplótipo III foi formado por espécimes coletados em ambas as bacias. Na bacia Alto Paraná nos rios Taquara (N=1) e Cinzas (N=1), ambos rios pertencentes ao setor Paranapanema e na bacia Paraíba do Sul no rio Novo (N=1). O haplótipo IV foi formado por espécime coletado na Bacia Paraíba do Sul no rio Novo (N=1). O haplótipo V foi formado por espécime coletado na bacia Paraíba do Sul no rio Novo (N=1). O haplótipo VI foi formado por espécime coletado na Bacia Paraíba do Sul no rio Pomba (N=1) e o haplótipo VII foi formado por espécimes *P. fur* do rio São Francisco. Sendo assim, obtivemos haplótipos compartilhados e haplótipos exclusivos em ambas as bacias.

Na bacia Paraíba do Sul foram analisadas 13 sequências que incluíram 5 haplótipos apresentando uma diversidade de haplótipos  $hd=0,5385$ . Por outro lado, na bacia do Alto Paraná foram avaliadas 12 sequências que incluíram 3 haplótipos apresentando uma diversidade de haplótipos  $hd=0,4394$ . E na bacia do São Francisco foram aferidas 3 sequências que abrangem 1 haplótipo apresentando uma diversidade de haplótipos  $hd=0,0$ .



**Figura 4** – Em (a) rede de haplótipos: em verde *P. microstoma* das bacias hidrográficas Paraíba do Sul e Alto Paraná. Em azul: *P. fur* da bacia do São Francisco. Os traços em cada ramificação referem-se ao número de etapas mutacionais entre os haplótipos. Em (b) Árvore de Neighbor Joining de 28 sequências usando distâncias genéticas, com comprimentos de ramificação equivalentes ao número de substituições de bases por local.

### 3. DISCUSSÃO

Ao analisarmos e compararmos os dados morfométricos entre os espécimes de *P. microstoma* do Paraíba do Sul com os espécimes *P. microstoma* do Alto Paraná analisados por Ribeiro & Lucena (2010), vimos que não houve diferenças morfológicas entre os espécimes.

A espécie de *P. microstoma* da bacia do Paraíba do Sul apresenta mesma combinação de caracteres propostos por Ribeiro & Lucena (2006; 2007) para *P. microstoma* do Alto Paraná: padrão de cor cinza uniforme com apenas alguns pontos escuros (às vezes muito fracos ou ausentes) na região ântero-lateral; nadadeira adiposa relativamente longa, ocupando pelo menos metade da distância entre o final da base da nadadeira dorsal e o início do pedúnculo caudal; mandíbula superior proeminente, permitindo a visualização de quase toda a placa dentária pré-maxilar; boca relativamente pequena e barbilhão maxilar curto, geralmente não alcança a base do pedúnculo caudal.

Os exemplares de *P. microstoma* da bacia do Paraíba do Sul apresentaram  $2n = 56$  cromossomos, o cariótipo  $28m+12sm+10st+6a$  com  $NF=106$ . Segundo Malimpensa (2019), *P. microstoma* da bacia do Alto Rio Paraná exibe o mesmo número diploide,  $2n = 56$  cromossomos, o cariótipo  $20M+18SM+12ST+6A$  e  $NF = 106$ . Tais variações sugerem a ocorrência de inversões cêntricas e/ou translocações associadas à evolução cromossômica desse grupo (Swarça et al., 2000; Carvalho et al., 2010; Sanchez et al., 2014). De fato, tais rearranjos já foram considerados os mais frequentes associados às alterações da fórmula cariotípica (Carvalho et al., 2010; Moraes-Neto et al., 2011), exercendo papel fundamental na diversificação cromossômica de Pimelodidae (Garcia & Moreira-Filho, 2005).

Em relação à quantidade e posição da heterocromatina foi evidenciada nos cromossomos da espécie analisada marcações na região terminal do braço maior do par metacêntrico número 6 e do par submetacêntricos 19 e na maioria dos outros pares na região centromérica. Malimpensa (2019) evidenciou em *P. microstoma* presença de blocos heterocromáticos localizados preferencialmente nas regiões centroméricas e terminais dos cromossomos.

A utilização da técnica de impregnação por nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) revelou uma única NOR simples localizada na região terminal do braço longo do par 17 do cromossomo submetacêntrico nos exemplares de *P. microstoma* da bacia do Paraíba do Sul. Já Malimpensa (2019) descreveram as regiões de AgNORs localizado na região terminal dos braços longos de um único par cromossômicos subteloicêntricos 24 nos exemplares de *P. microstoma*.

Nossos resultados com os microssatélites  $(\text{CA})_{15}$  e  $(\text{GA})_{15}$  evidenciam marcações preferencialmente nas regiões terminais da maioria dos cromossomos, foi evidenciado marcação intersticial  $(\text{CA})_{15}$  e  $(\text{GA})_{15}$  no cromossomo par 6. No entanto, Malimpensa (2019) ao estudar *P. microstoma* do rio Mogi-Guaçu – bacia do Alto Paraná observou em seu estudo que as repetições  $(\text{CA})_{15}$  e  $(\text{GA})_{15}$  foram às únicas que exibiram localização exclusivamente terminal nos cromossomos, porém a sonda  $(\text{CA})_{15}$  evidenciou marcações intersticiais. Sítios SSRs nas regiões cromossômicas terminais/subterminais parece ser uma tendência predominante no genoma de alguns grupos de peixes, especialmente para as repetições  $(\text{CA})_{15}$  e  $(\text{GA})_{15}$ , dada a organização em cluster desses SSRs em diversas espécies (Poltronieri et al., 2014; Scacchetti et al., 2015; Pucci et al., 2016; Gouveia et al., 2017; Utsunomia et al., 2018). Microssatélites localizados preferencial em regiões específicas dos cromossomos apoia ideia evidenciada em outros trabalhos, de que a

organização dos SSRs no genoma não é aleatória, cada organismo/espécie exibe distribuições bem particulares nos cromossomos (Tóth et al., 2000; Scacchetti et al., 2015; Ruiz-Ruano et al., 2015; Utsunomia et al., 2018).

Tanto os valores intraespecíficos, quanto os valores interespecíficos das distâncias genéticas para as espécies de *P. microstoma* analisadas foram baixos (< 2%). Distâncias intraespecíficas menores do que 2% são interpretadas como variações intraespecíficas, por outro lado, uma distância interespecífica maior que 2%, podem indicar a existência de espécies diferentes (Hebert et al., 2003; Pereira et al., 2013). Embora não haja uma taxa específica para a família Pimelodidae, os tempos de diversificação entre as espécies parecem condizentes com a história geológica das bacias do Alto Paraná e Paraíba do Sul (Malimpensa, 2019).

Sendo assim, os resultados baseados em dados moleculares, citogenéticos e morfológicos evidenciaram que as populações de *P. microstoma* da bacia Paraíba do Sul e *P. microstoma* da bacia do Alto Paraná são de fato a mesma espécie. Deste modo, o gene COI não acumulou um número suficiente de mutações para que as duas populações se divergissem. A similaridade da ictiofauna entre as bacias costeiras do Brasil está fortemente determinada pelo que se chama de captura fluvial (Pereira et al., 2013).

Chama-se de captura fluvial o processo de desvio natural das águas de uma bacia hidrográfica para outra, sendo esse processo causa da expansão de uma drenagem em detrimento da vizinha (Christofoletti, 1975). Os estudos sobre capturas fluviais no Brasil iniciaram em 1957 por Ab'saber, em que deu um destaque específico à captura do alto curso do rio Tiete pelo médio curso do rio Paraíba do Sul (Cherem et al, 2012). Uma evidência de que a captura fluvial aconteceu, é o cotovelo do rio Paranaíba do Sul (onde o rio capturado muda bruscamente de direção no

ponto da captura), em Guaracema (SP). Washburne (1930) descreveu cotovelo de captura como um cânion agudo com todos os elementos, uma designação dada pelos fisiógrafos para indicar o local onde um rio capturou o outro.

Várias são as referências da conexão periférica entre as drenagens do rio Tietê e do Paraíba do Sul. Em 1894, Hermann Von Ihering publicou pela primeira vez sobre a possibilidade de conexões antigas entre as drenagens das duas bacias. King (1956) considerou o processo de conexões das antigas cabeceiras do Rio Tietê pelo Rio Paraíba do Sul um clássico exemplo de captura fluvial, certamente uma das mais espetaculares da Terra. Ab'Sáber (1957) em seu trabalho investiga que o desnível entre o Cotovelo de Guararema e o atual curso do Rio Tietê é da ordem de 175m. Esse desnível mostra que na porção mais elevada encontra-se a sudoeste da captura, sugerindo uma elevação relacionada à movimentação de falhas, com componentes normais e abatimento dos blocos situados a nordeste. Acredita-se que os rios Paraitinga e Paraibuna compunham as cabeceiras do antigo Rio Tietê, obrigado a admitir-se um soerguimento mínimo de 160 m do bloco situado a sudoeste do cotovelo em relação àquele situado a nordeste. Estas falhas, ao promoverem o soerguimento escalonado dos blocos a sudoeste e rebaixamento a nordeste, tornaram-se uma barreira ao fluxo para oeste-sudoeste do alto curso do Rio Tietê, que não teve outra opção a não ser correr para o Vale do Paraíba do Sul.

A conexão foi interrompida por “modificações geológicas” e o Rio Paraíba, inverteu completamente de seu curso original, passando a correr em direção ao norte. Woodworth (1912) descreveu que o sentido de fluxo natural do Rio Paraitinga seria para oeste, rumo à confluência com o Tietê, do qual poderia ser considerado como parte de suas cabeceiras, capturada pelo Rio Paraíba. Percebe-se que o rio Paraíba do Sul funcionou como um “corredor de dispersão” entre as bacias costeiras

e drenagens do alto rio Paraná. Hoje em dia, o rio Paraíba do Sul atravessa o Lineamento Magmático de Cabo Frio (Riccomini et al., 2005), o qual limita os setores geomorfológicos costeiros do leste e sudeste (Villwock et al., 2005). Regiões envolvendo os divisores de águas do rio Paraíba do Sul e Alto Paraná possui uma complexa história paleohidrológica de capturas de cabeceiras que provavelmente levaram à ictiofauna semelhante entre essas bacias (Ribeiro, 2006; Menezes et al., 2008; Buckup, 2011).

Em conjunto, os resultados cariotípicos, associados com os dados de barcoding corroboram a comprovação de que os *P. microstoma* de ambas bacias são as mesmas espécies, porém é a primeira vez que esta espécie é citada na bacia do rio Paraíba do Sul. Isso nos deixa intrigados na busca por uma explicação de como *P. microstoma* está presente em ambas às bacias, mas foi descrito para bacia do Alto Paraná.

Morfologicamente, não houve diferenças morfológicas entre os espécimes *P. microstoma* de ambas bacias. Citogeneticamente foi confirmada a conservação cromossômica em características como o número diploide ( $2n$ ), o número fundamental (NF) e os padrões de distribuição da heterocromatina. Em contrapartida, a localização dos sítios Ag-RONs apresentou variações no par cromossômico das regiões organizadoras de nucléolo. O padrão de distribuição dos microssatélites nas regiões terminais dos cromossomos com a presença de sítios intersticiais foi evidenciado entre os espécimes *P. microstoma* de ambas bacias. Já a análise molecular utilizando DNA *barcoding*, demonstrou grande similaridade com a espécie de *P. microstoma* do Alto Paraná. Este é o primeiro estudo sugerindo a ocorrência da espécie *P. microstoma* da bacia Paraíba do Sul, em que contribuiu para uma caracterização de dados de morfológicos, citogenéticos e moleculares.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- AB'Sáber, A. N. (1957). O problema das conexões antigas e da separação da drenagem do Paraíba e do Tietê. *Boletim Paulista de Geografia*, 26:38-49.
- Albert, J. S.; Petry, P. & Reis, R. E. (2011 b) Major biogeographic and phylogenetic patterns. In *Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes* (Albert, J. S. & Reis, R. E., eds), pp 21-57. University of California Press.
- Ardura, A.; Linde, A.R.; Moreira, J.C. & Garcia-Vazquez, E. (2010). DNA barcoding for conservation and management of Amazonian commercial fish. *Biological Conservation*, 143: 1438–1443.
- Barbosa, J. M.; Soares, E.C.; Cintra, I. H. A.; Hermann, M.; Araújo, A. R. R. (2017). Perfil da ictiofauna da bacia do Rio São Francisco. *ActaFish*, 5: 70-90.
- Bertollo, L. A. C.; Takahashi, C. S.; Moreira-Filho, O. (1978). Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). *Brazilian Journal of Genetics*, 1: 103-20.
- Borin, L. A.; Martins-Santos, I. C. (2002). Cytogenetic aspects in species of the genus *Pimelodus* (Pisces, Siluriformes, Pimelodidae) of the river Paraná Basin. *Cytologia*, 67: 199-204.
- Borin, L. A.; Martins-Santos, I. C. (2004). Study on karyotype and occurrence of B chromosomes in two endemic species of the genus *Pimelodus* (Siluriformes, Pimelodidae) from the River Iguçu. *Hereditas*, 140:201-209.
- Britski, H. A.; Langeani, F. (1988). *Pimelodus paranensis* sp.n., um novo Pimelodidae (Pisces), Siluriformes do alto Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 5: 409-417.
- Britski, H. A. (1991). Peixes de água doce. In: CARVALHO, J.C.M. Atlas de fauna brasileira. São Paulo: Melhoramentos, 84-93.

- Buckup, P. A. (2011). The Eastern Brazilian Shield. In: Albert JS, Reis RE, editors. Historical biogeography of neotropical freshwater fishes. Berkeley: University of California, 203-210.
- Camilo, F. M (2004). Estudos citogenéticos em algumas espécies de peixes da família Loricariidae pertencentes à bacia do rio Piracicaba. Dissertação de mestrado. PPG - Genética e Evolução. Universidade Federal de São Carlos-UFScar. p.61
- Carvalho, R. A.; Sanchez, S.; Swarça, A. C.; Fenocchio, A. S.; Martins-Santos, I. C. and Dias, A. L. (2011). Chromosomal analyses in *Megalonema platanum* (Siluriformes: Pimelodidae), an endangered species from South American rivers. *Neotropical Ichthyology*, 9: 177-182
- Colatreli, O. P.; Meliciano, N. V.; Toffoli, D.; Farias, I. P.; Hrbek, T. (2012). Deep Phylogenetic Divergence and Lack of Taxonomic Concordance in Species of *Astronotus* (Cichlidae). *International journal of evolutionary biology*.
- Cherem, L. F. S.; Varajão, C. A. C.; Salgado, A. A. R.; Varajão, A. F. D. C.; Braucher, R.; Boursles, D.; Magalhães-JR, A. P.; Nalini-JR, H. A. (2012). Denudação química e rebaixamento do relevo em bordas interplanálticas com substrato granítico: dois exemplos no SE de Minas Gerais. *Revista Brasileira de Geomorfologia*, 13: 73-84.
- Christofoletti, A. (1975). Capturas fluviais. *Enciclopédia Mirador Internacional*. São Paulo, 5: 2.049-2.051.
- Doyle, J.J. and Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure from small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull*, 19: 11-15.
- Drummond, A.J. et al. 2012a. Geneious v4.8.5.

- Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: a multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. *BMC Bioinformatics*, 5: 1-19.
- Eigenmann, C. H.; Eigenmann, R. S. (1888). Preliminary notes on South American Nemathognathi I. *Proceedings of the California Academy of Sciences*, 1: 119-172.
- Eigenmann, C. H.; Eigenmann, R. S. (1890). A revision of the South American Nemathognathi or cat-fishes. *Occasional Papers of the California Academy of Sciences*, 1: 1-508.
- Fricke, R.; Eschemeyer, W. N.; Fong, J. D. (2020). Species by family/subfamily in the Catalog of Fishes. California Academy of Sciences. Disponível em: <<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/speciesbyfamily.asp#Pimelodidae>>. Acesso em 30 de jun. de 2020.
- Fowler, H. W. (1954). Os peixes de água doce do Brasil. *Arquivos de Zoologia*, São Paulo, 9: 1-400.
- Garavello, J. C.; Shibatta, O. A. (2007). A new species of the genus *Pimelodus* La Cépède, 1803 from the rio Iguazu basin and a reappraisal of *Pimelodus ortmanni* Haseman, 1911 from the rio Paraná system, Brazil (Ostariophysi: Siluriformes: Pimelodidae). *Neotropical Ichthyology*, 3: 285-292.
- Garcia, C.; Moreira-Filho, O. (2005). Cytogenetical analyses in three fish species of the genus *Pimelodus* (Siluriformes: Pimelodidae) from rio São Francisco: considerations about the karyotypical evolution in the genus. *Neotropical Ichthyology*, 3: 285-290.
- Girardi, S. C.; Pavanelli, C. S.; Margarido, V. P. (2018). Contributions to the systematic of Pimelodidae (Osteichthyes, Siluriformes): basic and molecular

cytogenetics on seven species of *Pimelodus* from three Brazilian hydrographic systems Neotropical Ichthyology, 16.

Gosline, W. A. (1945). Catálogo dos Nematognathos de água doce da América do Sul e Central. Boletim do Museu Nacional, Rio de Janeiro, Zoologia, 33: 1-138.

Gouveia, J. G.; Wolf, I. R.; VilaS-Boas, L. A.; Heslop-Harrison, J. S.; Schwarzacher, T.; Dias, A. L. (2017). Repetitive DNA in the catfish genome: rDNA, microsatellites, and Tc1-mariner transposon sequences in *Imparfinis* species (Siluriformes, Heptapteridae). Journal of heredity, 108, 650-657.

Grande, L.; Eastman, J. T. (1986). A review of Antarctic ichthyofaunas in the light of new fossil discoveries. Paleontology, 29: 113-137.

Hebert, P. D. N.; Cywinska, A.; Ball, S. L.; Dewaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences, 270: 313-321.

Howell, W. M.; Black, D. A. (1980). Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. Experientia, 36: 1014-1015.

Ihering, H. V. (1894). Observações sobre peixes fósseis de Taubaté. Revista do Museu paulista, 2:145-148 (transcrição da artigo publicado no jornal o Estado de São Paulo, em 12 de junho de 1894).

King, L. C. (1956). A Geomorfologia do Brasil Oriental. Revista Brasileira de Geografia, 18: 147-265.

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

- Librado, P. and Rozas, J. (2009). *DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data*. *Bioinformatics*, 25: 1451-1452.
- Lucena, C. A. S.; Calegari, B. B.; Pereira, E. H. L; Dallegrave, E. (2013). O uso de óleo de cravo na eutanásia de peixes. *Boletim Sociedade Brasileira de Ictiologia*, 105: 20–24.
- Lujan, N. K.; Armbruster, J. W.; Lovejoy, N. R, & López-Fernández, H. (2015). Multilocus molecular phylogeny of the suckermouth armored catfishes (Siluriformes: Loricariidae) with a focus on subfamily Hypostominae. *Molecular Phylogenetic Evolution*, 82: 269-88.
- Lundberg, J. G.; Littmann, M. W. (2003). Pimelodidae. In: REIS, R.E.; Kullander, S.O.; Ferraris Jr., C.J. (Eds.). *Check list of the Freshwater Fishes of South and Central America*. Porto Alegre: EDIPUCRS, 432–446.
- Lundberg, J. & McDade, L. (1986). On the South American Catfish *Brachyrhamdia imitator* Myers (Siluriformes, Pimelodidae), with Phylogenetic Evidence for a Large Intrafamilial Lineage. *Notulae Naturae of The Academy of Natural Science of Philadelphia*, 46: 1–24.
- Lundberg, G. J.; Parisi, M. B. (2002). *Propimelodus*, new genus, and redescription of *Pimelodus eigenmanni* Van der Stigchel 1946, a long-recognized yet poorly-known South American catfish (Pimelodidae: Siluriformes). *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 152: 75-88.
- Malimpensa, C. G. (2019). *Investigações cromossômicas e moleculares e integrativas como suporte à delimitação de espécies de Pimelodidae (Siluriformes)*. Dissertação, (Mestrado em Genética Evolutiva e Biologia Molecular), Universidade Federal de São Carlos – UFSCar.

- Menezes, N. A.; Ribeiro, A. C.; Weitzman, S. H.; Torres, R. A. (2008). Biogeography of Glandulocaudinae (Teleostei: Characiformes: Characidae) revisited: phylogenetic patterns, historical geology and genetic connectivity. *Zootaxa*, 1726, 33-48.
- Mess, G. F. (1974). Auchenipteridae and Pimelodidae. *Zoologische Verhandelingen*, 132: 115-246.
- Moraes-Neto, A.; Silva, M. D.; Matoso, D. A.; Vicari, M. R.; Almeida, M. C. D.; Collares-Pereira, M. J.; Artoni, R. F. (2011). Karyotype variability in Neotropical catfishes of the family Pimelodidae (Teleostei: Siluriformes). *Neotropical Ichthyology*: 97-105.
- Nelson, J. S. (2016). *Fishes of the world*. Hoboken: John Wiley & Sons, New Jersey, 5: 707.
- Nwani, C. D.; Becker, S.; Braid, H. E.; Ude, E. F.; Okogwu, O. I. & Hanner, R. (2011). DNA barcoding discriminates freshwater fishes from southeastern Nigeria and provides river system-level phylogeographic resolution within some species. *Mitochondr DNA*. Early Online: 1–9
- Oliveira, C.; Gosztanyi A. E. (2000). A cytogenetic study of *Diplomystes mesembrinus* (Teleostei, Siluriformes, Diplomystidae) with a discussion of chromosome evolution in Siluriforms. *Caryologia*, 53: 31-37.
- Pereira, L. H; Hanner, R.; Foresti, F.; Oliveira, C. (2013). Can DNA *barcoding* accurately discriminate megadiverse Neotropical freshwater fish fauna? *BMC Genetics*, 14:20.
- Pinna, M. C. C. (1993) Higher-Level phylogeny of Siluriformes, with a new classification of the order (Telostei, Ostariophysi). Tese de doutorado, The City University of New York, New York.

- Pinna, M. C. C. (1998). Phylogeny and classification of neotropical fishes, chap. Phylogenetic relationships of neotropical Siluriformes (Teleostei: Ostariophysi): historical overview and synthesis of hypotheses. Edipucrs, Porto Alegre, Brasil, 279–330.
- 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.
- Posada, D; Crandall, K. A. (1998). MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 14: 817–818.
- Poltronieri, J.; Marquioni, V.; Bertollo, L. A. C.; Kejnovsky, E.; Molina, W.F.; Liehr, T.; Cioffi, M.B. (2014). Comparative chromosomal mapping of microsatellites in *Leporinus* species (Characiformes, Anostomidae): unequal accumulation on the W chromosomes. *Cytogenetic and Genome Research*, 142: 40-45.
- Pucci, M. B.; Barbosa, P.; Nogaroto, V.; Almeida, M. C.; Artoni, R. F.; Scacchetti, P. C.; Alves, J. C. P.; Foresti, F.; Moreira-Filho, O.; Vicari, M. R. (2016). Chromosomal spreading of microsatellites and (TTAGGG)<sub>n</sub> sequences in the *Characidium zebra* and *C. gomesi* genomes (Characiformes: Crenuchidae). *Cytogenetic and Genome Research*, 149: 182-190.
- Quezada-Romegialli, C.; Fuentes, M. & Veliz, D. (2010). Comparative population genetics of *Basilichthys microlepidotus* (Atheriniformes: Atherinopsidae) and *Trichomycterus areolatus* (Siluriformes: Trichomycteridae) in north central Chile. *Environmental Biology of Fishes*. 89:173-186.
- Ramirez-Gil, H.; Feldberg, E., Almeida-Val, V. M. F.; VAL, A. L. (1998). Karyological, biochemical, and physiological aspects of *Callophysus macropterus*

- (Siluriformes, Pimelodidae) from the Solimões and Negro Rivers (Central Amazon). *Brazilian Journal Medicine Biological Research*, 31: 1449-1458.
- Renesto, E.; Zawadzki, C. H.; Revaldaves, E. (2000). Genetic evidence for two species of the genus *Pimelodus* Lacépède, 1803 (Siluriformes, Pimelodidae) in the Iguaçú River (Brazil). *Genetics and Molecular Biology*, 23: 809-813.
- Ribeiro, F. R. V.; Lucena, C. A. S. (2006). A new species of *Pimelodus* LaCépède, 1803 (Siluriformes: Pimelodidae) from the rio São Francisco drainage, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 4: 411-418.
- Ribeiro, F. R. V.; Lucena, C. A. S. (2007). *Pimelodus microstoma* Steindachner, 1877, a valid species of pimelodid catfish (Siluriformes: Pimelodidae) from the upper rio Paraná drainage. *Neotropical Ichthyology*, 5: 75-78
- Ribeiro, F. R. V.; Lucena, C. A. S.; Lucinda, P. H. F. (2008). Three new *Pimelodus* species (Siluriformes: Pimelodidae) from the rio Tocantins drainage, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 6: 455-464.
- Ribeiro, F. R. V.; Lucena, C. A. S. (2010). *Pimelodus heraldoi* Azpelicueta, 2001, a junior synonym of *Pimelodus microstoma* Steindachner, 1877 (Siluriformes: Pimelodidae). *Neotropical Ichthyology*, 8:277-281.
- Ribeiro, F. R. V.; Lucena, C. A. S.; Oyakawa, O. T. (2011). A new species of *Pimelodus* La Cépède, 1803 (Siluriformes: Pimelodidae) from rio Ribeira de Iguape basin, Brazil. *Neotropical ichthyology*, 9: 127-134.
- Riccomini, C.; Velázquez, V. F.; Gomes, C. B. (2005). Tectonic controls of the Mesozoic and Cenozoic alkaline magmatism in central-southeastern Brazilian Platform. *In: Comin-Chiaramonti, P. & Gomes, C.B. (Eds.). Mesozoic to Cenozoic alkaline magmatism in the Brazilian Platform. São Paulo, EDUSP-FAPESP, 31-55.*

- Sumner, A. T. (1972). A simple technique for demonstrating centromeric heterocromatin. *Experimental Cell Research* 75: 304-306.
- Swarça, A.C.; Giuliano-Caetano, L.; Dias, A. L. (1999). Cytogenetic characterization through chromosomic banding of *Pinirampus pinirampus* (Pisces, Pimelodidae) from the Tibagi River basin PR, Brazil. *Caryologia.*; 52:31-35.
- Tamura, K.; Stecher, G.; Peterson, D.; Filipski, A.; and Kumar S. (2013) MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*:30 2725-2729.
- Toth, G.; Gáspári, Z.; Jurka, J. (2000). Microsatellites in Different Eukaryotic Genomes: Survey and Analysis. *Genome Research*, 10: 967–981.
- Utsunomia, R.; Melo, S.; Scacchetti, P. C.; Oliveira, C.; Machado, M. A.; Pieczarka, J. C.; Nagamachi, C. Y.; and Foresti, F. (2018). Particular chromosomal distribution of microsatellites in five species of the genus *Gymnotus* (Teleostei, Gymnotiformes). *Zebrafish*, 1-6.
- Vasconcelos, C. de; Martins-santos, I. C. (2000). Chromosome polymorphism in species of the Pimelodidae family (Pisces, Siluriformes). *Hereditas*, 132: 103-109.
- Villwock, J. A.; Lessa, G. C.; Suguio, K.; Ângulo, R. J. & Dillenburg, S. R. (2005) Geologia e geomorfologia de regiões costeiras. *Quaternário do Brasil* (ed. por C.R.G. Souza, K. Suguio, M.A.S. Oliveira & P.E. Oliveira), pp. 94-113. Holos, Ribeirão Preto, Brasil.
- Vissotto, P. C.; Foresti, F.; Oliveira, C. (1999b). Karyotype description of five species of Pimelodidae (Teleostei, Siluriformes). *Chromatographic Science*, 3:1-7.

- Washburne, C. W. (1930). Petroleum geology of the State of São Paulo – Brazil. *Boletim Comissão Geographica e Geologica do Estado de São Paulo*, 22:1-282.
- Wong, L. L.; Peatman, E.; Lu, J.; Kucuktas, H.; He, S.; Zhou, C.; Na-Nakorn, U. & Liu, Z. (2011). DNA Barcoding of Catfish: Species Authentication and Phylogenetic Assessment. *PLoS ONE*, 6(3): e17812
- Woodworth, J. B. (1912). Geological expedition to Brazil and Chile. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology at Harvard College*, 56:1-137.

**APÊNDICE A** - Chave provisória de espécies de *Pimelodus microstoma* do Alto Rio Paraná segundo Ribeiro & Lucena (2007).

1. Premaxillary tooth plate with pointed postero-lateral corners; dorsal-spine length 55-64% of HL ..... *P. paranaensis*
- 1'. Premaxillary tooth plate with rounded postero-lateral corners; dorsal-spine length 67-92% of HL ..... 2
2. Eight or 9 irregular rows of dots on body sides..... *P. heraldoi*
- 2'. Three to 5 rows of dark blotches on body sides or gray uniform color pattern with only a few small dark dots on the antero-lateral region, sometimes very weak or absent ..... 3
3. Gray uniform color pattern with only a few small dark dots in the antero-lateral region, sometimes very weak or absent; predorsal length 37.1-40.8% of SL; 17-22 gill rakers on first branchial arch ..... *P. microstoma*
- 3'. Three to 5 rows of dark blotches on body sides; predorsal length 42.3-52.0% of SL; 21-25 gill rakers on first branchial arch ..... 4
4. Three rows of dark blotches on body sides; caudal-fin lobes hyaline; anal-fin length 16.0-17.2% of SL; head depth 61.1-72.1% of HL; interorbital width 25.3-29.9% of HL..... *P. maculatus*
- 4'. Three to 5 rows of dark blotches on body sides; spotted caudal-fin lobes; anal-fin length 14.4-16.9% of SL; head depth 50.5-64.4% of HL; interorbital width 21.9-26.9% of HL ..... *P. platycirris*

**APÊNDICE B** - Espécie *Pimelodus microstoma* código, número de tombo, localização, drenagem e país de origem e dados. Resumo e dados de COI publicados anteriormente baixados no bold e genbank.

<b>Espécie</b>	<b>Código</b>	<b>MZUFV</b>	<b>Localização</b>	<b>Drenagem</b>	<b>País</b>
<i>P. microstoma</i>	CT5723	7120	rio Novo	Paraíba do Sul	Brasil
<i>P. microstoma</i>	CT5733	7120	rio Novo	Paraíba do Sul	Brasil
<i>P. microstoma</i>	CT5739	7120	rio Novo	Paraíba do Sul	Brasil
<i>P. microstoma</i>	CT5829	7118	rio Novo	Paraíba do Sul	Brasil
<i>P. microstoma</i>	CT5830	7118	rio Novo	Paraíba do Sul	Brasil
<i>P. microstoma</i>	CT5831	7118	rio Novo	Paraíba do Sul	Brasil
<i>P. microstoma</i>	CT5832	7118	rio Novo	Paraíba do Sul	Brasil
<i>P. microstoma</i>	CT5833	7118	rio Novo	Paraíba do Sul	Brasil
<i>P. microstoma</i>	CT5834	7118	rio Novo	Paraíba do Sul	Brasil
<i>P. microstoma</i>	CT5835	7118	rio Novo	Paraíba do Sul	Brasil
<i>P. microstoma</i>	CT5836	7118	rio Novo	Paraíba do Sul	Brasil
<i>P. microstoma</i>	CT6009	7119	rio Pomba	Paraíba do Sul	Brasil
<i>P. microstoma</i>	CT6011	7119	rio Pomba	Paraíba do Sul	Brasil
<i>P. microstoma</i>	CAPV873-17		rio das Cinzas	Alto Paraná	Brasil
<i>P. microstoma</i>	CAPV844-17		rio das Cinzas	Alto Paraná	Brasil
<i>P. microstoma</i>	CAPV870-17		rio das Cinzas	Alto Paraná	Brasil
<i>P. microstoma</i>	CAPV691-17		rio das Cinzas	Alto Paraná	Brasil

<b>Espécie</b>	<b>Código</b>	<b>MZUFV</b>	<b>Localização</b>	<b>Drenagem</b>	<b>País</b>
<i>P. microstoma</i>	PRP457-16		rio Tibabi	Alto Paraná	Brasil
<i>P. microstoma</i>	PRP577-16		rio Taquara	Alto Paraná	Brasil
<i>P. microstoma</i>	PRP584-16		rio Taquara	Alto Paraná	Brasil
<i>P. microstoma</i>	PRP392-16		rio Laranjinha	Alto Paraná	Brasil
<i>P. microstoma</i>	PRP445-16		rio Laranjinha	Alto Paraná	Brasil
<i>P. microstoma</i>	PRP450-16		rio Congonhas	Alto Paraná	Brasil
<i>P. microstoma</i>	PRP451-16		rio Congonhas	Alto Paraná	Brasil
<i>P.fur</i>	BSB381-10			São Francisco	Brasil
<i>P.fur</i>	BSB386-10			São Francisco	Brasil
<i>P.fur</i>	BSB072-10			São Francisco	Brasil

**APÊNDICE C** - Medições morfométricas e merísticas de espécimes de *P. microstoma* do alto rio Paraná e do rio Paraíba do Sul, Brasil. Os resultados são apresentados em porcentagem (%) e o comprimento padrão em milímetros (mm).

	<i>P. microstoma</i> Alto Paraná (n=15)			<i>P. microstoma</i> Paraíba do Sul (n=27)		
	Padrões Morfométricos					
	Menor	Maior	Média	Menor	Maior	Média
<b>Comprimento padrão (mm)</b>	88.2	149.2	109.0	103.1	162.2	125.9
<b>Porcentagens de comprimento padrão</b>						
Comprimento predorsal	37.1	40.8	38.7	34.15	40.2	37.1
Comprimento pré-anal	72.2	77.0	74.7	68.29	74.0	71.1
Comprimento da cabeça	26.7	28.6	27.5	24.62	30.6	26.6
Comprimento do pedúnculo caudal	13.4	17.5	15.5	16.78	23.3	18.7
Altura do pedúnculo caudal	8.4	9.8	9.1	7.04	10.4	8.1
Comprimento da nadadeira adiposa	24.6	30.2	28.2	22.15	29.4	25.8
Altura da nadadeira adiposa	5.8	7.7	7.0	4.60	6.7	5.6
Fim da base da nadadeira dorsal até a origem da distância da nadadeira adiposa	8.6	14.6	11.0	10.21	16.4	13.0
Base da nadadeira anal	11.1	13.8	12.2	9.01	14.0	11.3
Comprimento nadadeira anal	15.0	16.4	15.9	15.29	18.9	17.0
Comprimento da nadadeira pélvica	15.0	17.9	16.6	13.72	17.7	16.0
Comprimento da nadadeira dorsal	21.9	24.6	23.0	21.99	33.2	24.4
Distância da origem da papila urogenital à nadadeira anal	11.7	15.3	13.9	8.80	16.4	14.3
Comprimento do espinho dorsal	18.6	21.6	20.3	16.16	21.3	19.4
Comprimento do espinho peitoral	15.6	18.2	16.9	13.74	18.7	16.6
Altura do corpo	19.5	26.9	23.1	16.77	22.4	19.2
Largura do corpo	16.2	19.5	17.8	12.56	16.8	15.4
Comprimento do processo cleithral posterior	11.2	12.8	12.0	9.62	12.5	11.1
<b>Porcentagens de comprimento da cabeça</b>						
Profundidade da cabeça	58.2	74.5	67.0	50.5	71.0	63.0
Largura interorbital	20.3	24.7	21.8	21.2	37.0	26.0
Comprimento do focinho	43.4	48.3	45.9	37.9	50.0	45.0
Comprimento internasal	15.4	19.4	17.1	13.0	19.0	16.0
Largura internasal anterior	10.7	13.3	12.1	8.4	12.0	10.0
Largura internasal posterior	18.1	22.9	20.8	15.0	26.0	20.0
Diâmetro ocular horizontal	24.2	29.5	27.7	21.1	31.0	26.0
Largura da boca	28.4	36.4	31.7	23.8	37.0	30.0
Largura supraoccipital	18.3	23.2	20.6	15.6	26.0	22.0
Comprimento supraoccipital	30.7	36.8	33.2	22.8	44.0	33.0
<b>Contagem</b>						
	Mínimo	Máximo	Moda	Mínimo	Máximo	Moda
Raios da nadadeira dorsal	6	6	6	6	6	6
Raios da nadadeira peitoral	9	11	10	8	11	10
Raios da nadadeira anal	14	15	14	14	18	15
Raios principais da nadadeira caudal	17	17	17	14	17	15
Rastros branquiais no primeiro arco branquial	17	21	19	17	20	18