

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CONSERVAÇÃO E
MANEJO DE RECURSOS NATURAIS – NÍVEL MESTRADO

STEPHAN PABLO BELIM MOTTER

ESTUDOS COMPARATIVOS ENTRE POPULAÇÕES DE *Loricariichthys rostratus*
(SILURIFORMES, LORICARIIDAE, LORICARIINAE) COLETADAS À
MONTANTE E À JUSANTE DAS CATARATAS DO IGUAÇU: ASPECTOS
CITOGENÉTICOS, GENÉTICO-MOLECULARES E REPRODUTIVOS.

CASCADEL – PR

FEVEREIRO/2016

STEPHAN PABLO BELIM MOTTER

ESTUDOS COMPARATIVOS ENTRE POPULAÇÕES DE *Loricariichthys rostratus*
(SILURIFORMES, LORICARIIDAE, LORICARIINAE) COLETADAS À
MONTANTE E À JUSANTE DAS CATARATAS DO IGUAÇU: ASPECTOS
CITOGENÉTICOS, GENÉTICO-MOLECULARES E REPRODUTIVOS.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Conservação e Manejo de Recursos Naturais – Nível Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais. Área de Concentração: Conservação e Manejo de Recursos Naturais.

Área de Concentração: Conservação e Manejo de Recursos Naturais

Orientador: Dr. Vladimir Pavan Margarido

CASCADEL – PR

FEVEREIRO/2016

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Belim Motter, Stephan Pablo

Estudos comparativos entre populações de *Loricariichthys Rostratus* (Siluriformes, Loricariidae, Loricariinae) coletadas à montante e à jusante das Cataratas Do Iguaçu: Aspectos citogenéticos, genético-moleculares e reprodutivos. / Stephan Pablo Belim Motter; orientador Vladimir Pavan Margarido; coorientadora Rafaela Maria Moresco. -- Cascavel, 2016.

39 p.

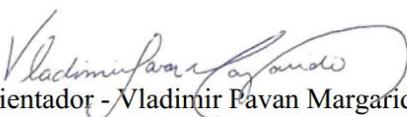
Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Cascavel) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, 2016.

1. Citogenética. 2. Biogeografia. 3. Ovos Adesivos. I. Pavan Margarido, Vladimir, orient. II. Moresco, Rafaela Maria, coorient. III. Título.

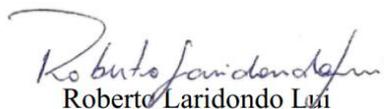
STEPHAN PABLO BELIM MOTTER

Estudos comparativos entre populações de *Loricariichthys rostratus* (Siluriformes, Loricariidae, Loricariinae) coletadas à montante e à jusante das Cataratas do Iguaçu: aspectos citogenéticos, genético-moleculares e reprodutivos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Conservação e Manejo de Recursos Naturais em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, área de concentração Conservação e Manejo de Recursos Naturais, linha de pesquisa Biologia Comparada e Indicadores de Qualidade no Ambiente Aquático, APROVADO pela seguinte banca examinadora:


Orientador - Vladimir Pavan Margarido

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)


Roberto Laridondo Lima

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)


Daniel Rodrigues Blanco

Universidade Tecnológica Federal do Paraná-UTFPR - Campus de Santa Helena (UTFPR)

Defesa realizada em Cascavel, 26 de fevereiro de 2016.

Dedico este trabalho à Ciência.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Estadual do Oeste do Paraná, que possibilitou a realização das minhas atividades.

Ao Programa de Pós Graduação em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, a coordenação e a secretária. Aos professores, pelos ensinamentos e conhecimentos compartilhados.

A Fundação Araucária (Fundação Araucária de Apoio e Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Estado do Paraná), CAPES (Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Ensino Superior), FPTI (Fundação Parque Tecnológico Itaipu) e ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo financiamento de projetos e pela bolsa concedida.

Ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) por autorizar a captura dos peixes. A Unioeste, ao Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura (Nupélia) e ao Parque Nacional do Iguaçu, Macuco Safari pelo apoio logístico.

Ao Centro de Microscopia e Microanálise do IBILCE/UNESP/S.J. do Rio Preto/SP, a Profa. Dra. Lilian Madi-Ravazzi pela captura das imagens no MEV (FAPESP, Proc. 95/06165-1), aos funcionários Rosana Silistino Souza e Luis Roberto Faleiros pela ajuda nas preparações técnicas.

Ao professor Dr. Vladimir Pavan Margarido e a professora Dra. Rafaela Maria Moresco pela paciência, dedicação e ensinamentos aos alunos para que pudessem realizar seus trabalhos da melhor maneira possível.

Aos professores Roberto Laridondo Lui e Jocicléia Thoms Konerat por sempre me auxiliarem com dúvidas, dicas, sugestões e novas ideias para o trabalho.

Aos colegas de laboratório que sempre ajudaram nos momentos em que mais foi necessário, Leonardo, Lucas, Mariane, Gisele, Aline, Anahiê, Simones, Roberto, que sempre estiveram envolvidas nos trabalhos compartilhando seus conhecimentos ou experiências.

Ao técnico Fernandes João Luzzi pelo apoio no laboratório.

A colega Vanessa que, mesmo longe sempre esteve presente auxiliando com sua experiência e com muita paciência.

Aos meus amigos que sempre apoiaram.

Aos meus pais, que sempre me incentivaram e deram forças para que este trabalho fosse concluído.

A minha namorada e fiel parceira Mírcea que sempre me acompanhou e teve muita calma para me auxiliar nos momentos quando mais precisei.

A todos, muito obrigado!

RESUMO

Loricariichthys rostratus Reis & Pereira, 2000 é uma espécie de cascudo cuja descrição taxonômica foi realizada a partir de espécimens da bacia do Médio-Baixo rio Paraná. Recentemente, coletas de indivíduos desta espécie ocorreram em trechos do rio Iguaçu tanto à montante (Baixo rio Iguaçu) quanto à jusante (Médio-Baixo rio Paraná) das Cataratas do Iguaçu. No presente estudo foram utilizadas as técnicas citogenéticas básicas e moleculares, com o intuito de comparar ambas as populações de *L. rostratus*, e microscopia eletrônica de varredura (MEV) para verificação de aparatos de adesão nos ovos. Os dados citogenéticos encontrados foram os mesmos para ambas as populações, sendo o número diplóide de 54 cromossomos ($10m + 16sm + 2st + 26a$, $NF=82$). A heterocromatina foi detectada na região centromérica da maioria dos cromossomos. Com relação às regiões organizadoras de nucléolos (*Ag-staining* e 18S rDNA-FISH), estas foram detectadas na região intersticial-proximal no braço longo do par de cromossomos acrocêntricos 19. Cístrons de 5S rDNA foram localizados na região intersticial-distal no braço longo do par de cromossomos acrocêntricos 15. Por meio da microscopia eletrônica de varredura verificou-se a presença de estruturas nos ovos que servem para aderir-se a superfícies e unirem-se uns aos outros, facilitando o cuidado parental. Através das técnicas de citogenética básica e molecular foi possível apontar que apesar de isoladas pelas Cataratas do Iguaçu não houve diferenciação cromossômica entre as populações. Entende-se que provavelmente as Cataratas do Iguaçu não exerçam uma separação completa das bacias do rio Paraná e do rio Iguaçu e, em épocas de cheias permite que animais conquistem e colonizem a montante das Cataratas do Iguaçu.

PALAVRAS-CHAVE: Bandamento cromossômico; biogeografia; dispersão; microscopia eletrônica de varredura; ovos de adesão; transposição.

ABSTRACT

Loricariichthys rostratus Reis & Pereira, 2000 is a catfish species taxonomically described from Middle-Lower Parana River Basin, although recently individuals were captured both upstream (Lower Iguassu River) and downstream (Middle-Lower Parana River) from Iguassu Falls. Herein, conventional and molecular cytogenetics techniques were used to characterize and to compare both populations of *L. rostratus*, besides electron microscopy analysis in order to verify adhesive structures on the eggs. Cytogenetics data showed the same results for both populations, with diploid number equal to 54 chromosomes ($10m + 16sm + 2st + 26a$, FN=82). Heterochromatins were observed in centromeric region of most chromosomes. The nuclear organizing regions (AgNORs and 18S rDNA-FISH) were detected in interstitial-proximal region on the long arm of the acrocentric chromosome pair 19. The 5S rDNA cistrons were detected in interstitial-distal region on long arm of the acrocentric chromosome pair 15. The presence of adhesive structures on the eggs that are responsible to attach them to surfaces and themselves, which facilitate parental care, was verified through scanning electron microscopy. Basic and molecular cytogenetics analysis showed no chromosomal difference between populations, even being isolated by the Iguassu Falls. It indicates that probably Iguassu Falls did not separate completely the Parana River Basin from the Iguassu River Basin and, in flood periods, allows animals to acquire and colonize upstream of Iguassu Falls.

KEY WORDS: Adhesive eggs; biogeography; chromosome banding; dispersion; electron microscopy; transposition.

SUMÁRIO

Lista de Figuras	8
Lista de Tabelas	8
Apresentação e objetivos	9
Capítulo 1	11
São as Cataratas do Iguaçu realmente uma barreira geográfica eficaz a transposição de peixes?	
Resumo	12
Introdução	13
Materiais e métodos	15
Resultados	16
Discussão	17
Agradecimentos	23
Referências	24
Figura 1.	31
Figura 2.	32
Figura 3.	33
Figura 4.	34
Figura 5.	35
Tabela 1.	36
Normas da revista.	37

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Mapa da América do Sul (à direita) evidenciando o estado do Paraná (centro) e locais de coleta (à esquerda): A, montante das Cataratas do Iguaçu; e B, jusante das Cataratas do Iguaçu. Modificado de Paiz (2013).31
- Figura 2. Cariótipos de indivíduos de *Loricariichthys rostratus* à montante (A, C, E) e à jusante (B, D, F): A e B, cariótipos corados com Giemsa; C e D, C-bandados; E e F, hibridizados com sonda de 5S rDNA (vermelho) e 185S rDNA (verde). Nas caixas o par portador das AgRONS. A barra representa 10µm32
- Figura 3. Fotos dos ovos de *L. rostratus* obtidas no MEV. A: vista geral da superfície do ovo evidenciando a região da micrópila e disco micropilar em sua extremidade, 202x. B: micrópila em evidência circundada pelo disco micropilar e cristas da zona radiata, 3580x. C: região de transição entre os canais-poro hexagonais e região da micrópila, 952x.33
- Figura 4. Mapa e perfil longitudinal da bacia do rio Iguaçu, evidenciando seus pontos de represamentos e sua topografia acidentada. Modificado de Lui *et al.* (2015).....34
- Figura 5. Vista aérea das Cataratas do Iguaçu em diferentes momentos. A, imagem capturada em época de índices pluviométricos normais. B, C, imagens da cheia histórica de 2014. Fonte: A, B, Sploid Gizmodo (2014). C, Frederico Soria (2014).....35

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Registro dos anos em que houve a ocorrência do El Niño e sua intensidade. Quanto maior a intensidade do fenômeno, maiores os índices pluviométricos. Fonte: Azevedo (2006)36

APRESENTAÇÃO E OBJETIVOS

Os peixes constituem o táxon mais diversificado, especioso e basal do grupo dos vertebrados. Por estarem restritos aos ambientes aquáticos, e a humanidade necessitar de água para sua sobrevivência e outras inúmeras atividades, estes ambientes geralmente são bastante alterados e perturbados por ações antrópicas.

Dentro de Siluriformes, a maior família é Loricariidae com aproximadamente 900 espécies descritas até o momento. Sabe-se que se trata de um táxon monofilético, porém incertezas filogenéticas ainda estão presentes. São popularmente conhecidos como bagres, *catfishes*, peixes de couro, cascudos, mandis. Possuem corpo nu recoberto com placas dérmicas, predominantemente habitam locais de água doce, mas há representantes em áreas estuárias e até oceânicas e geralmente associados ao substrato, exibindo estruturas corpóreas especiais para vida bentônica.

Loricariichthys é um gênero monofilético, compreende atualmente 18 espécies e está distribuído por boa parte da América do Sul cis-andina. Poucos estudos foram realizados no gênero, mas o número diploide mais encontrado é de 54 cromossomos. Devido a semelhança entre as espécies do gênero, há dificuldades na identificação da espécie e certas incertezas filogenéticas dentro do gênero.

Loricariichthys rostratus foi descrito sendo nativa da bacia do Médio-Baixo rio Paraná; entretanto, tem sido capturado no Alto rio Paraná e no Baixo Iguçu, onde é considerada exótica. Sabe-se que os limites entre Médio-Baixo e Alto rio Paraná foram aumentados em 150km abaixo após a construção da Usina de Itaipu, que eliminou o Salto de Sete Quedas que era uma barreira geográfica natural. Na bacia do Baixo rio Iguçu ela ainda permanece sem explicação de como lá ocorre. Além de *L. rostratus*, outras espécies sem aparente interesse antrópico estão presentes no rio Iguçu e ficam restritos até os limites da Usina de Salto Caxias.

Se as Cataratas do Iguçu completaram o isolamento das ictiofaunas da bacia do rio Paraná e do rio Iguçu a pelo menos 22 milhões de anos, como é possível que espécies sem atrativos comerciais, ornamentais, pesqueiros possam ser encontradas acima das quedas das Cataratas do Iguçu? Quais poderiam ser os eventos que ocorreram no passado que permitiram o intercâmbio das faunas à montante e à jusante das Cataratas do Iguçu?

Desta forma, o objetivo deste trabalho é comparar citogeneticamente duas populações de *Loricariichthys rostratus* encontradas à montante e à jusante das

Cataratas do Iguaçu, analisar se há presença de estruturas de adesão nos ovos através da microscopia eletrônica de varredura e sugerir hipóteses sobre a transposição de uma barreira geográfica natural entre o rio Paraná e o rio Iguaçu.

A dissertação será apresentada em forma de artigo de acordo com as normas do periódico *Biological Journal of the Linnean Society*.

São as Cataratas do Iguaçu realmente uma barreira geográfica eficaz à transposição de peixes?

Stephan Pablo Belim Motter¹, Leonardo Marcel Paiz², Lucas Baumgärtner¹, Rafaela Maria Moresco¹ & Vladimir Pavan Margarido¹.

1. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 85819-110 Cascavel, Paraná, Brasil; 2. Universidade Estadual de Maringá, Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada, 87020-900 Maringá, Paraná, Brasil.

Autor para correspondência:

Vladimir Pavan Margarido

E-mail: vladimir.margarido@unioeste.br

Fone: (+55) 45 3220-3235

Número de fax: (+55) 45 3324-4566

RESUMO

Loricariichthys rostratus Reis & Pereira, 2000 é uma espécie de cascudo cuja descrição taxonômica foi realizada a partir de espécimens da bacia do Médio-Baixo rio Paraná. Recentemente, coletas de indivíduos desta espécie ocorreram em trechos do rio Iguazu tanto à montante (Baixo rio Iguazu) quanto à jusante (Médio-Baixo rio Paraná) das Cataratas do Iguazu. No presente estudo foram utilizadas as técnicas citogenéticas básicas e moleculares, com o intuito de comparar ambas as populações de *L. rostratus*, e microscopia eletrônica de varredura (MEV) para verificação de aparatos de adesão nos ovos. Os dados citogenéticos encontrados foram os mesmos para ambas as populações, sendo o número diplóide de 54 cromossomos ($10m + 16sm + 2st + 26a$, $NF=82$). A heterocromatina foi detectada na região centromérica da maioria dos cromossomos. Com relação às regiões organizadoras de nucléolos (*Ag-staining* e 18S rDNA-FISH), estas foram detectadas na região intersticial-proximal no braço longo do par de cromossomos acrocêntricos 19. Cístrons de 5S rDNA foram localizados na região intersticial-distal no braço longo do par de cromossomos acrocêntricos 15. Por meio da microscopia eletrônica de varredura verificou-se a presença de estruturas nos ovos que servem para aderir-se a superfícies e unirem-se uns aos outros, facilitando o cuidado parental. Através das técnicas de citogenética básica e molecular foi possível apontar que apesar de isoladas pelas Cataratas do Iguazu não houve diferenciação cromossômica entre as populações. Entende-se que provavelmente as Cataratas do Iguazu não exerçam uma separação completa das bacias do rio Paraná e do rio Iguazu, e em épocas de cheias intensas permitiu que animais conquistassem e colonizassem a montante das Cataratas do Iguazu.

PALAVRAS-CHAVE: Bandamento cromossômico; biogeografia; dispersão; microscopia eletrônica de varredura; ovos de adesão; transposição.

INTRODUÇÃO

Com formação geológica que se iniciou a cerca de 150 milhões de anos atrás, as Cataratas do Iguaçu, localizadas no Parque Nacional do Iguaçu, considerado Patrimônio Natural da humanidade em 1986 (UNESCO, 2016), finalizaram a completa separação das bacias do rio Paraná e do rio Iguaçu por volta de 22 milhões de anos (Sampaio, 1998; Maack, 2012), estabelecendo assim uma barreira geográfica natural entre as ictiofaunas (Garavello *et al.*, 1997; Baumgartner *et al.*, 2012). Logo acima das Cataratas, o rio Iguaçu sofre um estreitamento brusco, reduzindo sua largura que outrora atingiu 1.200 metros passando a ter apenas entre 65 a 100 metros em sua fenda tectônica, com quedas variando de 40 a 80 metros de altura, desembocando no rio Paraná a aproximadamente 18 quilômetros abaixo da sua foz (Baumgartner *et al.*, 2012; Maack, 2012).

A bacia do rio Iguaçu totaliza uma área de 70.800 km², com extensão de 1.200 quilômetros, vazão de 1.800 m³/s (Maack, 2012) apresentando um alto nível de endemismo, próximo de 70%, fato atribuído ao soergimento das Cataratas do Iguaçu (Baumgartner *et al.*, 2012). Algumas espécies consideradas autóctones da bacia do Médio-Baixo rio Paraná são encontradas no Baixo Iguaçu e são avaliadas como introduzidas, oriundas de escapes de piscicultura, de aquarofilia e até usadas como iscas vivas. Contudo, determinadas espécies que se encontram no Baixo rio Iguaçu ainda permanecem sem explicação de como ocorrem nesta bacia, aparentemente não tendo sido levadas por qualquer forma de ação humana (Baumgartner *et al.*, 2012).

Portanto, se esta separação entre as bacias do rio Paraná e Iguaçu ocorreu há aproximadamente 22 milhões de anos atrás, como é possível que algumas espécies possam ser encontradas acima e abaixo da queda indicando que estas superaram a barreira geográfica imposta pelas Cataratas? Outro fato curioso é que estas espécies ficam restritas aos limites do Baixo rio Iguaçu até o reservatório de Salto Caxias. Se algumas espécies transpuseram as cataratas, porque também não transpõem os limites do Baixo rio Iguaçu?

Entre as espécies que ocorrem á montante e à jusante das Cataratas do Iguaçu, *Loricariichthys rostratus* Reis & Pereira, 2000, popularmente conhecida como cascudo chinelo, é descrita nativa para o Médio-Baixo rio Paraná e considerada exótica para o Alto rio Paraná (Langeani *et al.*, 2007) e para o Baixo rio Iguaçu (Baumgartner *et al.*, 2012). *Loricariichthys rostratus* possui corpo e nadadeiras castanhos, com manchas

marrons ou pintas pretas, corpo baixo e coberto por placas, cabeça e pedúnculo caudal deprimidos e boca ventral. Os machos apresentam prolongamento do lábio inferior em períodos reprodutivos que é utilizado para o cuidado parental (Reis & Pereira, 2000; Baumgartner *et al.*, 2012).

A biogeografia é uma ciência que relaciona eventos do passado com a distribuição atual das espécies, e no caso dos peixes, com suas distribuições respeitando os limites impostos pelas drenagens, revelando a história de dispersão dos grupos e a evolução geológicas das paisagens (Montoya-Burgos, 2003). A distribuição da biota aquática Neotropical foi amplamente moldada por eventos vicariantes e de coalescência de drenagens (Lundberg *et al.*, 1998). Diversas ferramentas têm auxiliado na compreensão desta ciência, como as análises citogenéticas (Vicari *et al.*, 2006; Artoni *et al.*, 2009; Bellafronte *et al.*, 2010; Lui *et al.*, 2010), os estudos morfológicos (Albert *et al.*, 2005), as análises genética-moleculares (Lovejoy & De Araújo, 2000; Montoya-Burgos, 2003). A citogenética também tem sido um importante instrumento para auxiliar no entendimento de outras áreas, além da biogeografia, como na diagnose de espécies invasoras (*Gymnotus pantanal*, Margarido *et al.*, 2007), filogenia (Acipenseriformes, Birsten *et al.*, 1997; *Leuciscus*, Boron *et al.*, 2009), entre outros.

Diferentes tipos de estratégias são observadas nos grupos de peixes para enfrentar as variações do ambiente a fim de obterem sucesso reprodutivo (Vazzoler, 1996). O animal pode ser migratório ou sedentário; possuir ovos não adesivos, levemente ou até de forte adesão; ovos pelágicos ou demersais; de alta ou baixa fecundidade; variar na quantidade de ovos depositados e o local de postura, entre outros (Rizzo *et al.*, 2002; Rizzo & Godinho, 2003). Há uma tendência de peixes migradores exibirem prole numerosa, ovos menores não adesivos com alta fecundidade e usualmente não recebendo cuidado parental, enquanto peixes de hábito sedentário geralmente apresentam ovos de adesão, desovas menores com fecundidade reduzida e comumente apresentando cuidado parental (Sato & Godinho, 1999; Rizzo *et al.*, 2002; Sato *et al.*, 2003). Algumas estruturas podem estar presentes na matriz extracelular dos ovos proporcionando a capacidade para se aderirem ao substrato, plantas e organismos, garantindo a integridade dos ovos no ambiente até sua eclosão. Estruturas como disco micropilar, arranjos filamentosos, protuberâncias, capa gelatinosa, além de outras, conferem maior taxa de sobrevivência e facilitam o cuidado da prole (Riehl & Patzner, 1998; Rizzo *et al.*, 2002; Pereira *et al.*, 2006).

Desta forma, o objetivo deste trabalho é caracterizar e comparar citogeneticamente populações de *Loricariichthys rostratus* à montante e à jusante das Cataratas do Iguaçu, analisar através da microscopia eletrônica de varredura se há estruturas de adesão em seus ovos e sugerir hipóteses sobre a não tão eficiente barreira geográfica natural imposta pelas Cataratas.

MATERIAIS E MÉTODOS

As coletas de *Loricariichthys rostratus* foram realizadas no rio Iguaçu, sendo 7 indivíduos à jusante (25°38'18.72"S/54°28'4.74"O; bacia do Médio-Baixo rio Paraná) e 7 à montante (25°37'13.20"S/54°23'29.20"O; bacia do Baixo rio Iguaçu) das Cataratas do Iguaçu, município de Foz do Iguaçu – PR (Fig.1), sendo os indivíduos anestesiados e sacrificados por overdose de óleo de cravo (Griffiths, 2000).. Este estudo foi conduzido rigorosamente de acordo com as recomendações do Guia de Cuidado e Uso de Animais de Laboratório, aprovado pelo Comitê de Ética para Experimentos Animais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Número de Licença: Protocolo 13/09 – CEEAAP/Unioeste).

Preparação dos cromossomos metafásicos

As preparações cromossômicas foram obtidas de células da porção anterior do rim seguindo técnicas de Bertollo *et al.* (1978) usando tratamento com colchicina 0,02% por 30 a 40 minutos. Trinta metáfases de cada peixe foram analisadas e as dez melhores foram selecionadas para confecção dos cariótipos. As AgRONS foram evidenciadas por impregnação por nitrato de prata de acordo com Howell & Black (1980) e o bandamento C de acordo com Sumner (1972), com modificações sugeridas por Lui *et al.* (2012). O mapeamento físico dos cístrons de 5S e 18S rDNA foi realizado através da hibridização *in situ* fluorescente (FISH) de acordo com Pinkel *et al.* (1986) com modificações sugeridas por Margarido e Moreira-Filho (2008), usando sondas de rDNA de *Leporinus elongatus* (Martins & Galetti, 1999) e *Prochilodus argenteus* (Hatanaka & Galetti, 2004), respectivamente. A hibridização foi conduzida usando condições de alta estrigência (77%). As sondas foram marcadas por *nick translation* com digoxigenin-11-dUTP (5S rDNA) e biotina-16-dUTP (18S rDNA) (Roche®). A detecção dos sinais foi realizada com antidigoxigenin-rhodamina (Roche®) para sonda de 5S rDNA e amplificada com avidina-FITC e avidina biotinilada (Sigma-Aldrich) para sonda do 18S

rDNA, sendo os cromossomos contracordados com 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI, 50 µg/mL). Os cromossomos foram classificados e organizados de acordo com Levan *et al.* (1964) em metacêntrico (*m*), submetacêntrico (*sm*), subteloicêntrico (*st*) e acrocêntrico (*a*).

Preparação e análise dos ovos em microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Os ovos analisados foram obtidos das fêmeas por extrusão, oriundos de reprodução natural. Foram utilizados nas preparações e análises ovos provenientes de 4 animais, 2 exemplares à montante e 2 à jusante das Cataratas do Iguaçu. Os ovos foram fixados em solução Karnovsky modificado (tampão fosfato Sörensen 0.1M, tampão fosfato pH 7.2 contendo paraformaldeído 5% e glutaraldeído 2.5%) e mantidos em refrigerador por 24 horas. Em seguida foram imersos por 2 horas (*room temperature*) em solução 1% de tetróxido de ósmio (OsO₄) em tampão fosfato Sörensen pH 7,2. A amostra fixada em OsO₄ é lavada com água destilada e submetida a uma série de soluções crescentes de acetona (30, 50, 70, 90 e 100%), permanecendo por cerca de 10 minutos em cada etapa, repetindo-se o passo do 100% por 3 vezes. Com a amostra na câmara do ponto crítico (K550, EMITECH), está foi enchida com acetona e levou-se a temperatura para 0°C. Abriu-se a válvula de CO₂ e eliminou-se o restante da acetona que havia. Repetiu-se o passo do CO₂ de 5 a 6 vezes para garantir que não houvesse acetona na amostra. Após estes procedimentos elevou-se a temperatura da câmara até 30°C, elimina-se o gás lentamente. As amostras foram montadas sobre *stubs* metálicos com adesivos dupla face de cobre e encaminhadas ao sputtering, onde receberam uma descarga de partículas de ouro durante 2 a 3 minutos. Após essa etapa o material foi analisado no microscópio eletrônico de varredura (LEO 435 VPi SEM, Zeiss).

RESULTADOS

O número diploide encontrado para os machos e fêmeas, à jusante e à montante, foi de 54 cromossomos (10*m* + 16*sm* + 2*st* + 26*a*) e NF=82 (Fig. 2), sem ocorrência de sistema de cromossomos sexuais diferenciados.

A heterocromatina foi detectada predominantemente na região centromérica dos cromossomos (Fig. 2). As regiões organizadoras de nucléolos (*Ag-staining* e 18S rDNA-FISH) foram detectadas na região intersticial-proximal no braço longo do par de

cromossomos acrocêntricos 19. Cístrons de 5S rDNA foram localizados na região intersticial-distal no braço longo do par de cromossomos acrocêntricos 15 (Fig. 2).

As análises em microscopia eletrônica de varredura possibilitaram a visualização de estruturas na superfície do ovo que comprovaram a presença de mecanismos de adesão, o padrão de canais-poros hexagonal e o disco micropilar (Fig. 3).

DISCUSSÃO

ASPECTOS CITOGENÉTICOS

As análises citogenéticas evidenciaram que as populações à montante e à jusante das Cataratas são cromossomicamente iguais. O número diplóide de 54 cromossomos é considerado basal para Loricariidae (Artoni & Bertollo, 2001), admitindo-se uma característica plesiomórfica para *Loricariichthys rostratus*. Comparando os dados encontrados com os de outras espécies do mesmo gênero, percebe-se que *Loricariichthys* é conservado com relação ao número diploide; *Loricariichthys* sp.: $2n=54$ cromossomos (Fenocchio, 1993; Alves *et al.*, 2003), *L. platymetopon*: $2n=54$ cromossomos (Scavone & Julio Jr., 1995; Roncati *et al.*, 1999; Maia, 2008), *L. anus*: $2n=54$ cromossomos (Maia, 2008; Takagui *et al.*, 2014), sendo exceção *L. maculatus*, possuindo $2n=56$ cromossomos (Roncati *et al.*, 1999).

As RONS (Ag-staining e 18S rDNA-FISH) observadas no presente estudo, simples e intersticiais são comuns na maioria das espécies de Loricariinae, considerado basal para Loricariidae. (Artoni & Bertollo, 2001; Ziemniczak *et al.*, 2012; Alves *et al.*, 2012; Takagui *et al.*, 2014). Com relação à heterocromatina, também não foram observadas diferenças interpopulacionais. A presença de pequenos blocos heterocromáticos parece ser ancestral para Loricariidae (Ziemniczak *et al.*, 2012). Este padrão foi reportado para diversos gêneros da família, como *Rineloricaria*, *Loricaria*, *Harttia* e também para as espécies de *Loricariichthys* até o momento estudadas (Giuliano-Caetano *et al.*, 1999; Maia *et al.*, 2010; Takagui *et al.*, 2014). A rDNA-FISH revelou cístrons simples em região intersticial, sendo considerada característica pleosiomórfica para Loricariidae (Ziemniczak *et al.*, 2012).

Através das ferramentas e técnicas realizadas, averiguou-se que as duas populações separadas pelas Cataratas do Iguazu são cromossomicamente idênticas. Isto provavelmente indica uma separação mais recente das populações do que a elevação dos basaltos e a separação completa das duas províncias ictiofaunísticas.

ASPECTOS REPRODUTIVOS

Envolta dos oócitos e ovos dos teleósteos existe uma complexa matriz extracelular que faz seu contato com o meio ambiente, denominada zona radiata (Riehl & Patzner, 1998; Rizzo & Godinho, 2003). Em sua camada externa, pode apresentar estruturas especiais (disco micropilar, arranjos filamentosos, protuberâncias, além de outras) para exercer função de adesão dos ovos a superfícies onde são depositados (Rizzo *et. al.*, 2002). Além de se aderir ao substrato, os ovos unem-se uns aos outros formando um bloco único, facilitando o cuidado parental (Riehl & Patzner, 1998).

O disco micropilar é uma estrutura de aspecto mucoso, associada à aderência dos ovos e liberação de substâncias adesivas que envolve a micrópila, região localizada no polo animal por onde o espermatozoide ingressa diretamente ao interior do ovo (Rizzo & Godinho, 2003). Ao entrar em contato com a água, que serve como um gatilho para que o disco micropilar libere substâncias adesivas unindo os ovos uns aos outros e ao substrato onde é depositado, ainda impede que haja entrada de outros espermatozoides na micrópila (Riehl & Appelbaum, 1991). As estruturas canais-poro hexagonais além de contribuírem com a oxigenação dos ovos também são responsáveis pela liberação de mucopolissacarídeos, que auxiliam na aderência dos ovos no momento em que entram em contato com o substrato (Fig. 3) (Riehl & Appelbaum, 1991; Riehl & Patzner, 1998; Rizzo & Godinho, 2003; Pereira *et al.*, 2006). Esta adesividade já tinha sido observada em rotina de trabalho no laboratório quando uma fêmea sofreu extrusão e foi notado que os ovos apresentavam alta adesividade uns aos outros, formando uma massa de ovos única.

ASPECTOS BIOGEOGRÁFICOS

Em levantamento realizado sobre a ictiofauna à jusante e montante das Cataratas, percebeu-se que não é somente *L. rostratus* que se encontra acima e abaixo da queda. Além desta, outras espécies nativas da Bacia do rio Paraná também são registradas no trecho do Baixo rio Iguaçu, sendo algumas delas restritas a este trecho abaixo de Salto Caxias (Fig.4) (Baumgartner *et al.*, 2012).

Certas espécies descritas como sendo das bacias do rio Paraná, Uruguai ou até Paraguai ocorrem no Baixo rio Iguaçu e sabe-se que foram introduzidas ou provenientes de escapes de piscicultura. São elas: *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836), *Leporinus* aff. *elongatus* Valenciennes, 1850, *Leporinus friderici* (Bloch, 1794), *Leporinus macrocephalus* Garavello & Britski, 1988, *Leporinus obtusidens*

(Valenciennes, 1837), *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887), *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816), *Brycon hilarii* (Valenciennes, 1850), *Pseudoplatystoma corruscans* (Spix & Agassiz, 1829), *Pseudoplatystoma reticulatum* Eigenmann & Eigenmann, 1889, *Apteronotus ellisi* (Arámburu, 1957), *Odontesthes bonariensis* (Valenciennes, 1835) e *Cichla kelberi* Kullander & Ferreira, 2006 (Baumgartner *et al.*, 2012). Outras foram introduzidas involuntariamente pela sua utilização como iscas vivas: *Callichthys callichthys* (Linnaeus, 1758), *Gymnotus inaequilabiatus* (Valenciennes, 1839), *Gymnotus sylvius* Albert & Fernandes-Matioli, 1999, *Hoplosternum littorale* (Hancock, 1828) e *Synbranchus marmoratus* Bloch, 1795 e até introduzidas por aquariofilia: *Cichlasoma paranaense* Kullander, 1983 (Graça e Pavanelli, 2007; Baumgartner *et al.*, 2012) e *Apteronotus* sp. (Linnaeus, 1766). Entretanto, muitas outras espécies oriundas da Bacia do rio Paraná, que são encontradas na bacia do Iguaçu, aparentemente não foram introduzidas por qualquer forma de ação antrópica.

Loricariichthys cf. *melanocheilus* Reis & Pereira 2000, *Cyphocarax* cf. *santacatarinae* (Fernández-Yépez, 1948), *Steindachnerina brevipinna* (Eigenmann & Eigenmann, 1889), *Trichomycterus* sp. 1 e *Trichomycterus* sp. 2, *Crenicichla yaha* Casciotta, Almirón & Gómez, 2006, *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824), *Hypostomus albopunctatus* (Regan, 1908), *Hypostomus commersoni* Valenciennes, 1836, *Astyanax altiparanae* Garutti & Britski, 2000, *Hoplias* sp. 1 e *Hoplias* sp. 2 são espécies consideradas exóticas na bacia do Iguaçu (Baumgartner *et al.*, 2012). Estudos apontam que estas espécies em questão não teriam sido inseridas no rio Iguaçu devido a quaisquer interesses humanos (introdução, escapes de piscicultura, iscas vivas, aquariofilia, entre outras) (Baumgartner *et al.*, 2012), reforçando a ideia de uma comunicação natural entre as ictiofaunas das bacias do rio Paraná e Iguaçu. O que é interessante ressaltar é que as espécies endêmicas do Iguaçu não são encontradas no rio Paraná, e muitas do rio Paraná são encontradas no rio Iguaçu, indicando que se houve algum movimento de transposição das Cataratas, este movimento foi ascendente à queda.

Winemiller *et al.* (2008) relatam mecanismos de transposição de peixes entre bacias em seu trabalho. Os autores argumentam que o rio Casiquiare funcionaria como um corredor entre as bacias dos rios Orinoco e Amazonas, e que a comunicação entre as bacias está relacionada com o gradiente fluvial do rio Casiquiare. Aparentemente, diversas espécies o atravessam livremente em épocas de cheias, e até para peixes de

ambientes lênticos a barreira hidráulica parece não existir, havendo movimentação de uma bacia a outra. Da mesma maneira acontece entre as bacias dos rios Paraguai e Amazonas. *Moema* era descrito um gênero endêmico da bacia Amazônica e tem sido capturado recentemente na bacia do rio Paraguai através da espécie *Moema heterostigma* (Costa, 2003). Estas bacias nunca estiveram isoladas de fato, estando muito próximas uma da outra e com uma paisagem que permitiria o fluxo entre elas. Diversas espécies são encontradas em ambas as bacias, e espécies que eram previamente consideradas endêmicas estão sendo reavaliadas, diminuindo os níveis de endemismo nos últimos anos, indicando uma forma de contato entre as bacias (Carvalho & Albert, 2011).

Em sua foz, o rio Iguaçu sofre um estreitamento drástico desembocando no rio Paraná. Em épocas de cheias, o nível elevado do rio Paraná barra o fluxo intenso de águas que chegam do Iguaçu, aumentando também seu nível. Devido a este estreitamento em sua foz, as quedas que formam um paredão rochoso servem como um reservatório, retendo grandes volumes de água permitindo que se estabeleça uma comunicação entre as faunas previamente separadas (Fig. 5). Ainda, os basaltos que se acumularam por anos durante a formação das cataratas criam uma conformação de escada, com vários níveis (Sampaio, 1998), auxiliando na ascensão dos animais.

O aumento da pluviosidade e conseqüentemente o acréscimo nos níveis dos rios na América do Sul pode ser causado pelo fenômeno El Niño. Este é um evento que abrange todas as águas tropicais do oceano, sendo uma forma de comunicação entre a atmosfera e o Oceano Pacífico, onde é iniciado o processo, fazendo com que correntes frias carregadas de chuvas fiquem presas no sul da América do Sul, aumentando significativamente o índice pluviométrico. O El Niño possui ciclos de 2 a 7 anos, mais precisamente com uma média histórica de ocorrência a cada quatro anos (Tabela 1) (Azevedo, 2006).

Baseando-se em dados sobre a periodicidade das cheias dos rios Paraná e Iguaçu e com dados obtidos em reportagens, constatou-se uma frequência um tanto quanto comum de cheias em ambos os rios. Algumas datas registradas de cheias nos rios Paraná e Iguaçu obtidas de reportagens a partir de 1980 são: 1987, 1990, 1992, 1993, 1995, 1997, 1998, 2013, 2014, 2015, sendo considerada a temporada de 2014 a maior cheia já registrada (Azevedo, 2006; Itaipu binacional, 2013; Notícias Terra, 2014; Globo, 2015). Esta frequência de ocorrência de cheias remete ao pensamento de James Hutton, o Uniformitarismo, em que os mesmos processos são responsáveis pelos

eventos atuais e passados, ou seja, os fenômenos que aconteciam no passado são os mesmos que acontecem hoje (Hutton, 1788). Portanto, se hoje existe este cenário de cheias periódicas, retomando o pensamento de Hutton, é possível afirmar que no passado estes eventos também ocorriam, com relativamente mesma frequência.

Ao se analisar a frequência da periodicidade de ocorrência de El Niño até onde se tem registro, em 1877 (tabela 1), nota-se que esse fenômeno acontecia com a mesma intensidade de que ocorre atualmente. Pode-se traçar um paralelo entre esses dados e o aquecimento global. Autores comentam que a Terra está em um processo de aquecimento e que as emissões de CO₂ têm pouca influencia nesse processo. Esse aumento das temperaturas seria um processo cíclico natural de ocorrência a cada 1.500 anos em que as temperaturas aumentam e diminuem, e que atualmente o planeta Terra encontra-se em fase de aquecimento (Singer & Avery, 2007).

As barragens também influenciam no ciclo hidrológico dos rios, controlando seu fluxo, modificando também a intensidade, duração e período das cheias (Agostinho *et al.*, 1993, Agostinho *et al.*, 2004). No trecho do Alto rio Paraná são encontradas mais de 130 barragens com mais de 10 metros de altura em seus tributários, 20% possuem área maior que 100 quilômetros² e quatro são localizadas no curso principal do rio (Agostinho *et al.*, 2004). Somente um trecho, que vai desde a usina de Porto Primavera até o início do reservatório de Itaipu, de aproximadamente 200 quilômetros próximo à cidade de Guaíra não apresenta represamentos (Gubiani *et al.*, 2010). Na bacia do rio Iguazu estão presentes 10 reservatórios, cinco no rio Iguazu e cinco em seus tributários. No Médio rio Iguazu inicia-se a sequência de cinco hidrelétricas, sendo elas por ordem do fluxo do rio: Foz do Areia, no município de Pinhão; Segredo, em Manguaçu; Salto Santiago, em Saudade do Iguazu; Salto Osório, em Quedas do Iguazu e Salto Caxias, em Capitão Leônidas Marques, que juntas geram 6.674MW, aproximadamente 7% da eletricidade produzida no Brasil (Fig. 4) (COPEL, 2015). Desta forma, percebe-se que tanto o rio Paraná quanto o rio Iguazu são bastante represados e têm seus volumes de água controlados, e mesmo assim houve diversos registros de cheias nos últimos anos, uma em particular em 2014, em que o nível à montante das quedas era próximo o da jusante (Fig. 5).

Deste modo, a hipótese sugerida é que em períodos de El Niño com chuvas, o rio Paraná, ao aumentar seu nível, barra o fluxo de água que chega do Iguazu, contribuindo para a elevação dos níveis fluviométricos no trecho à jusante das Cataratas. Desta forma, as Cataratas que formariam uma barreira geográfica intransponível, em períodos

pluviométricos muito acima dos considerados normais, poderia estabelecer uma comunicação entre jusante e montante, causada pelo nível anormal de água presente, formando uma espécie de planície de inundação. Esta conjectura é reforçada se analisarmos a presença de algumas espécies originárias do rio Paraná e Paraguai no Baixo rio Iguaçu que ficam somente até os limites da represa de Salto Caxias. Devido à conformação dos trechos do Iguaçu nesta região, mesmo em épocas de muitas cheias não se acumulam grandes volumes de água para que se permita que os animais superem a barragem, fato comprovado pela ictiofauna presente que, quando ocorre em outras bacias foi introduzida, oriunda de escapes de piscicultura, entre outras razões (Baumgartner *et al.*, 2012).

Conforme o que foi verificado nas imagens obtidas no MEV, os ovos de *L. rostratus* possuem mecanismos de adesão e esta característica fornece suporte à hipótese de movimentação através das Cataratas do Iguaçu. Animais que conseguiram superar as quedas podem ter se reproduzido em trechos à montante das Cataratas, com as fêmeas desovando e seus ovos se aderindo a plantas, rochas ou ao substrato, e os machos liberando seus gametas, fecundam os ovos e dão início a uma nova população no Baixo Iguaçu. Há poucos trabalhos sobre a biologia das espécies de *Loricariichthys*, porém sabe-se que possuem ovos adesivos (Suzuki *et al.*, 2000), corroborado neste trabalho pela visualização de estruturas de adesão em microscopia eletrônica de varredura. O macho exibe cuidado parental devido a um prolongamento da papila labial e, em *Loricariichthys castaneus* (Castelnau, 1855) foi relatado que o não é carregada somente a massa de ovos, mas as larvas também, aumentando assim as chances de sobrevivência da prole (Gomes *et al.*, 2011). Aparentemente para *Loricariichthys* há um período reprodutivo durante a primavera e a verão, entretanto as fêmeas apresentam ovário assíncrono, em que oócitos em todos os estágios de desenvolvimento são encontrados na época reprodutiva. O gênero apresenta uma estratégia de equilíbrio, em que está associada com animais sedentários, relativa estabilidade de alimento no ambiente, estação reprodutiva longa e cuidado com a prole (Gomes *et al.*, 2011).

O sucesso reprodutivo das espécies depende do recurso alocado para reprodução e de quando e onde elas se reproduzem. Logo, o cuidado parental com ovos e larvas aumenta o sucesso do recrutamento populacional. No trecho do Baixo rio Iguaçu não se formam lagoas marginais, o que para algumas espécies é crucial para reprodução, especialmente grande migradores e espécies reofílicas (Agostinho & Gomes, 1997). Os indivíduos de *L. rostratus* não necessitam de lagoas marginais para reprodução, e há

aparentemente pouca pressão de predadores, além de hábitos alimentares flexíveis (Reis & Pereira, 2000; Suzuki *et al.*, 2000; Gomes *et al.*, 2011). Assim, devido a estes fatores, entende-se que é possível que tenham se dispersado e colonizado o trecho do Baixo Iguaçu com sucesso. Dispersão, processo fundamental da ecologia é definido como o deslocamento de indivíduos de seu local de origem ultrapassando os limites da espécie (Viana *et al.*, 2013). Algumas dessas características são encontradas nos demais animais que provavelmente também ascenderam de forma natural à montante das Cataratas do Iguaçu e que lá ainda são encontrados (Baumgartner *et al.*, 2012). Outras espécies de peixes provavelmente também realizaram o movimento de transposição das Cataratas, porém, devido a sua biologia comportamental, necessidade de lagoas marginais para reprodução, tributários para desova, ausência de estruturas de adesão nos ovos, entre outras variáveis, é possível que tenham realizado movimento ascendente, porém sem reprodução (Vazzoler, 1996), conseqüentemente não iniciando novas populações acima das Cataratas do Iguaçu.

Outra hipótese que também não pode ser descartada é a de dispersão por aves. Pássaros são agentes dispersores de organismos aquáticos, movem-se rapidamente, podem migrar longas distâncias e são bastante numerosos (Figuerola & Green, 2002). Podem carregar propágulos, sementes, ovos, pequenos organismos através de longas distâncias e o fazem de duas maneiras: endozoocoricamente e ectozoocoricamente. A endozoocoria ocorre dentro do corpo do animal, ou seja, após a ingestão desses itens, as aves os carregam dentro de suas vísceras, e, a ectozoocoria ocorre na camada externa do corpo do pássaro, onde os ovos, propágulos, sementes se aderem as penas, bico e patas do animal (Figuerola & Green 2002; Figuerola *et al.*, 2005; Van Leeuwen & Van der Velde, 2012).

Contudo, estas duas conjecturas não se excluem. A hipótese das cheias e a da dispersão por aves poderiam coexistir, uma auxiliando a outra na conexão das bacias do rio Iguaçu e rio Paraná de forma natural, mas acredita-se que a hipótese das cheias seja mais plausível e possível de ter ocorrido, não só uma vez, mas diversas vezes ao longo da história. Portanto, conclui-se que as Cataratas do Iguaçu podem não ser uma barreira geográfica tão eficaz a separação das ictiofaunas da bacia rio Paraná e bacia do rio Iguaçu ao contrário do que se imaginava. Entende-se que é possível o movimento ascendente as Cataratas, dadas condições ideais para as espécies superem e colonizem o Baixo rio Iguaçu, pelas cheias ou até por aves transportando os ovos à montante, como algumas aparentemente fizeram sem intervenção humana.

AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos ao instituto Chico Mendes de conservação e Biodiversidade (ICMBio) pela autorização da captura dos peixes (número da licença: SISBIO 10522-1). Os autores também agradecem a Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Parque Nacional do Iguaçu, Macuco Safari e Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura (NUPÉLIA) pelo suporte logístico. A Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Ensino Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) que financiaram este projeto. Ao Centro de Microscopia e Microanálise do IBILCE/UNESP/S.J. Do Rio Preto/SP, a Profa. Dra. Lilian Madi-Ravazzi pela captura das imagens no MEV (FAPESP, Proc. 95/06165-1), aos funcionários Rosana Silistino Souza e Luis Roberto Faleiros pela ajuda nas preparações técnicas.

REFERÊNCIAS

- Agostinho AA, Mendes VP, Suzuki HI, Canzi C. 1993.** Avaliação da atividade da comunidade de peixes dos primeiros quilômetros à jusante do reservatório de Itaipu. *Revista Unimar* **15**: 175–189.
- Agostinho AA, Gomes LC. 1997.** *Reservatório de Segredo: bases ecológicas para o manejo*. Maringá, Eduem.
- Agostinho AA, Thomaz SM, Gomes LC. 2004.** Threats for biodiversity in the floodplain of the Upper Paraná River: effects of hydrological regulation by dams. *Ecohydrology and Hydrobiology* **4**: 267-280.
- Albert JS, Crampton WGR, Thorsen DH, Lovejoy NR. 2005.** Phylogenetic systematics and historical biogeography of the Neotropical electric fish *Gymnotus* (Teleostei: Gymnotidae). *Systematics and Biodiversity* **2**: 345-417.
- Alves AL, Oliveira C, Foresti F. 2003.** Karyotype variability in eight species of the subfamilies Loricariinae and Ancistrinae (Teleostei, Siluriformes, Loricariidae). *Caryologia* **56**: 57-63.
- Alves AL, de Borba RS, Pozzobon APB, Oliveira C, Nirchio M, Granado A, Foresti F. 2012.** Localization of 18S ribosomal genes in suckermouth armoured catfishes Loricariidae (Teleostei, Siluriformes) with discussion on the Ag-NOR evolution. *Comparative Cytogenetics* **6**: 315-321.
- Artoni RF, Bertollo LAC. 2001.** Trends in the karyotype evolution of Loricariidae fish (Siluriformes). *Heredity* **134**: 201–210.

- Artoni RF, Vicari MR, Almeida MC, Moreira-Filho O, Bertollo LAC. 2009.** Karyotype diversity and fish conservation of Southern field from South Brazil. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **19**: 393-401.
- Azevedo LC. 2006.** Análise da precipitação pluvial da bacia do rio Iguçu-Paraná. Dissertação não publicada de Geografia. Universidade Estadual de Maringá.
- Baumgartner G, Pavanelli CS, Baumgartner D, Bifi AG, Debona T, Frana VA. 2012.** *Peixes do baixo rio Iguçu*. Maringá, Eduem.
- Bellafronte E, Moreira-Filho O, Vicari MR, Artoni RF, Bertollo LAC, Margarido VP. 2010.** Cytogenetic identification of invasive fish species following connections between hydrographic basins. *Hydrobiologia* **649**: 347- 354.
- Bertollo LAC, Takahashi CS, Moreira-Filho O. 1978.** Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). *Brazilian Journal of Genetics* **1**: 103-120.
- Birstein VJ, Hanner R, DeSalle R. 1997.** Phylogeny of the Acipenseriformes: Cytogenetic and Molecular approaches. *Sturgeon Biodiversity and Conservation* **17**: 127-155.
- Boron A, Porycka K, Ito D, Abe S, Kirtiklis L. 2009.** Comparative molecular cytogenetic analysis of three *Leuciscus* species (Pisces, Cyprinidae) using chromosome banding and FISH with rDNA. *Genetica* **135**: 199-207.
- Carvalho TP, Albert JS. 2011.** The Amazon-Paraguay divide. In: Albert JS, Reis RE. (Eds.). *Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes*. Berkeley. University of California Press, 193-202.
- COPEL. 2015.** *Situação hidrológica da bacia do rio Iguçu*. Disponível em: <https://www.copel.com/mhbweb/paginas/bacia-iguacu.jsf>. Acesso em: 29/12/15.
- Costa WJEM. 2003.** *Moema heterostigma*, a new annual fish (Cyprinodontiformes: Rivulidae) from the Brazilian Pantanal, Rio Paraguay basin. *Ichthyological Exploration of Freshwaters* **14**: 289–294.
- Fenocchio AS. 1993.** Cromossomos supranumerários no gênero *Rhamdia* (Pisces). Caracterização cromossômica e considerações sobre a evolução cariotípica nos Siluroidei. Tese não publicada, Universidade Estadual de São Paulo.
- Figuerola J, Green J. 2002.** Dispersal of aquatic organisms by waterbirds: a review of past research and priorities for future studies. *Freshwater Biology* **47**: 483–494.

- Figuerola J, Green AJ, Michot TC. 2005.** Invertebrate Eggs Can Fly: Evidence of Waterfowl-Mediated Gene Flow in Aquatic Invertebrates. *The American Naturalist* **165**: 274–280.
- Federico Soria. 2014.** *Río Iguazu: uma catástrofe ecológica perfecta*. Disponível em: <http://federico-soria.blogspot.com.br/2014/06/la-catastrofe-ecologica-perfecta-del.html>. Acesso em: 15/12/2015.
- Froese R, Pauly D. 2016.** *FishBase*. Disponível em: <http://www.fishbase.org>. Acesso em 04/01/2016.
- Garavello JC, Pavanelli CS, Suzuki HI. 1997.** Caracterização da ictiofauna do rio Iguaçu. In: Agostinho AA, Gomes LC. *Reservatório de Segredo: bases ecológicas para o manejo*. Eduem. Maringá, 61-84.
- Giuliano-Caetano L, Moreira-Filho O, Bertollo LAC. 1999.** Estudos Citogenéticos em *Rineloricaria pentamaculata* (Langeani e Araújo, 1994). *Genetics and Molecular Biology* **22**: 192.
- Globo. 2015.** *Chuva faz nível do rio Paraná e rio Iguazu subir e preocupa moradores*. Disponível em: <http://g1.globo.com/pr/oeste-sudoeste/noticia/2015/07/chuva-faz-nivel-do-rio-parana-e-rio-iguacu-subir-e-preocupa-moradores.html>. Acesso em: 24/11/2015.
- Graça WJ, Pavanelli CS. 2007.** *Peixes da planície de inundação do alto rio Paraná e áreas adjacentes*. Maringá, Eduem.
- Griffiths SP. 2000.** The use of clove oil as an anaesthetic and method for sampling intertidal rockpool fishes. *Journal of Fish Biology* **57**: 1453–1464.
- Gomes ID, Araújo FG, Uehara W, Sales A. 2011.** Reproductive biology of the armoured catfish *Loricariichthys castaneus* (Castelnau, 1855) in Lajes reservoir, southeastern Brazil. *Journal of Applied Ichthyology* **27**:1322-1331.
- Gubiani EA, Gomes LC, Agostinho AA, Baumgartner G. 2010.** Variations in fish assemblages in a tributary of the upper Paraná River, Brazil: A comparison between pre and post-closure phases of dams. *River research and applications* **26**: 848–865.
- Hatanaka T, Galetti Jr PM. 2004.** Mapping of the 18S and 5S ribosomal RNA genes in the fish *Prochilodus argenteus* Agassiz, 1829 (Characiformes, Prochilodontidae). *Genetica* **122**: 239–244.
- Howell WM, Black DA. 1980.** Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: A 1-step method. *Experientia* **36**: 1014- 1015.

- Hutton J. 1788.** *Theory of the Earth; or an Investigation of the Laws observable in the Composition, Dissolution, and Restoration of Land upon the Globe.* Disponível em: https://archive.org/stream/cbarchive_106252_theoryoftheearthoraninvestigat1788/theoryoftheearthoraninvestigat1788#page/n42/mode/1up. Acesso em: 02/01/16.
- Itaipu Binacional. 2013.** *Rio Paraná atinge terceira maior cheia na região da ponte da amizade.* Disponível em: <https://www.itaipu.gov.br/sala-de-imprensa/noticia/chuvas-provocam-vazao-historica-no-encontro-dos-rios-iguacu-e-parana>. Acesso em: 24/11/2015.
- Langeani F, Castro RMCE, Oyakawa OT, Shibatta AO, Pavanelli CS, Casatti L. 2007.** Diversidade da ictiofauna do Alto Rio Paraná: composição atual e perspectivas futuras. *Biota Neotropica* **7**: 181-197.
- Levan A, Fredga K, Sandberg AA. 1964.** Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* **52**: 201-220.
- Lovejoy NR, De Araújo MLG. 2000.** Molecular systematics, biogeography and population structure of Neotropical freshwater needlefishes of the genus *Potamorhaphis*. *Molecular Ecology* **9**: 259–268.
- Lui RL, Blanco DR, Margarido VP, Moreira-Filho O. 2010.** Characterization and biogeographic relations among three populations of the driftwood catfish *Parauchenipterus galeatus* (Linnaeus, 1766) (Siluriformes: Auchenipteridae) in Brazil. *Biological Journal of the Linnean Society* **99**: 648–656.
- Lui RL, Blanco DR, Moreira-Filho O, Margarido VP. 2012.** Propidium iodide for making heterochromatin more evident in the C-banding technique. *Biotechnic and Histochemistry* **87**: 433-438.
- Lui RL, Blanco DR, Traldi JB, Margarido VP, Moreira-Filho O. 2015.** Karyotypic variation of *Glanidium ribeiroi* Haseman, 1911 (Siluriformes, Auchenipteridae) along the Iguazu river basin. *Brazilian Journal of Biology*, Epub, 24 de Novembro. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.10714>. Acesso em: 22/12/2015.
- Lundberg JG, Marshall LG, Guerrero J, Horton B, Malabarba MCSL, Wesselingh F. 1998.** The stage for Neotropical fish diversification: a history of tropical South American rivers. In: Malabarba LR, Reis RE, Vari RP, Lucena ZM, Lucena CAS (eds), *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes*, Edipucrs, Porto Alegre, 13–48..
- Maack R. 2012.** *Geografia Física do estado do Paraná.* 4ª ed. Ponta Grossa, UEPG.

- Maia TPA. 2008.** Estudos citogenéticos em peixes da subfamília Loricariinae (Siluriformes, Loricariidae). Dissertação não publicada. Universidade Estadual de Londrina.
- Maia TP, Giuliano-Caetano L, Rodriguez SM, Rubert M, Takagui HF, Dias LA. 2010.** Chromosomal banding in three species of the genus *Rineloricaria* (Siluriformes, Loricariidae, Loricariinae). *Ichthyological Research* **57**: 209–213.
- Margarido VP, Bellafronte E, Moreira-Filho O. 2007.** Cytogenetic analysis of three sympatric *Gymnotus* (Gymnotiformes, Gymnotidae) species verifies invasive species in the Upper Paraná River basin, Brazil. *Journal of Fish Biology* **70**: 155-164.
- Margarido VP, Moreira-Filho O. 2008.** Karyotypic differentiation through chromosome fusion and number reduction in *Imparfinis hollandi* (Ostariophysi Heptapteridae). *Genetics and Molecular Biology* **31**: 235–238.
- Martins C, Galetti Jr PM. 1999.** Chromosomal localization of 5S rDNA genes in *Leporinus* fish (Anostomidae, Characiformes). *Chromosome Research* **7**: 363–367.
- Montoya-Burgos JI. 2003.** Historical biogeography of the catfish genus *Hypostomus* (Siluriformes: Loricariidae), with implications on the diversification of Neotropical ichthyofauna. *Molecular Ecology* **12**: 1855–1867.
- Notícias Terra. 2014.** PR: chuvas fazem vazão das Cataratas bater recorde histórico. Disponível em: <http://noticias.terra.com.br/brasil/cidades/pr-chuvas-fazem-vazao-das-cataratas-bater-recorde-historico,52c6e69f89186410VgnVCM3000009af154d0RCRD.html>. Acesso em: 24/11/2015.
- Paiz LM. 2013.** Citogenética como ferramenta no estudo da biodiversidade de “lambaris” (Characiformes: Characidae) coletados à jusante do rio Iguazu, parque nacional do Iguazu, Brasil. Dissertação não publicada. Universidade Estadual do Oeste do Paraná.
- Pereira CR, Barcellos LJG, Kreutz LC, Quevedo RM, Ritter F, Silva LB. 2006.** Embryonic and larval development of jundiá (*Rhamdia quelen*, Quoy & Gaimard, 1824, Pisces, Teleostei), a South American Catfish. *Brazilian Journal of Biology* **66**: 1057-1063.
- Pinkel D, Straume T, Gray JW. 1986.** Cytogenetic analysis using quantitative, high sensitivity, fluorescence hybridization. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **83**: 2934-2938.

- Reis RE, Pereira EHL. 2000.** Three new species of the loricariid catfish genus *Loricariichthys* (Teleostei: Siluriformes) from southern South America. *Copeia* **4**: 1029-1047.
- Riehl R, Appelbaum S. 1991.** A unique adhesion apparatus on the eggs of the catfish *Clarias gariepinus* (Teleostei, Clariidae). *Japanese Journal of Ichthyology*. **38**:191-197.
- Riehl R, Patzner RA. 1998.** Mini review: the modes of egg attachment in teleost fishes. *Italian Journal of Zoology* **65**: 415-420.
- Rizzo E, Sato Y, Barreto BP, Godinho HP. 2002.** Adhesiveness and surface patterns of eggs in Neotropical freshwater Teleosts. *Journal of Fish Biology* **61**: 615–632.
- Rizzo E, Godinho HP. 2003.** Superfície de ovos de peixes Characiformes e Siluriformes. In: Godinho HP, Godinho AL (Eds). *Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais*. Belo Horizonte: PUC Minas, 115-132.
- Roncati HA, Corio C, Malone G, Fenocchio AS, Pastori MC. 1999.** Relevamiento citogenético em peces Del rio Paraná (Argentina). VII Subfamílias Loricariinae e Hypostominae (Pisces, Siluriformes, Loricariidae). *Genetics and Molecular Biology* **22**: 82.
- Sampaio FAA. 1998.** Estudos taxonômicos preliminares dos Characiformes (Teleostei, Ostariophysi) da Bacia do Rio Iguaçu, com comentários sobre o endemismo desta fauna. Dissertação não publicada. Universidade Federal de São Carlos.
- Sato Y, Godinho HP. 1999.** Peixes da bacia do rio São Francisco. In: Lowe-McConnell RH. *Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais*. São Paulo: Edusp, 401-413.
- Sato Y, Fenerich-Verani N, Nuñez APO, Godinho HP, Verani JR. 2003.** Padrões reprodutivos de peixes da bacia do São Francisco. In: Godinho HP, Godinho AL (Eds). *Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais*. Belo Horizonte: PUC Minas, 229-274.
- Scavone MD, Júlio Jr HF. 1995.** Cytogenetics analysis and heterochromatin distribution in ZZ/ZW sex chromosomes of the mailed catfish *Loricariichthys platymetopon* (Loricariidae: Siluriformes). *Brazilian Journal of Genetics* **18**: 31-35.
- Singer SF, Avery DT. 2007.** *Unstoppable Global Warming: Every 1.500 years*. New York, Rowman & Littlefield.

- Sploid Gizmodo. 2014.** *The Iguazú Falls overflow in flood of biblical proportions.* Disponível em: <http://sploid.gizmodo.com/iguazu-falls-overflow-after-flood-of-biblical-proportio-1589458518>. Acesso em: 05/12/2015.
- Sumner AT. 1972.** A simple technique for demonstrating centromérica heterochromatin. *Experimental Cell Research* **74**: 304-306.
- Suzuki HI, Agostinho AA, Winemiller KO. 2000.** Relationship between oocyte morphology and reproductive strategy in loricariid catfishes of the Paraná River, Brazil. *Journal of Fish Biology* **57**: 791-807.
- Takagui FH, Venturelli NB, Dias AL, Swarça AC, Vicari MR, Fenocchio AS, Giuliano-Caetano L. 2014.** The Importance of Pericentric Inversions in the Karyotypic Diversification of the Species *Loricariichthys anus* and *Loricariichthys platymetopon*. *Zebrafish* **11**: 300-305.
- UNESCO. 2016.** *Iguazu National Park.* Disponível em: <http://whc.unesco.org/en/list/303>. Acesso em: 26/01/2016.
- Van Leeuwen CHA, Van der Velde G. 2012.** Prerequisites for flying snails: external transport potential of aquatic snails by waterbirds. *Freshwater Science* **31**: 963–972.
- Vazzoler AEAM. 1996.** *Biologia da Reprodução de Peixes Teleósteos: Teoria e Prática.* EDUEM, Maringá.
- Viana DS, Santamaría L, Michot TC, Figuerola J. 2013.** Migratory strategies of waterbirds shape the continental-scale dispersal of aquatic organisms. *Ecography* **36**: 430–438.
- Vicari MR, Artoni RF, Moreira-Filho O, Bertollo LAC. 2006.** Basic and molecular cytogenetics in freshwater Cichlidae (Osteichthyes, Perciformes). Karyotypic conservatism and divergence. *Caryologia: International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics* **59**: 260-266.
- Winemiller KO, López-Fernández H, Taphorn DC, Nico LG, Duque AB. 2008.** Fish assemblages of the Casiquiare River, a corridor and zoogeographical filter for dispersal between the Orinoco and Amazon basins. *Journal of Biogeography* **35**:1551–1563.
- Zienniczak K, Barros AV, Rosa KO. 2012.** “Comparative cytogenetics of Loricariidae (Actinopterygii: Siluriformes): emphasis in Neoplecostominae and Hypoptopomatinae”. *Italian Journal of Zoology* **79**: 492–501.

Figuras

Figura 1 – Mapa da América do Sul (à direita) evidenciando o estado do Paraná (centro) e locais de coleta (à esquerda): A, montante das Cataratas do Iguazu; e B, jusante das Cataratas do Iguazu. Modificado de Paiz (2013).

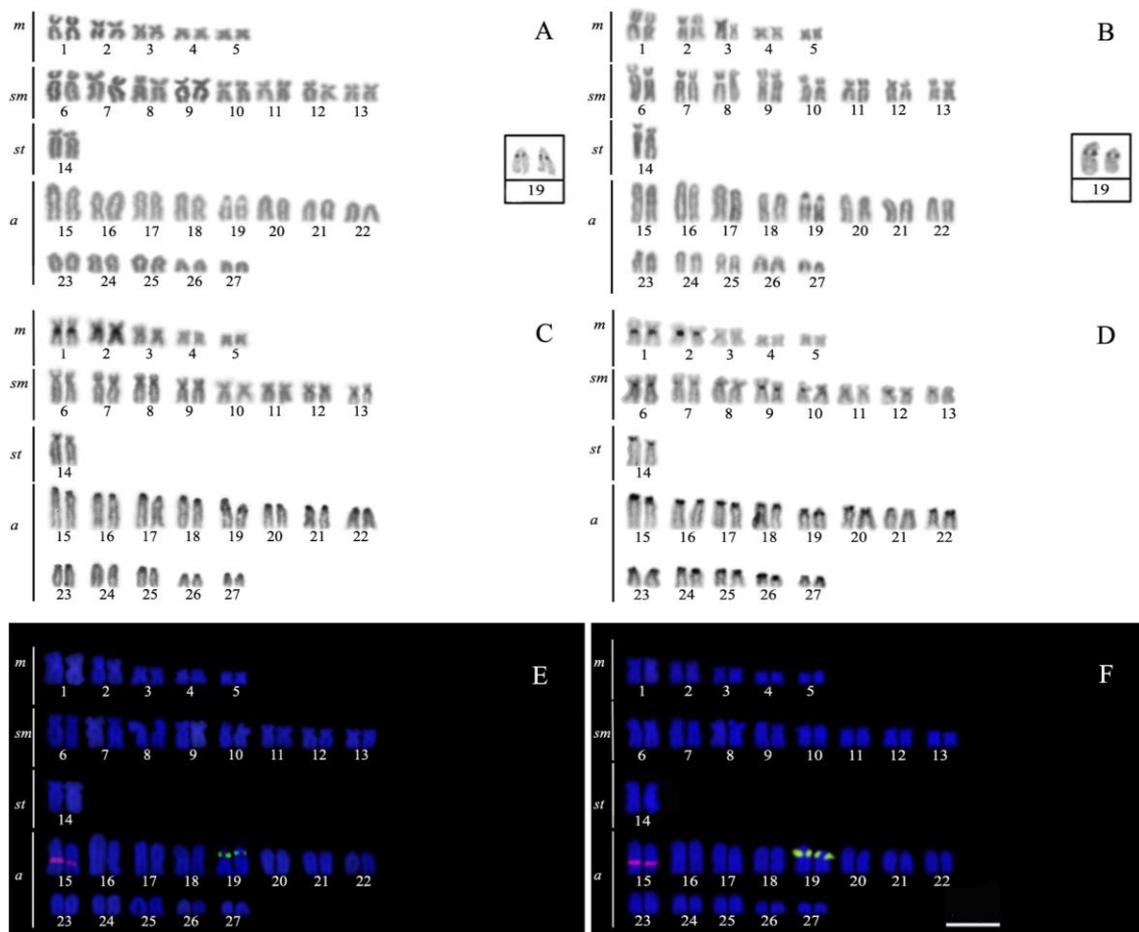


Figura 2 – Cariótipos de indivíduos de *Loricariichthys rostratus* à montante (A, C, E) e à jusante (B, D, F): A e B, cariótipos corados com Giemsa; C e D, C-bandados; E e F, hibridizados com sonda de 5S rDNA (vermelho) e 185S rDNA (verde). Nas caixas o portador das AgRONs. A barra representa 10µm.

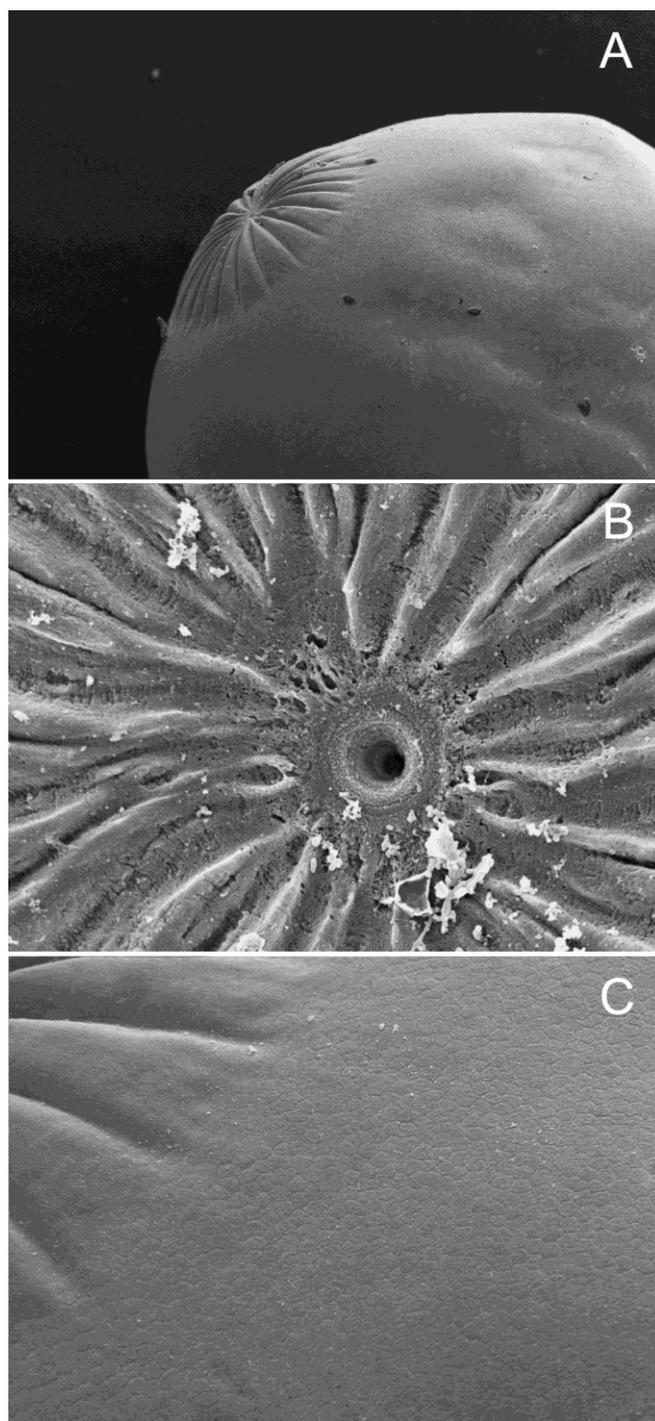


Figura 3 - Fotos dos ovos de *L. rostratus* obtidas no MEV. A: vista geral da superfície do ovo evidenciando a região da micrópila e disco micropilar em sua extremidade, 202x. B: micrópila em evidência circundada pelo disco micropilar e cristas da zona radiata, 3580x. C: região de transição entre os canais-poro hexagonais e região da micrópila, 952x.

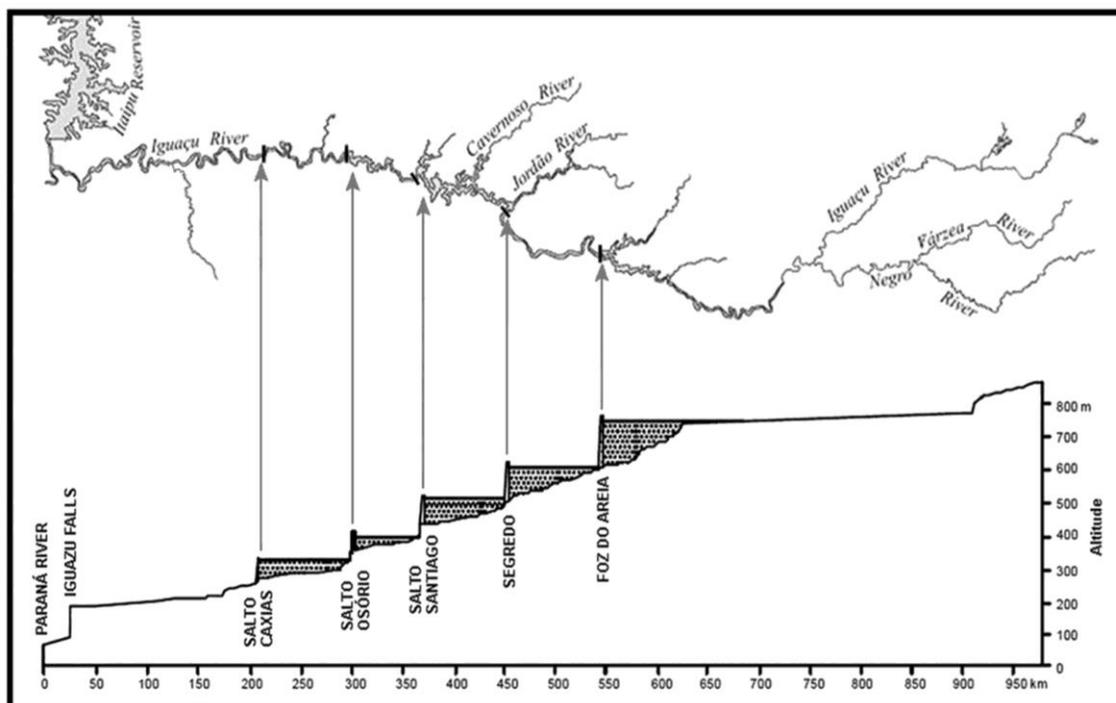


Figura 4 – Mapa e perfil longitudinal da bacia do rio Iguazu, evidenciando seus pontos de represamentos e sua topografia acidentada. Modificado de Lui *et al.* (2015).



Figura 5 – Vista aérea das Cataratas do Iguazu em diferentes momentos. A, imagem capturada em época de índices pluviométricos normais. B, C, imagens da cheia histórica de 2014. Fonte: A, B, Splid Gizmodo (2014). C, Frederico Soria (2014).

El Niño	Intensidade
1877 – 1878	Forte
1888 – 1889	Moderada
1896 – 1897	Forte
1899	Forte
1902 – 1903	Forte
1905 – 1906	Forte
1911 – 1912	Forte
1913 – 1914	Moderada
1918 – 1919	Forte
1923	Moderada
1925 – 1926	Forte
1932	Moderada
1939 – 1941	Forte
1946 – 1947	Moderada
1951	Fraca
1953	Fraca
1957 – 1959	Forte
1963	Fraca
1965 – 1966	Moderada
1968 – 1970	Moderada
1972 – 1973	Forte
1976 – 1976	Fraca
1977 – 1978	Fraca
1979 – 1980	Fraca
1982 – 1983	Forte
1986 – 1988	Moderada
1990 – 1993	Forte
1994 – 1995	Moderada
1997 – 1998	Forte
2002 – 2003	Fraca

Tabela 1 – Registro dos anos em que houve a ocorrência do El Niño e sua intensidade. Quanto maior a intensidade do fenômeno, maiores os índices pluviométricos. Fonte: Azevedo (2006).