

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

SIMONE CRISTINA GIRARDI

**CITOGENÉTICA BÁSICA E MOLECULAR EM ESPÉCIES DE PIMELODIDAE
(SILURIFORMES) COLETADAS NAS BACIAS DO RIO PARANÁ E DO RIO
URUGUAI: UMA ABORDAGEM NA TAXONOMIA E SISTEMÁTICA.**

CASCAVEL-PR

Fevereiro, 2015

SIMONE CRISTINA GIRARDI

CITOGENÉTICA BÁSICA E MOLECULAR EM ESPÉCIES DE PIMELODIDAE
(SILURIFORMES) COLETADAS NAS BACIAS DO RIO PARANÁ E DO RIO
URUGUAI: UMA ABORDAGEM NA TAXONOMIA E SISTEMÁTICA.

Dissertação apresentado 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 a obtenção do título de Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais

Orientador: Vladimir Pavan Margarido
Co-orientadora: Carla Simone Pavanelli

Área de Concentração: Conservação e Manejo de Recursos Naturais

Assinatura do Orientador

CASCAVEL-PR

Fevereiro, 2015

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

G434c

Girardi, Simone Cristina

Citogenética básica e molecular em espécies de pimelodidae (Siluriformes) coletadas nas bacias do Rio Paraná e do Rio Uruguai: uma abordagem na taxonomia e sistemática. /Simone Cristina Girardi.— Cascavel, 2015.

125 p.

Orientador: Prof. Dr. Vladimir Pavan Margarido

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná.
Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Conservação e Manejo de Recursos Naturais

1. Peixes. 2. AgRONS. 3. Bandamento C. 4. Fish-DNAr. 5. Rearranjos cromossômicos. I. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. II. Título.

CDD 21.ed. 597

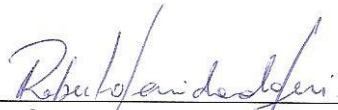
SIMONE CRISTINA GIRARDI

"Citogenética básica e molecular em espécies de Pimelodidae (Siluriformes) coletadas nas bacias do rio Paraná e do rio Uruguai: uma abordagem na taxonomia e sistemática"."

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação stricto sensu em Conservação e Manejo de Recursos Naturais-Nível de Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, pela comissão Examinadora composta pelos membros:



Prof. Dr. Vladimir Pavan Margarido
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Presidente/Orientador)



Prof. Dr. Roberto Laridondo Lui
Universidade Estadual do Oeste do Paraná



Prof. Dr. Vanessa Bueno da Silva
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Aprovada em 27 de fevereiro de 2015.

Local da defesa: Unioeste, Prédio de Salas de Aula, sala 56, Cascavel-PR.

*Dedico este trabalho a minha mãe, meus irmãos e meu namorado,
por todo apoio, amor e compreensão.*

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 conhecimentos compartilhados.

Ao meu orientador, Professor Dr. Vladimir Pavan Margarido, por toda a paciência, o apoio, pelos ensinamentos, pelas coletas e por tornar possível a realização deste trabalho. Obrigada!

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.

A Fundação Araucária (Fundação Araucária de Apoio e Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Estado do Paraná), CAPES (Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Ensino Superior) e CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo apoio financeiro.

A Dra. Carla Simone Pavanelli, Gabriel de Carvalho Deprá e ao Prof. Dr. Weferson Júnio da Graça do Nupélia, pela identificação dos exemplares. Ao Hugmar Pains por fotografar os exemplares.

Ao Lucas e ao Leonardo, pela força, apoio, sugestões, auxílio nas técnicas, companhia, por todos os momentos divertidos e pelas coletas, muito obrigada por tudo! A Gisele e a Mariane, pelo apoio e amizade. Ao Professor Roberto e as Professoras Jocicléia e Rafaela pelas sugestões. E a todos do laboratório de Biologia e Conservação de Anamniotas. A todos os que participaram das coletas, especialmente Vladimir Pavan Margarido, Rafaela Maria Moresco, Roberto Laridondo Lui, Lucas Baumgartner, Leonardo Marcel Paiz, Geraldo S. Zientarski e Adélio Ortiz.

A minha mãe Teresinha e meus irmãos César e Bruna, por sempre acreditarem na minha capacidade, por todo o amor, compreensão e apoio incondicional em todos os momentos. Ao meu namorado Pedro, pelo companheirismo, compreensão, amor e apoio, e por compartilhar comigo os momentos de alegria e me confortar nos momentos difíceis. A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Pimelodidae é uma família de peixes da região Neotropical, e embora vários estudos taxonômicos e moleculares tenham sido realizados, as relações filogenéticas entre seus gêneros ainda não são totalmente compreendidas. Com o intuito de fornecer dados para auxiliar no entendimento das relações dentro desta família, foram realizados estudos citogenéticos em duas espécies de *Iheringichthys* e em sete espécies de *Pimelodus* de três sistemas hidrográficos. Os exemplares foram coletados no rio Piquiri, Bacia do Alto rio Paraná; no rio Iguaçu, jusante às Cataratas do Iguaçu na Bacia do Médio rio Paraná; no rio Iguaçu, Bacia do Baixo rio Iguaçu e no rio Ijuí, Bacia do Alto rio Uruguai. As análises mostraram a presença de $2n=56$ cromossomos em todas as espécies, reforçando a hipótese de número diplóide basal para a família. As AgRONS, confirmadas pela FISH-DNAr 18S, foram localizadas na região terminal do braço longo de um par de cromossomos em todas as espécies estudadas, sendo que posição terminal desta região é observada em todas as espécies de Pimelodidae e pode indicar um carácter basal da família. O padrão de distribuição de heterocromatina encontrado é semelhante ao observado em outros Pimelodidae, e permitiu diferenciar a maioria das espécies, sendo um importante marcador. A localização das sequências de DNAr 5S nas espécies de *Iheringichthys* permitiu diferenciá-las, podendo ser utilizado como marcador taxonômico. Em *Pimelodus*, variação quanto ao número e posição de sítios do DNAr 5S foi observada. Em *P. britskii* e *P. maculatus* os sítios de DNAr 5S e 18S foram localizados em sintenia, o que pode indicar uma condição derivada para estas espécies, visto que são as únicas espécies de Pimelodidae que apresentam esta característica até o momento. Os resultados do presente estudo fornecem dados que contribuem para o conhecimento da história evolutiva das espécies de Pimelodidae, permitem estabelecer relações filogenéticas e auxiliam na identificação destas espécies.

PALAVRAS-CHAVE: AgRONS, bandamento C, FISH-DNAr, rearranjos cromossômicos.

ABSTRACT

Pimelodidae is a family of fishes of South America, and although several taxonomic and molecular studies have been conducted, the phylogenetic relationships among the genera are not still fully understood. In order to provide data to assist in the understanding of the relationships within this family, cytogenetic studies were performed in two species of *Iheringichthys* and seven species of *Pimelodus* from three river systems. The specimens were collected in the Piquiri River, Upper Paraná River basin; in the Iguaçú River, downstream to the Iguaçú Falls in the Middle Paraná River basin; in the Iguaçú River, Lower Iguaçú River basin and in the Ijuí River, Upper Uruguay River basin. The analysis showed the presence of $2n=56$ chromosomes for all species, corroborating the hypothesis of this basal diploid number for the family. The AgNORs, confirmed by 18S rDNA-FISH, were localized in the terminal position on long arm of a chromosome pair for all analyzed species, which has been reported for all species of Pimelodidae and may indicate a basal trait for the family. The heterochromatin distribution pattern found herein is similar to those described for other Pimelodidae, and allowed us to differentiate most of the species, becoming an important marker. The location of 5S rDNA sequences in *Iheringichthys* species allowed their differentiation, and can be used as a taxonomic marker. In *Pimelodus* species, it was verified a variation in the number and position of 5S rDNA sites. In *P. britskii* and *P. maculatus*, sites of 5S rDNA and 18S were found in synteny, which may indicate a derived condition for these species, considering that they are the only for pimelodids species till now studied that have this feature. The results of this study provided data that contribute to the knowledge of the evolutionary history of the species for Pimelodidae; establishing phylogenetic relationships and assisting in the identification of these species.

Keywords: AgNORs, C banding, rDNA-FISH, chromosomal rearrangements.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	9
1.1 Bacia do rio Paraná.....	9
1.2 Bacia do rio Uruguai.....	11
1.3 Considerações em Siluriformes e Pimelodidae.....	12
1.4 Estudos citogenéticos em Pimelodidae.....	14
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	25
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35
CAPÍTULO 1 - Diversidade cariotípica em espécies de <i>Iheringichthys</i> Eigenmann & Norris 1900 das bacias dos rios Paraná e Uruguai, e implicações na taxonomia.....	48
Introdução.....	50
Metodologia.....	51
Resultados.....	52
Discussão.....	54
Agradecimentos.....	59
Referências.....	59
ANEXO I.....	74
CAPÍTULO 2 - Citogenética básica e molecular em sete espécies de <i>Pimelodus</i> (Siluriformes: Pimelodidae) de três sistemas hidrográficos brasileiros: contribuições para a sistemática de Pimelodidae.....	80
Introdução.....	82
Metodologia.....	83
Resultados.....	84
Discussão.....	86
Agradecimentos.....	91
Referências.....	92
Anexo I.....	111
9. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	124

LISTA DE FIGURAS

Introdução

Figura 1 Filogenia de Pimelodidae	16
--	----

Material e métodos

Figura 1 Mapa dos locais de coleta das espécies de Pimelodidae	27
---	----

Figura 2 Exemplar de <i>Iheringichthys labrosus</i> do rio Iguaçu, município de Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil	28
--	----

Figura 3 Exemplar de <i>Iheringichthys labrosus</i> do rio Ijuí, município de Ijuí, Rio Grande do Sul, Brasil	28
--	----

Figura 4 Exemplar de <i>Iheringichthys syi</i> do rio Piquiri, município de Nova Laranjeiras, Paraná, Brasil.	28
---	----

Figura 5 Exemplar de <i>Pimelodus absconditus</i> do rio Ijuí, município de Ijuí, Paraná, Brasil	28
---	----

Figura 6 Exemplar de <i>Pimelodus britskii</i> do rio Iguaçu, município de Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil.	25
---	----

Figura 7 Exemplar de <i>Pimelodus maculatus</i> do rio Ijuí, município de Ijuí, Rio Grande do Sul, Brasil	29
--	----

Figura 8 Exemplar de <i>Pimelodus microstoma</i> do rio Piquiri, município de Nova laranjeiras, Rio Grande do Sul, Brasil	29
--	----

Figura 9 Exemplar de <i>Pimelodus mysteriosus</i> do rio Iguaçu, jusante às Cataratas do Iguaçu, município de Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil.	30
--	----

Figura 10 Exemplar de <i>Pimelodus ortmanni</i> do rio Iguaçu, município de Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil	30
--	----

Figura 11 Exemplar de <i>Pimelodus paranaensis</i> do rio Piquiri, município de Nova Laranjeiras	30
---	----

Capítulo 1

Figura 1 Cariótipos corados com Giemsa e C-bandados de populações de *Iherigichthys cf. syi* do rio Piquiri (a, b) *I. labrosus* do rio Paraná (c, d) e *I. labrosus* rio Ijuí (e, f). Pares de AgRONS e cromossomos B estão nas caixas. 72

Figura 2 Cariótipos após a hibridização *in situ* fluorescente com sondas de DNAr 5S (rodamina, *vermelho*) e sonda de DNAr 18S (FITC, *verde*) em populações de *Iherigichthys cf. syi* do (a) rio Piquiri, populações de *I. labrosus* do rio Paraná (b) e *I. labrosus* do rio Ijuí (c). 73

Capítulo 2

Figura 1 Mapa dos locais de coleta dos exemplares de *Pimelodus* 107

Figura 2 Cariótipos corados com Giemsa de (a) *Pimelodus absconditus*; (b) *Pimelodus britskii*; (c) *Pimelodus maculatus*; (d) *Pimelodus microstoma*; (e) *Pimelodus mysterosus*; (f) *Pimelodus ortmanni* e (g) *Pimelodus paranaensis*. 108

Figura 3 Cariótipos C-bandados de (a) *Pimelodus absconditus*; (b) *Pimelodus britskii*; (c) *Pimelodus maculatus*; (d) *Pimelodus microstoma*; (e) *Pimelodus mysterosus*; (f) *Pimelodus ortmanni* e (g) *Pimelodus paranaensis*. 109

Figura 4 Cariótipos após a hibridização *in situ* fluorescente com sondas de DNAr 5S (rodamina, *vermelho*) e sonda de DNAr 18S (FITC, *verde*) em (a) *Pimelodus absconditus*; (b) *Pimelodus britskii*; (c) *Pimelodus maculatus*; (d) *Pimelodus microstoma*; (e) *Pimelodus mysterosus*; (f) *Pimelodus ortmanni* e (g) *Pimelodus paranaensis*. 110

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Revisão dos estudos citogenéticos em Pimelodidae 17

Tabela 2 Espécies de Pimelodidae coletados e os locais de coleta..... 26

Capítulo 1

Tabela 1 Espécies coletadas de *Iheringichthys*, local de coleta, coordenadas geográficas, número de espécies analisadas por sexo e número do depósito. 67

Tabela 2 Frequência de cromossomos B em *Iheringichthys* cf. *syi* do rio Piquiri..... 68

Tabela 3 Revisão de estudos citogenéticos em *Iheringichthys* 69

Tabela 4 Revisão de estudos citogenéticos moleculares em Pimelodidae..... 70

Capítulo 2

Tabela 1 Espécies coletadas de *Pimelodus*, local de coleta, coordenadas geográficas, número de espécies analisadas por sexo e número do depósito..... 98

Tabela 2 Resultados obtidos no presente estudo para as espécies de *Pimelodus* 99

Tabela 3 Frequência de cromossomos B em *Pimelodus ortmanni* do rio Iguaçu.... 100

Tabela 4 Revisão dos estudos citogenéticos em Pimelodidae. 101

1 INTRODUÇÃO

Os peixes constituem o grupo mais numeroso e diversificado dos vertebrados. Existem cerca de 28.000 espécies divididas em 62 ordens. Possuem uma posição basal na filogenia e enorme diversidade de morfologia, biologia e habitats ocupados, representando um grupo interessante para o estudo da variabilidade genética. Esta diversidade é, em parte, o que dificulta compreender a sua história evolutiva e estabelecer uma classificação (NELSON, 2006). A região Neotropical concentra a maior fauna de peixes de água doce conhecida (GRAÇA & PAVANELLI, 2007). Mais de 4.000 espécies foram descritas para esta região (NELSON, 2006), entretanto estima-se que estes números possam chegar a 8.000 espécies. Esta grande diversidade é decorrente de fatores históricos e ecológicos, resultado de milhões de anos de evolução desde a ruptura da Gondwana até o presente (RIBEIRO, 2006).

Os estudos citogenéticos visam analisar e explicar a estrutura e o comportamento cromossômico e cariotípico, que garantem a conservação, transmissão e ordenação da informação genética para o desenvolvimento dos organismos, além de estudar os seus mecanismos de controle, variação e suas conseqüências genéticas e implicações evolutivas (LACADENA, 1996). Associada a outras ferramentas como dados de morfologia, biogeografia, comportamento e genética molecular, a citogenética possibilita maior conhecimento da história evolutiva dos organismos (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

As ordens com o maior número de espécies com dados citogenéticos são Characiformes e Siluriformes, com 475 e 318 espécies estudadas respectivamente (OLIVEIRA *et al.*, 2009). Apesar da pequena quantidade de dados citogenéticos disponíveis, em comparação com o grande número de espécies da região Neotropical, a utilização da citogenética é de grande importância para o conhecimento da biologia, da sistemática e da evolução desses vertebrados (ARTONI *et al.*, 2000).

1.1 Bacia do rio Paraná

A bacia do rio Paraná é dividida em quatro partes: curso superior, da sua origem na confluência dos rios Grande e Paranaíba até a barragem de Itaipu; curso médio, ao

longo das fronteiras da Argentina e do Paraguai, com confluência no Rio Paraguai próximo a Corrientes (Argentina); curso inferior, vasta planície aluvial até o sul de Rosário; e o curso delta, a partir da confluência do Rio Carcarana para o estuário do Rio de La Plata (STEVAUX, 2000).

O Alto rio Paraná drena uma área de 880.000 km² e representa 10,7% do território brasileiro. Por ser uma região que apresenta alta densidade populacional, intensiva atividade agrícola e pecuária, centros industriais e barragens hidrelétricas, são poucas as áreas que ainda não sofreram influência humana (AGOSTINHO *et al.*, 2007). A intensa utilização de produtos químicos na agricultura e a eliminação da vegetação ripária têm contribuído para a diminuição da qualidade da água dos principais afluentes do rio Paraná (AGOSTINHO *et al.*, 1995).

No Alto rio Paraná, curso superior, existem cerca de 310 espécies de peixes, divididas em 11 ordens e 38 famílias, dentre as quais, 80% das espécies são da ordem Siluriformes e Characiformes, grupos dominantes na maioria dos ambientes lóticos do Alto rio Paraná (LANGEANI *et al.*, 2007). Entretanto, este número de espécies parece não representar a realidade, pois apesar da ictiofauna do Alto rio Paraná ser uma das mais conhecidas e melhor estudadas da América do Sul, a descoberta de novas espécies apresenta-se em crescimento contínuo. A partir de dados compilados, análise de coleções e informações de especialistas estima-se que existam cerca de 50 novas espécies no Alto rio Paraná (LANGEANI *et al.*, 2007).

O rio Piquiri é um afluente de margem esquerda do rio Paraná, possui uma área de drenagem de 24.156 km² (IAP, 2008). Com 485 km de extensão este rio nasce no Terceiro Planalto, na região centro-sul do estado, no município de Campina do Simão. Seus principais afluentes de margem direita são os rios Cantu, Goio-Bang e Goioerê e o rio do Cobre na margem esquerda. A altitude ao longo da Bacia varia de 410 a 990 metros (PEREIRA & SCROCCARO, 2010). Levantamento ictiológico no rio Piquiri realizado por GUBIANI *et al.* (2006) registrou a ocorrência de 62 espécies de 21 famílias e 5 ordens.

A bacia do Baixo rio Paraná se estende a partir da Usina Hidroelétrica de Itaipu até a conexão com o rio Paraguai. Esta região também recebe águas do rio Iguaçu, que tem sua comunidade ictiofaunística dividida pela presença das Cataratas do Iguaçu. A porção que ocorre acima das quedas (montante) é denominada bacia do Baixo rio Iguaçu e a porção abaixo das quedas (jusante) bacia do Baixo rio Paraná. Trabalhos no trecho jusante às Cataratas do Iguaçu são escassos, por essa região ser área de

preservação ambiental fiscalizada por órgãos federais, o que dificulta o acesso, sendo que este trecho pode ser representado pela ictiofauna das bacias do rio Paraná e Paraguai (PAIZ, 2013).

O rio Iguaçu é formado pelos rios Iraí e Atuba, no município de Curitiba, na divisa com Pinhais. Este rio cruza os três planaltos paranaenses e deságua no rio Paraná. Seus principais afluentes são os rios Iraí, Atuba, Passaúna, Barigui, Verde, Passa Dois, da Várzea, Chopim, Palmital, Cavernoso, Adelaide, Gonçalves Dias, Castro Alves, Ampére e Silva Jardim. A bacia do rio Iguaçu drena aproximadamente 70.800 km², nela estão presentes as maiores quedas em volume de água do planeta que despencam em uma profunda fenda de erosão, formando 272 saltos, com cerca 72 metros de desnível, e volume médio de 1.551 m³/s em Foz do Iguaçu (PEREIRA & SCROCCARO, 2010). Segundo estudo realizado por INGENITO *et al.* (2004), a ictiofauna do rio Iguaçu possui 84 espécies; entretanto, estudos mais recentes mostram que somente para a porção do baixo rio Iguaçu já foi registrada a ocorrência de 106 espécies (BAUMGARTNER *et al.*, 2012)

1.2 Bacia do rio Uruguai

O rio Uruguai é formado pela confluência dos rios Pelotas e Canoas. Divide os estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina e tem sua foz no rio da Prata (BRASIL, 2006). A bacia abrange uma área de 365.000 km², o que representa 11,8% da superfície total da Bacia do Prata, está localizada 42% no Brasil, 41,1% no Uruguai e 16,4% na Argentina. Com 1.600 km de extensão e vazão média de 5.500 m³/segundo, o rio Uruguai tem como principais afluentes os rios Negro e Cuareim (LABORDE *et al.*, 2008). A região hidrográfica do Uruguai pode ser dividida em Alto, Médio e Baixo rio Uruguai. A porção Alto e Médio é delimitada pelo Salto do Yucumã e a porção Médio e Baixo pelo Salto Grande na divisa do Uruguai com a Argentina (SILVA, 2011).

Cerca de 3,8 milhões de pessoas vivem na porção brasileira da região hidrográfica do rio Uruguai, que abrange 384 municípios. Esta região concentra importantes atividades agro-industriais e reconhecido potencial hidrelétrico. Possui clima subtropical com chuvas ao longo de todo o ano, mas com maior concentração no período de maio a setembro (PAIM & ORTIZ, 2006). Os estudos sobre a composição da ictiofauna desta bacia são escassos. Em uma breve revisão bibliográfica HAHN &

CÂMARA (2000) levantaram 251 espécies nesta bacia, entretanto estima-se que esse número seja ainda maior.

A bacia hidrográfica do rio Ijuí possui área de 10.849 km², o seu principal rio, de mesmo nome, possui extremo potencial hidrelétrico ainda pouco explorado. O uso do solo é marcado pelo cultivo de soja (BRASIL, 2006). FERREIRA *et al.* (2011) identificaram a presença de 77 espécies de peixes em estudo de levantamento em três Pequenas Centrais Hidrelétricas (PCHs) na porção do alto rio Ijuí. As famílias com maior número de representantes foram Loricariidae, Characidae e Cichilidae.

Estudo sobre a relação entre a ictiofauna de água doce da região Neotropical realizado por ALBERT & CARVALHO (2011), a partir de 32 clados de peixes, mostra que a composição de espécies do Alto e Baixo rio Uruguai são consideravelmente distintas. A bacia do Alto rio Uruguai possui maior relação com a ictiofauna das bacias do rio Amazonas e Tocantins-Araguaia; já o Baixo rio Uruguai possui maior semelhança com as bacias do Baixo rio Paraná e com a bacia do rio Paraguai. Esta similaridade entre a fauna do Alto rio Uruguai e a bacia Amazônica possivelmente é resultado de extinções que ocorreram em outras porções da bacia do Prata, sendo um dos poucos casos de semelhança significativa na fauna de bacias não contíguas (ALBERT & CARVALHO, 2011). Os principais fatores que influenciaram a composição e as semelhanças entre as bacias hidrográficas brasileiras foram isolamento geográfico, evolução progressiva, diferenciação local e trocas de fauna (MENEZES, 1972).

1.3 Considerações em Siluriformes e Pimelodidae

Os peixes da ordem Siluriformes são popularmente conhecidos como “bagres”, existem cerca de 3.090 espécies, divididas em 478 gêneros e 36 famílias. São, principalmente, peixes de água doce, embora existam algumas espécies tolerantes a salinidade que vivem em estuários, regiões costeiras e ilhas próximas (FERRARIS, 2007). Possuem o corpo nu ou coberto por placas ósseas, apresentam acúleo nas nadadeiras peitorais e dorsais, sendo que em algumas espécies está associado a uma glândula de veneno, podendo causar ferimentos graves. Geralmente apresentam quatro pares de barbilhões sensitivos (NELSON, 2006). São os mais diversos e amplamente distribuídos dentro do grupo Ostariophysi, sendo encontrados na América do Sul,

América do Norte, Eurásia e África. A maioria das espécies são de água doce, embora existam algumas famílias, como Auchenipteridae e Pangasiidae, que possuem representantes de regiões de estuário, e Ariidae e Plotostidae com espécies marinhas (PINNA, 1998).

Pimelodidae é endêmica da região Neotropical, possui cerca de 93 espécies distribuídas em 29 gêneros (FERRARIS, 2007). Apresenta maior diversidade nas bacias dos rios Amazonas, Paraná, Orinoco e nos grandes rios das Guianas. Algumas espécies apresentam ampla distribuição por toda esta região, enquanto outras são endêmicas das bacias do rio Magdalena, Maracaibo, alguns rios do sudeste do Brasil, noroeste da Colômbia e leste do Panamá (LUNDBERG & LITTMANN, 2003). Morfologicamente, os pimelodídeos representam um modelo quase arquetípico de um bagre. Possuem o corpo nu (sem placas ósseas externas), nadadeira adiposa grande e três pares de barbilhões longos. A coloração do corpo pode variar de cinza uniforme até padrões bem elaborados de listras, pintas e manchas escuras e claras. A maior parte dos pimelodídeos possui hábitos carnívoros, com algumas espécies que representam predadores de topo de cadeia alimentar. Algumas espécies consomem frutos, enquanto outras são onívoras. As espécies de *Pimelodus*, em certas épocas do ano, podem formar grandes cardumes e muitos pimelodídeos possuem estratégia reprodutiva sazonal com desova durante a fase de enchente dos rios (ROCHA & ZUANON, 2013).

Por muito tempo a família Pimelodidae agrupava espécies das atualmente reorganizadas, Heptapteridae e Pseudopimelodidae. Estudos filogenéticos concentrados no reconhecimento de possíveis subunidades monofiléticas elevaram as subfamílias à categoria de família (PINNA, 1998). Vários estudos têm sido realizados sobre as relações filogenéticas entre as espécies de Pimelodidae (LUNDBERG *et al.*, 1991; LUNDBERG & AKAMA, 2005; HARDMANN & LUNDBERG, 2006; LUNDBERG *et al.*, 2011; 2012), entretanto, estas relações ainda não são totalmente esclarecidas.

LUNDBERG *et al.* (2011) realizaram estudo sobre as relações filogenéticas em Pimelodidae utilizando sequências de DNA nuclear e ribossomal. Os resultados (Fig. 1) mostram que *Steindachneridion* e *Phractocephalus* são gêneros basais e formam um pequeno clado, que é irmão de todos os outros Pimelodidae. O autor delimita o Grupo Neopimelodinae, que é formado por todos os Pimelodidae, exceto *Steindachneridion*, *Phractocephalus*, *Leiarius* e *Perrunichthys*. Os Neopimelodines são divididos em duas maiores linhagens: sorubimines (S) e Clado *Pimelodus ornatus-Calophysus-Pimelodus* (OCP). O Clado OCP é composto por *Pimelodus ornatus* e seu Clado irmão

Calophysus-Pimelodus (CP). CP por sua vez, se divide em calophysines (C) e pimelodines (P). Calophysines inclui o monofilético Grupo *Calophysus* e o Grupo *Megalonema-Cheirocerus*. Pimelodines é composto pelo Grupo *Exalldontus-Pimelodus altissimus* (EA) e pelo Grupo *Pimelodus*. O Grupo *Pimelodus* contém três subclados: *Iheringichthys-Parapimelodus*, *Pimelodus maculatus* e *Pimelodus blochii*.

1.4 Estudos citogenéticos em Pimelodidae

Estudos citogenéticos em Pimelodidae foram realizados em pouco mais de um terço das espécies válidas. Estes dados mostram a prevalência do número diplóide de 56 cromossomos, grande quantidade de cromossomos bi-braçados e RONS simples (Tabela 1). Das 33 espécies válidas estudadas citogeneticamente, apenas seis possuem número diplóide diferente de 56 cromossomos, sendo elas: *Calophysus macropterus*, $2n=50$ (RAMIREZ-GIL *et al.*, 1998), *Pimelodus blochii*, $2n=58$ (DELLA-ROSA *et al.*, 1980), *Pimelodus fur*, $2n=54$ (GARCIA & MOREIRA-FILHO, 2008), *Pinirampus pirinampu*, $2n=50$ (VASCONCELOS & MARTINS-SANTOS, 2000), *Luciopimelodus pati*, $2n=50$ (SÁNCHEZ *et al.*, 2000) e *Megalonema platanum*, $2n=54$ (SÁNCHEZ *et al.*, 2000; CARVALHO *et al.*, 2011).

Em Pimelodidae, cromossomos B foram encontrados em *Bergiaria westermanni* (DIAS & FORESTI, 1993), *Iheringichthys labrosus* (DIAS & FORESTI, 1990; CARVALHO & DIAS, 2005a; CARVALHO *et al.*, 2004; VISSOTO *et al.*, 1999), *Megalonema platanum* (CARVALHO *et al.*, 2011), *Pimelodus ortmanni* e *Pimelodus* sp. (BORIN & MARTINS-SANTOS, 2004), com casos de variações intra e interpopulacionais no número e na morfologia destes cromossomos. As regiões heterocromáticas são, em sua maioria, pálidas e distribuídas nas regiões dos centrômeros e telômeros, marcações intersticiais e pericentroméricas em alguns pares, e um par de cromossomos meta-submetacêntricos com bandas biteloméricas fortes também são encontradas em muitas espécies (CARVALHO *et al.*, 2004; RIBEIRO *et al.*, 2008, TRECO & DIAS, 2009; MORAES-NETO *et al.*, 2011).

Estudos sobre a localização do DNAr 5S e 18S em Pimelodidae ainda são escassos. O DNAr 18S, nas espécies estudadas até o momento, foi observado na região terminal de um par de cromossomos, corroborando dados obtidos através da técnica de impregnação por prata (AgRONS). Quanto ao DNAr 5S, a maioria das espécies

estudadas possuem estes sítios em apenas um par de cromossomos, embora em algumas espécies de *Pimelodus* e *Pseudoplatystoma* tenham sido encontrado em maior número (SWARÇA *et al.*, 2005b; GARCIA & MOREIRA-FILHO, 2008; MORAES-NETO *et al.*, 2011; SCZEPANSKI *et al.*, 2013), sendo a maioria na região intersticial ou pericentromérica. Dentre os dados disponíveis, caso de sintenia entre o DNAr 5S e o DNAr 18S foi observada apenas em *Pimelodus britskii* (MORAES-NETO *et al.*, 2011).

No presente trabalho, foram realizadas análises citogenéticas básicas e moleculares em nove espécies de Pimelodidae, com o objetivo de fornecer dados para auxiliar na identificação e classificação dessas espécies, bem como, na compreensão das relações evolutivas entre as espécies desta família.

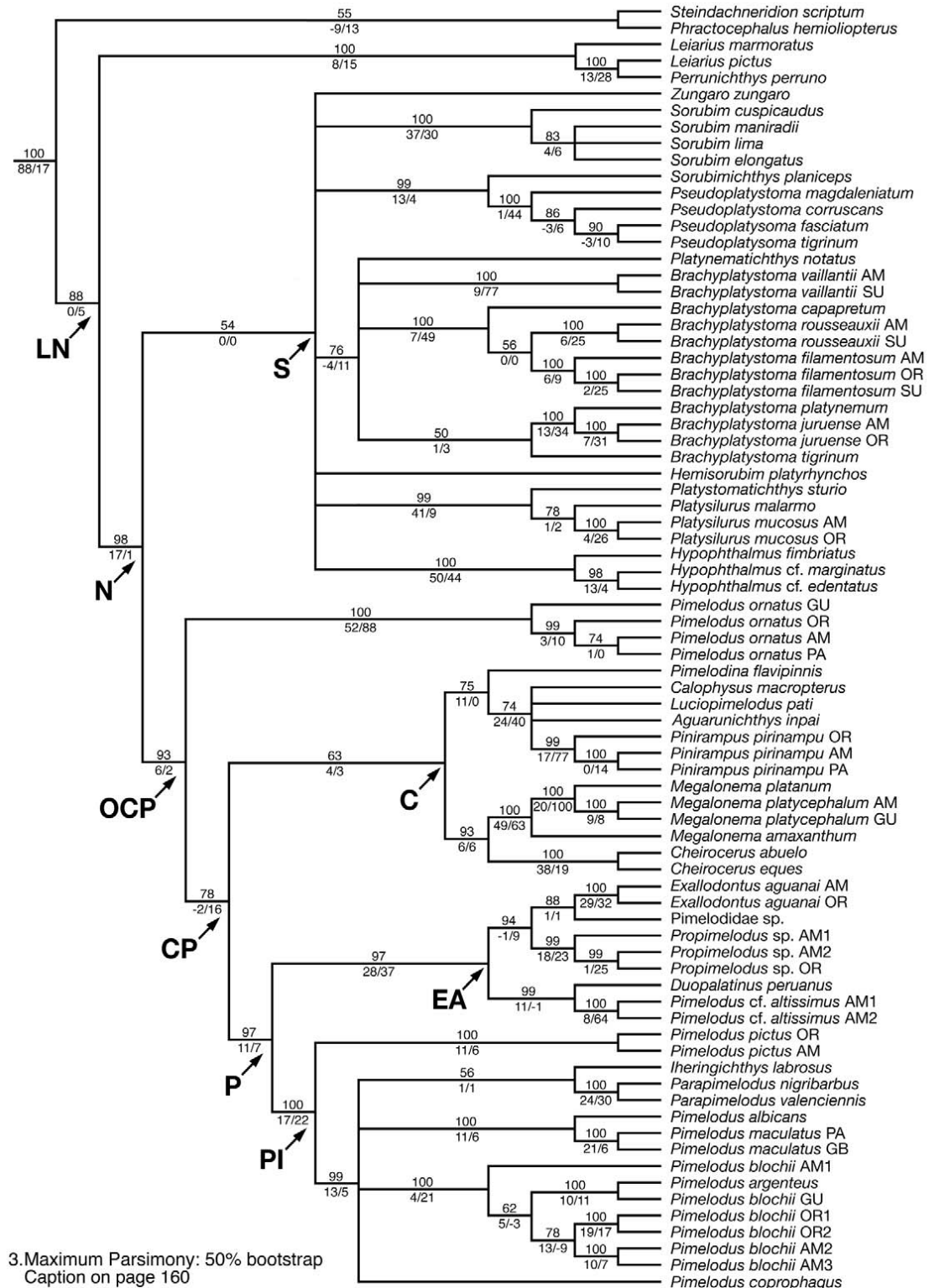


Figura 1 Filogenia de Pimelodidae (retirada de LUNDBERG *et al.*, 2011). LN: Clado *Leiarius*-neopimelodines; N: neopimelodines; S: sorubimines; OCP: Clado *Pimelodus ornatus*-*Calophysus*-*Pimelodus*; CP: Clado *Calophysus*-*Pimelodus*; C: calophysines; P: pimelodines; EA: Grupo *Exallodontus*-*Pimelodus altissimus*; PI: Grupo *Pimelodus*.

Tabela 1 Revisão dos estudos citogenéticos em Pimelodidae.

Gênero / Espécie	Local	BH	2n	Fórmula cariotípica	B	DNAr 18s	RONs	DNAr 5s	Heterocromatina	Ref
Bergiaria										
<i>B. westermanni</i>	R. São Francisco, MG	SF	56	42m/sm+14st	0-5		q, t, st-a			1
Brachyplatystoma										
<i>B. filamentosum</i>	R. Araguaia, GO	TA	56	24m+12sm+10st+10a		p, t, st	p, t, st	p peri st	Pericentromérica e telomérica	2
Calophysus										
<i>C. macropterus</i>	R. Negro/ R. Solimões, AM	AM	50	22m+18sm+10a			p, a			3
Hemisorubim										
<i>H. platyrhynchos</i>	R. Paraná, PR	AP	56	22m+18sm+6st+10a			p, t, sm		Intersticial, pericentromérica e telomérica	4
<i>H. platyrhynchos</i>	R. Araguaia, MT	P	56	20m/sm+8st/a						5
<i>H. platyrhynchos</i>	R. Araguaia, MT	P	56							6
<i>H. platyrhynchos</i>	Rio Paraná, Corrientes, ARG	BP	56	22m+16sm+10st+8a		p, t, st	p, t, st		Pericentromérica e grande bloco p e q	7
<i>H. platyrhynchos</i>	Rio Miranda, MS	P	56	22m+16sm+10st+8a		p, t, st	p, t, st		Pericentromérica e grande bloco p e q	7
Iheringichthys										
<i>I. labrosus</i>	R. Mogi-Guaçu, SP	AP	56	26m+14sm+12st+4a	0-2				Centromérica e telomérica	8
<i>I. labrosus</i>	R. Paraná, PR	AP	56	42m/sm+14st/a					Centromérica e telomérica	9
<i>I. labrosus</i>	R. Tibagi, PR (Londrina)	AP	56	32m+8sm+6st+10a	0-3	q, t, st	q, t, st	q inter st	Telomérica	10

Gênero / Espécie	Local	BH	2n	Fórmula cariotípica	B	DNAr 18s	RONs	DNAr 5s	Heterocromatina	Ref
<i>I. labrosus</i>	R. Tibagi, PR (Reserv. Capivara)	AP	56	26m+12sm+6st+12a	0-1	q, t, st	q, t, st	q, t, st-a	Telomérica	11
<i>I. labrosus</i>	Reserv. Jurumirim, SP	AP	56	22m+18sm+10st+6a	0-2				Intersticial e telomérica	12
<i>I. labrosus</i>	Rio Guaraúna	AP	56	14m+32sm+4st+6a			p, t, sm		Centromérica e telomérica	13
<i>I. labrosus</i>	Rio Paraná, ARG	BP	56				q, t, sm		Centromérica e telomérica	14
<i>Luciopimelodus</i>										
<i>L. pati</i>	R. Paraná, Corrientes, ARG	AP	50	16m+14sm+8st+12a			p, t, a			15
<i>Megalonema</i>										
<i>M. platanum</i>	R. Paraná, ARG	BP	54	24m+16sm+2st+12a		p, t, sm	p, t, sm		Intersticial e telomérica	16
<i>M. platanum</i>	R. Tibagi, PR	AP	54	24m+16sm+2st+12a	0-1	p, t, sm	p, t, sm		Telomérica e intersticial	16
<i>M. platanum</i>	R. Paraná, Corrientes, ARG	BP	54	14m+18sm+12st+10a			p, t, sm			15
<i>Parapimelodus</i>										
<i>P. nigribarbis</i>	Lago Guaíba (RS)		56	20m+20sm+4st+12a			q, st,			17
<i>P. valenciennes</i>	R. Guaíba, RS		56							18
<i>Pimelodus</i>										
<i>P. absconditus</i>	R. Paraná, Porto Rico/PR	AP	56	24m+18sm+8st+6a			q, t, st		Centromérica, intersticial e telomérica	19
<i>P. argenteus</i>	R. Paraguai, MS	P	56	24m+16sm+12st+4a			p, t, st		Telomérica	20
<i>P. blochii</i>	R. Solimões, AM	AM	58	36m/sm+20st/a						21

Gênero / Espécie	Local	BH	2n	Fórmula cariotípica	B	DNAr 18s	RONs	DNAr 5s	Heterocromatina	Ref
<i>P. blochii</i>	R. Araguaia, , MT	P	56	36m/sm+20st/a			p, t,			5
<i>P. blochii</i>	R. Araguaia, , MT	P	56/58	14m+8sm+36a						6
<i>P. blochii</i>			56	18m+16sm+10st+12a						22
<i>P. britskii</i>	R. Iguaçu	AP	56	24m+18sm+8st+6a		q, t, st	q, t, st	p inter sm, q t st	Centromérica e telomérica	23
<i>P. fur</i>			56	30m+14sm+12a						24
<i>P. fur</i>	R. São Francisco, MG	SF	54	32m+8sm+6st+8a		q, t, sm		q inter m, q peri sm		25
<i>P. cf. maculatus</i>	R. Jarí Almerim - PA		58	30m/sm+28st/a			q, t, sm e st			26
<i>P. maculatus</i>	R. São Francisco, MG	SF	56	32m+12sm+12st		q, t, sm		q inter m, q t sm e q peri sm		25
<i>P. maculatus</i>	Córrego Congonhas, PR	AP	56	20m+20sm+10st+6a						27
<i>P. maculatus</i>			56	30m+14sm+12a						28
<i>P. maculatus</i>	R. São Francisco, MG/ R. Mogi- Guacu, SP	SF	56	40m/sm+16st/a			q, t, st-a			1
<i>P. maculatus</i>	R. Guaíba, RS		56							18
<i>P. maculatus</i>	R. Tibagi, PR	AP	56	20m+20sm+10st+6a						29
<i>P. maculatus</i>	R. Sapucaí; Furnas, MG	AP	56	40m/sm+16st/a						30

Gênero / Espécie	Local	BH	2n	Fórmula cariotípica	B	DNAr 18s	RONs	DNAr 5s	Heterocromatina	Ref
<i>P. maculatus</i>	R. Paranapanema; Jurumirim, SP	AP	56	20m+20sm+10st+6a			q, t, st		Centromérica, intersticial e telomérica	12
<i>P. maculatus</i>	Delta Paranaense, ARG	AP	56	24m+14sm+12st+6a						31
<i>P. maculatus</i>	R. Paraná, Porto Rico, PR	AP	56	20m+20sm+10st+6a			q, t, st		Centromérica, intersticial e telomérica	19
<i>P. maculatus</i>	R. Tejuco/ R. Araguari, MG	AP	56							32
<i>P. maculatus</i>	Lago Guafba (RS)		56	24m+20sm+6st+6a			q, st			17
<i>P. maculatus</i>	Angatuba, SP	AP	56	24m +22sm+8st+2a		q, t, st	q, t, st	q t st	Pericentromérica e telomérica	33
<i>P. maculatus</i>	Guapiara, SP	AP	56	28m+18sm+4st+6a		q, t, st	q, t, st	q t st	Pericentromérica e telomérica	33
<i>P. maculatus</i>	Reserv. Três Lagoas, Três Lagoas, MS	AP	56	20m+22sm+10st+4a		q, t, st	q, t, st	q t st	Pericentromérica e telomérica	33
<i>P. maculatus</i>	Terra Roxa, SP	AP	56	22m+26sm+6st+2a		q, t, st	q, t, st	q t st	Pericentromérica e telomérica	33
<i>P. microstoma*</i>	R. Tibagi, PR	AP	56	22m+22sm+6st+6a			q, t, st		Telomérica	34
<i>P. microstoma*</i>	R. Piquiri, Nova Laranjeiras, PR	AP	56	18m+24sm+6st+8a			q, t, st		Telomérica	35
<i>P. microstoma*</i>	Rio Mogi-Guaçu, Pirassununga SP	AP	56	32m+14sm+6st+4a		q, t, st	q, t, st	q peri st	Pericentromérica e telomérica	33
<i>P. mysteriosus</i>	R. Paraguai, MS	P	56	26m+20sm+2st+8a			p, t, st		Telomérica	20
<i>P. ornatus</i>	R. Paraná, PR	AP	56	18m+22sm+6st+10a			p, t, st			36
<i>P. ornatus</i>	R. Paraná, Porto Rico,PR	AP	56	20m+18sm+8st+10a					Centromérica e telomérica	19

Gênero / Espécie	Local	BH	2n	Fórmula cariotípica	B	DNAr 18s	RONs	DNAr 5s	Heterocromatina	Ref
<i>P. ortmanni</i>	R. Iguaçu, Reserv. Caxias, PR	AP	56	24m+18sm+8st+6a	0-4		q, t, st		Centromérica, pericentromérica e telomérica	37
<i>P. ortmanni</i>	Rio Iguaçu (Palmeira, PR)		56							38
<i>P. ortmanni</i>	Rio Iguaçu (Quedas do Iguaçu, PR)		56	20m+12sm+14st+10a						39
<i>P. pantaneiro*</i>	R. Paraguai, MS	P	56	22m+16sm+10st+8a			q, t, st		Intersticial e telomérica	40
<i>P. paranaensis</i>	R. Piquiri, Nova Laranjeiras, PR	AP	56	22m+22sm+4st+8a			q, t, st		Telomérica	35
<i>Pimelodus</i> sp.			56	30m+14sm+12a						28
<i>Pimelodus</i> sp.	R. São Francisco, MG	SF	56	40m/sm+16st/a						1
<i>Pimelodus</i> sp.	R. São Francisco, MG	SF	56	32m+12sm+6st+6a		q, t, sm		q inter m, q peri sm e q peri sm		25
<i>Pimelodus</i> sp.	R. Iguaçu, PR	AP	56	24m+26sm+4st+2a			q, t, st		Telomérica	34
<i>Pimelodus</i> sp.	R. Iguaçu, Reserv. Caxias, PR	AP	56	30m+14sm+8st+4a	0-4		q, t, st		Centromérica, pericentromérica e terminal	37
<i>Pinirampus</i>										
<i>P. pirinampu</i>	R. Paraná, PR	AP	50	22m+12sm+4st+12a			p, t, a			41
<i>P. pirinampu</i>	R. Tibagi, PR	AP	50	26m+12sm+2st+10a			p, t, st			42
<i>P. pirinampu</i>	R. Paraná, Corrientes, ARG	AP	50	18m+14sm+4st+14a						43
<i>P. pirinampu</i>	R. Araguari, MG	SF	50							44

Gênero / Espécie	Local	BH	2n	Fórmula cariotípica	B	DNAr 18s	RONs	DNAr 5s	Heterocromatina	Ref
<i>Pseudoplatystoma</i>										
<i>P. corruscans</i>	R. Paraná, Porto Rico, PR	AP	56	18m+16sm+10st+12a			p, t, sm		Pericentromérica e telomérica	4
<i>P. corruscans</i>	Coxim, MS	P	56	42m/sm+14st/a						45
<i>P. corruscans</i>	R. Mogi-Guaçu, SP	AP	56	18m+18sm+10st+10a						46
<i>P. corruscans</i>	R. Tres Marias, MG	SF	56	20m+12sm+12st+12a						47
<i>P. corruscans</i>	R. Paraguai, MS	P	56	20m+16sm+8st+12a		p, t, a	p, t, a	p subt st, 1 homólogo m peri		48
<i>P. corruscans</i>	R. Paraná, Jupiá, SP/ R. Paraná, PR	AP	56	26m+10sm+6st+14a		p, t, sm	p, t, sm	p subt st, 1 homólogo sm subt		48
<i>P. fasciatum</i>	R. Solimões, AM	AM	56	18m+14sm+10st+14a						49
<i>P. fasciatum</i>	R. Paraguay, MS	AP	56	20m+12sm+12st+12a			p, t, st		Telomérica e pericentromérica	50
<i>P. metaense</i>	R. Orinoco, VZ	O	56	42m/sm+14st/a		p,t, sm	p,t, sm	p, para, sm	Telomérica e pericentromérica	51
<i>P. orinocoense</i>	R. Orinoco, VZ	O	56	42m/sm+14st/a		p, t, sm	p, t, sm	p, para, sm	Telomérica e pericentromérica	51
<i>P. reticulatum</i>	Rio Paraguai	P	56	22m+20sm+6st+8a		p, t, sm	p, t, sm	p inter sm	Centromérica e telomérica	23
<i>P. tigrinum</i>	R. Solimões, AM	AM	56	18m+16sm+8st+14a						49

Gênero / Espécie	Local	BH	2n	Fórmula cariotípica	B	DNAr 18s	RONs	DNAr 5s	Heterocromatina	Ref
<i>Sorubim</i>										
<i>S. lima</i>	R. Solimões, AM	AM	56	18m+12sm+14st+12a						6
<i>S. lima</i>	R. Paraná, Porto Rico, PR	AP	56	20m+14sm+10st+12a			p, t, sm		Intersticial, pericentromérica e telomérica	49
<i>S. lima</i>	R. Araguaia, Barra do Garças, MT	P	56							4
<i>S. lima</i>	Rio Paraguai	P	56	24m+16sm+8st+8a		p, t, st	p, t, st	p inter sm	Centromérica e telomérica	23
<i>S. lima</i>	Rio Paraguai	P	56	24m+16sm+8st+8a		p, t, st	p, t, st	p t e peric sm		52
<i>Steindachneridion</i>										
<i>S. melanodermatum</i>	R. Iguaçu, PR	AP	56	20m+24sm+2st+10a/ 21m+23sm+2st+10a		p, t, a	p, t, a	p subt st		53; 54; 55
<i>S. melanodermatum</i>	R. Iguaçu, PR	AP	56	14 m+22sm+12st+8a		p, t, a	p, t, a	p subt st		56
<i>S. scriptum</i>	R. Paranapanema/ R. Tibagi, PR	AP	56	24m+20sm+4st+8a		p, t, a	p, t, a	p subt st		54; 55; 57
<i>Zungaro</i>										
<i>Z. luetkeni</i>	R. Paraná, Foz do Iguaçu, PR	AP	56	26m+10sm+6st+14a			p, t, sm			4
<i>Z. zungaro</i>	R. Paraná, Jupiá, SP	AP	56	32m+6sm+8st+10a			p, t, sm			58

*espécie renomeada

Referências: 1 - Dias & Foresti (1993); 2 - Gonçalves *et al.* (2014); 3 - Ramirez-Gil *et al.* (1998); 4 - Martins-Santos *et al.* (1996); 5 - Faria *et al.* (2000); 6 - Silva *et al.* (2004); 7 - Swarça *et al.* (2013); 8 - Dias & Foresti (1990); 9 - Garcia *et al.* (1990); 10 - Carvalho *et al.* (2010; 2004); 11 - Carvalho & Dias (2005b; 2007); 12 - Vissotto *et al.* (1999); 13 - Ribeiro *et al.* (2008); 14 - Sanchez *et al.* (2014); 15 - Sanchez *et al.* (2000); 16 - Carvalho *et al.* (2011); 17 - Treco *et al.* (2008); 18 - Costa & Reggi (1986); 19 - Borin & Martins-Santos (2002); 20 - Souza *et al.* (2003); 21 - Della-Rosa *et al.* (1980); 22 - Nirchio *et al.* (2014); 23 - Moraes-Neto *et al.* (2011); 24 - Fenocchio *et al.* (1994); 25 - Garcia & Moreira Filho (2005; 2008); 26 - Souza *et al.* (2000); 27 - Mazzuchelli *et al.* (2007); 28 - Toledo & Ferrari (1976); 29 - Swarça *et al.* (2001a); 30 - Marques *et al.* (1998); 31 - Heras & Mendoza (2002); 32 - Moreira *et al.* (2004); 33 - Ferreira *et al.*

(2014); 34 - Souza *et al.* (2004); 35 - Treco & Dias (2009); 36 - Abucarma & Martins-Santos (1996); 37 - Borin & Martins-Santos (2004); 38 - Terencio *et al.* (2001); 39 - Margarido & Gavasso (2000); 40 - Souza *et al.* (2003); 41 - Vasconcelos & Martins-Santos (2000); 42 - Swarça *et al.* (1999;2001c); 43 - Sanchez (2006); 44 - Molina & Morelli (2004); 45 - Souza *et al.* (1992); 46 - Bigoni *et al.* (1992); 47 - Fenocchio (1993); 48 - Swarça *et al.* (2005b); 49 - Fenocchio & Bertollo (1992);); 50- Porto e Foresti (2000); 51 - Nirchio *et al.* (2013); - 52 - Szczepanski *et al.* (2013); 53 - Swarça *et al.* (2006); 54 - Swarça *et al.* (2008); 55 - Swarça *et al.* (2009); 56 - Matoso *et al.* (2011); 57 - Swarça *et al.* (2005a); 58 - Swarça *et al.* (2001b). AM: rio Amazonas; AP: Alto rio Paraná; BP: Baixo rio Paraná; P: rio Paraguai; SF: rio São Francisco; TA: rio Tocantins-Araguaia; Reserv: Reservatório; p: braço curto; q: braço longo; t: terminal; m: metacêntrico; sm: submetacêntrico; st: subtelocêntrico; a: acrocêntrico; peri: pericentromérica; inter: intersticial; subt: subterminal; t: telomérica.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados exemplares de 9 espécies (10 populações) de Pimelodidae em quatro localidades, as espécies e o número de indivíduos coletados estão relacionados na Tabela 2, mapa com os pontos de coleta na Figura 1 e as fotos do exemplar de cada espécie nas Figuras 2 a 11. Os exemplares foram anestesiados e sacrificados através de overdose por óleo de cravo (GRIFFITHS, 2000). As preparações cromossômicas foram obtidas através da técnica proposta por Bertollo *et al.* (1978). As AgRONS foram evidenciadas por impregnação com prata de acordo com a técnica descrita por Howell & Black (1980). O bandamento C foi utilizado para determinar as regiões de heterocromatina seguindo a técnica proposta por Sumner (1972), com modificações sugeridas por Lui *et al.* (2012). O mapeamento físico das sequências de DNAr 5S e DNAr 18S foi realizado através da hibridização *in situ* fluorescente (FISH) de acordo com Pinkel *et al.* (1986) e modificações sugeridas por Margarido & Moreira-Filho (2008), com sondas obtidas de *Leporinus elongatus* Valenciennes, 1850 (MARTINS & GALETTI JUNIOR, 1999) e de *Prochilodus argenteus* Spix & Agassiz, 1829 (HATANAKA & GALETTI JUNIOR, 2004), respectivamente. As sondas de DNAr 5S foram marcadas com digoxigenina-11-dUTP (Dig Nick Translation Kit–Roche®, Basel, BS, Switzerland) e a de DNAr 18S com biotina-16-dUTP (Biotin Nick Translation Kit–Roche®). A detecção e amplificação dos sinais foi realizada com antidigoxigenina-rodamina (Roche®) para sonda de DNAr 5S e avidina-FITC amplificado com anti-avidina biotilada (Sigma-Aldrich, Buchs, SG, Switzerland) para sonda de DNAr 18S, sendo os cromossomos posteriormente contra-corados com DAPI (50 µg/mL). O software DP Controller 3.2.1.276 foi usado com a câmera digital Olympus DP 71 acoplada ao microscópio de epifluorescência BX 61, para fotografar as lâminas (Olympus America Inc., Center Valley, PA, United States of America). Para organização do cariótipo o cálculo da relação de braços proposto por Levan *et al.* (1964) foi utilizado, classificando os cromossomos em metacêntricos (m), submetacêntricos (sm), subtelocêntricos (st) e acrocêntricos (a).

Tabela 2 Espécies de Pimelodidae coletados e os locais de coleta

Espécie	Localidade	Município/ Estado	Bacia	Coordenada Geográfica	♂	♀	I	NUP
<i>Iheringichthys cf. syi</i> Azpelicueta & Britski 2012	Rio Piquiri	Nova Laranjeiras, PR	Alto rio Paraná	24°56'54"S 52°35'49"O	1	6	-	14937, 14942, 17276
<i>Iheringichthys labrosus*</i> (Lütken 1874)	Rio Iguaçu	Foz do Iguaçu, PR	Médio rio Paraná	25°39'02"S 54°27'25"O	-	3	-	17268, 17272, 17273
<i>Iheringichthys labrosus</i> (Lütken 1874)	Rio Ijuí	Ijuí, RS	Alto rio Uruguai	28°18'06.3"S 53°53'33.6"O	14	6	-	14902, 17262
<i>Pimelodus absconditus</i> Azpelicueta 1995	Rio Ijuí	Ijuí, RS	Alto rio Uruguai	28°18'06.3"S 53°53'33.6"O	17	6	1	17259, 17264
<i>Pimelodus britskii</i> Garavello & Shibatta 2007	Rio Iguaçu	Foz do Iguaçu, PR	Baixo rio Iguaçu	25°37'13.20"S 54°23'29.20"O	2	8	1	17260, 17265, 17266, 17269
<i>Pimelodus maculatus</i> Lacepède 1803	Rio Ijuí	Ijuí, RS	Alto rio Uruguai	28°18'06.3"S 53°53'33.6"O	1	3	-	17263
<i>Pimelodus microstoma</i> Steindachner 1877	Rio Piquiri	Nova Laranjeiras, PR	Alto rio Paraná	24°56'54"S 52°35'49"O	4	9	-	14938
<i>Pimelodus misteriosus*</i> Azpelicueta 1998	Rio Iguaçu	Foz do Iguaçu, PR	Médio rio Paraná	25°39'02"S 54°27'25"O	1	-	-	16111
<i>Pimelodus ortmanni</i> Haseman 1911	Rio Iguaçu	Foz do Iguaçu, PR	Baixo rio Iguaçu	25°37'13.20"S 54°23'29.20"O	5	4	1	17261, 17267, 17270, 17271
<i>Pimelodus paranaensis</i> Britski & Langeani 1988	Rio Piquiri	Nova Laranjeiras, PR	Alto rio Paraná	24°56'54"S 52°35'49"O	-	2	-	14936, 17274

*População jusante às Cataratas do Iguaçu.

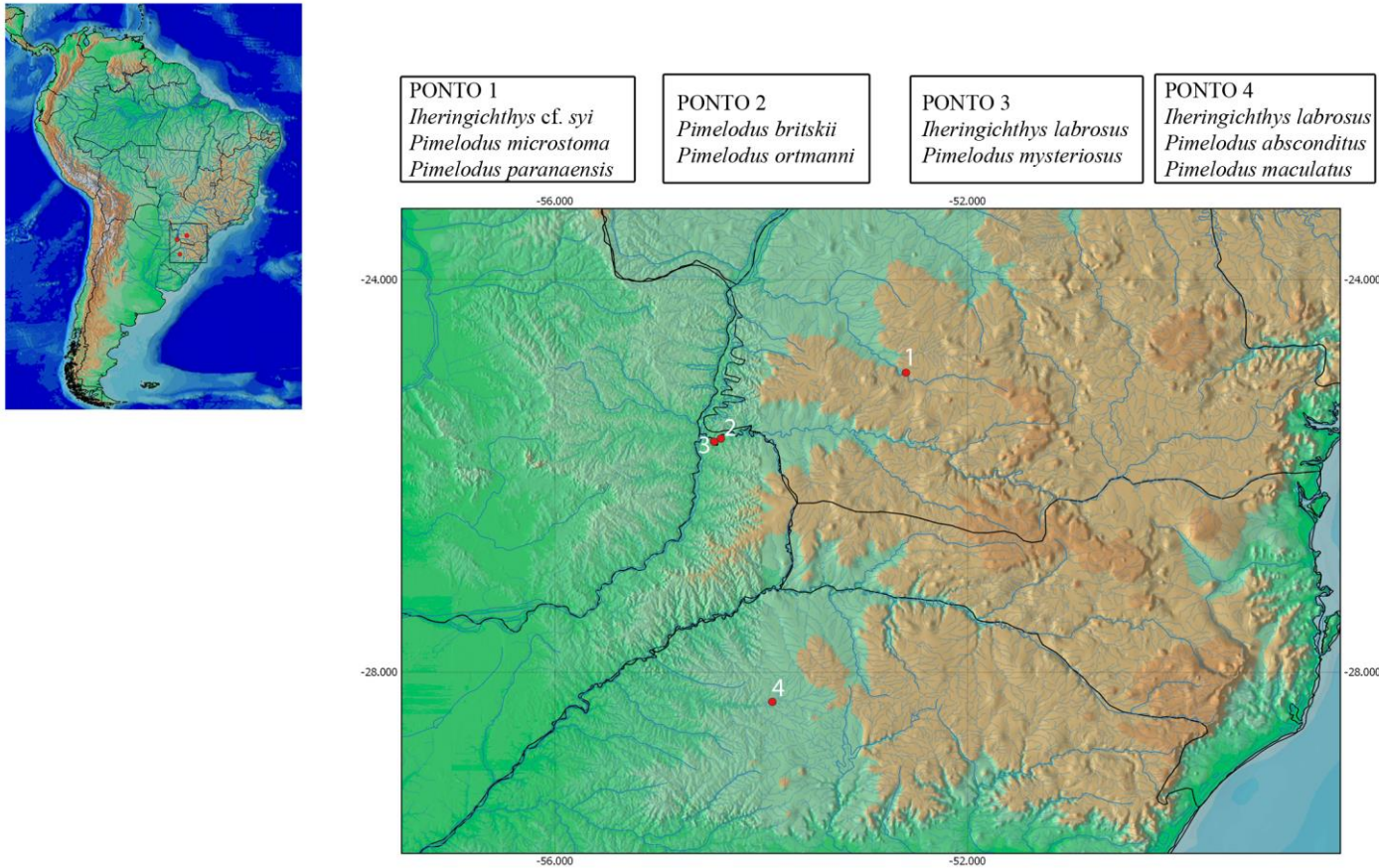


Figura 1. Mapa dos locais de coleta das espécies de Pimelodidae (1) rio Piquiri, Bacia do Alto rio Paraná; (2) rio Iguaçu, Bacia do Baixo rio Iguaçu; (3) rio Iguaçu - jusante às Cataratas do Iguaçu, Bacia do Médio rio Paraná; (4) rio Ijuí, Bacia do Alto rio Uruguai. Nas caixas as espécies coletadas em cada ponto.

2.1 Fotos dos exemplares



Figura 2. Exemplar de *Iheringichthys labrosus* do rio Iguaçu, município de Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil. Comprimento padrão: 13,7 cm.



Figura 3. Exemplar de *Iheringichthys labrosus* do rio Ijuí, município de Ijuí, Rio Grande do Sul, Brasil. Comprimento padrão: 16,7 cm.



Figura 4. Exemplar de *Iheringichthys cf. syi* do rio Piquiri, município de Nova Laranjeiras, Paraná, Brasil. Comprimento padrão: 19,2 cm.



Figura 5. Exemplar de *Pimelodus absconditus* do rio Ijuí, município de Ijuí, Paraná, Brasil. Comprimento padrão: 11,1 cm



Figura 6. Exemplar de *Pimelodus britskii* do rio Iguaçu, município de Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil. Comprimento padrão: 18,7cm.



Figura 7. Exemplar de *Pimelodus maculatus* do rio Ijuí, município de Ijuí, Rio Grande do Sul, Brasil. Comprimento padrão: 19,3 cm.



Figura 8. Exemplar de *Pimelodus microstoma* do rio Piquiri, município de Nova Laranjeiras, Rio Grande do Sul, Brasil. Comprimento padrão: 13,5 cm.



Figura 9. Exemplar de *Pimelodus misteriosus* do rio Iguaçu, jusante às Cataratas do Iguaçu, município de Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil. Comprimento padrão: 13,7 cm.



Figura 10. Exemplar de *Pimelodus ortmanni* do rio Iguaçu, município de Foz do Iguaçu, Paraná, Brasil. Comprimento padrão: 20,7 cm.



Figura 11. Exemplar de *Pimelodus paranaensis* do rio Piquiri, município de Nova Laranjeiras, Paraná, Brasil. Comprimento padrão: 25,2 cm.

2.2 Preparação dos cromossomos mitóticos (BERTOLLO *et al.*, 1978).

1. Foi injetado colchicina 0,025% intra-abdominalmente, na proporção de 1mL para cada 100 g de peso animal. O peixe será mantido em aquário por 30 a 40 minutos e em seguida sacrificado com overdose de óleo de cravo e retirada a porção anterior do rim;

2. O material foi lavado em solução hipotônica, e em seguida colocado em uma cuba de vidro contendo 7 – 10 mL de solução hipotônica de KCl 0,075M;

3. O material foi dissociado com pinças de dissecação para separar as células, o processo foi completado com a utilização de uma seringa hipodérmica, e transferido para um tubo de ensaio;

4. O material foi incubado em uma estufa a 37°C por 25 a 30 minutos;

5. Foram pingadas de 5 – 10 gotas de fixador METANOL - ACIDO ACÉTICO (3:1) no material, que posteriormente foi ressuscitado e centrifugado durante 10 minutos a 900 rpm;

6. O sobrenadante foi retirado, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, e acrescentado 7 – 10 mL de fixador. O material foi ressuscitado e centrifugado durante 10 minutos;

7. O passo 6 foi repetido mais duas vezes;

8. Após a última centrifugação e eliminação do sobrenadante, foi adicionado de 1 – 2 mL de fixador, dependendo da quantidade material obtido;

9. O material foi novamente ressuscitado e acondicionado em tubos de plástico tipo *Eppendorf*, sendo guardado no refrigerador.

Preparação das lâminas

1. Pingou-se 1 – 3 gotas de suspensão celular sobre uma lâmina limpa que foi deixada secar ao ar;

2. A lâmina foi corada com Giemsa 5%, solução diluída em tampão fosfato ($\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12\text{H}_2\text{O}$), pH=6,8, por 7 minutos, ou tratada segundo as técnicas de banda-C, impregnação por prata ou FISH.

2.3 Detecção das regiões organizadoras de nucléolos (RONS) por meio da impregnação por prata (HOWELL & BLACK, 1980).

1. Foram colocadas sobre uma lâmina previamente preparada 2 – 3 gotas de solução aquosa de gelatina (1 g de gelatina incolor + 50 mL de H₂O + 0,5 mL de ácido fórmico);
2. Sobre cada gota de gelatina foram adicionadas 1 gota de H₂O e 2 gotas de AgNO₃;
3. A lâmina foi coberta com uma lamínula e colocada em estufa a 60°C durante 3 - 6 minutos;
4. A lamínula foi escorrida debaixo da água corrente;
5. A lâmina secou ao ar e foi observada ao microscópio.

2.4 Determinação de heterocromatina (SUMNER, 1972) com modificações sugeridas por Lui *et al.* (2012).

1. A lâmina foi incubada por aproximadamente 12 minutos em solução de HCl 0,2N a 42°C;
2. Em seguida foi lavada em água corrente e seca ao ar;
3. A lâmina foi colocada em solução aquosa de Ba (OH)₂ x 8H₂O 5% a 42°C durante 1 minuto e 10 segundos;
4. Posteriormente, foi mergulhada três vezes em HCl 0,2N, lavada em água corrente e seca ao ar;
5. A lâmina foi colocada em solução salina 2xSSC por 30 minutos;
6. Foi lavada em água corrente e seca ao ar;
7. Posteriormente foi corada por Giemsa 6% durante 5 minutos ou por iodeto de propídio na proporção de 20 ml de anti-fading e 0,7 ml de iodeto de propídio (50mg/ ml).

2.5 Estudos cariotípicos (LEVAN *et al.*, 1964)

As preparações foram analisadas em microscópio de luz. Para as contagens cromossômicas e observações mais detalhadas utilizou-se a objetiva de imersão. As melhores metáfases foram capturadas com a câmera digital DP 71 acoplada ao microscópio de epifluorescência BX 61, com a utilização do software DP Controller, versão 3.2.1.276. Os

homólogos foram pareados e dispostos em grupos (metacêntrico, submetacêntrico, subteloentrico e acrocêntrico).

O limite de relação de braços (RB), braço maior/braço menor utilizada foi a proposta por Levan *et al.* (1964), onde a classificação cromossômica adotada é a seguinte:

RB= 1,00-1,70 , metacêntrico (m);

RB= 1,71-3,00 , submetacêntrico (sm);

RB= 3,01-7,00 , subteloentrico (st);

RB= maior que 7,00 , acrocêntrico (a)

2.6 Hibridização *in situ* com sondas fluorescentes (PINKEL *et al.*, 1986; MARGARIDO & MOREIRA-FILHO, 2008).

Preparação da sonda:

1. Em um tubo *Eppendorf* foi adicionado 1 µg de DNA sonda, H₂O *mili-Q* autoclavada para completar os 16 µl de solução e 4 µl de *mix* de reação (Kit);

2. A solução foi homogeneizada com uma micropipeta e levada ao banho-maria (isopor) por 1 e ½ horas a 15°C;

3. Adicionou-se 1 µl EDTA 0,5 M, pH = 8,0, e aqueceu-se a 65°C por 10 minutos para finalizar a reação;

4. O DNA foi precipitado com acetato de sódio 3M (1/10 do volume total) mais etanol 100% gelado (2 vezes o volume) *overnight*;

5. O material foi centrifugado a 13.000 rpm por 15 minutos; e em seguida descartado o sobrenadante;

6. O material foi lavado com 50 µl de etanol 70% gelado; e centrifugado a 13.000 rpm por 15 minutos;

7. Descartou-se o sobrenadante, e o material foi seco em estufa a 37°C.

Preparação das Lâminas:

1. As lâminas foram incubadas com 88 µl de RNase (0,4% RNase/2xSSC) sob lamínula, a 37°C por uma hora em câmara úmida com água;

2. Lavadas 2 vezes por 5 minutos em 2xSSC com agitação;

3. Incubadas em 2xSSC a 60°C por 45 minutos;

4. Desidratadas em série de 70% etanol e 100% por 5 minutos a temperatura ambiente; e posteriormente secas ao ar;

5. Em seguida, desnaturadas em 0,05N NaOH/2xSSC por 3 minutos;

6. Desidratadas em série de etanol 70% e 100% por 5 minutos cada, a temperatura ambiente, e secas ao ar.

Hibridização:

1. Foram adicionados ao tubo 6 µl da sonda 18S rDNA e 6 µl sonda 5S rDNA; 6 µl de 20xSSC; 30 µl de formamida e 12 µl de sulfato dextrano 50%, por lâmina;

2. A solução de hibridização foi colocada em banho-maria a 100°C por 10 minutos; e posteriormente retirada e colocada imediatamente no gelo;

3. Foram colocados 58 µl de solução de hibridização em lamínula para cada lâmina, e em seguida as lâminas foram arrumadas em câmara úmida e incubadas a 37 °C por 12 horas (*overnight*). A câmara úmida foi preparada com H₂O.

Detecção e amplificação do Sinal:

1. As lâminas foram lavadas em 1xSSC por 5 minutos a 37°C com agitação; em 1xSSC por 5 minutos a temperatura ambiente com agitação; e por último 2 vezes em *Tween* 0,05%/4xSSC por 5 minutos cada com agitação;

2. As lâminas foram incubadas em tampão 5% NFDm/4xSSC ambiente por 15 minutos;

3. Lavadas 2 vezes, 5 min com *Tween* 0,05%/4xSSC, ambiente (sob agitação);

4. Incubadas com 88 µl de Antidigoxigenina-Rhodamine+avidin-FITC (0,5 µl de Rhodamine + 0,4 µl de FITC + 90 µl 5% NFDm/4xSSC por lâmina; durante 60 minutos em câmara úmida e escura, a temperatura ambiente;

5. Lavadas em tampão 5% NFDm/4xSSC, em temperatura ambiente por 5 minutos (sob agitação); 2 vezes em *Tween* 0,05%/4xSSC, em temperatura ambiente por 5 minutos (sob agitação); e 1 vez em 4xSSC, em temperatura ambiente por 5 minutos (sob agitação);

6. Posteriormente as lâminas foram deixadas em 1xSSC por 5 minutos; secar ao ar.

Montagem das lâminas:

1. Foram misturados 200 µl de *anti-fading* mais 1 µl de DAPI (0,2 mg/mL), e em seguida colocados 25 µl da mistura;

2. A lâmina foi coberta com lamínula e guardada em local protegido da luz.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABUCARMA, M.; MARTINS-SANTOS, I. C. (1996). Caracterização cromossômica de duas espécies da família Pimelodidae (Pisces, Siluriformes). In: *Proceedings of VI Simpósio de Citogenética Evolutiva Aplicada a Peixes Neotropicais*, São Carlos, SP, pp. 73.
- AGOSTINHO, A. A.; VAZZOLER, A. E. A. M. de; THOMAZ, S. M. (1995). The High river Paraná basin: limnological and ichthyological aspects. In: TUNDINISI, J. G; BICUDO, C. E. M. de; MATSUMURA-TUNDISI, T. *Limnology in Brazil*. Rio de Janeiro: ABC/SBL, p. 59-103.
- AGOSTINHO, A. A.; PELICICE, F. M.; PETRY, A. C.; GOMES, L. C.; JULIO JUNIOR, H. F. (2007). Fish diversity in the upper Paraná river basin: habitats, fisheries, management and conservation. *Aquatic Ecosystem Health & Management*, 10:174-186.
- ALBERT, J. S.; CARVALHO, T. P. (2011). Neogene Assembly of Modern Faunas. In: ALBERT, J. S. & REIS, R. E. (Eds.). *Historical biogeography of neotropical freshwater fishes*. Berkeley, University of California Press. 119-136.
- ARTONI, R. F; VICARI, M. R; BERTOLLO, L. A. C. (2000). Citogenética de peixes neotropicais: métodos, resultados e perspectivas. *Biological and Health sciences*, 6:43-60.
- BAUMGARTNER, G.; PAVANELLI, C. S.; BAUMGARTNER, D.; BIFI, A. G.; DEBONA, T.; FRANA, V. A. (2012). *Peixes do Baixo rio Iguaçu*. EDUEM: Maringa, 203p.
- BERTOLLO, L. A. C; TAKAHASHI, C. S.; MOREIRA-FILHO, O. (1978). Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). *Brazilian Journal of Genetics*, 1:103–120.
- BIGONI, A. P. V.; ALMEIDA-TOLEDO, L. F.; TOLEDO-FILHO, S. A. (1992). Estudos citogenéticos em *Pseudoplatystoma corruscans* (Pimelodidae, Sorubiminae) do rio Mogi-Guaçu, SP. In: *Proceedings of IX Simpósio de Citogenética Peixes Neotropicais*, pp. 32.
- 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 Iguaçú. *Hereditas*, 140:201–209.

BRASIL. (2006). Ministério do meio ambiente: Secretaria de Recursos Hídricos. *Caderno da Região Hidrográfica do Uruguai*. Brasília, 128 p.

CARVALHO, R. A.; GIULIANO-CAETANO, L.; DIAS, A. L. (2004). Cytogenetic Analysis of A- and B- Chromosomes of *Iheringichthys labrosus* (Pisces, Pimelodidae) from the Tibagi River, Paraná, Brazil. *Cytologia* 69:381–385.

CARVALHO, R. A.; DIAS, A. L. (2005a). Cytogenetic characterization of B chromosomes in two populations of *Iheringichthys labrosus* (Pisces, Pimelodidae) from the Capivara Reservoir (Paraná, Brazil) *Caryologia* 58:269–273.

CARVALHO, R. A.; DIAS, A. L. (2005b). Karyotypic characterization of *Iheringichthys labrosus* (Pisces, Pimelodidae): C-, G- and restriction endonuclease banding. *Genetics and Molecular Research* 4:663–667.

CARVALHO, R. A.; DIAS, A. L. (2007). Interindividual size heteromorphism of NOR and chromosomal location of 5S rRNA genes in *Iheringichthys labrosus*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 50:141–1467.

CARVALHO, R. A.; LAUDICINA, A.; GIULIANO-CAETANO, L.; MARTINS-SANTOS, I. C.; DIAS, A. L. (2010). Cytogenetic 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.; DIAS, A. L. (2011). Chromosomal analyses in *Megalonema platanum* (Siluriformes: Pimelodidae), an endangered species from South American rivers. *Neotropical Ichthyology*, 9:177–182.

COSTA, L. J.; REGGI, R. (1986). Estudos preliminares de duas espécies da família Pimelodidae: *Pimelodus maculatus* e *Parapimelodus valenciennes* do rio Guaíba, RS. In:

Proceedings of I Simpósio de Citogenética Evolutiva Aplicada em Peixes Neotropicais, São Carlos, SP, pp. 34.

DELLA-ROSA, V. A.; BERTOLLO, L. A. C.; 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. (1990). Algumas considerações a respeito do cariótipo de *Iheringichthys labrosus* (Siluriformes, Pimelodidae) do rio Mogi-Guaçu. *Anais do III Simpósio de Citogenética Evolutiva Aplicada em Peixes Neotropicais*. Botucatu, SP. p. 32.

DIAS, A. L.; FORESTI, F. (1993). Cytogenetic studies on fishes of the family Pimelodidae (Siluroidei). *Revista Brasileira de Genética*, 3: 585–600.

FARIA, A. A.; BRITO, J.G.; VENERE, P. C. (2000). Citogenética de Pimelodidae: Caracterização cromossômica de *Pimelodus blochii*, *Pimelodella cristata* e *Hemisorubim platyrhynchos* (Siluriformes) do médio Araguaia. In: *Proceedings of VIII Simpósio de Citogenética e Genética de Peixes*, Manaus, pp 92.

FENOCCHIO, A. S.; BERTOLLO, L. A. C. (1992). Karyotype similarities among Pimelodidae (Pisces, Siluriformes) from the Brazilian Amazon region. *Cytobios* 69:41–46.

FENOCCHIO, A. S. (1993). Cromossomos supranumerários no gênero *Rhamdia* (Pisces). *Caracterização cromossômica e considerações sobre a evolução cariotípica nos Siluroidei*. PhD Thesis, Universidade de São Paulo.

FENOCCHIO, A. S.; PASTORI, M. C.; LOPEZ, P. A.; SANCHEZ, S.; ALBERDI, A. J.; BORDENAVE, S.; DIB, M. C. (1994). Levantamento citogenético em peixes de água-doce da Argentina: resumo das espécies estudadas. In: *Proceedings of V Simpósio de Citogenética Evolutiva Aplicada a Peixes Neotropicais*, Botucatu SP, pp. 8.

FERRARIS, C. J. JR. (2007). Checklist of catfishes, recent and fossil (Osteichthyes: Siluriformes), and catalogue of siluriform primary types. *Zootaxa*, 1418:1-628.

FERREIRA, F. W.; HARTMANN, C.; BEUTER, S. B. (2011). A ictiofauna e o efeito sinérgico de três PCHS no rio Ijuí, RS. In: *X Congresso de Ecologia do Brasil*, São Lourenço - MG.

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.

GARCIA, R. M. G.; SACHETE, S.; MARTINS-SANTOS, I. C. (1990). Aspectos citogenéticos de *Iheringichthys labrosus* (Pisces, Pimelodidae) do rio Paraná, Região de Porto Rico, PR. In: *Proceedings of III Simpósio de Citogenética Evolutiva Aplicada em Peixes Neotropicais*. Botucatu, SP p.32.

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.

GONÇALVES, Á. L. M.; DO PRADO, F. D.; FERREIRA, D.C.; VOLTOLIN, T. A.; SENHORINI, J. A.; FORESTI, F.; PORTO-FORESTI, F. (2014). First cytogenetic characterization of the giant Amazonian catfish *Brachyplatystoma filamentosum* (Siluriformes, Pimelodidae). *Caryologia*, 67:101–105.

GRAÇA, W. J.; PAVANELLI, C. S. (2007). *Peixes da Planície de Inundação do Alto Rio Paraná e Áreas Adjacentes*. Maringá: Eduem, 241p.

GRIFFITHS, S. P. (2000). The use of clove oil as an anaesthetic and method for sampling intertidal rockpool fishes. *Journal of Fish Biology*, 57:1453–1464.

GUBIANI, E. A.; HOLZBACH, A. J.; BAUMGARTNER, G.; REZENDE-NETO; L. B. de; BERGMANN, F. (2006). Fish, Piquiri River, Upper Paraná River Basin, Paraná State, Brazil. *Check List: Journal of Species Lists and Distribution*, 2: 9–14.

HAHN, L.; CÂMARA, L. F. (2000). Ictiofauna do rio Uruguai: pesquisas e impactos. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ictiologia*, 58: 9-11.

HARDMAN, M.; LUNDBERG, J. G. (2006). Molecular phylogeny and a chronology of diversification for “phractocephaline” catfishes (Siluriformes: Pimelodidae) based on mitochondrial DNA and nuclear recombination activating gene 2 sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 40: 410–418.

HATANAKA, T.; GALETTI-JUNIOR, P. M. (2004). Mapping of the 18S and 5S ribosomal RNA genes in the fish *Prochilodus argenteus* Agassiz, 1829 (Characiformes, Prochilodontidae). *Genetica*, 122:239–244

HERAS, M. P.; MENDOZA, N. R. (2002). Análisis cariotípico de *Pimelodus maculatus* (Lacépède, 1803) (Pisces, Siluriformes, Pimelodidae) provenientes del delta Paranaense. In: *Proceedings of XXXI Congreso Argentino de Genética*, La Plata, Argentina. pp. 95.

HOWELL, W. M.; BLACK, D. A. (1980). Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a I-step method. *Experientia*, 36:1014–1015.

IAP. (2008). Avaliação Ambiental Integrada – Bacia do rio Piquiri. Disponível em: <http://www.iap.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=1074> acesso em 15/01/2015.

INGENITO, L. F. da S.; DUBOC, L. F.; ABILHOA, V. (2004). Contribuição ao conhecimento da ictiofauna da Bacia do Alto rio Iguaçu, Paraná, Brasil. *Arquivos de ciências veterinária e zoologia*, 7:23-36.

LABORDE, L. del C. (2008). The rio de la Plata River Basin: The Path Towards Basin institutions. In: Varis, O; Tortajada, C; Biswas, A. K (Eds.) *Management os Transboundary rivers and lakes*. Springer: Berlin.

LACADENA, J. R. (1996). *Citogenética. Editorial Complutense*, S. A. Madri, Espanha, 928 p.

LANGEANI, F.; CASTRO, R. M. C.; OYAKAWA, O. T.; SHIBATTA, O. A.; PAVANELLI, C. S.; 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, A. A. (1964). Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52:201–220.

LUI, R. L.; BLANCO, D. R.; MOREIRA-FILHO, O.; MARGARIDO, V. P. (2012). Propidium iodide for making heterochromatin more evident in the C-banding technique. *Biotech Histochemistry*, 87:433–438.

LUNDBERG, J.; MAGO-LECCIA, F.; NASS, P. (1991). *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). Family Pimelodidae (Long-whiskered catfishes). In: REIS, E. R.; 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.; AKAMA, A. (2005). *Brachyplatystoma capapretum*: a new species of goliath catfish from the Amazon basin, with a reclassification of allied catfishes (Siluriformes: Pimelodidae). *Copeia*, 3:492–516.

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. *Proceeding of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 161:153–189.

LUNDBERG, J. G.; COVAIN, R.; SULLIVAN, J. P.; FISCH-MULLER, S. (2012). Phylogenetic position and notes on the natural history of *Pimelabditus moli* Parisi & Lundberg, 2009 (Teleostei: Siluriformes), a recently discovered pimelodid catfish from the Maroni River basin. *Cybium*, 36:105-114.

MARGARIDO, V. P.; GAVASSO, E. (2000). Análise cariotípica em *Pimelodus ortomanni* (Pisces, Siluriformes, Pimelodidae) coletado no Rio Iguazu – Baciado Iguazu. In: *Proceedings of 46º Congresso Nacional de Genética*, Águas de Lindóia, SP, pp. 63.

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

MARQUES, S.; MAISTRO, E. L.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. (1998). Estudos cariotípicos na espécie *Pimelodus maculatus* (Pisces, Pimelodidae) coletada no rio Sapucaí, represa de Furnas, MG. In: *Proceedings of 44º Congresso Brasileiro de Genética*, Águas de Lindóia, SP pp. 59.

MARTINS, C.; GALETTI-JUNIOR, P. M. (1999). Chromosomal localization of 5S rDNA genes in *Leporinus fish* (Anostomidae, Characiformes). *Chromosome Research*, 7:363–367.

MARTINS-SANTOS, I. C.; JULIO-JUNIOR, H. F.; BURIN, I. (1996). Karyotypic studies of four species of the Sorubiminae subfamily (Pisces, Siluriformes). *Caryologia*, 49:73–80.

MATOSO, D. A.; de ALMEIDA VAL, V. M. F; da 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. *Reviews Fish Biology Fisheries*, 21:497–508.

MAZZUCHELLI, J.; SWARÇA, A. C.; DIAS, A. L. (2007). Structural chromosome polymorphism in a *Pimelodus maculatus* La Cepède, 1803 population (Siluriformes, Pimelodidae) from the Paranapanema River Basin, PR, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 67:395–937.

MENEZES, N. A. (1972). Distribuição e origem da fauna de peixes de água-doce das grandes bacias fluviais do Brasil. In: *Comissão internacional da Bacia Paraná-Uruguai. Poluição e piscicultura*. São Paulo, Faculdade de Saúde Pública da USP/Instituto de Pesca. p.79-108.

MOLINA, R. A. S.; MORELLI, S. (2004). Análise Citogenética de uma população de *Pinirampus pinirampu* (Pisces, Siluriformes) da Bacia do Rio Araguari (Uberlândia, MG). In: *Proceedings of X Simpósio de Citogenética e Genética de Peixes*, Natal RN, pp. 143.

MORAES-NETO, A.; SILVA, M., MATOSO, D. A.; VICARI, M. R.; DE ALMEIDA, M. C.; COLLARES-PEREIRA, M. J.; ARTONI, R. F. (2011). Karyotype variability in neotropical catfishes of the family Pimelodidae (Teleostei: Siluriformes). *Neotropical Ichthyology*, 9:97–105.

MOREIRA, R. G.; MORELLI-SHIMIZU, L.; MORELLI, S. (2004). Aspectos citogenéticos de duas populações do mandi amarelo *Pimelodus maculatus* (Siluriformes, Pimelodidae). In: *Proceedings of X Simpósio de Citogenética e Genética de Peixes*, Natal, RN, pp. 145.

NELSON, J. S. (2006). *Fishes of the World*. 4. ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 601p.

NIRCHIO, M.; MUJICA, A.; OLIVEIRA, C.; GRANADO, A.; MORA, J.; HETT, A. K.; ROSSI, A. R.; MILANA, V.; SOLA, L. (2013). *Pseudoplatystoma metaense* and *P. orinocoense* (Siluriformes: Pimelodidae) from the Orinoco basin, Venezuela: cytogenetic and molecular analyses. *Italian Journal of Zoology*, 80:526–535.

NIRCHIO, M.; ROSSI, A. R.; FORESTI, F.; OLIVEIRA C. (2014). Chromosome evolution in fishes: a new challenging proposal from Neotropical species. *Neotropical Ichthyology*, 12:761–770.

OLIVEIRA, C.; FORESTI, F.; HILSDORF, A. W. S. (2009). Genetics of neotropical fish: from chromosomes to populations. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35:81–100.

PAIM, E. S.; ORTIZ, L. S. (2006). *Hidrelétricas na bacia do rio Uruguai: guia para ONGs e movimentos sociais*. Porto Alegre: Núcleo Amigos da Terra, 16 p.

PAIZ, L. M. (2013). *Citogenética como ferramenta no estudo da biodiversidade de “Lambaris” (Characiformes: Characidae) coletados à jusante do rio Iguaçu, Parque Nacional do Iguaçu, Brasil*. Dissertação de Mestrado: Unioeste.

PEREIRA, M.C. B.; SCROCCARO, J. L.(Org). (2010). *Bacias Hidrográficas do Paraná. Série Histórica*. SEMA, 138 p.

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.

PINNA, M. C. (1998). Phylogenetic relationships of neotropical siluriforms (Teleostei: Ostariophysi): historical overview and synthesis of hypotheses. In: MALABARBA, L. R.; VARI, R. E.; LUCENA, Z. M.; LUCENA, C. A. (Ed.). *Phylogeny and classification of Neotropical fishes*. Porto Alegre: Edipucrs, p. 279-330.

PORTO-FORESTI, F.; ANDREATA A. A.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. (2000). The karyotype of *Pseudoplatystoma fasciatum* from the Rio Paraguay basin (Teleostei, Siluriformes). *Chromosome Science*, 4: 99–102.

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.

RIBEIRO, A. C. (2006). Tectonic history and the biogeography of the freshwater fishes from the coastal drainages of eastern Brazil: an example of faunal evolution associated with a divergent continental margin. *Neotropical Ichthyology*, 4:225–246.

RIBEIRO, L. B., MATOSO, D. A., ALMEIDA, M. C., VICARI, M. R., MORAES-NETO, A., SVIDNICKI, M. C. C. M. & ARTONI, R. F. (2008). Karyotypic variability in *Iheringichthys labrosus* (Teleostei, Pimelodidae) from the Tibagi River basin (Parana State, Brazil). *Genetics and Molecular Research*, 7:718–724.

ROCHA, M. S.; ZUANON J. Pimelodidae. (2013). In: QUEIROZ, L. J. de; TORRENTE-VILARA, G.; OHARA, W. M.; PIRES, T. H. da S.; ZUANON, J.; DORIA C. R. da C (Org.). *Peixes do rio Madeira*. Vol. III. São Paulo, Santo Antonio Energia, 413 p.

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* 2000, UNNE, IOP Publishing PhysicsWeb:

http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/2000/4_veterinarias/v_pdf/v_050.pdf

Accessed 29 August 2014.

SÁNCHEZ, S. (2006). *Estudios citogenéticos em peces de la família Pimelodidae (Pisces, Siluriformes) de la cuenca del rio Paraná, Argentina*. PhD, Dissertation. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

SÁNCHEZ, S.; SWARÇA, A. C.; FENOCCHIO, A. S. (2014). Cytogenetics analyses among populations of the fish *Iheringichtys labrosus* (Kröyer, 1874) (Siluriformes, Pimelodidae). Karyotype analysis, C- banding and AgRONS distribution. *Brazilian Journal of Biology* 74:212–216.

SCZEPANSKI, T. S.; VICARI, M. R.; de ALMEIDA, M. C.; NOGAROTO, V.; ARTONI, R. F. (2013). Chromosomal Organization of Repetitive DNA in *Sorubim lima* (Teleostei; Pimelodidae). *Cytogenetics and Genome Research*, 141:309–316. DOI: 10.1159/000353845.

SILVA, L. V. B.; ABREU, M. F.; SOUZA, I. L.; VENERE, P. C. (2004). Caracterização Cromossômica de *Hemisorubim platyrhynchos*, *Sorubim lima* e *Pimelodus blochii* (Pisces, Siluriformes, Pimelodidae) do Médio Araguaia. In: *Proceedings of X Simpósio de Citogenética e Genética de Peixes*, Natal, RN pp. 132.

SILVA, L. G. da. (2011). A atual situação dos barramentos de grande porte e as PCH's como alternativa de geração de energia na bacia hidrográfica do rio Uruguai (sul do Brasil). *Technical Articles - Centro Nacional de referencia em pequenas centrais hidrelétricas* [periódico na internet]. [Acesso em: 17 de junho de 2013] 196:31-34. Disponível em http://www.cerpch.unifei.edu.br/resumo_art.php?id=196.

SOUZA, A. B.; FONSECA, C. G.; PINHEIRO, L. E. L.; RIBEIRO, L. P. (1992). Estudos citogenéticos preliminares em *Pseudoplatystoma corruscans* (Siluriformes, Pimelodidae) da bacia do rio Paraguai. In: *Proceedings of IV Simpósio de Citogenética Evolutiva Aplicada a Peixes Neotropicais*, Rio de Janeiro, RJ. pp. 28.

SOUZA, A. C. P.; NAGAMACHI, C. Y.; RISSINO, J. D.; JUNIOR, J. R. C.; BARROS, R. M. S.; PIECZARKA, J. C. (2000). Descrição cariotípica de *Pimelodus cf. maculatus*

(Siluriformes, Pimelodidae). In: *Proceedings of VIII Simpósio de Citogenética e Genética de Peixes*, Manaus AM, pp. 90.

SOUZA, L. de; GIULIANO-CAETANO, L.; DIAS, A. L. (2003). Karyotypic Study of Three Species of *Pimelodus* (Pisces, Pimelodidae) from the Paraguai River Basin. *Cytologia*, 68:345–350.

SOUZA, L. de; GIULIANO-CAETANO, L.; DIAS, A. L. (2004). Banding chromosome pattern of two species of *Pimelodus* (Siluriformes, Pimelodidae) from the Paraná river basin of Brazil. *Folia Biologica*, 52:165–169.

STEVAUX, J. C. (2000). Climatic events during the Late Pleistocene and Holocene in the Upper Parana River: Correlation with NE Argentina and South-Central Brazil. *Quaternary International*. 72:73–85.

SUMNER A. T. (1972). A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental Cell Research*, 75:304–306.

SWARÇA, A. C.; GIULIANO-CAETANO, L.; DIAS, A. L. (1999). Cytogenetic characterization through chromosomic banding of *Pinirampus pirinampus* (Pisces, Pimelodidae) from the Tibagi River basin PR, Brazil. *Caryologia*, 52:31–35.

SWARÇA, A. C.; GIULIANO-CAETANO, L.; DIAS, A. L. (2001a). Analyses of nucleolus organizer regions and heterochromatin of *Pimelodus maculatus* (Pisces, Pimelodidae). *Genetica*, 110:97–100.

SWARÇA, A. C.; CESTARI, M. M.; GIULIANO-CAETANO, L.; DIAS, A. L. (2001b). Cytogenetic characterization of the large South American siluriform fish species *Zungaro zungaro* (Pisces, Pimelodidae). *Chromosome Science*, 5:51–55.

SWARÇA, A. C.; GIULIANO-CAETANO, L.; VANZELA, A. L. L.; DIAS, A. L. (2001c). Heteromorphism of rRNA genes in *Pinirampus pirinampu* (Pisces, Pimelodidae) detected by in situ hybridization. *Cytologia*, 66:275–278.

SWARÇA, A. C.; FENOCCHIO, A. S.; CESTARI, M. M.; DIAS, A. L. (2005a). First chromosome data on *Steindachneridion scripta* (Pisces, Siluriformes, Pimelodidae) from

Brazilian Rivers: Giemsa, CBG, G- and RE banding. *Genetics and Molecular Research*, 4:734–741.

SWARÇA, A. C.; FENOCCHIO, A. S.; CESTARI, M. M.; DIAS, A. L. (2005b). Karyotype divergence among populations of giant catfish *Pseudoplatystoma corruscans* (Teleostei: Pimelodidae) indicates higher species diversity. *Ichthological Exploration of Freshwaters*, 16:325–330.

SWARÇA, A. C.; FENOCCHIO, A. S.; CESTARI, M. M.; BERTOLLO, L. A. C.; DIAS, A. L. (2006). Heteromorphic sex chromosome system with an exceptionally large Y chromosome in a catfish *Steindachneridion* sp. (Pimelodidae). *Cytogenetics and Genome Research*, 112:325–328.

SWARÇA, A. C.; FENOCCHIO, A. S.; CESTARI, M. M.; DIAS, A. L. (2008). Analyses of the Structure of NORs in Two Species of South American Sorubiminae Fishes (Siluriformes) by Means of Several Cytogenetic Techniques. *Folia Biologica (Kraków)*, 56:31–35.

SWARÇA, A. C.; FENOCCHIO, A. S.; CESTARI, M. M.; DIAS, A. L. (2009). Localization and characterization of the 5S rDNA bearing chromosome in two *Steindachneridion* species by means of different cytogenetic techniques. *Cytologia*, 74:323–327.

SWARÇA, A. C., SANCHEZ, S., DIAS, A. L., 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* 7:1–8.

TERENCIO, M. L.; ALMEIDA, M. C.; ARTONI, R. F. (2001). Citogenética de *Pimelodus ortomanni*, uma espécie de mandi endêmica ao Rio Iguazu. In: *Proceedings of 47^o Congresso Nacional de Genética*, Águas de Lindóia, SP.

TOLEDO, V.; FERRARI, I. (1976). Estudos citogenéticos de três espécies do gênero *Pimelodus* (Pisces, Pimelodidae). *Científica*, 4:101–106.

TRECO, F. R.; MALABARBA, L. R.; GIULIANO-CAETANO, L.; DIAS, A. L. (2008). Cytogenetic study of two species of the family Pimelodidae (Siluriformes) collected in lago Guaíba, Rio Grande do Sul, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 6:87–92.

TRECO, F. R.; DIAS, A. L. (2009). Karyotypes of Two Species of the Genus *Pimelodus* (Siluriformes, Pimelodidae). *Folia Biologica (Kraków)*, 57:43–48.

VASCONCELOS, C. de; MARTINS-SANTOS, I. C. (2000). Chromosome polymorphism in species of the Pimelodidae family (Pisces, Siluriformes). *Hereditas*, 132:103–109.

VISSOTO, P. C.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. (1999). Supernumerary chromosomes in two species of the family Pimelodidae (Teleostei, Siluriformes). *Chromosome Science*, 3:9–13.

CAPÍTULO 1

Diversidade cariotípica em espécies de *Iheringichthys* Eigenmann & Norris 1900 das bacias dos rios Paraná e Uruguai, e implicações na taxonomia.

Simone Cristina Girardi¹, Carla Simone Pavanelli², Vladimir Pavan Margarido^{1,3}

Artigo elaborado e formatado conforme as normas para publicação científica no periódico *Journal of Fish Biology*.

Running headline: Cytogenetics analyzes of *Iheringichthys* species.

1. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, Rua Universitária 2069, Jardim Universitário, 85819-110 Cascavel, PR, Brasil

2. Universidade Estadual de Maringá, Coleção de Peixes do Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura. Av. Colombo, 5790, 87020-900 Maringá, PR, Brasil.

3. Autor para correspondência: vladimir.margarido@unioeste.br

Diversidade cariotípica em espécies de *Iheringichthys* Eigenmann & Norris 1900 das bacias dos rios Paraná e Uruguai, e implicações na taxonomia.

S. C. Girardi*, C. S. Pavanelli† & V. P. Margarido*

**Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Cascavel, Paraná*

†*Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Biologia, Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura (Nupélia), Maringá, Paraná.*

Resumo: Duas espécies de *Iheringichthys* das bacias do rio Paraná e Uruguai foram caracterizadas citogeneticamente. Ambas apresentaram $2n=56$ cromossomos, com variações na fórmula cariotípica, sendo *Iheringichthys* cf. *syi* com $32m + 8sm + 6st + 10a$ e *Iheringichthys labrosus* $32m + 8sm + 10st + 6a$. A população de *I.* cf. *syi* possui cromossomos B com variação numérica intra e interindividual. Diferenças no padrão de distribuição da heterocromatina e na localização do DNAr 5S também foram observadas. Em *I. labrosus*, o DNAr 5S localiza-se na região telomérica do braço longo de um par de cromossomos acrocêntricos, enquanto em *I.* cf. *syi* encontra-se na região pericentromérica de um par de cromossomos subtelocêntricos. As diferenças encontradas comprovam a existência de duas espécies de *Iheringichthys* na bacia do rio Paraná e reforçam a necessidade de revisão taxonômica nas espécies deste gênero.

Palavras-chave: citogenética, DNAr 5S, DNAr 18S, *Iheringichthys labrosus*, *Iheringichthys syi*.

Introdução

Siluriformes apresenta cerca de 3.000 espécies, divididas em 478 gêneros e 36 famílias, compreendendo principalmente peixes de água doce, embora existam algumas espécies tolerantes a salinidade que vivem em estuários, regiões costeiras e ilhas próximas. Pimelodidae possui 93 espécies agrupadas em 29 gêneros e distribuídas ao longo da América do Sul (Ferraris, 2007).

Iheringichthys Eigenmann & Norris 1900 pertence à Pimelodidae e possui três espécies: *Iheringichthys labrosus* (Lütken 1874) descrita para o Rio de La Plata; *Iheringichthys megalops* Eigenmann & Ward 1907 descrita a partir de um único exemplar coletado no rio Paraguai e *Iheringichthys syi* Azpelicueta & Britski 2012, descrita recentemente para a Bacia do Alto rio Paraná. Sinapomorfias morfológicas do aparato orobranquial suportam o monofiletismo do gênero e a provável relação com *Bergiaria westermanni* (Lütken 1874) (Lundberg *et al.*, 2011), entretanto a partir de análises taxonômicas, Rocha (2012) sugere que *Bergiaria* Eigenmann & Norris 1901 seja considerada sinônimo de *Iheringichthys*.

Estudos citogenéticos em *Iheringichthys* estão restritos a *I. labrosus*, que possui dados disponíveis sobre várias populações da bacia do Alto rio Paraná: no reservatório Jurumirim (Vissoto *et al.*, 1999), no rio Tibagi (Carvalho *et al.*, 2004), no reservatório Capivara (Carvalho & Dias, 2005b), no rio Guaraúna (Ribeiro *et al.*, 2008), entre outros. Estes estudos mostram o número diplóide de 56 cromossomos com diferentes fórmulas cariotípicas. Segundo Carvalho *et al.* (2010), estas diferenças podem ser resultado de rearranjos cromossômicos, como inversões pericêntricas e/ ou translocações, e que diferentes fórmulas também podem indicar a existência de um complexo de espécies, sugerindo a necessidade de revisão taxonômica em *I. labrosus*. As populações de *I. labrosus* apresentam regiões organizadoras de nucléolos (RONs) simples na região terminal do braço longo de um par de

cromossomos subtelocêntricos, heterocromatina distribuída em maior quantidade nas regiões teloméricas e centroméricas, e presença de cromossomos B na maioria das populações.

A utilização da hibridização *in situ* fluorescente (FISH) para localização do DNAr 5S e do DNAr 18S foi realizada nas populações de *I. labrosus* do Reservatório Capivara (Carvalho & Dias, 2007) e no rio Tibagi (Carvalho *et al.*, 2010), que apresentaram o DNAr 5S na região terminal de um par subtelocêntrico/acrocêntrico e na região intersticial de um par subtelocêntrico, respectivamente, sendo o DNAr 18S coincidente com as AgRONS. As diferenças interpopulacionais no DNAr 5S também sugerem a necessidade de revisão taxonômica nesta espécie.

Neste trabalho foram realizados estudos citogenéticos básicos e moleculares em populações de *Iheringichthys* de três sistemas hidrográficos distintos, com o intuito de fornecer dados que possam contribuir com os estudos taxonômicos e sistemáticos deste gênero.

Metodologia

Exemplares de três populações de *Iheringichthys* foram coletados e depositados na Coleção Ictiológica do Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura (NUPELIA), da Universidade Estadual de Maringá, Brasil. A localidade dos exemplares coletados e o número do depósito estão resumidos na Tabela I. Os exemplares foram anestesiados e sacrificados através de overdose por óleo de cravo (Griffiths, 2000). As preparações foram obtidas através da técnica proposta por Bertollo *et al.* (1978). As AgRONS foram evidenciadas por impregnação com prata de acordo com a técnica descrita por Howell & Black (1980). O bandamento C foi utilizado para determinar as regiões de heterocromatina seguindo a técnica proposta por Sumner (1972), com adaptações sugeridas por Lui *et al.* (2012). O mapeamento físico das sequências de DNAr 5S e DNAr 18S foi realizado através

da hibridização *in situ* fluorescente (FISH) de acordo com Pinkel *et al.* (1986) e modificações sugeridas por Margarido & Moreira Filho (2008), com sondas obtidas de *Leporinus elongatus* Valenciennes 1850 (Martins & Galetti Junior, 1999) e de *Prochilodus argenteus* Spix & Agassiz 1829 (Hatanaka & Galetti Junior, 2004), respectivamente. As sondas de DNAr 5S foram marcadas com digoxigenina-11-dUTP (Dig Nick Translation Kit–Roche®, Basel, BS, Switzerland) e a de DNAr 18S com biotina-16-dUTP (Biotin Nick Translation Kit–Roche®). A detecção e amplificação dos sinais foi realizada com antidigoxigenina-rodamina (Roche®) para sonda de DNAr 5S e avidina-FITC amplificado com anti-avidina biotilada (Sigma-Aldrich, Buchs, SG, Switzerland) para sonda de DNAr 18S, sendo os cromossomos posteriormente contra-corados com DAPI (50 µg/mL). O software DP Controller 3.2.1.276 foi usado com a câmera digital Olympus DP 71 acoplada ao microscópio de epifluorescência BX 61, para fotografar as lâminas (Olympus America Inc., Center Valley, PA, United States of America). Para organização do cariótipo o cálculo da relação de braços proposto por Levan *et al.* (1964) foi utilizado, classificando os cromossomos em metacêntricos (m), submetacêntricos (sm), subtelocêntricos (st) e acrocêntricos (a).

Resultados

Iheringichthys cf. syi rio Piquiri - Bacia do Alto rio Paraná

O número diplóide observado foi de 56 cromossomos (32 m + 8 sm + 6 st + 10 a) [Fig. 1(a)]. Foram observados cromossomos B na forma de micro-cromossomos com variação numérica (1 a 3) intra e interindividual (Tabela II). As AgRONS foram localizadas na região telomérica do braço longo de um par de cromossomos subtelocêntricos (par 23) [Fig. 1(a), box]. O bandamento C evidenciou heterocromatinas pálidas na região dos centrômeros de quase todos os cromossomos, sendo que alguns pares apresentaram heterocromatinas

conspícuas na região telomérica do braço curto (pares 13 e 14) e no braço longo (par 23), em ambos os telômeros nos pares 7 e 9, na região pericentromérica do braço longo no par 22, na região subterminal do braço longo dos pares 26 e 27, sendo que os cromossomos B mostraram-se totalmente heterocromáticos [Fig. 1(b)]. O DNAr 18S foi localizado no par de cromossomos subtelocêntricos (par 23), correspondente as AgRONS, e o DNAr 5S na região pericentromérica do braço longo do par 22 [Fig. 2(a)].

***Iheringichthys labrosus*, rio Iguaçú, jusante às Cataratas do Iguaçú - Bacia do Médio/Baixo rio Paraná**

O número diplóide observado foi de 56 cromossomos (32 m + 8 sm + 10 st + 6 a) [Fig. 1(b)]. As AgRONS foram localizadas na região telomérica do braço longo de um par de cromossomos subtelocêntricos (par 24) [Fig. 1(c), box)] . O bandamento C evidenciou heterocromatinas pálidas na região dos telômeros de quase todos os pares de cromossomos, sendo que alguns pares apresentaram heterocromatinas conspícuas na região pericentromérica do braço curto nos pares 2 e 19, em ambos os telômeros nos pares 6, 7, 12 e 14, na região intersticial do braço longo no par 21, na região terminal do braço longo nos pares 24 e 28 e na região subterminal do braço longo dos pares 23 e 25 [Fig. 1(d)]. O DNAr 18S foi localizado na região terminal no par de cromossomos subtelocêntricos (par 24) correspondente as AgRONS, e o DNAr 5S na região terminal do braço longo do par 28 [Fig. 2(b)].

***Iheringichthys labrosus*, rio Ijuí - Bacia do Alto rio Uruguai**

O número diplóide observado foi de 56 cromossomos (32 m + 8 sm + 10 st + 6 a) [Fig. 1(e)]. As AgRONS foram localizadas na região telomérica do braço longo de um par de

cromossomos subtelocêntricos (par 24) [Fig. 1(e), box]. O bandamento C evidenciou heterocromatinas pálidas na região dos telômeros de quase todos os pares de cromossomos, sendo que alguns pares apresentaram heterocromatinas conspícuas na região pericentromérica do braço curto no par 2, em ambos os telômeros nos pares 6, 7, 12 e 14, na região intersticial do braço longo no par 21, na região terminal do braço longo nos pares 23, 24, 26 e 28 e na região subterminal do braço longo do par 25 [Fig. 1(f)]. O DNAr 18S foi localizado no par de cromossomos subtelocêntricos (par 24), correspondente as AgRONS, e o DNAr 5S na região telomérica do braço longo do par 28 [Fig. 2(c)].

Discussão

O número diplóide de 56 cromossomos encontrado nas três populações tem sido evidenciado na maioria das espécies da família Pimelodidae. Das 33 espécies válidas estudadas citogeneticamente, apenas cinco possuem número diplóide diferente de 56 cromossomos, sendo elas *Calophysus macropterus* (Lichtenstein 1819), $2n=50$ (Ramirez-Gil *et al.*, 1998), *Pimelodus fur* (Lütken 1874), $2n=54$ (Garcia & Moreira-Filho, 2008), *Pinirampus pirinampu* (Spix & Agassiz 1829), $2n=50$ (Vasconcelos & Martins-Santos, 2000), *Luciopimelodus pati* (Valenciennes 1835), $2n=50$ (Sánchez *et al.*, 2000) e *Megalonema platanum* (Günther 1880) $2n=54$ (Sánchez *et al.*, 2000; Carvalho *et al.*, 2011), suportando a hipótese de que 56 cromossomos seria o número diplóide basal para Pimelodidae (Moraes-Neto *et al.*, 2011).

Iheringichthys cf. syi apresentou fórmula cariotípica diferente das demais populações do presente estudo, entretanto a mesma foi observada por Carvalho *et al.* (2004) na população de *I. labrosus* do rio Tibagi. Estudos em populações de *I. labrosus* mostram diferentes fórmulas cariotípicas (Tabela III). As quais podem indicar que estes estudos tratam de mais de

uma espécie de *Iheringichthys*, visto que estes trabalhos são anteriores a descrição de *I. syi*. Exemplo desta identificação equivocada pode ser observado em *Iheringichthys* do rio Piquiri, em que estudos de levantamento de ictiofauna foi identificada como *I. labrosus* (Gubiani *et al.*, 2006); entretanto a espécie encontrada neste rio foi recentemente identificada como *I. cf. syi*.

Casos de manutenção do número diplóide com variações interpopulacionais na fórmula cariotípica são relatadas em muitos peixes neotropicais, como por exemplo: *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824) (Martinez *et al.*, 2011), *Parauchenipterus galeatus* (Linnaeus 1766) (Lui *et al.*, 2010) e *Pseudoplatystoma corruscans* (Spix & Agassiz 1829) (Swarça *et al.*, 2005). Estas variações podem estar relacionadas a rearranjos cromossômicos, como inversões pericêntricas e/ou translocações (Lui *et al.*, 2010), ou podem também ser decorrentes de problemas metodológicos devido a diferentes condensações dos cromossomos, o que dificulta a classificação pelos autores (Moraes-Neto *et al.*, 2011).

Em *Iheringichthys cf. syi* foram observados cromossomos B na forma de micro cromossomos em mais de 62% das células analisadas, com número máximo de três por célula, sendo que em apenas um dos sete indivíduos estudados estes cromossomos estiveram ausentes (Tabela II). Cromossomos B são considerados adicionais dispensáveis que estão presentes em alguns indivíduos de algumas populações e que aparentemente não demonstram efeito fenotípico visível nos indivíduos que os possuem (Carvalho *et al.*, 2008), e têm sido encontrados na maioria dos grupos de animais e plantas (Camacho *et al.*, 2000). Segundo Carvalho *et al.* (2008), Siluriformes possui 21 espécies citogeneticamente estudadas com cromossomos supranumerários, distribuídas em Callichthyidae, Heptapteridae, Loricariidae, Pimelodidae e Trichomycteridae. Adicionalmente, Lui *et al.* (2009) descreveram a presença desses cromossomos em *Parauchenipterus galeatus* em Auchenipteridae. Em Pimelodidae, estes cromossomos foram encontrados em: *Bergiaria westermanni* (Dias & Foresti, 1993), *I.*

labrosus (Carvalho & Dias, 2005a; Carvalho *et al.*, 2004; Vissoto *et al.*, 1999), *Megalonema platanum* (Carvalho *et al.*, 2011), *Pimelodus ortmanni* Haseman 1911 e *Pimelodus* sp. (Borin & Martins-Santos, 2004).

A partir de análises taxonômicas, Rocha (2012) sugere que *Bergiaria* seja considerada sinônimo júnior de *Iheringichthys*. Os dados citogenéticos disponíveis para *Bergiaria* (Dias & Foresti, 1993) mostram similaridade na composição cariotípica com as espécies de *Iheringichthys* aqui estudadas; ambas apresentam grande quantidade de cromossomos metacêntricos e submetacêntricos, e AgRONS em um par de cromossomos subteloalocêntricos/acrocêntricos. A presença de micro cromossomos B heterocromáticos em *I. cf. syi* é compartilhada por *B. westermanni*; entretanto, a carência de informações citogenéticas em *Bergiaria* não nos permite estabelecer relações claras entre esses dois gêneros.

As populações de *I. labrosus* e *I. cf. syi* apresentaram AgRONS simples, localizadas na região terminal do braço longo de um par de cromossomos subteloalocêntricos, as quais foram confirmadas pela FISH-DNAr 18S. Estes resultados corroboram dados descritos para outras populações de *I. labrosus* (Carvalho & Dias, 2007; Carvalho *et al.*, 2010). Entre os Pimelodidae, todas as espécies estudadas citogeneticamente apresentaram RONS simples na posição terminal, o que pode indicar um caráter basal para a família.

As populações de *Iheringichthys* aqui estudadas compartilham a presença de blocos heterocromáticos biteloméricos em dois pares metacêntricos; subterminal em um par subteloalocêntrico/acrocêntrico e terminal no braço longo de um par subteloalocêntrico. Entretanto, particularidades na quantidade e distribuição da heterocromatina permitem distinguir *I. cf. syi* e as populações de *I. labrosus* através deste marcador. Em *I. cf. syi*, a heterocromatina ocorre na região dos centrômeros de quase todos os cromossomos, em alguns pares na região dos telômeros e na região pericentromérica do braço longo no par de cromossomos 22. Nas duas

populações de *I. labrosus*, a heterocromatina ocorre em maior quantidade na região dos telômeros, poucas bandas centroméricas, um par (par 2) com bandas pericentroméricas no braço curto e um par (par 14) com fortes bandas biteloméricas. A presença de um par de cromossomos com fortes bandas biteloméricas tem sido relatada em espécies de Pimelodidae (Borin & Martins-Santos, 2002; Souza *et al.*, 2004; Treco & Dias, 2009), e inclusive em algumas populações de *I. labrosus* (Carvalho *et al.*, 2004; Ribeiro *et al.*, 2008). Segundo Garcia & Moreira-Filho (2005), esta característica ocorre em espécies de Pimelodidae e Heptateridae e pode representar um marcador citotaxonômico para estas famílias.

O uso da FISH para localização dos sítios de DNAr é considerada uma ferramenta promissora para análises evolutivas e taxonômicas em peixes (Moraes-Neto *et al.*, 2011). Diferenças na localização do DNAr 5S podem ser um importante marcador cromossômico para a caracterização e diferenciação de espécies, como as evidenciadas em *Parodon Valenciennes* 1850 (Vicente *et al.*, 2001), *Pimelodus Lacepède* 1803 (Garcia & Moreira-Filho, 2008) e *Pimelodella Eigenmann & Eigenmann* 1888 (Garcia & Almeida-Toledo, 2010). O número de sítios de DNAr 5S foi conservado entre as três populações aqui estudadas, estando presente em apenas um par de cromossomos. Esta condição tem sido encontrada em representantes da família Pimelodidae (Swarça *et al.*, 2009; Moraes-Neto *et al.*, 2011; Gonçalves *et al.*, 2014) e em muitas espécies de peixes neotropicais, por exemplo, *Harttia punctata* Rapp Py-Daniel & Oliveira 2001 (Blanco *et al.*, 2014) e *Australoheros angiru* Řičan Piálek, Almirón & Casciotta 2011 (Paiz *et al.*, 2014). Diferenças quanto à localização destes sítios foram observadas entre *I. cf. syi* e as populações de *I. labrosus* do presente estudo. Em *I. cf. syi* do rio Piquiri, o sítio DNAr 5S foi localizado na posição pericentromérica; já em *I. labrosus* dos rios Paraná e Ijuí esteve presente na posição terminal. Esta diferença quanto a localização dos sítios de DNAr 5S nas populações de *Iheringichthys* do presente estudo confirmam que se tratam de espécies diferentes, e a localização destas

sequências pode ser utilizada como um marcador para diferenciar *I. labrosus* de *I. cf. syi*. Estudos sobre a localização destas sequências em populações identificadas como *I. labrosus* no rio Tibagi evidenciaram diferenças de localização semelhantes as encontradas no presente estudo. Carvalho & Dias (2007) encontraram este sítio localizado na posição terminal ao estudar a população do reservatório Capivara; já a população estudada por Carvalho *et al.* (2010) coletada no município de Londrina apresentou este sítio na posição intersticial. Os resultados podem sugerir a existência das duas espécies de *Iheringichthys* na bacia do Alto rio Paraná e possivelmente algumas espécies identificadas como *I. labrosus* correspondem a *I. cf. syi*; entretanto, estudos taxonômicos são necessários para confirmar essa hipótese.

Dados sobre a localização do DNAr 5S em Pimelodidae ainda são escassos, mas na maioria das espécies estudadas foi evidenciado na posição intersticial/pericentromérica (Tabela IV). Segundo Martins & Wasko (2004), a posição intersticial do DNAr 5S é descrita para a maioria das espécies de peixes, e este arranjo mais interno pode proteger estes sítios de eventos de transposição e evitar a dispersão destes segmentos pelo genoma. As regiões do DNAr 5S das espécies estudadas foram heterocromáticas, condição relatada em outras espécies, tais como *Steindachneridion melanodermatum* Garavello 2005 e *Steindachneridion scriptum* (Miranda Ribeiro 1918) (Swarça *et al.*, 2009). Uma vez que regiões heterocromáticas são consideradas locais mais suscetíveis a rearranjos (Wichmann *et al.*, 1991), a variação encontrada entre as espécies de *Iheringichthys* sugere que durante o processo evolutivo tais eventos podem ter originado as diferenças observadas na localização do DNAr 5S .

As diferenças encontradas entre *I. cf. syi* e *I. labrosus* no presente estudo comprovam que se tratam de espécies distintas, e que exemplares identificados como *I. labrosus* na bacia do rio Paraná necessitam de revisão. Estudos citogenéticos em outras espécies de *Iheringichthys*, bem como estudos citogenéticos moleculares em *Bergiaria*, revisão

taxonômica nestes gêneros e análises moleculares, podem ser importantes ferramentas para auxiliar na identificação e classificação das espécies de *Iheringichthys* e *Bergiaria* e na compreensão da história evolutiva destes grupos de peixes.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) por autorizar a captura dos peixes. A Unioeste e ao Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura (Nupélia) pelo apoio logístico. Este estudo foi financiado pela Fundação Araucária (Fundação Araucária de Apoio e Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Estado do Paraná), CAPES (Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Ensino Superior) e CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico).

Referências

- Bertollo, L. A. C., Takahashi, C. S. & Moreira-Filho, O. (1978). Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). *Brazilian Journal of Genetics* **1**, 103-120.
- Blanco, D. R., Vicari, M. R., Lui, R. L., Artoni, R. F. , de Almeida, M. C., Traldi, J. B., Margarido, V. P. & Moreira-Filho, O. (2014). Origin of the X¹X¹X²X²/X¹X²Y sex chromosome system of *Harttia punctata* (Siluriformes, Loricariidae) inferred from chromosome painting and FISH with ribosomal DNA markers. *Genetica* **142**, 119–26.
- 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 Iguaçu. *Hereditas* **140**, 201–209.
- Camacho, J. P., Sharbel, T. F. & Beukeboom, L. W. (2000). B-chromosome evolution. *Philosophical Transactions the Royal Society B: Biological Science* **355**, 163–178.
- Carvalho, R. A. & Dias, A. L. (2005a). Cytogenetic characterization of B chromosomes in two populations of *Iheringichthys labrosus* (Pisces, Pimelodidae) from the Capivara Reservoir (Paraná, Brazil) *Caryologia* **58**, 269–273.
- Carvalho, R. A. & Dias, A. L. (2005b). Karyotypic characterization of *Iheringichthys labrosus* (Pisces, Pimelodidae): C-, G- and restriction endonuclease banding *Genetics and Molecular Research* **4**, 663–667.
- Carvalho, R. A. & Dias, A. L. (2007). Interindividual size heteromorphism of NOR and chromosomal location of 5S rRNA genes in *Iheringichthys labrosus*. *Brazilian Archives of Biology and Technology* **50**, 141–146.
- Carvalho, R. A., Giuliano-Caetano, L. & Dias, A. L. (2004). Cytogenetic analysis of A- and B- chromosomes of *Iheringichthys labrosus* (Pisces, Pimelodidae) from the Tibagi River, Paraná, Brazil. *Cytologia* **69**, 381–385.
- Carvalho, R. A., Laudicina, A., Giuliano-Caetano, L., Martins-Santos, I. C. & Dias, A. L. (2010). Cytogenetic 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., Martins-Santos, I. C. & Dias, A. L. (2008). B chromosomes: an update about their occurrence in freshwater Neotropical fishes (Teleostei). *Journal of Fish Biology* **72**, 1907–1932.

- Carvalho, R. A., Sanchez, S., Swarça, A. C., Fenocchio, A. S., Martins-Santos, I. C. & Dias, A. L. (2011). Chromosomal analyses in *Megalonema platanum* (Siluriformes: Pimelodidae), an endangered species from South American rivers. *Neotropical Ichthyology* **9**, 177–182.
- Dias, A. L. & Foresti, F. (1993). Cytogenetic studies on fishes of the family Pimelodidae (Siluroidei). *Brazilian Journal of Genetics* **3**, 585–600.
- Ferraris, C. J. (2007). Checklist of catfishes, recent and fossil (Osteichthyes: Siluriformes), and catalogue of siluriform primary types. *Zootaxa* **1418**, 1-628.
- 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.
- Garcia, C. & Almeida-Toledo, L. F. (2010). Comparative chromosomal analyses in species of the genus *Pimelodella* (Siluriformes, Heptapteridae): occurrence of structural and numerical polymorphisms. *Caryologia* **63**, 32–40.
- 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.
- Gonçalves, Á. L. M., do Prado, F. D., Ferreira, D. C., Voltolin, T. A., Senhorini, J. A., Foresti, F. & Porto-Foresti, F. (2014). First cytogenetic characterization of the giant

- Amazonian catfish *Brachyplatystoma filamentosum* (Siluriformes, Pimelodidae). *Caryologia* **67**, 101–105.
- Griffiths, S. P. (2000). The use of clove oil as an anaesthetic and method for sampling intertidal rockpool fishes. *Journal of Fish Biology* **57**, 1453-1464.
- Gubiani, E. A., Holzbach, A. J., Baumgartner, G., Rezende-Neto, L. B. de & Bergmann, F. (2006). Fish, Piquiri River, Upper Paraná River Basin, Paraná State, Brazil. *Check List: Journal of Species Lists and Distribution* **2**, 9–14.
- Hatanaka, T. & Galetti-Junior, P. M. (2004). Mapping of the 18S and 5S ribosomal RNA genes in the fish *Prochilodus argenteus* Agassiz, 1829 (Characiformes, Prochilodontidae). *Genetica* **122**, 239–244.
- Howell, W. M. & Black, D. A. (1980). Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a I-step method. *Experientia* **36**, 1014-1015.
- Levan, A., Fredga, K. & Sandberg, A. A. (1964). Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* **52**, 201-220.
- Lui, R., Blanco, D., Margarido, V. & Moreira-Filho, O. (2009). First description of B chromosomes in the family Auchenipteridae, *Parauchenipterus galeatus* (Siluriformes) of the São Francisco River basin (MG, Brazil). *Micron* **40**, 552–559.
- Lui, R. L., Blanco, D. R., Margarido, V. P. & Moreira-Filho, O. (2010). Chromosome 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, R. L., Blanco, D. R., Moreira-Filho, O. & Margarido, V. P. (2012). Propidium iodide for making heterochromatin more evident in the C-banding technique. *Biotechnic & Histochemistry* **87**, 433–438.

- 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* **161**, 153–189.
- 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., Lui, R., Blanco, D., 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-Junior, P. M. (1999). Chromosomal localization of 5S rDNA genes in *Leporinus* fish (Anostomidae, Characiformes). *Chromosome Research* **7**, 363–367.
- Martins, C. & Wasko, A. (2004). Organization and evolution of 5S ribosomal DNA in the fish genome. In: Williams, C. R. In: Focus on Genome Research (Williams, R. C. (Ed.), 335–363.
- Matoso, D. A., de Almeida Val, V. M. F., da 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. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **21**, 497-508.
- Moraes-Neto, A., Silva, M., Matoso, D. A., Vicari, M. R., de Almeida, M. C., Collares-Pereira, M. J. & Artoni, R. F. (2011). Karyotype variability in neotropical catfishes of the family Pimelodidae (Teleostei: Siluriformes). *Neotropical Ichthyology* **9**, 97–105.

- Nirchio, M., Mujica, A., Oliveira, C., Granado, A., Mora, J., Hett, A. K., Rossi, A. R., Milana, V., Sola, L. (2013). *Pseudoplatystoma metaense* and *P. orinocoense* (Siluriformes: Pimelodidae) from the Orinoco basin, Venezuela: cytogenetic and molecular analyses. *Italian Journal of Zoology*, **80**, 526–535.
- Paiz, L. M., Baumgartner, L., Moresco, R. M., Treco, F. R., da Graça, W. J. & Margarido, V. P. (2014). Evolutionary and biogeographical approach on *Australoheros angiru* (Cichlidae) from lagoons in a dividing plateau between the basins of the Iguassu River and the Uruguay River, Brazil. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **24**, 399–407.
- Pinkel, D., Straume, T. & Gray, J. W. (1986). Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* **83**, 2934–2938.
- 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.
- Ribeiro, L. B., Matoso, D. A., Almeida, M. C., Vicari, M. R., Moraes-Neto, A., Svidnicki, M. C. C. M. & Artoni, R. F. (2008). Karyotypic variability in *Iheringichthys labrosus* (Teleostei, Pimelodidae) from the Tibagi River basin (Parana State, Brazil). *Genetics and Molecular Research* **7**, 718–724.
- Rocha, M. S. (2012). Sistemática da família Pimelodidae Swainson, 1838 (Teleostei: Siluriformes). Tese de Doutorado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.
- 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 2000, UNNE, Disponible em:

http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/2000/4_veterinarias/v_pdf/v_050.pdf

último acesso em 29 Janeiro de 2015.

- Sanchez, S., Swarça, A. C., Fenocchio, A. S. (2014) Cytogenetics analyses among populations of the fish *Iheringichthys labrosus* (Kröyer, 1874) (Siluriformes, Pimelodidae). Karyotype analysis, C- banding and AgROns distribution. *Brazilian Journal of Biology* **74**, 212–216.
- Szczepanski, T. S., Vicari, M. R., de Almeida, M. C., Nogaroto, V. & Artoni, R. F. (2013). Chromosomal organization of repetitive DNA in *Sorubim lima* (Teleostei; Pimelodidae). *Cytogenetics and Genome Research* **141**, 309–316.
- Souza, L. de, Giuliano-Caetano, L. & Dias, A. L. (2004). Banding chromosome pattern of two species of *Pimelodus* (Siluriformes, Pimelodidae) from the Paraná river basin of Brazil. *Folia Biologica* **52**, 165–169.
- Sumner, A. T. (1972). A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental Cell Research* **75**, 304–306.
- Swarça, A. C., Fenocchio, A. S., Cestari, M. M. & Dias, A. L. (2005). Karyotype divergence among populations of giant catfish *Pseudoplatystoma corruscans* (Teleostei: Pimelodidae) indicates higher species diversity. *Ichthyological Exploration of Freshwaters* **16**, 325–330.
- Swarça, A. C., Fenocchio, A. S., Cestari, M. M. & Dias, A. L. (2009). Localization and characterization of the 5S rDNA bearing chromosome in two *Steindachneridion* species by means of different cytogenetic techniques. *Cytologia* **74**, 323–327.
- Treco, F. R. & Dias, A. L. (2009). Karyotypes of two species of the Genus *Pimelodus* (Siluriformes, Pimelodidae). *Folia biologica* **57**, 43–48.
- Vasconcelos, C. de & Martins-Santos, I. C. (2000). Chromosome polymorphism in species of the Pimelodidae family (Pisces, Siluriformes). *Hereditas* **132**, 103–109.

- Vicente, V. E., Jesus, C. M. & Moreira-Filho, O. (2001). Chromosomal localization of 5S and 18S rRNA genes in three *Parodon* species (Pisces, Parodontidae). *Caryologia* **54**, 365–369.
- Vissoto, P. C., Foresti, F. & Oliveira, C. (1999). Supernumerary chromosomes in two species of the family Pimelodidae (Teleostei, Siluriformes). *Chromosome Science* **3**, 9–13.
- Wichman, H. A., Payne, C. T., Ryder, O. A., Hamilton, M. J., Maltbie, M. & Baker, R. J. (1991). Genomic distribution of heterochromatic sequences in equids: implications to rapid chromosomal evolution. *Journal of Heredity* **82** 369-377.

Tabela I. Espécies coletadas de *Iheringichthys*, local de coleta, coordenadas geográficas, número de espécies analisadas por sexo e número do depósito.

Espécie	Localidade	Bacia	Coordenada Geográfica	♂	♀	NUP
<i>Iheringichthys</i> cf. <i>syi</i>	Rio Piquiri, PR	Alto rio Paraná	24°56'54"S/52°35'49"O	1	6	14937, 14942, 17276
<i>Iheringichthys labrosus</i> *	Rio Iguaçu, PR	Médio rio Paraná	25°39'02"S/54°27'25"O	0	3	17268, 17272, 17273
<i>Iheringichthys labrosus</i>	Rio Ijuí, RS	Alto rio Uruguai	28°18'06"S/53°53'33"O	14	6	14902, 17262

*População jusante às Cataratas do Iguaçu.

Tabela II. Frequência de cromossomos B em *Iheringichthys cf. syi* do rio Piquiri.

Indivíduo	Sexo	0	1	2	3	Total	Células com B (%)
2033	Fêmea	2	18	-	-	20	90,00
2261	Fêmea	3	16	3	-	22	86,36
2272	Fêmea	37	4	1	-	42	11,9
2275	Fêmea	14	-	-	-	14	-
2278	Fêmea	7	-	6	7	20	65,00
2810	Macho	1	9	4	-	14	92,86
2822	Fêmea	2	40	3	-	45	95,55
Total (%)		66 (37,29)	87 (49,15)	17 (9,60)	7 (3,96)	177 (100)	

Tabela III. Revisão de estudos citogenéticos em *Iheringichthys*

Espécie	Local	BH	2n	Fórmula Cariotípica	Bs	18S	RONs	5S	Ref
<i>I. labrosus</i>	R. Tibagi, Londrina	AP	56	32m+8sm+6st+10a	0-3	q terminal st	q terminal st	q intersticial st	1
<i>I. labrosus</i>	R Reservatório Capivara, Rio Tibagi	AP	56	26m+12sm+6st+12a	0-1	q terminal st	q terminal st	q terminal st-a	2
<i>I. labrosus</i>	Rio Jurumirim	AP	56	22m+18sm+10st+6a	0-2				3
<i>I. labrosus</i>	Rio Guaraúna, Ponta Grossa	AP	56	14m+32sm+4st+6 a	-		p terminal sm		4
<i>I. labrosus</i>	Rio Paraná, Argentina (7 localidades)	BP	56	42m/sm+14st/a			q, terminal st		5
<i>I. labrosus</i>	Rio Paraná, Foz do Iguaçu	MP	56	32m+8sm+10st+6a	-	q terminal st	q terminal st	q terminal a	6
<i>I. labrosus</i>	Rio Ijuí, Ijuí	AU	56	32m+8sm+10st+6a	-	q terminal st	q terminal st	q terminal a	6
<i>I.cf. syi</i>	Rio Piquiri, Nova Laranjeiras	AP	56	32m+8sm+6st+10a	0-3	q terminal st	q terminal st	q intersticial st	6

1- Carvalho *et al.* (2004; 2010); 2-Carvalho & Dias (2005a; 2007), 3- Vissotto *et al.* (1999), 4- Ribeiro *et al.* (2008), 5- Sanchez *et al.* (2014), 6- Presente estudo. q- braço longo; m- metacêntrico; sm- submetacêntrico; st - subtelocêntrico; a – acrocêntrico.

Tabela IV. Revisão de estudos citogenéticos moleculares em Pimelodidae.

Espécie	Local	BH	18S	RONs	5S	Ref
<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	Rio Araguaia, Nova Crixás	TA	p terminal st	p terminal st	p pericentromérico st	1
<i>Iheringichthys labrosus</i>	Rio Tibagi, Londrina	AP	q terminal st	q terminal st	q intersticial st	2
<i>Iheringichthys labrosus</i>	Rio Tibagi, Reserv. Capivara	AP	q terminal st	q terminal st	q terminal st-a	3
<i>Iheringichthys labrosus</i>	Rio Paraná, Foz do Iguaçu	MP	q terminal st	q terminal st	q terminal a	4
<i>Iheringichthys labrosus</i>	Rio Ijuí, Ijuí	AU	q terminal st	q terminal st	q terminal a	4
<i>Iheringichthys cf. syi</i>	Rio Piquiri, Nova Laranjeiras	AP	q terminal st	q terminal st	q intersticial st	4
<i>Pimelodus britskii</i>	Rio Iguaçu	AP	q terminal st	q terminal st	p intersticial sm; q terminal st	5
<i>Pimelodus fur</i>	Rio São Francisco	SF	q terminal sm		q intersticial m; q pericentromérico sm	6
<i>Pimelodus maculatus</i>	Rio São Francisco	SF	q terminal sm		q intersticial m; q terminal sm; q pericentromérico sm	6
<i>Pimelodus maculatus</i>	Angatuba	AP	q terminal st	q terminal st	q terminal st	7
<i>Pimelodus maculatus</i>	Guapiara	AP	q terminal st	q terminal st	q terminal st	7
<i>Pimelodus maculatus</i>	Reserv. Três Lagoas, Três Lagoas	AP	q terminal st	q terminal st	q terminal st	7
<i>Pimelodus maculatus</i>	Terra Roxa	AP	q terminal st	q terminal st	q terminal st	7
<i>Pimelodus microstoma*</i>	Rio Mogi-Guaçu, Pirassununga	AP	q terminal st	q terminal st	q pericentromérico st	7
<i>Pimelodus. sp</i>	Rio São Francisco	SF	q terminal sm		q intersticial m, q pericentromerico sm; q pericentromerico sm	6
<i>Pseudoplatystoma corruscans</i>	Rio Paraguai	P	p terminal a	p terminal a	p subterminal st + 1 homólogo m pericentromérico	8
<i>Pseudoplatystoma corruscans</i>	Rio Paraná, Jupiaá	AP	p terminal sm	p terminal sm	p subterminal st + 1 homologo sm subterminal	8
<i>P. metaense</i>	R. Orinoco, VZ	O	p,t, sm	p,t, sm	p paracêntrico sm	9

Espécie	Local	BH	18S	RONs	5S	Ref
<i>P. orinocoense</i>	R. Orinoco, VZ	O	p, t, sm	p, t, sm	P paracêntrico sm	9
<i>Pseudoplatystoma reticulatum</i>	Rio Paraguai	P	p terminal sm	p terminal sm	p intersticial sm	5
<i>Sorubim lima</i>	Rio Paraguai	P	p terminal st	p terminal st	p intersticial sm	5
<i>Sorubim lima</i>	Rio Paraguai	P		p terminal st	p terminal e intersticial sm	10
<i>Steindachneridion melanodermatum</i>	Rio Iguaçu	MP			p subterminal st	11
<i>Steindachneridion melanodermatum</i>	Rio Iguaçu	MP	p terminal sm	p terminal sm	p subterminal st	12
<i>Steindachneridion parahybae</i>	Rio Parafba do Sul	AP	p terminal sm	p terminal sm	p intersticial sm	5
<i>Steindachneridion scriptum</i>	R. Paranapanema, R. Tibagi	AP			p subterminal st	11

1- Gonçalves *et al.* (2014); 2 - Carvalho *et al.* (2010); 3- Carvalho & Dias (2007); 4- Presente estudo; 5-Moraes-Neto *et al.* (2011); 6- Garcia & Moreira-Filho (2008); 7- Ferreira *et al.* (2014); 8- Swarça *et al.* (2005); 9- Nirchio *et al.* (2013); 10- Sczepanski *et al.* (2013); 11- Swarça *et al.* (2009); 12- Matoso *et al.* (2011). BH- Bacia hidrográfica; TA- Tocantins-Araguaia; AP- Alto rio Paraná; MP- Médio Paraná; AU- Alto Uruguai; SF- São Francisco; P- Paraguay; p- braço curto; q- braço longo; sm- submetacêntrico; st - subtelocêntrico; a - acrocêntrico

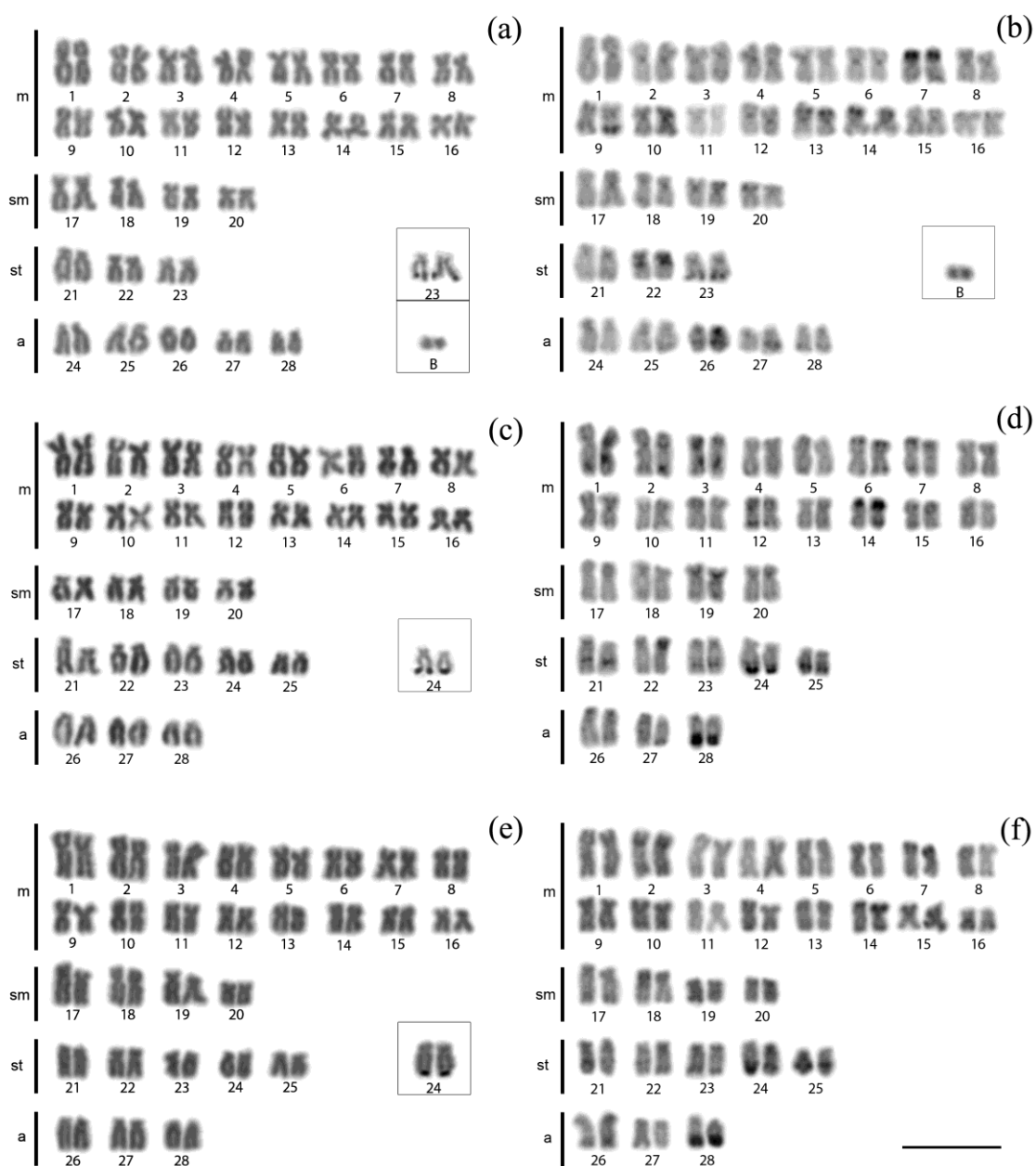


Figura 1. Cariótipos corados com Giemsa e C-bandados de populações de *Itheringichthys cf. syi*, do rio Piquiri (a, b) *I. labrosus* do rio Paraná (c, d) e *I. labrosus* rio Ijuí (e, f). Pares de AgRONS e cromossomos B estão nas caixas. A barra representa 10 μ m.

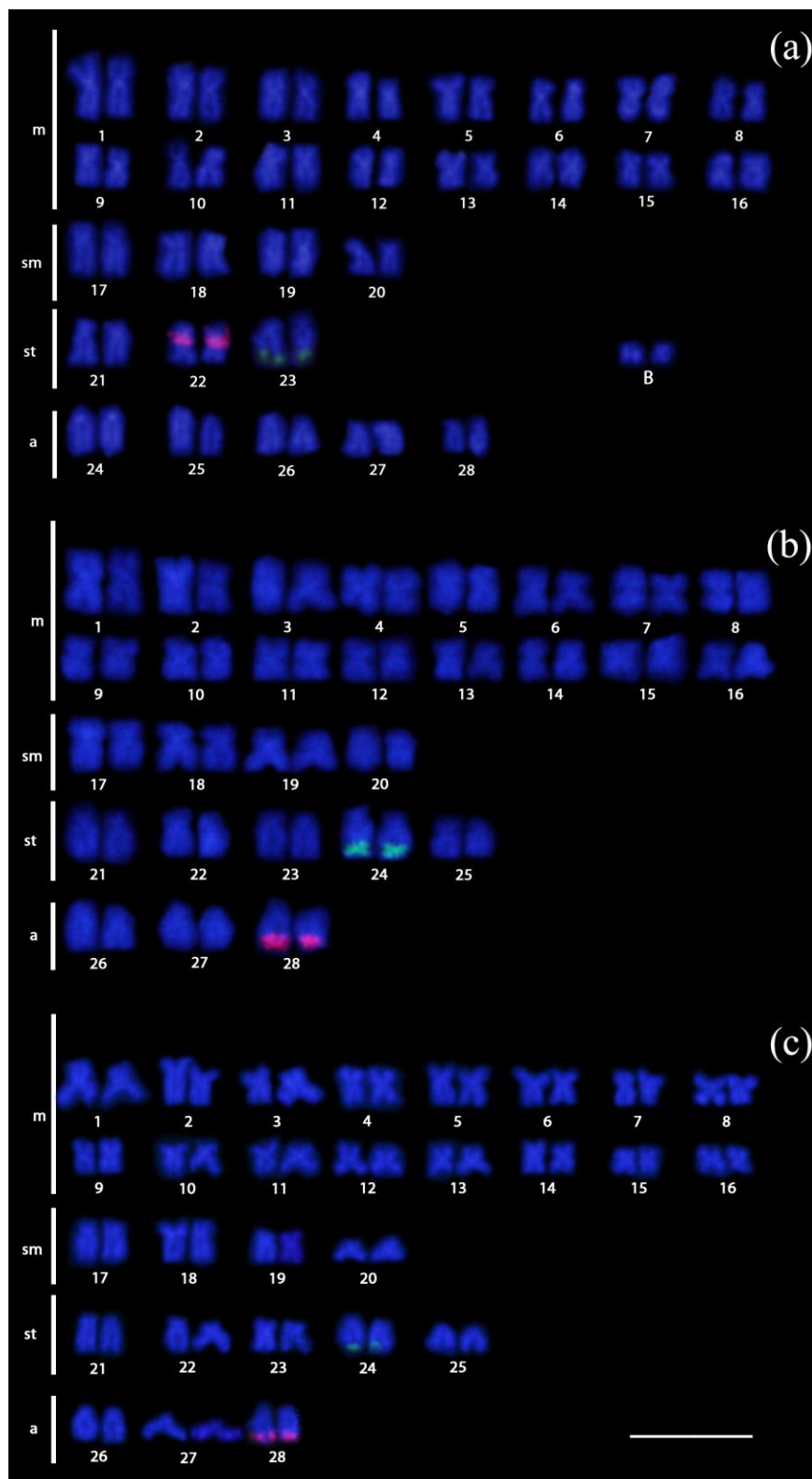


Figura 2. Cariótipos após a hibridização *in situ* fluorescente com sondas de DNAr 5S (rodamina, *vermelho*) e sonda de DNAr 18S (FITC, *verde*) em populações de *Itherigichthys cf. syi* do (a) rio Piquiri, populações de *I. labrosus* do rio Paraná (b) e *I. labrosus* do rio Ijuí (c). A barra representa 10 μ m.

ANEXO I

Normas para publicação no periódico *Journal of Fish Biology*

1. *Journal of Fish Biology* welcomes research manuscripts containing new biological insight into any aspect of fish biology. We invite papers that report results and ideas of value to fish biology that will serve a wide international readership. Hence the novelty of the content of manuscripts should have relevance beyond a particular species or place in which the work was carried out. **All material submitted must be original and unpublished, and not under consideration for publication elsewhere.** If in doubt about overlap, please give details of any related work submitted or in press when submitting your manuscript. The *Journal* uses plagiarism detection software, so in submitting your manuscript you accept that it may be screened against previously published literature.

The Fisheries Society of the British Isles (FSBI) considers that scientists should avoid research threatening the conservation status of any species of fish, which is already regarded as threatened according to the IUCN Red List of Threatened Species and the associated Red List Categories and Criteria version 3.1 (<http://www.iucnredlist.org/technical-documents/categories-and-criteria>) or which is listed as such in a Red Data Book appropriate to the geographic area concerned. In accordance with this view, papers based on such research will not be accepted, unless the work had clear conservation objectives.

Authors are encouraged to place all species distribution records in a publicly accessible database such as the national Global Biodiversity Information Facility (GBIF) nodes (www.gbif.org) or data centres endorsed by GBIF, including BioFresh (www.freshwaterbiodiversity.eu/).

2. **Submission of manuscripts.** We will consider: Regular papers (original research), Review papers, which will either be invited or agreed with an Associate Editor (see 17), Brief Communications (see 18), Letters (see 19), and Comments and Replies (see 20). Contributors to the *Journal of Fish Biology* should read the Editorial on submissions and authorship in *Journal of Fish Biology* 79, 1-2 (2011) (available [here](#)).

Manuscripts are submitted online at <http://jfb.edmgr.com>, where a user ID and password are assigned on the first visit. Full instructions and support are available on this site. **Authors are expected to suggest potential referees**, selected internationally, for their manuscripts in the 'Suggest Reviewers' section.

3. **Preparation of manuscripts.** Authors should consult a recent issue of *Journal of Fish Biology* for details of style and presentation. **If their manuscript does not follow the format of the Journal, it will be returned to them unreviewed.** Manuscripts must be **double-spaced throughout**, all pages must be numbered and **line numbering set to continuous**, including tables, figure legends and reference lists. **Use a font size ≥ 12 . Do not save files in PDF (portable document format) format.**

The first page must contain the following information: the title of the paper, name(s) (initials ONLY for forenames) and FULL academic address(es) of ALL author(s); if the address of any author has changed, it should be added as a footnote. Telephone number and email address for the corresponding author (**one only**) should be provided as a footnote. A concise running headline of not more than 45 characters inclusive of spaces should also be given on this page. For regular papers arrange sections in the following sequence: Title page (as a separate page), Abstract and Key Words (as a separate page), Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion (**a combined Results and Discussion is not acceptable and Conclusions as a heading is only acceptable in Review Papers**), Acknowledgements (for individuals use initials only for forenames and no titles), References, Tables (with captions; see 6 below), Figure captions, Figures and Appendices. Within sections, subdivisions should not normally exceed two grades; decimal number classification of headings and subheadings should not be used (see recent past issues). Footnotes should not be used except in Tables. Spelling must be U.K. English, e.g. Concise Oxford English Dictionary (as distinct from American English) throughout, except in quotations and references. All Latin words (but excluding scientific words other than genus and species) should be in italics. **Do not write text in the first person.**

Do not duplicate information in tables and figures, or *vice versa* or in text and figures. Do not repeat table headings and figure legends in the text. Punctuation should be consistent and only a single space inserted between words and after punctuation. **Do not indicate positions of tables and figures in the text.** Two blank lines should be left after headings and between paragraphs. Text should be typed without end of line hyphenation, except for compound words. Lower case 'l' for '1' or 'O' for '0' should not be used.

4. **Abstract.** This must be concise and summarize **only** the significant findings of the paper (*i.e.* not the background or methods). It should be followed by a list of ≤ 6 **key words or key phrases that are not included in the title, with a maximum of 100 characters (including punctuation and spacing).**

5. **Illustrations.** Photographs should be selected only to illustrate something that cannot adequately be displayed in any other manner. Magnification should be given in actual terms and all stains used should be described in full. Colour figures can be included; the first two will be produced free of charge, additional figures will be produced online free of charge, print production will be at the author's expense. Authors must complete a Colour Work Agreement Form for any colour figures requiring payment. This will be indicated on acceptance. The form can be downloaded as a PDF from the home page at <http://jfb.edmgr.com>, or by clicking [here](#). Please note that the Colour Work Agreement Form must be returned by post to the address provided on acceptance. Number figures consecutively using Arabic numerals [Fig. 1, 2, *etc.*: subdivide by (a), (b), *etc.*], in order of their mention in the text. A fully descriptive caption must be provided for every figure and the complete list of captions typed together on a separate page. Captions must not be included on the figures. All relevant information, *e.g.* keys to the symbols and formulae, should be included in the caption. The minimum reduction for the figures may be indicated. Artwork should be received in digital format. Line artwork (vector graphics) should be saved as Encapsulated PostScript (EPS) and bitmap files (half-tones or photographic images) as Tagged Image Format (TIFF). Native file formats should not be submitted. More detailed information on the submission of electronic artwork can be found at <http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp>

6. **Tables.** Number consecutively in Roman numerals (Table I, II, *etc.*), **in the order of their mention in the text.** Captions for tables should be **typed directly above each table**, not on a separate page. Footnotes to tables should be indicated by superscripts and typed at the bottom of the tables. Tables and figures must 'stand alone' and so all abbreviations must be defined in the figure captions and as footnotes in the tables. Tables, figures and figure captions should be saved in separate files from the main text of the manuscript. Tables should not be embedded in the text file in picture format.

7. **Units and symbols.** Use metric units. Physical measurements should be in accordance with the Système International d'Unités (SI), *e.g.* mm, mm³, s, g, μg , m s⁻¹, g l⁻¹. Use joules not calories. Authors will find the following two publications helpful: *British Standard 1991: Part 1: 1967 Recommendations for Letter Symbols, Signs and Abbreviations and Units, Symbols and Abbreviations. A Guide for Biological and Medical Editors and Authors* (Baron, D.N., ed.) published by the Royal Society of Medicine, London.

In mathematical expressions, single letters (italics) should be used for variables, qualifying them with subscripts (not italics) if required, e.g. length L, fork length L_F, standard length L_S, index I, gonadosomatic index I_G, hepato-somatic index I_H, etc. The 24 hour clock should be used for time of day, *e.g.* 1435 hours, not 2.35 p.m. Calendar dates should be as, *e.g.* 15 June 1998. In the text, one-digit numbers should be spelt out unless they are used with units of measure (in which case they should not be hyphenated), *e.g.* five boxes, 5 cm. Numerals should be used for all numbers of two or more digits, *e.g.* 34 boxes. Use mass(es) rather than weight(s). Means and error (S.D., S.E., 95% C.L., *etc.*), should be to the same number of decimal places. Salinity is dimensionless with no units; do not use psu, ‰ or similar.

8. **Statistics.** Present statistics as follows: name of test, test statistic with associated degrees of freedom (d.f.; note that an *F*-distribution has TWO d.f. values) and probability level (*P*). If data conform to all the assumptions of the statistical method used, precise *P*-values can be given, otherwise *P*-values should be >0.05 , 0.05, 0.01 and 0.001. The *P*-values given by statistical packages assume that all the assumptions of the statistical method are fully met. Although ANOVA and regression are robust, the real *P*-values are likely to be different from the values printed by the package, because of violations of the assumptions. Provide confidence intervals (95% C.I.) for parameters estimated by ANOVA and regression analysis. Contributors to the *Journal of Fish Biology* should read the Editorial on reporting statistical results in *Journal of Fish Biology* **78**, 697-699 (2011) (available [here](#))

9. **Species nomenclature.** On first mention of a species name in the main text, the common name of the species, if one is available, followed by the scientific species name (Latin binomial name, in italics) with the describing authority and date of authorship must be given. The common name should not be separated from the scientific name by a comma nor should the species name be in parentheses. The describing authority and date of authorship should not be separated by a comma. For example: the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum 1792); NOT, the rainbow trout, [*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)]. First use of species names in the title and Abstract should include common and scientific names as above, but do not require the describing authority and date of authorship.

Use standard sources for species common names, including: Wheeler, A. (1992). A list of the common and scientific names of fishes of the British Isles. *Journal of Fish Biology* **41**(Supplement A) (for British fishes); Wheeler, A.C., Merrett, N.R. & Quigley, D.T.G. (2004). Additional records and notes for Wheeler's (1992) *List of the Common and Scientific Names of Fishes of the British Isles*. *Journal of Fish Biology* **65**, Supplement B (for British fishes); Nelson, J.S., Crossman, E.J., Espinosa-Pérez, H., Findley, L.T., Gilbert, C.R., Lea, R.N. & Williams, J.D. (2004). *Common and scientific names of fishes from the United States, Canada, and Mexico*. Committee on Names of Fishes. 6th edn. Bethesda, MD, U.S.A.: American Fisheries Society (for North American fishes; except those covered above for British fishes); Froese, R. & Pauly, D. (Eds) (2010). FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org; *FAO Guides for Fisheries Purposes*.

When first using scientific species names the describing authority name appears in parentheses only if the binomial combination of the name has changed since the original description. *Oncorhynchus clarkii* (Richardson 1836) for example, includes the authority name in parentheses because Richardson initially described the species in the genus *Salmo*, under the name *Salmo clarkia*, whereas the name *Salmo marmoratus* Cuvier 1829 is currently recognized exactly as originally named by Cuvier. When the describing authority is Linnaeus, this should be abbreviated to L., e.g. *Cyprinus carpio* L. 1758. The citation for the original description of a species should not be included in the References unless additional specific details (*i.e.* more than just the species name) supplied by that publication are discussed in the manuscript. Use the online *Catalog of Fishes* as the standard authority for species nomenclature and date of description: Eschmeyer, W. N. (Ed.) *Catalog of Fishes* electronic version (5 January 2011). <http://research.calacademy.org/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp> After initial use of the species' common and scientific names, subsequent reference to the species should use the scientific name (without describing author or date) NOT the common name. The genus name should be abbreviated to a single letter (*e.g.* *C. carpio* and *O. mykiss*), except at the start of a sentence or where confusion may arise from multiple genera with the same first letter.

When listing synonyms for a species, the following style is required [based in part on Mincarone & Fernholm *Journal of Fish Biology* (2010) **77**, 779–801]: *Eptatretus cirrhatus* (Forster 1801)

Homea banksii Fleming 1822: 375 (original description; type locality: South Seas; holotype: unknown)

Bdellostoma heptatrema Müller 1836: 79 (original description; type locality: South seas; holotype: unknown) *Bdellostoma forsteri* Müller 1836: 80 (original description; type locality: Queen Charlotte Sound, New Zealand; holotype: unknown). Conel, 1931: 76 *Bdellostoma forsteri* var. *heptatrema*. Müller, 1838: 174 (new combination)

Bdellostoma cirrhatum. Günther, 1870: 511 (in part). Hutton, 1872: 87 (in part). Putnam, 1874: 160 (in part). Günther, 1880: 27

(Note that species names that are modifications of an existing binomial, rather than an original description, are separated from the author name by a full stop, *Bdellostoma cirrhatum*. Günther, 1870: 511 (in part).

The plural 'fish' should be used for the same species, 'fishes' for more than one species. Any specimens used for taxonomic analyses should, wherever possible, be deposited in appropriate scientific collections (*e.g.* museums and university collections, or private collections when there is good evidence that these are adequately maintained), with identifying catalogue numbers, so that they are accessible to the scientific community for subsequent examination and taxonomic revision. **Namebearing type specimens of taxa that are described in the *Journal of Fish Biology* as new to science must be deposited in recognized national or international institutions that can meet Recommendations 72F.1-5 of the International Code of Zoological Nomenclature (ICZN, 1999; available [here](#)) for institutional responsibility.** The chosen institute for deposition of name-bearing type specimens should be able to meet these responsibilities into the foreseeable future. A paratype series may be distributed among more than one recognized national or international institution at the discretion of the authors. This is encouraged for paratype series that include numerous specimens, where the paratype series can be split into two or more representative samples, comprising several specimens that are deposited at different institutions. For examples of recognized national or international institutions see earlier taxonomic publications in the *Journal of Fish Biology*, or check institutions listed in Eschmeyer's *Catalog of Fishes Online* (available [here](#)), and see Poss & Collette, *Copeia* **1995**, 48- 70, for U.S. and Canadian institutions. Institutional abbreviations used in manuscripts should follow standard code designations as given in Eschmeyer's *Catalog of Fishes Online* (see link above). Contributors to the *Journal of Fish Biology* should read the Editorial on correct nomenclature in *Journal of Fish Biology* **78**, 1283-1290 (2011) (available [here](#))

10. Genetic nomenclature. The *Journal* uses the zebrafish system (see <http://zfin.org/zfinfo/nomen.html>) for genes and proteins of fish origin. Genes should be in italic lower case text and proteins in non-italic

lower case text with the first letter capitalized. If the genes and proteins are of human origin, use the human nomenclature, with genes in upper case italic text and proteins in upper case non-italic text. Contributors to the *Journal of Fish Biology* should read the Editorial on correct nomenclature in *Journal of Fish Biology* **78**, 1283-1290 (2011) (available [here](#))

11. **Sequence data.** Manuscripts containing novel amino acid sequences (*e.g.* primer sequences) will only be accepted if they carry an International Nucleotide Sequence Databases (INSD) accession number from the European Biology Laboratory (EMBL), GenBank Data Libraries (GenBank) or DNA Data Bank of Japan (DDBJ). The *Journal of Fish Biology* strongly recommends that when authors deposit data in genetic data banks they include specimen catalogue numbers (for specimens preserved in collections), a note identifying sequences that are derived from type specimens (see 9) and collection locality data. The data base accession number must be given in the Materials and Methods section of the manuscript. For taxonomic papers that refer to sequences derived from specimens preserved in collections (see 9), authors should include a table that clearly links each sequence accession number with the specimen from which it was derived. Sequences from type specimens should also be clearly identified in this Table (***e.g.* given in bold text**). A nomenclature for genetic sequences for type and some non-type specimens has been proposed by Chakrabarty *et al.* (2013) [Chakrabarty, P., Warren, M., Page, L., Baldwin, C. (2013). GenSeq: An updated nomenclature for genetic sequences and a formal ranking of sequences from type and non-type sources. *Zookeys* **346**, 29–41, doi: 10.3897/zookeys.346.5753] and may be used (but is not obligatory): sequences from holotypes are identified as genseq-1, paratypes genseq-2, those from topotypes are genseq-3, and the genetic marker(s) used are incorporated into the nomenclature (*e.g.* genseq-2 ND2). Lengthy nucleotide sequences will only be published in the text if, in the judgement of the Editor-in-Chief, these results are of general interest and importance. **Where sequences are already published, reference to the original source will suffice.**

12. **RAPD.** Data derived by RAPDs (randomly amplified polymorphic DNAs) technology are frequently not satisfactory and conclusions derived from them unreliable. Papers submitted to the *Journal* should not include data generated by this technique.

13. **Acknowledgement of copyright.** Authors should obtain permission from the copyright owner (usually this is the publisher) to use any figure, table or extended quotation from material that has previously been published. Acknowledgements, however, should cite the author: 'Reproduced with permission from Einstein (1975)'.

14. **References.**

The list of references should be arranged alphabetically according to the surname of the first author and set out as follows:

Boisvert, C. A. (2005). The pelvic fin and girdle of *Panderichthys* and the origin of tetrapod locomotion. *Nature* **438**, 1145–1147.

Nagahama, Y., Yoshikuni, M., Yamashita, M., Tokumoto, T. & Katsu, Y. (1995). Regulation of oocyte growth and maturation in fish. In *Current Topics in Developmental Biology*, Vol. 30 (Pederson, R. A. & Schatten, G., eds), pp. 103–145. San Diego, CA: Academic Press. Zar, J. H. (1999). *Biostatistical Analysis*, 4th edn. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall.

It is important to include the article's Digital Object Identifier (DOI) (see section 24) in the reference as volume and page information is not always available for articles published online. Please note the following example:

Song, J., Mathieu, A., Soper, R. F. & Popper, A. N. (2006). Structure of the inner ear of bluefin tuna *Thunnus thynnus*. *Journal of Fish Biology* **68**, 1767–1781. doi:10.1111/j.1095-8649.2006.01057.x

The order in the list should be:

- (i). Single authors. Where more than one reference is given for a single author the publications should be listed chronologically.
- (ii). Two authors. These should be arranged first alphabetically, then chronologically. For text citations, use the names of both authors and the year. Do not use *et al.* for two-author references.
- (iii). Three or more authors. These should be arranged chronologically. For all text citations, use the surname of the first author only, followed by *et al.* and the date.

If more than one reference by the same author(s) published in the same year is cited, use *a, b, etc.* after the year in both text and list, *e.g.* (1963*a*). Text citations can be given in either of two ways: (a) with date in

parentheses, ‘as demonstrated by Jones (1956)’; (b) with names and date in parentheses, ‘according to recent findings (Jones, 1956)’. **Where more than one reference is cited in the text these should be in chronological order**, e.g. Smith, 1975; Arnold, 1981; Jones, 1988. **Journal titles must be given in full**. Provide names and initials of **all** authors, the full title of the paper, the volume number and the page numbers. **Authors should check that all citations in the text are in the list of references and vice versa**, and that their dates match. Journal titles, book titles and any other material within the reference list which will be italicized in print should be italicized or underlined in the manuscript.

References must be available in the public domain, e.g. ‘do not include grey’ literature.

List electronic references separately, under the heading **Electronic References**, and set out as follows:

ICES (2001). Report of the Northern Pelagic and Blue Whiting Fisheries Working Group. *ICES CM 2001/ACFM:17*. Available at <http://www.ices.dk/reports/acfm/2001/wgnpbw/wgnpbw01.pdf> (last accessed 6 April 2010).

All articles on Wiley Online Library (<http://wileyonlinelibrary.com>) include full details on how to cite the article.

15. Supporting Information. As a service to authors and readers, the *Journal of Fish Biology* will host supporting information online. Supporting Information files are hosted by the Publisher in the format supplied by the author and are not copy-edited by the Publisher. **It is the responsibility of the author to supply Supporting Information in an appropriate file format and to ensure that it is accurate and correct. Authors should therefore prepare Supporting Information with the same rigour as their main paper, including adherence to journal style (e.g. formatting of references).** Supporting Information can be provided as separate files or as one combined file. Authors are discouraged from supplying very large files or files in non-standard file formats, both of which may reduce their use to the readership. Files should be prepared without line numbers or wide line spacing, and with all track-change edits accepted. Supporting Information files containing videos and animations are accepted.

16. Ethics. Contributors to the *Journal of Fish Biology* must read the Editorials on ethics in *Journal of Fish Biology* **68**, 1-2 (2006) (available [here](#)) and *Journal of Fish Biology* **78**, 393-394 (2011) (available [here](#)). They will be required to complete a questionnaire on submission of their paper, available for downloading [here](#).

17. Reviews. Reviews should be concise, critical and creative. They should seek to stimulate topical debate and new research initiatives. Prospective authors are asked to submit a synopsis (two pages maximum) of their paper to an Associate Editor. The Editor-in-Chief can be consulted to advise on the appropriate Associate Editor to be approached. The synopsis should outline why the review is topical, its main points and objectives, and how it will stimulate debate and research. When the proposal has been accepted by an Associate Editor, he or she will invite the author to submit a manuscript, following the Instructions for Authors, within an agreed time limit.

18. Brief Communications. A Brief Communication may be concerned with any subject within the scope of the *Journal of Fish Biology* but should be **confined to a single point or issue of progress**, such as an unusual occurrence, an interesting observation, or a topical and timely finding. The manuscript must, however, have some relevance beyond the species or locality under consideration. To qualify for inclusion as a Brief Communication a paper **must be short (five printed pages maximum; c. 2500 words)**. An abstract of not more than three sentences is required. **No subheadings or subdivisions should be included**. In other respects submitted manuscripts should comply with the instructions given above.

19. Letters. These **must be very short (one and a half printed pages maximum; c. 750 words)** and deal with single significant finding or point for discussion that needs rapid publication. Include title page, key words (note no Abstract), main text and references (maximum four) (no tables or figures).

20. Occasional Comments. Comments concerning recent published papers in the *Journal* may be considered by the Editor-in-Chief. The comments will be sent to the original authors to provide an opportunity for reply. Publication of the Comment and Reply will end the debate.

21. Acceptance of papers. Papers will normally be critically reviewed by two or more independent experts in the relevant discipline and evaluated for publication by the Editors, but the Editors may return to authors without review any manuscripts deemed to be of inadequate quality or inappropriate for the *Journal of Fish Biology*. The final decision to accept a paper will be made by the Editor-in-Chief.

22. *Copyright and Online Open*

Authors submitting a manuscript do so on the understanding that, if it is accepted for publication, the licence to publish the article, including the right to reproduce the article in all forms and media, shall be assigned exclusively to the FSBI. If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author for the paper will receive an email prompting them to login into Author Services; where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be able to complete the license agreement on behalf of all authors on the paper. **Authors are themselves responsible for obtaining permission to reproduce copyright material from other sources.**

For authors signing the copyright transfer agreement

If the OnlineOpen option is not selected the corresponding author will be presented with the copyright transfer agreement (CTA) to sign. The terms and conditions of the CTA can be previewed in the samples associated with the Copyright FAQs below:

CTA Terms and Conditions http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp

For authors choosing OnlineOpen

If the OnlineOpen option is selected the corresponding author will have a choice of the following Creative Commons License Open Access Agreements (OAA):

Creative Commons Attribution License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial -NoDerivs License OAA

To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs hosted on Wiley Author Services http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp and visit <http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright--License.html>.

If you select the OnlineOpen option and your research is funded by The Wellcome Trust and members of the Research Councils UK (RCUK) you will be given the opportunity to publish your article under a CC-BY license supporting you in complying with Wellcome Trust and Research Councils UK requirements. For more information on this policy and the Journal's compliant self-archiving policy please visit: <http://www.wiley.com/go/funderstatement>.

24. Proofs and offprints. Proofs are downloaded as a PDF file from a designated web site. Full details will be sent to the corresponding author by email. Therefore, a working email address must be provided. Proofs should be returned to the Managing Editor within 3 days of receipt. Free access to the final PDF offprint of the article will be available *via* author services only. Authors must therefore sign up for author services to access the article PDF offprint and enjoy the many other benefits the service offers. In addition to this electronic offprint, paper offprints may be ordered online. Full instructions for ordering paper offprints will be sent with the proofs. Any queries regarding offprints should be emailed to: offprint@cosprinters.com. Paper offprints are normally dispatched within 3 weeks of publication of the issue in which the paper appears. Please contact the publishers if offprints do not arrive; however, please note that offprints are sent by surface mail, so overseas orders may take up to 6 weeks to arrive.

25. Early View. *Journal of Fish Biology* is covered by Wiley-Blackwell's Early View service. Early View articles are complete full-text articles published online in advance of their publication in a printed issue. Articles are therefore available as soon as they are ready, rather than having to wait for the next scheduled print issue. Early View articles are complete and final, and no changes can be made after online publication. They have been fully reviewed, revised and edited for publication, and the authors' final corrections have been incorporated. Early View articles lack a volume, an issue and page numbers, and cannot be cited in the traditional way. Instead they have a DOI, which allows the article to be cited and tracked before it is allocated to an issue. After print publication, the DOI remains valid and can continue to be used to cite and access the article.

26. Author material archive policy. Please note that unless specifically requested, Wiley-Blackwell will dispose of all hard copy or electronic material 2 months after publication. If the return of any submitted material is required, the Managing Editor or Production Editor must be informed as soon as possible.

27. Queries. Contact the Managing Editor at journal.fishbiology@bopenworld.com.

CAPITULO 2

Citogenética básica e molecular em sete espécies de *Pimelodus* (Siluriformes: Pimelodidae) de três sistemas hidrográficos brasileiros: contribuições para a sistemática de Pimelodidae.

Simone Cristina Girardi², Carla Simone Pavanelli², Vladimir Pavan Margarido^{1,3}

Artigo elaborado e formatado conforme as normas para publicação científica no periódico *Environmental Biology of Fishes*.

Running headline: Cytogenetics analyzes of *Pimelodus* species.

1. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, Rua Universitária 2069, Jardim Universitário, 85819-110 Cascavel, PR, Brasil

2. Universidade Estadual de Maringá, Coleção de Peixes do Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura. Av. Colombo, 5790, 87020-900 Maringá, PR, Brasil.

3. Autor para correspondência: vladimir.margarido@unioeste.br

Citogenética básica e molecular em sete espécies de *Pimelodus* (Siluriformes: Pimelodidae) de três sistemas hidrográficos brasileiros: contribuições para a sistemática de Pimelodidae.

S. C. Girardi • C. S. Pavanelli • V. P. Margarido

S. C. Girardi

Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Cascavel, Paraná

C. S. Pavanelli

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Biologia, Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura (Nupélia), Maringá, Paraná.

V. P. Margarido

Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Rua Universitária 2069, 85819-110 Cascavel, PR, Brasil
e-mail: vladimir.margarido@unioeste.br

Resumo: A família Pimelodidae está amplamente distribuída ao longo da região Neotropical. *Pimelodus* é o gênero com maior número de espécies e o mais estudado citogeneticamente, embora os estudos tenham sido realizados em menos da metade das espécies válidas. No presente trabalho, sete espécies de *Pimelodus* de três sistemas hidrográficos brasileiros foram estudadas através das técnicas citogenéticas básicas (Giemsa, AgRONS e banda C) e moleculares (FISH-DNAr 5S e 18S). Todas as espécies apresentaram $2n=56$ cromossomos, sendo observadas diferenças na fórmula cariotípica entre algumas espécies. As AgRONS correspondentes ao DNAr 18S foram localizadas no braço longo de um par de cromossomos em todas as espécies. A heterocromatina segue o padrão comumente observado na família e permite identificar as espécies aqui estudadas, com exceção de *P. absconditus* e *P. microstoma* que possuem padrão semelhante. O DNAr 5S apresenta diferenças no número e na posição dos sítios entre as espécies. Cromossomos B foram evidenciados em *P. ortmanni* com variação intra e interindividual. Os resultados obtidos são discutidos com dados citogenéticos disponíveis para Pimelodidae e possíveis relações evolutivas são sugeridas.

Palavras-chave: Cromossomo B, DNAr 5S, DNAr 18S.

Introdução

Pimelodidae pertence à ordem Siluriformes, e segundo Ferraris (2007) possui cerca de 93 espécies distribuídas em 29 gêneros. É uma família endêmica da região Neotropical, e que apresenta maior diversidade de espécies nas bacias do Amazonas, do Paraná e do Orinoco, e nos grandes rios das Guianas. Contém espécies com ampla distribuição bem como espécies localmente endêmicas na região dos grandes rios no Noroeste da Colômbia e leste do Panamá, em Magdalena, Maracaibo e no sudoeste do Brasil (Lundberg e Littman 2003).

Pimelodus é amplamente distribuído ao longo da região Neotropical, sendo o gênero mais diversificado de Pimelodidae com 35 espécies válidas (Eschmeyer 2015). É um grupo polifilético (Lundberg et al. 2011), que segundo Ribeiro et al. (2011) não possui sinapomorfias definidas e as espécies têm sido incluídas nesse grupo com base nos caracteres propostos por Eigenmann e Eigenmann (1890). Embora seja o gênero mais estudado citogeneticamente, estão disponíveis dados para menos da metade das espécies válidas. Estes estudos mostram a prevalência de $2n=56$ cromossomos, com exceção de *Pimelodus fur* (Lütken, 1874) (Garcia e Moreira Filho 2008) que possui número diplóide de 54 cromossomos. Possuem grande quantidade de cromossomos bi-braçados, ampla variação na fórmula cariotípica e pouca quantidade de heterocromatina, distribuída na região dos centrômeros, telômeros e intersticialmente. Dados sobre a localização dos DNAr 5S e 18S são escassos, sendo conhecidos para apenas cinco espécies deste gênero, as quais apresentam variações em número e posição.

Pimelodus britskii e *P. ortmanni* Haseman, 1911 são espécies endêmicas do rio Iguaçu (Baumgartner et al. 2012). *Pimelodus maculatus* Lacepède, 1803 é amplamente distribuído, estando presente no rio La Plata, Uruguai, Paraná e São Francisco. *Pimelodus microstoma* Steindachner, 1877 e *Pimelodus paranaensis* Britski e Langeani, 1988 ocorrem na bacia do Alto rio Paraná (Eschmeyer 2015). *Pimelodus mysteriosus* Azpelicueta, 1998 ocorre no rio La Plata e nas bacias do Baixo rio Uruguai, Médio rio Paraná e rio Paraguai (Rocha 2012). *Pimelodus absconditus* Azpelicueta, 1995 ocorre no rio La Plata até a confluência com o rio Paraná e nos rios Paraguai e Uruguai (Rocha 2012).

No presente trabalho são realizadas análises citogenéticas básicas e moleculares em sete espécies de *Pimelodus* de três bacias hidrográficas brasileiras. Este estudo apresenta os primeiros dados citogenéticos de *Pimelodus maculatus* e *Pimelodus*

absconditus para a população do rio Ijuí; primeiro relato sobre a localização do DNAr 5S e 18S em *Pimelodus ortmanni* e *Pimelodus mysteriosus* do rio Iguaçu; e em *Pimelodus paranaensis* e *Pimelodus microstoma* do rio Piquiri. Estes estudos visam contribuir para o aumento dos dados sobre espécies de *Pimelodus*, permitindo maior compreensão sobre a história evolutiva deste gênero, bem como da família Pimelodidae.

Metodologia

Exemplares de *Pimelodus* foram coletados e depositados na Coleção Ictiológica do Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura (NUPELIA), da Universidade Estadual de Maringá, Brasil. A localidade dos exemplares coletados e o número do depósito estão resumidos na Tabela 1, e o mapa com os pontos amostrados esta na Figura 1. Os exemplares foram anestesiados e sacrificados através de overdose por óleo de cravo (Griffiths 2000). As preparações foram obtidas através da técnica proposta por Bertollo et al. (1978). As AgRONs foram evidenciadas por impregnação com prata de acordo com a técnica descrita por Howell e Black (1980). O bandamento C foi utilizado para determinar as regiões de heterocromatina seguindo a técnica proposta por Sumner (1972), com modificações sugeridas por Lui et al. (2012). O mapeamento físico das sequências de DNAr 5S e DNAr 18S foi realizado através da hibridização *in situ* fluorescente (FISH) de acordo com Pinkel et al. (1986) e modificações sugeridas por Margarido e Moreira Filho (2008), com sondas obtidas de *Leporinus elongatus* Valenciennes, 1850 (Martins e Galetti Junior 1999) e de *Prochilodus argenteus* Spix e Agassiz, 1829 (Hatanaka e Galetti Junior 2004), respectivamente. As sondas de DNAr 5S foram marcadas com digoxigenina-11-dUTP (Dig Nick Translation Kit–Roche®, Basel, BS, Switzerland) e a de DNAr 18S com biotina-16-dUTP (Biotin Nick Translation Kit–Roche®). A detecção e amplificação dos sinais foi realizada com antidigoxigenina-rodamina (Roche®) para sonda de DNAr 5S e avidina-FITC amplificado com anti-avidina biotilada (Sigma-Aldrich, Buchs, SG, Switzerland) para sonda de DNAr 18S, sendo os cromossomos posteriormente contra-corados com DAPI (50 µg/mL). O software DP Controller 3.2.1.276 foi usado com a câmera digital Olympus DP 71 acoplada ao microscópio de epifluorescência BX 61, para fotografar as lâminas (Olympus America Inc., Center Valley, PA, United States of America). Para organização do cariótipo o cálculo da relação de braços proposto por Levan et al. (1964) foi utilizado, classificando os cromossomos em metacêntricos (m), submetacêntricos (sm), subtelocêntricos (st) e acrocêntricos (a).

Resultados

Os resultados estão resumidos na Tabela 2 e são apresentados abaixo.

Pimelodus absconditus

O número diplóide observado foi de 56 cromossomos (24 m + 18 sm + 8 st + 6 a) [Fig. 2(a)]. As AgRONS foram localizadas na região telomérica do braço longo do par de cromossomos subtelocêntricos 24 [Fig. 2(a), box]. O bandamento C evidenciou heterocromatinas pálidas na região dos centrômeros na maioria dos cromossomos, sendo que alguns pares apresentaram heterocromatinas conspícuas na região telomérica do braço curto (pares 17, 18 e 23) e no braço longo (par 24), em ambos os telômeros nos pares 8 e 20, na região pericentromérica do braço longo no par 18, na região subterminal do braço longo do par 17 [Fig. 3(a)]. O DNAr 18S foi localizado no par de cromossomos subtelocêntricos (par 24), correspondente as AgRONS, e o DNAr 5S na região pericentromérica do braço longo do par 18 [Fig. 4(a)].

Pimelodus britskii

O número diplóide observado foi de 56 cromossomos (24 m + 18 sm + 8 st + 6 a) [Fig. 2(b)]. As AgRONS foram localizadas na região telomérica do braço longo do par de cromossomos subtelocêntricos 23 [Fig. 2(b), box]. O bandamento C evidenciou heterocromatinas pálidas na região dos telômeros de alguns cromossomos, sendo que alguns pares apresentaram heterocromatinas conspícuas na região telomérica do braço longo (par 3, 6 e 23), na região pericentromérica do braço curto no par 2, na região subterminal do braço longo do par 15 [Fig. 3(b)]. O DNAr 18S foi localizado no par de cromossomos subtelocêntricos (par 23), correspondente as AgRONS, e o DNAr 5S na região pericentromérica do braço longo do par 17 e na região terminal do braço longo dos pares 23 e 28 [Fig. 4(b)].

Pimelodus maculatus

O número diplóide observado foi de 56 cromossomos (24 m + 20 sm + 6 st + 6 a) [Fig. 2(c)]. As AgRONS foram localizadas na região telomérica do braço longo do par de cromossomos subtelocêntricos 23 [Fig. 2(c), box]. O bandamento C evidenciou heterocromatinas pálidas na região dos telômeros de alguns cromossomos, sendo que alguns pares apresentaram heterocromatinas conspícuas na região telomérica do braço curto (par 6) e no braço longo (par 17, 22, 23 e 24), em ambos os telômeros no par 8, na

região pericentromérica do braço curto no par 1 e na região do centrômero no par 21 [Fig. 3(c)]. O DNAr 18S e o DNAr 5S foram localizados em sintenia no par de cromossomos subtelocêntricos (par 23), correspondente as AgRONS. [Fig. 4(c)].

Pimelodus microstoma

O número diplóide observado foi de 56 cromossomos (24 m + 18 sm + 8 st + 6 a) [Fig. 2(d)]. As AgRONS foram localizadas na região telomérica do braço longo do par de cromossomos subtelocêntricos 24 [Fig. 2(d), box]. O bandamento C evidenciou heterocromatinas pálidas na região dos centrômeros da maioria dos cromossomos, sendo que alguns pares apresentaram heterocromatinas conspícuas na região telomérica do braço curto (par 4) e no braço longo (par 17 e 24), em ambos os telômeros no par 8, na região pericentromérica do braço longo no par 18, na região do centrômero do par 23 [Fig. 3(d)]. O DNAr 18S foi localizado no par de cromossomos subtelocêntricos (par 24), correspondente as AgRONS, e o DNAr 5S na região pericentromérica do braço longo do par 18 [Fig. 4(d)].

Pimelodus mysteriosus

O número diplóide observado foi de 56 cromossomos (28 m + 10 sm + 2 st + 16 a) [Fig. 2(e)]. As AgRONS foram localizadas na região telomérica do braço longo do par de cromossomos subtelocêntricos 20 [Fig. 2(e), box]. O bandamento C evidenciou heterocromatinas pálidas na região dos centrômeros da maioria dos cromossomos, sendo que alguns pares apresentaram heterocromatinas conspícuas na região telomérica do braço longo (pares 5, 17, 20, 21, 22, 23, 24, 26, 27 e 28) e na região pericentromérica do braço longo nos pares 20, 21 e 22 [Fig. 3(e)]. O DNAr 18S foi localizado no par de cromossomos subtelocêntricos (par 20), correspondente as AgRONS, e o DNAr 5S na região intersticial do braço longo do par 1 e na região pericentromérica do braço longo dos pares 21 e 22 [Fig. 4(e)].

Pimelodus ortmanni

O número diplóide observado foi de 56 cromossomos (24 m + 18 sm + 8 st + 6 a) [Fig. 2(f)]. Foram observados cromossomos B, na forma de microcromossomos e acrocentrico, com variação numérica (1 a 4) intra e interindivíduo (Tabela 3). As AgRONS foram localizadas na região telomérica do braço longo do par de cromossomos subtelocêntricos 24 [Fig. 2(f), box]. O bandamento C evidenciou

heterocromatinas pálidas na região dos centrômeros e telômeros de alguns cromossomos, sendo que alguns pares apresentaram heterocromatinas conspícuas na região telomérica do braço curto (par 17) e no braço longo (par 23), em ambos os telômeros no par 5, na região pericentromérica do braço longo no par 18, na região do centrômero do par 15, sendo que os cromossomos B mostraram-se totalmente heterocromáticos [Fig. 3(f)]. O DNAr 18S foi localizado no par de cromossomos subtelocêntricos (par 24), correspondente as AgRONS, e o DNAr 5S na região pericentromérica do braço longo do par 18 [Fig. 4(f)].

Pimelodus paranaensis

O número diplóide observado foi de 56 cromossomos (22 m + 22 sm + 4 st + 8 a) [Fig. 2(g)]. As AgRONS foram localizadas na região telomérica do braço longo do par de cromossomos subtelocêntricos 24 [Fig. 2(g), box]. O bandamento C evidenciou heterocromatinas pálidas na região dos telômeros da maioria dos cromossomos, sendo que alguns pares apresentaram heterocromatinas conspícuas na região subterminal do braço curto do par 1; na região telomérica do braço longo (par 4, 13, 14, 19, 20, 24 e 25); em ambos os telômeros nos pares 7, 23 e 26, na região pericentromérica do braço longo no par 18 e na região pericentromérica do braço curto nos pares 2, 12 e 13 e [Fig. 3(g)]. O DNAr 18S foi localizado no par de cromossomos subtelocêntricos (par 25), correspondente as AgRONS, e o DNAr 5S na região pericentromérica do braço longo dos pares 18 e 24, e na região terminal do braço longo no par 19 [Fig. 4(g)].

Discussão

Os estudos citogenéticos em Pimelodidae mostram a prevalência de $2n=56$ cromossomos (Tabela 4). Todas as espécies de *Pimelodus* aqui estudadas compartilham esta característica, o que corrobora a hipótese de que esse seja o número diplóide basal para a família (Moraes-Neto et al. 2011). Em contraste à conservação do número diplóide, ampla variação na fórmula cariotípica é observada entre espécies e até mesmo entre populações. Estas diferenças podem ser resultado de rearranjos cromossômicos, tais como inversões pericêntricas e/ ou translocações (Lui et al. 2010), ou decorrente de variações na classificação pelos autores devido a diferentes graus de condensação cromossômica (Swarça et al. 2001b; Moraes-Neto et al. 2011). Segundo Garcia e Moreira Filho (2005), inversões pericêntricas parecem ser um dos mais importantes, se

não o mais comum, rearranjo responsável pela diferenciação da estrutura cariotípica com manutenção do número diplóide em Pimelodidae.

Todas as espécies aqui estudadas apresentam AgRONS simples na região terminal do braço longo de um par de cromossomos subtelocêntricos, confirmadas pela FISH-DNAr 18S. RONS simples na posição terminal são observadas em todas as espécies de Pimelodidae estudadas (Tabela 4), representando uma característica conservada para a família. Em *Pimelodus*, a maioria das espécies possuem esta região no braço longo, com exceção de *P. argenteus* Perugia, 1891 (Souza et al. 2003), *P. mysteriosus* Azpelicueta, 1998 (Souza et al. 2003) e *P. ornatus* (Borin e Martins Santos 2002) que possuem as RONS no braço curto. Baseado na localização das RONS, Swarça et al. (2007) sugeriram a delimitação de dois grupos citotaxonômicos entre as espécies de Pimelodidae com $2n=56$ cromossomos: "Surubiminae" e "*Pimelodus*", que possuem estas sequências no braço curto e no braço longo, respectivamente. Correlacionando os dados citogenéticos atualmente disponíveis (Tabela 4) com a classificação sistemática proposta por Lundberg et al. (2011; 2012), observa-se que a presença de RONS no braço longo são exclusivas de espécies pertencentes a um subgrupo formado pelos subclados "*Iheringichthys-Parapimelodus*" e "*Pimelodus maculatus*", enquanto que RONS no braço curto são observadas em espécies dos grupos "*Calophysus*", "Sorubiminae", algumas espécies do grupo "*Pimelodus*" e em *Steindachneridion*, considerado linhagem basal de Pimelodidae. A presença destas sequências no braço curto na maioria das espécies estudadas e em espécies consideradas basais permite sugerir que esta condição seja o carácter ancestral para a família, e a presença no braço longo uma condição derivada, sendo que esta característica pode representar um marcador citotaxonômico para este subgrupo.

Os sítios de DNAr 5S nas espécies do presente estudo mostram variações quanto ao número e a posição. Em *P. microstoma*, *P. ortmanni*, *P. maculatus* e *P. absconditus* esta sequência está localizada em apenas um par de cromossomos, enquanto que *P. britskii*, *P. mysteriosus* e *P. paranaensis* apresentam estes sítios em três pares de cromossomos. Segundo Martins e Galetti (1999), a presença do DNAr 5S em um par de cromossomos provavelmente representa a condição ancestral para os peixes. Em Pimelodidae, entre as espécies analisadas, a maioria possui sítios de DNAr 5S em apenas um par de cromossomos; entretanto, para as espécies de *Pimelodus* a prevalência é de sítios múltiplos, o que pode indicar a ocorrência de rearranjos cromossômicos do tipo transposição/translocação, durante o processo de especiação desste grupo.

Apesar da escassez de estudos citogenéticos sobre a localização do DNAr 5S, comparado ao número de espécies de Pimelodidae, uma importante observação pode ser feita: espécies dos subclados "*Iheringichthys-Parapimelodus*" e "*Pimelodus maculatus*" denominado por Lundberg et al. (2011; 2012) possuem estes sítios no braço longo, enquanto que, em espécies do grupo "Sorubiminae" e de *Steindachneridion* encontram-se no braço curto, o que pode representar um importante marcador citotaxonômico; entretanto análises destas sequências em maior número de espécies são necessárias para confirmar a hipótese.

Quanto à posição dos sítios de DNAr 5S, quase todas as espécies de Pimelodidae estudadas apresentam pelo menos um par com marcação na região intersticial, pericentromérica ou subterminal, exceto *P. maculatus* (Ferreira et al. 2014; presente estudo) e *Iheringichthys labrosus* (Lütken, 1874) (Carvalho e Dias 2007) que possuem este sítio na região telomérica. Segundo Martins e Galetti Junior (2001), a maioria das espécies de peixes possuem os sítios de DNAr na posição intersticial, sugerindo que tal padrão não é ao acaso, e pode representar alguma vantagem relacionada a organização dessas sequências nos vertebrados.

Sintenia entre o DNAr 5S e 18S foi observada em *P. britskii* e *P. maculatus* no presente estudo. A localização destas sequências em diferentes cromossomos é o arranjo mais comum nos peixes (Martins e Galetti Junior 2001; Martins e Wasko 2004). Segundo Martins e Galetti (1999), quando os genes 45S e 5S estão ligados em um mesmo cromossomo podem ocorrer interferências disruptivas, como translocações do 5S para o 45S, o que poderia explicar o arranjo separado ser o mais comum nos vertebrados. Entretanto, casos de localização sintênica destas sequências são relatados em várias espécies de peixes neotropicais (Kavalco et al. 2004; Bellafronte et al. 2005; Mariotto et al. 2011, Bueno et al. 2014, entre outros). Em Pimelodidae, sintenia do DNAr 5S e 18S estão restritas a *P. britskii* (Moraes-Neto 2011; presente estudo) e *P. maculatus* do presente estudo, o que pode indicar uma condição derivada e possível proximidade filogenética entre estas espécies, corroborando as análises taxonômicas realizadas por Rocha (2012).

Pimelodus maculatus é uma espécie amplamente distribuída ao longo dos rios La Plata, São Francisco, Paraná e Uruguai (Rocha 2012). Estudos citogenéticos estão disponíveis para várias populações e mostram manutenção do número diplóide com variação na fórmula cariotípica. Segundo Ferreira et al. (2014), estas variações são sutis e podem ser relacionadas a diferentes padrões de condensação das preparações

cromossômicas ou devido a fixação de rearranjos cromossômicos distintos durante o processo evolutivo de cada população. A população do rio Ijuí aqui estudada apresenta fórmula cariotípica e padrão de distribuição da heterocromatina semelhante à população do Lago Guaíba estudada por Treco et al. (2008), o que pode indicar história evolutiva próxima entre elas. Nos exemplares do rio Ijuí, o DNAr 5S foi localizado na posição terminal do braço longo de um par de cromossomos subtelocêntricos, e pela primeira vez foi observado caso de sintenia com o DNAr 18S em *P. maculatus*. Populações do Alto rio Paraná estudadas por Ferreira et al. (2014) também apresentam um único par com sítios de DNAr 5S. Garcia e Moreira-Filho (2008) realizaram estudos citogenéticos na população de *P. maculatus* do rio São Francisco e observaram o DNAr 5S em três pares de cromossomos. Estas diferenças na quantidade e no arranjo dos sítios de DNAr 5S podem indicar a existência de um complexo de espécies. Segundo Ferreira et al. (2014), apesar de não serem diferenciadas morfológicamente as populações das bacias do Alto rio Paraná e do rio São Francisco, os dados de PCR-RFLP e sequenciamento genético indicam a existência de grupos geneticamente distintos, mas relacionados entre si, o que corrobora a hipótese acima.

A população de *P. mysterious* do presente estudo possui $2n=56$ cromossomos ($28m + 10sm + 2st + 16a$), RONS simples no braço longo de um par subtelocêntrico, blocos heterocromáticos pálidos na região dos centrômeros com blocos conspícuos na região dos telômeros e centrômeros de alguns cromossomos. Estes resultados, exceto pelo número diplóide, diferem do reportado por Souza et al. (2003) para a população de *P. mysterious* do rio Paraguai, que apresenta $26m + 20sm + 2st + 8a$, AgRONS simples no braço curto de um par subtelocêntrico e heterocromatina pálida na região dos telômeros. Estas diferenças podem sugerir a existência de um complexo de espécies.

Pimelodus microstoma (citada como *P. heraldoi*) e *P. paranaensis* estudados por Treco e Dias (2009), pertencem à mesma população do presente estudo. Os autores relataram fórmula cariotípica com $18 m + 24 sm + 6 st + 8 a$ em *P. microstoma*, diferente do encontrado em nosso estudo ($24 m + 18 sm + 8 st + 6 a$), esta variação na composição cariotípica, possivelmente é resultado de diferenças na condensação cromossômica e não representa uma alteração real.

Quanto à distribuição da heterocromatina as espécies de *Pimelodus* aqui estudadas seguem o padrão encontrado nas espécies de Pimelodidae, ou seja, pouca quantidade de heterocromatina distribuída na região dos telômeros e centrômeros, com algumas marcações intersticiais/pericentroméricas (Tabela 4). O padrão de

heterocromatina permite distinguir as espécies de *Pimelodus* aqui estudadas, com exceção de *P. absconditus* e *P. microstoma* que possuem padrões bem semelhantes entre si. *Pimelodus britskii* possui bandas na região pericentromérica do braço curto do segundo par de cromossomos metacêntricos, marcação que também é observada em *P. paranaensis*; entretanto, em *P. paranaensis* existe grande quantidade de pares com bandas teloméricas, o que não ocorre em *P. britskii*, permitindo assim, distinguir estas espécies através desse marcador. *Pimelodus mysteriosus* possui grande quantidade de blocos heterocromaticos nos cromossomos acrocêntricos, o que permite distingui-la das demais espécies do presente estudo. Em *P. maculatus* são observadas bandas na região pericentromérica do braço curto no primeiro par de cromossomos, o que permite distinguir das demais espécies aqui estudadas. *Pimelodus ortmanni* possui padrão de heterocromatina semelhante a *P. microstoma* e *P. absconditus*, sendo diferenciada destas pela ausência de um par de cromossomos submetacêntricos com bandas biteloméricas. Em *P. microstoma*, *P. absconditus*, *P. ortmanni*, *P. paranaensis* e *P. maculatus* foi observada a presença de um par de cromossomos metacêntricos com bandas biteloméricas conspícuas. Segundo Garcia e Moreira-Filho (2005), isto tem sido evidenciado em algumas espécies de Pimelodidae e Heptateridae, indicando que este par de cromossomos pode representar um marcador citotaxonômico para estas famílias.

Pimelodus britskii e *P. ortmanni* são espécies simpátricas e endêmicas da bacia do rio Iguaçu, ambas possuem $2n=56$ cromossomos, fórmula cariotípica composta por $24m+18sm+8st+6a$, e RONS simples em um par subtelocêntrico; entretanto, outras características citogenéticas possibilitam diferenciá-las. *Pimelodus britskii* não possui cromossomos B; apresenta heterocromatina na região pericentroméricas do braço curto no par 2 e sítios de DNAr 5S em três pares de cromossomos, sendo o par 23 sintênico ao DNAr 18S. *Pimelodus ortmanni* possui cromossomos B; bandas biteloméricas conspícuas no par 5 e o DNAr 5S está restrito a um par de cromossomos (par 18).

Cromossomos B estão presentes em alguns indivíduos de algumas populações em algumas espécies, são cromossomos adicionais dispensáveis que provavelmente se originaram a partir dos cromossomos do complemento A, mas seguem um caminho evolutivo próprio (Beukeboom 1994). São encontrados nos principais grupos de animais e plantas (Camacho et al. 2000). *Pimelodus ortmanni* apresentou cromossomos B na forma de microcromossomos e alguns acrocêntricos, variando em número de 0 a 4 cromossomos por célula, ocorrendo em mais de 91% das células analisadas, sendo que um cromossomo B foi o número mais frequente (30,6%). Segundo Camacho et al.

(2000), a frequência destes cromossomos em populações naturais depende do quanto a espécie pode tolerar estes elementos adicionais e da força do mecanismo de acumulação; já o número máximo de cromossomos B que a espécie é capaz de tolerar depende da intensidade de fatores seletivos (ambientais), históricos (número de gerações desde a origem do B), fatores de transmissão e fatores aleatórios (ação da deriva genética).

Os cromossomos B em *P. ortmanni* se mostraram totalmente heterocromáticos, sendo esta característica observada na maioria dos casos (Camacho et al 2000). Em Pimelodidae estes cromossomos foram relatados em *Bergiaria westermanni* (Lütken, 1874) (Dias e Foresti 1993), *I. labrosus* (Carvalho e Dias 2005; Carvalho et al. 2004; Vissoto et al. 1999), *Megalonema platanum* (Günther, 1880) (Carvalho et al. 2011), *Pimelodus ortmanni* e *Pimelodus* sp. (Borin e Martins-Santos 2004).

Steindachneridium é considerado, uma das linhagens basais de Pimelodidae (Lundberg et al. 2011; 2012). Dados citogenéticos sobre espécies deste gênero mostram o número diplóide de 56 cromossomos; RONS simples na região telomérica do braço curto de um par de cromossomos correspondente ao DNAr 18S e DNAr 5S na região intersticial ou subterminal de um par de cromossomos submetacêntricos (Swarça 2005a, 2009; Matoso et al. 2011; Moraes-Neto et al. 2011), e devido a ancestralidade do gênero, estes caracteres podem representar a condição basal para Pimelodidae. Os estudos citogenéticos nesta família mostram que as características acima descritas para espécies de *Steindachneridium* são reportadas na maioria das espécies analisadas citogeneticamente, o que suporta a hipótese acima. As variações encontradas nas espécies dos subclados "*Iheringichthys-Parapimelodus*" e "*Pimelodus maculatus*" possivelmente refletem uma evolução cariotípica divergente dos demais Pimelodidae.

Os resultados do presente estudo fornecem informações que permitem estabelecer relações entre os grupos taxonômicos de Pimelodidae, estas relações auxiliam na compreensão da história evolutiva e na sistemática deste grupo de peixes.

Agradecimentos

Os autores agradecem 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. Este estudo foi financiado pela Fundação Araucária (Fundação Araucária de Apoio e Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Estado do Paraná), CAPES

(Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Ensino Superior) e CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico).

Referências

- Baumgartner G, Pavanelli CS, Baumgartner D, Bifi AG, Debona T, Frana VA (2012) Peixes do Baixo rio Iguaçu. Eduem, Maringa
- Bellafronte E, Margarido VP, Moreira-Filho, O (2005) Cytotaxonomy of *Parodon nasus* and *Parodon tortuosus* (Pisces, Characiformes). A case of synonymy confirmed by cytogenetic analyses. *Genet Mol Biol* 28:710–716
- Bertollo LAC, Takahashi CS, Moreira-Filho O (1978) Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). *Braz J Genet* 1:103–120
- Beukeboom LW (1994) Bewildering Bs: an impression of the 1st B-Chromosome Conference. *Heredity* 73:328–336
- Borin LA, Martins-Santos IC (2002) Cytogenetic aspects in species of the genus *Pimelodus* (Pisces, Siluriformes, Pimelodidae) of the river Paraná Basin. *Cytologia* 67:199–204
- Borin LA, Martins-Santos IC (2004) Study on karyotype and occurrence of B chromosomes in two endemic species of the genus *Pimelodus* (Siluriformes, Pimelodidae) from the river Iguaçu. *Hereditas* 140:201–209
- Bueno V, Venere PC, Konerat JT, Zawadzki CH, Vicari MR, Margarido VP (2014) Physical Mapping of the 5S and 18S rDNA in Ten Species of *Hypostomus Lacépède 1803* (Siluriformes: Loricariidae): Evolutionary Tendencies in the Genus. *Sci World J* 2014:1–8
- Camacho JP, Sharbel TF, Beukeboom LW (2000) B-chromosome evolution. *Phil Trans R Soc Lond B* 355:163–178
- Carvalho RA, Giuliano-Caetano L, Dias AL (2004) Cytogenetic Analysis of A- and B-Chromosomes of *Iheringichthys labrosus* (Pisces, Pimelodidae) from the Tibagi River, Paraná, Brazil. *Cytologia* 69:381–385
- Carvalho RA, Dias AL (2005) Karyotypic characterization of *Iheringichthys labrosus* (Pisces, Pimelodidae): C-, G- and restriction endonuclease banding. *Genet Mol Res* 4:663–667
- Carvalho RA, Dias, AL (2007) Interindividual size heteromorphism of NOR and chromosomal location of 5S rRNA genes in *Iheringichthys labrosus*. *Braz Arch Biol Technol* 50:141–1467
- Carvalho RA, Laudicina A, Giuliano-Caetano L, Martins-Santos IC, Dias AL (2010) Cytogenetic analysis of the 18S, 5S rDNA and B chromosome of *Iheringichthys labrosus* (Lütken, 1874) (Siluriformes, Pimelodidae). *Brazil J Biol* 70:631–636
- Carvalho RA, Sanchez S, Swarça AC, Fenocchio AS, Martins-Santos IC, Dias AL (2011) Chromosomal analyses in *Megalonema platanum* (Siluriformes: Pimelodidae), an endangered species from South American rivers. *Neotrop Ichthyol* 9:177–182

- Dias AL, Foresti F (1993) Cytogenetic studies on fishes of the family Pimelodidae (Siluroidei). *Braz J Genet* 3:585–600
- Eigenmann CH, Eigenmann RS (1890) A revision of the South America Nematognathi or catfishes. *Occas pap Calif Acad Sci* 1:1–508
- Eschmeyer WN (2015) (ed) *Catalog of fishes: genera, species, references*. IOP Publishing PhysicsWeb.
<http://research.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>. Accessed 13 January 2015
- Fenocchio AS (1993) Cromossomos supranumerários no gênero *Rhamdia* (Pisces). Caracterização cromossômica e considerações sobre a evolução cariotípica nos Siluroidei. PhD Thesis, Universidade de São Paulo
- Fenocchio AS, Bertollo LAC (1992) Karyotype similarities among Pimelodidae (Pisces, Siluriformes) from the Brazilian Amazon region. *Cytobios* 69:41–46
- Ferraris CJ (2007) Checklist of catfishes, recent and fossil (Osteichthyes: Siluriformes), and catalogue of siluriform primary types. *Zootaxa* 1418:1–628
- Ferreira M, Bressane KCO, Moresco ARC, Moreira-Filho O, Almeida-Toledo LF, 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. *Genet Mol Res* 13:4529–4544
- 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. *Neotrop Ichthyol* 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. *Genet Mol Biol* 31:261–264
- Griffiths SP (2000) The use of clove oil as an anaesthetic and method for sampling intertidal rockpool fishes. *J Fish Biol* 57:1453–1464
- Gonçalves ÁLM, do Prado FD, Ferreira DC, Voltolin TA, Senhorini JA, Foresti F, Porto-Foresti F (2014) First cytogenetic characterization of the giant Amazonian catfish *Brachyplatystoma filamentosum* (Siluriformes, Pimelodidae). *Caryologia* 67:101–105
- Hatanaka T, Galetti-Junior 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 I-step method. *Experientia* 36:1014–1015
- Kavalco KF, Pazza R, Bertollo LAC, Moreira-Filho O (2004) Gene mapping of 5S rDNA sites in eight fish species from the Paraíba do Sul river basin, Brazil. *Cytogenet Genome Res* 106:107–110
- Levan A, Fredga K, Sandberg AA (1964) Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52:201–220

- Lui RL, Blanco DR, Margarido VP, Moreira-Filho O (2010) Chromosome characterization and biogeographic relations among three populations of the driftwood catfish *Parauchenipterus galeatus* (Linnaeus, 1766) (Siluriformes: Auchenipteridae) in Brazil. *Biol J Linn Soc* 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. *Biotech Histochem* 87:433–438
- Lundberg JG, Littmann MW (2003) Family Pimelodidae (Long-whiskered catfishes). In: Reis RE, Kullander SO, Ferraris CJ (eds) Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America, Edipucrs, Porto Alegre, pp 432–446
- Lundberg JG, Sullivan JP, Hardman M (2011) Phylogenetics of the South American catfish family Pimelodidae (Teleostei: Siluriformes) using nuclear and mitochondrial gene sequences. *Proc Acad Nat Sci Philadelphia* 161:153–189
- Lundberg JG, Covain R, Sullivan JP, Fisch-Muller S (2012) Phylogenetic position and notes on the natural history of *Pimelabditus moli* Parisi & Lundberg, 2009 (Teleostei: Siluriformes), a recently discovered pimelodid catfish from the Maroni River basin. *Cybiurn* 36:105–114
- Margarido VP, Moreira-filho O (2008) Karyotypic differentiation through chromosome fusion and number reduction in *Imparfinis hollandi* (Ostariophysi, Heptapteridae). *Genet Mol Biol* 31:235–238
- Mariotto S, Centofante L, Vicari MR, Artoni RF, Moreira-Filho O (2011) Chromosomal diversification in ribosomal DNA sites in *Ancistrus Kner*, 1854 (Loricariidae, Ancistrini) from three hydrographic basins of Mato Grosso, Brazil. *Comp Cytogen* 5:289–300
- Martins C, Galetti-Junior PM (1999) Chromosomal localization of 5S rDNA genes in *Leporinus* fish (Anostomidae, Characiformes). *Chromosome Res* 7:363–367
- Martins C, Galetti Junior PM (2001) Two 5S rDNA arrays in Neotropical fish species: is it a general rule for fishes? *Genetica* 111:439–446
- Martins C, Wasko A (2004) Organization and evolution of 5S ribosomal DNA in the fish genome. In: Williams CR (ed) *Focus on Genome Research*, Nova, New York, pp 335–363
- Martins-Santos IC, Julio-Junior HF, Burin I (1996) Karyotypic studies of four species of the Sorubiminae subfamily (Pisces, Siluriformes). *Caryologia* 49:73–80
- Matoso DA, de Almeida Val VMF, da Silva M, Moraes-Neto A, Almeida MC, Vicari MR, Moreira-Filho O, Artoni RF (2011) Chromosomal polymorphism in *Steindachneridion melanodermatum* Garavello, 2005 (Siluriformes, Pimelodidae): a reappraisal the existence of sex chromosome system in the species. *Rev Fish Biol Fisheries* 21:497–508
- Mazzuchelli J, Swarça AC, Dias AL (2007) Structural chromosome polymorphism in a *Pimelodus maculatus* La Cepède, 1803 population (Siluriformes, Pimelodidae) from the Paranapanema River Basin, PR, Brazil. *Brazil J Biol* 67:395–937
- Moraes-Neto A, Silva M, Matoso DA, Vicari MR, de Almeida MC, Collares-Pereira MJ, Artoni RF (2011) Karyotype variability in neotropical catfishes of the family Pimelodidae (Teleostei: Siluriformes). *Neotrop Ichthyol* 9:97–105

- Nirchio M, Mujica A, Oliveira C, Granado A, Mora J, Hett AK, Rossi AR, Milana V, Sola L (2013) *Pseudoplatystoma metaense* and *P. orinocoense* (Siluriformes: Pimelodidae) from the Orinoco basin, Venezuela: cytogenetic and molecular analyses. *Ital J Zool* 80:526–535
- Nirchio M, Rossi AR, Foresti F, Oliveira C (2014) Chromosome evolution in fishes: a new challenging proposal from Neotropical species. *Neotrop Ichthyol* 12:761–770
- Pinkel D, Straume T, Gray JW (1986) Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:2934–2938
- Porto-Foresti F, Andreatta AA, Oliveira C, Foresti F (2000) The karyotype of *Pseudoplatystoma fasciatum* from the Rio Paraguay basin (Teleostei, Siluriformes). *Chrom Sci* 4:99–102
- Ramirez-Gil H, Feldberg E, Almeida-Val VMF, Val AL (1998) Karyological, biochemical, and physiological aspects of *Callophysus macropterus* (Siluriformes, Pimelodidae) from the Solimões and Negro rivers (Central Amazon). *Braz J Med Biol Res* 31:1449–1458
- Ribeiro LB, Matoso DA, Almeida MC, Vicari MR, Moraes-Neto A, Svidnicki MCCM, Artoni RF (2008) Karyotypic variability in *Iheringichthys labrosus* (Teleostei, Pimelodidae) from the Tibagi River basin (Parana State, Brazil). *Genet Mol Res* 7:718–724
- Ribeiro FRV, Lucena CAS, Oyakawa OT (2011) A new species of *Pimelodus* La Cépède, 1803 (Siluriformes: Pimelodidae) from rio Ribeira de Iguape basin, Brazil. *Neotrop Ichthyol* 9:127–134
- Rocha MS (2012) Sistemática da família Pimelodidae Swainson, 1838 (Teleostei: Siluriformes). Tese, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
- Sánchez S, Fenocchio AS, Jorge LC (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* 2000, UNNE, IOP Publishing PhysicsWeb: http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/2000/4_veterinarias/v_pdf/v_050.pdf Accessed 29 January 2015
- Sanchez S (2006) Estudios citogeneticos em peces de la familia Pimelodidae (Pisces, Siluriformes) de la cuenca del rio Paraná, Argentina. Dissertation, Universidad Nacional de Córdoba
- Sanchez S, Swarça AC, Fenocchio AS (2014) Cytogenetics analyses among populations of the fish *Iheringichthys labrosus* (Kröyer, 1874) (Siluriformes, Pimelodidae). Karyotype analysis, C- banding and AgRONS distribution. *Brazil J Biol* 74:212–216
- Sczepanski TS, Vicari MR, de Almeida MC, Nogaroto V, Artoni RF (2013) Chromosomal Organization of Repetitive DNA in *Sorubim lima* (Teleostei; Pimelodidae). *Cytogenet Genome Res* 141:309–316
- Souza Lde, Giuliano-Caetano L, Dias AL (2003) Karyotypic Study of Three Species of *Pimelodus* (Pisces, Pimelodidae) from the Paraguai River Basin. *Cytologia* 68:345–350

- Souza Lde, Giuliano-Caetano L, Dias AL (2004) Banding chromosome pattern of two species of *Pimelodus* (Siluriformes, Pimelodidae) from the Paraná river basin of Brazil. *Folia Biol* 52:165–169
- Sumner AT (1972) A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp Cell Res* 75:304–306
- Swarça AC, Giuliano-Caetano L, Dias AL (1999) Cytogenetic characterization through chromosomic banding of *Pinirampus pirinampus* (Pisces, Pimelodidae) from the Tibagi River basin PR, Brazil. *Caryologia* 52:31–35
- Swarça AC., Giuliano-Caetano L, Dias AL (2001a) Analyses of nucleolus organizer regions and heterochromatin of *Pimelodus maculatus* (Pisces, Pimelodidae). *Genetica* 110:97–100
- Swarça AC, Cestari MM, Giuliano-Caetano L, Dias AL (2001b) Cytogenetic characterization of the large South American siluriform fish species *Zungaro zungaro* (Pisces, Pimelodidae). *Chrom Sci* 5:51–55
- Swarça AC, Giuliano-Caetano L, Vanzela ALL, Dias AL (2001c) Heteromorphism of rRNA genes in *Pinirampus pirinampu* (Pisces, Pimelodidae) detected by in situ hybridization. *Cytologia* 66:275–278
- Swarça AC, Fenocchio AS, Cestari MM, Dias AL (2005a) First chromosome data on *Steindachneridion scripta* (Pisces, Siluriformes, Pimelodidae) from Brazilian Rivers: Giemsa, CBG, G- and RE banding. *Genet Mol Res* 4:734–7417
- Swarça AC, Fenocchio AS, Cestari MM, Dias AL (2005b) Karyotype divergence among populations of giant catfish *Pseudoplatystoma corruscans* (Teleostei: Pimelodidae) indicates higher species diversity. *Ichthol Explor Fresh* 16:325–330
- Swarça AC, Fenocchio AS, Cestari MM, Bertollo LAC, Dias AL (2006) Heteromorphic sex chromosome system with an exceptionally large Y chromosome in a catfish *Steindachneridion* sp. (Pimelodidae). *Cytogenet Genome Res* 112:325–328
- Swarça AC, Fenocchio AS, Dias AL (2007) An update Cytogenetic Review for Species of the Families Pseudopimelodidae, Pimelodidae and Heptapteridae (Pisces, Siluriformes). Suggestion of a Cytotaxonomical Classification. *Caryologia* 60:338–348
- Swarça AC, Fenocchio AS, Cestari MM, Dias AL (2008) Analyses of the Structure of NORs in Two Species of South American Sorubiminae Fishes (Siluriformes) by Means of Several Cytogenetic Techniques. *Folia Biol* 56:31–35
- Swarça AC, Fenocchio AS, Cestari MM, Dias AL (2009) Localization and characterization of the 5S rDNA bearing chromosome in two *Steindachneridion* species by means of different cytogenetic techniques. *Cytologia* 74:323–327
- Swarca AC, Sanchez S, Dias AL, Fenocchio AS (2013) Cytogenetics of the Porthole Shovelnose Catfish, *Hemisorubim platyrhynchos* (Valenciennes, 1840) (Siluriformes, Pimelodidae), a widespread species in South American rivers. *Comp Cytogen* 7:1–8
- Treco FR, Malabarba LR, Giuliano-Caetano L, Dias AL (2008) Cytogenetic study of two species of the family Pimelodidae (Siluriformes) collected in lago Guaíba, Rio Grande do Sul, Brazil. *Neotrop Ichthyol* 6:87–92

- Treco FR, Dias, AL (2009) Karyotypes of Two Species of the Genus *Pimelodus* (Siluriformes, Pimelodidae). *Folia Biol (Kraków)* 57:43–48
- Vasconcelos Cde, Martins-Santos IC (2000) Chromosome polymorphism in species of the Pimelodidae family (Pisces, Siluriformes). *Hereditas* 132:103–109
- Vissoto PC, Foresti F, Oliveira C (1999) Supernumerary chromosomes in two species of the family Pimelodidae (Teleostei, Siluriformes). *Chrom Sci* 3:9–13

Tabela 1 Espécies coletadas de *Pimelodus*, local de coleta, coordenadas geográficas, número de espécies analisadas por sexo e número do depósito.

Espécie	Localidade	Bacia	Coordenada Geográfica	♂	♀	I	NUP
<i>Pimelodus absconditus</i>	Rio Ijuí, RS	Alto rio Uruguai	28°18'06.3"S 53°53'33.6"O	17	6	1	17259, 17264
<i>Pimelodus britskii</i>	Rio Iguaçu, PR	Baixo rio Iguaçu	25°37'13.20"S 54°23'29.20"O	2	8	1	17260, 17265, 17266, 17269
<i>Pimelodus maculatus</i>	Rio Ijuí, RS	Alto rio Uruguai	28°18'06.3"S 53°53'33.6"O	1	3	-	17263
<i>Pimelodus microstoma</i>	Rio Piquiri, PR	Alto rio Paraná	24°56'54"S 52°35'49"O	4	9	-	14938
<i>Pimelodus mysteriosus</i> *	Rio Iguaçu, PR	Médio rio Paraná	25°39'02"S 54°27'25"O	1	-	-	16111
<i>Pimelodus ortmanni</i>	Rio Iguaçu, PR	Baixo rio Iguaçu	25°37'13.20"S 54°23'29.20"O	5	4	1	17261, 17267, 17270, 17271
<i>Pimelodus paranaensis</i>	Rio Piquiri, PR	Alto rio Paraná	24°56'54"S 52°35'49"O	-	2	-	14936, 17274

* população jusante às Cataratas do Iguaçu. I: sexo indeterminado

Tabela 2 Dados citogenéticos obtidos no presente estudo para as espécies de *Pimelodus*.

Espécies	Fórmula Cariotípica	Heterocromatina	AgRONS/ DNAr 18S	DNAr 5S
<i>P. absconditus</i>	24m + 18sm + 8st + 6a	Centromérica, pericentromérica e telomérica	tel q (24)	peri q (18)
<i>P. britskii</i>	24m + 18sm + 8st + 6a	Pericentromérica e telomérica	tel q (23)	peri q (17); tel q (23); tel q (28)
<i>P. maculatus</i>	24m + 20sm + 10st + 2a	Centromérica, pericentromérica e telomérica	tel q (23)	tel q (23)
<i>P. microstoma</i>	24m + 18sm + 8st + 6a	Centromérica, pericentromérica e telomérica	tel q (24)	peri q (18)
<i>P. mysteriosus</i>	28m + 10sm + 2st + 16a	Centromérica, intersticial, pericentromérica e telomérica	tel q (20)	inter q (1); peri q (21); peri q (22)
<i>P. ortmanni</i>	24m + 18 sm + 8st + 6a	Centromérica, pericentromérica e telomérica	tel q (24)	peri q (18)
<i>P. paranaensis</i>	22m + 22sm + 4st + 8a	Centromérica, pericentromérica e telomérica	tel q (24)	peri p (13); peri q (18); tel q (26)

p: braço curto; q: braço longo; tel: telomérica; peri: pericentromérica; inter: intersticial

Tabela 3 Frequência de cromossomos B em *Pimelodus ortmanni* do rio Iguaçu.

Indivíduo	Sexo	0	1	2	3	4	Total	Células com B (%)
3000	Fêmea	-	19	-	-	-	19	100
3001	Macho	4	3	-	-	-	7	42,9
3084	Macho	3	5	1	-	-	9	66,7
3143	Macho	-	2	-	4	9	15	100
3146	Fêmea	-	6	-	1	-	7	100
3151	Fêmea	-	2	13	-	-	15	100
3276	Macho	-	27	17	5	18	67	100
3281	Macho	13	9	3	-	-	25	48
3287	Indeterminado	-	-	21	37	2	60	100
3288	Fêmea	-	2	4	15	-	21	100
Total (%)		20 (8,2)	75 (30,6)	59 (24,1)	62 (25,3)	29 (11,8)	245	

Tabela 4 Revisão dos estudos citogenéticos em Pimelodidae.

Gênero / Espécie	Local	BH	2n	Fórmula cariotípica	B	DNAr 18s	RONs	DNAr 5s	Heterocromatina	Ref
Bergiaria										
<i>B. westermanni</i>	R. São Francisco, MG	SF	56	42m/sm+14st	0-5		q, t, st-a			1
Brachyplatystoma										
<i>B. filamentosum</i>	R. Araguaia, GO	TA	56	24m+12sm+10st+10a		p, t, st	p, t, st	p peri st	Pericentromérica e telomérica	2
Calophysus										
<i>C. macropterus</i>	R. Negro/ R. Solimões, AM	AM	50	22m+18sm+10a			p, a			3
Hemisorubim										
<i>H. platyrhynchos</i>	R. Paraná, PR	AP	56	22m+18sm+6st+10a			p, t, sm		Intersticial, pericentromérica e telomérica	4
<i>H. platyrhynchos</i>	Rio Paraná, Corrientes, ARG	BP	56	22m+16sm+10st+8a		p, t, st	p, t, st		Pericentromérica e grande bloco p e q	5
<i>H. platyrhynchos</i>	Rio Miranda, MS	P	56	22m+16sm+10st+8a		p, t, st	p, t, st		Pericentromérica e grande bloco p e q	5
Iheringichthys										
<i>I. labrosus</i>	R. Tibagi, PR (Londrina)	AP	56	32m+8sm+6st+10a	0-3	q, t, st	q, t, st	q inter st	Telomérica	6
<i>I. labrosus</i>	R. Tibagi, PR (Reserv. Capivara)	AP	56	26m+12sm+6st+12a	0-1	q, t, st	q, t, st	q, t, st-a	Telomérica	7
<i>I. labrosus</i>	Reserv. Jurumirim, SP	AP	56	22m+18sm+10st+6a	0-2				Intersticial e telomérica	8
<i>I. labrosus</i>	Rio Guaraúna	AP	56	14m+32sm+4st+6a			p, t, sm		Centromérica e telomérica	9
<i>I. labrosus</i>	Rio Paraná, ARG (7 localidades)	BP	56				q, t, sm		Centromérica e telomérica	10

Gênero / Espécie	Local	BH	2n	Fórmula cariotípica	B	DNAr 18s	RONs	DNAr 5s	Heterocromatina	Ref
<i>Luciopimelodus</i>										
<i>L. pati</i>	R. Paraná, Corrientes, ARG	AP	50	16m+14sm+8st+12a			p, t, a			11
<i>Megalonema</i>										
<i>M. platanum</i>	R. Paraná, ARG	BP	54	24m+16sm+2st+12a		p, t, sm	p, t, sm		Intersticial e telomérica	12
<i>M. platanum</i>	R. Tibagi, PR	AP	54	24m+16sm+2st+12a	0-1	p, t, sm	p, t, sm		Telomérica e intersticial	12
<i>M. platanum</i>	R. Paraná, Corrientes, ARG	BP	54	14m+18sm+12st+10a			p, t, sm			11
<i>Parapimelodus</i>										
<i>P. nigribarbis</i>	Lago Guaíba (RS)		56	20m+20sm+4st+12a			q, st,			13
<i>Pimelodus</i>										
<i>P. absconditus</i>	R. Paraná, Porto Rico/PR	AP	56	24m+18sm+8st+6a			q, t, st		Centromérica, intersticial e telomérica	14
<i>P. argenteus</i>	R. Paraguai, MS	P	56	24m+16sm+12st+4a			p, t, st		Telomérica	15
<i>P. blochii</i>			56	18m+16sm+10st+12a						16
<i>P. britskii</i>	R. Iguazu	AP	56	24m+18sm+8st+6a		q, t, st	q, t, st	p inter sm, q t st	Centromérica e telomérica	17
<i>P. fur</i>	R. São Francisco, MG	SF	54	32m+8sm+6st+8a		q, t, sm		q inter m, q peri sm		18
<i>P. maculatus</i>	R. São Francisco, MG	SF	56	32m+12sm+12st		q, t, sm		q inter m, q t sm, q peri sm		18

Gênero / Espécie	Local	BH	2n	Fórmula cariotípica	B	DNAr 18s	RONs	DNAr 5s	Heterocromatina	Ref
<i>P. maculatus</i>	Córrego Congonhas, PR	AP	56	20m+20sm+10st+6a						19
<i>P. maculatus</i>	R. São Francisco, MG/ R. Mogi-Guaçu, SP	SF	56	40m/sm+16st/a			q, t, st-a			1
<i>P. maculatus</i>	R. Tibagi, PR	AP	56	20m+20sm+10st+6a						20
<i>P. maculatus</i>	R. Paranapanema; Jurumirim, SP	AP	56	20m+20sm+10st+6a			q, t, st		Centromérica, intersticial e telomérica	8
<i>P. maculatus</i>	R. Paraná, Porto Rico, PR	AP	56	20m+20sm+10st+6a			q, t, st		Centromérica, intersticial e telomérica	14
<i>P. maculatus</i>	Lago Guaíba (RS)		56	24m+20sm+6st+6a			q, st			13
<i>P. maculatus</i>	Angatuba, SP	AP	56	24m +22sm+8st+2a		q, t, st	q, t, st	q t st	Pericentromérica e telomérica	21
<i>P. maculatus</i>	Guapiara, SP	AP	56	28m+18sm+4st+6a		q, t, st	q, t, st	q t st	Pericentromérica e telomérica	21
<i>P. maculatus</i>	Reserv. Três Lagoas, Três Lagoas, MS	AP	56	20m+22sm+10st+4a		q, t, st	q, t, st	q t st	Pericentromérica e telomérica	21
<i>P. maculatus</i>	Terra Roxa, SP	AP	56	22m+26sm+6st+2a		q, t, st	q, t, st	q t st	Pericentromérica e telomérica	21
<i>P. microstoma*</i>	R. Tibagi, PR	AP	56	22m+22sm+6st+6a			q, t, st		Telomérica	22
<i>P. microstoma*</i>	R. Piquiri, Nova Laranjeiras, PR	AP	56	18m+24sm+6st+8a			q, t, st		Telomérica	23
<i>P. microstoma*</i>	Rio Mogi-Guaçu, Pirassununga SP	AP	56	32m+14sm+6st+4a		q, t, st	q, t, st	q peri st	Pericentromérica e telomérica	21
<i>P. mysteriosus</i>	R. Paraguai, MS	P	56	26m+20sm+2st+8a			p, t, st		Telomérica	15
<i>P. ornatus</i>	R. Paraná, Porto Rico, PR	AP	56	20m+18sm+8st+10a					Centromérica e telomérica	14

Gênero / Espécie	Local	BH	2n	Fórmula cariotípica	B	DNAr 18s	RONs	DNAr 5s	Heterocromatina	Ref
<i>P. ortmanni</i>	R. Iguçu, Reserv. Caxias, PR	AP	56	24m+18sm+8st+6a	0-4		q, t, st		Centromérica, pericentromérica e telomérica	24
<i>P. pantaneiro*</i>	R. Paraguai, MS	P	56	22m+16sm+10st+8a			q, t, st		Intersticial e telomérica	25
<i>P. paranaensis</i>	R. Piquiri, Nova Laranjeiras, PR	AP	56	22m+22sm+4st+8a			q, t, st		Telomérica	23
<i>Pimelodus</i> sp.	R. São Francisco, MG	SF	56	40m/sm+16st/a						1
<i>Pimelodus</i> sp.	R. São Francisco, MG	SF	56	32m+12sm+6st+6a		q, t, sm		q inter m, q peri sm e q peri sm		18
<i>Pimelodus</i> sp.	R. Iguçu, PR	AP	56	24m+26sm+4st+2a			q, t, st		Telomérica	22
<i>Pimelodus</i> sp.	R. Iguçu, Reserv. Caxias, PR	AP	56	30m+14sm+8st+4a	0-4		q, t, st		Centromérica, pericentromérica e terminal	24
<i>Pinirampus</i>										
<i>P. pirinampu</i>	R. Paraná, PR	AP	50	22m+12sm+4st+12a			p, t, a			26
<i>P. pirinampu</i>	R. Tibagi, PR	AP	50	26m+12sm+2st+10a			p, t, st			27
<i>P. pirinampu</i>	R. Paraná, Corrientes, ARG	AP	50	18m+14sm+4st+14a						28
<i>Pseudoplatystoma</i>										
<i>P. corruscans</i>	R. Paraná, Porto Rico, PR	AP	56	18m+16sm+10st+12a			p, t, sm		Pericentromérica e telomérica	4
<i>P. corruscans</i>	R. Tres Marias, MG	SF	56	20m+12sm+12st+12a						29
<i>P. corruscans</i>	R. Paraguai, MS	P	56	20m+16sm+8st+12a		p, t, a	p, t, a	p subt st, 1 m peri		30

Gênero / Espécie	Local	BH	2n	Fórmula cariotípica	B	DNAr 18s	RONs	DNAr 5s	Heterocromatina	Ref
<i>P. corruscans</i>	R. Paraná, Jupia, SP/ R. Paraná, PR	AP	56	26m+10sm+6st+14a		p, t, sm	p, t, sm	p subt st, 1 homólogo sm subt		30
<i>P. fasciatum</i>	R. Solimões, AM	AM	56	18m+14sm+10st+14a						31
<i>P. fasciatum</i>	R. Paraguay, MS	AP	56	20m+12sm+12st+12a			p, t, st		Telomérica e pericentromérica	32
<i>P. metaense</i>	R. Orinoco, VZ	O	56	42m/sm+14st/a		p,t, sm	p,t, sm	p, para, sm	Telomérica e pericentromérica	33
<i>P. orinocoense</i>	R. Orinoco, VZ	O	56	42m/sm+14st/a		p, t, sm	p, t, sm	p, para, sm	Telomérica e pericentromérica	33
<i>P. reticulatum</i>	Rio Paraguai	P	56	22m+20sm+6st+8a		p, t, sm	p, t, sm	p inter sm	Centromérica e telomérica	17
<i>P. tigrinum</i>	R. Solimões, AM	AM	56	18m+16sm+8st+14a						31
<i>Sorubim</i>										
<i>S. lima</i>	R. Paraná, Porto Rico, PR	AP	56	20m+14sm+10st+12a			p, t, sm		Intersticial, pericentromérica e telomérica	31
<i>S. lima</i>	R. Araguaia, Barra do Garças, MT	P	56							4
<i>S. lima</i>	Rio Paraguai	P	56	24m+16sm+8st+8a		p, t, st	p, t, st	p inter sm	Centromérica e telomérica	18
<i>S. lima</i>	Rio Paraguai	P	56	24m+16sm+8st+8a		p, t, st	p, t, st	p t e peric sm		34
<i>Steindachneridion</i>										
<i>S. melanodermatum</i>	R. Iguazu, PR	AP	56	20m+24sm+2st+10a/ 21m+23sm+2st+10a		p, t, a	p, t, a	p subt st		35; 36; 37

Gênero / Espécie	Local	BH	2n	Fórmula cariotípica	B	DNAr 18s	RONs	DNAr 5s	Heterocromatina	Ref
<i>S. melanodermatum</i>	R. Iguaçu, PR	AP	56	14 m+22sm+12st+8a		p, t, a	p, t, a	p subt st		38
<i>S. parahybae</i>	R. Paraíba do Sul		56	4m+22sm+12st+8a		p, t, sm	p, t, sm	p inter sm	Centromérica e telomérica	17
<i>S. scriptum</i>	R. Paranapanema/ R. Tibagi, PR	AP	56	24m+20sm+4st+8a		p, t, a	p, t, a	p subt st		36; 37; 39
Zungaro										
<i>Z. luetkeni</i>	R. Paraná, Foz do Iguaçu, PR	AP	56	26m+10sm+6st+14a			p, t, sm			4
<i>Z. zungaro</i>	R. Paraná, Jupiá, SP	AP	56	32m+6sm+8st+10a			p, t, sm			40

*espécie renomeada

Referências: 1 - Dias e Foresti (1993); 2 - Gonçalves et al. (2014); 3 - Ramirez-Gil et al. (1998); 4 - Martins-Santos et al. (1996); 5 - Swarça et al. (2013); 6 - Carvalho et al. (2010; 2004); 7 - Carvalho e Dias (2005;2007); 8 - Vissotto et al. (1999); 9 - Ribeiro et al. (2008); 10 - Sanchez et al. (2014); 11 - Sanchez et al. (2000); 12 - Carvalho et al. (2011); 13 - Treco et al. (2008); 14 - Borin e Martins-Santos (2002); 15 - Souza et al. (2003); 16 - Nirchio et al. (2014); 17 - Moraes-Neto et al. (2011); 18 - Garcia e Moreira Filho (2005; 2008); 19 - Mazzuchelli et al (2007); 20 - Swarça et al. (2001a); 21 - Ferreira et al. (2014); 22 - Souza et al. (2004); 23 - Treco e Dias (2009); 24 - Borin e Martins-Santos (2004); 25 - Souza et al. (2003); 26 - Vasconcelos e Martins-Santos (2000); 27 - Swarça et al. (1999;2001c); 28 - Sanchez (2006); 29 - Fenocchio (1993); 30 - Swarça et al. (2005b); 31 - Fenocchio e Bertollo (1992); 32- Porto e Foresti (2000); 33 - Nirchio et al. (2013); 34 - Sczepanski et al. (2013); 35 - Swarça et al. (2006); 36 - Swarça et al. (2008); 37 - Swarça et al. (2009); 38 - Matoso et al. (2011) ; 39 - Swarça et al. (2005a); 40 - Swarça et al. (2001b). AM: rio Amazonas; AP: Alto rio Paraná; BP: Baixo rio Paraná; O: Orinoco; P: rio Paraguai; SF: rio São Francisco; TA: rio Tocantins-Araguaia; Reserv: Reservatório; p: braço curto; q: braço longo; t: terminal; m: metacentrico; sm: submetacentrico; st: subtelocentrico; a: acrocêntrico; para: paracentromérica; peri: pericentromérica; inter: intersticial; subt: subterminal; t: telomérica.

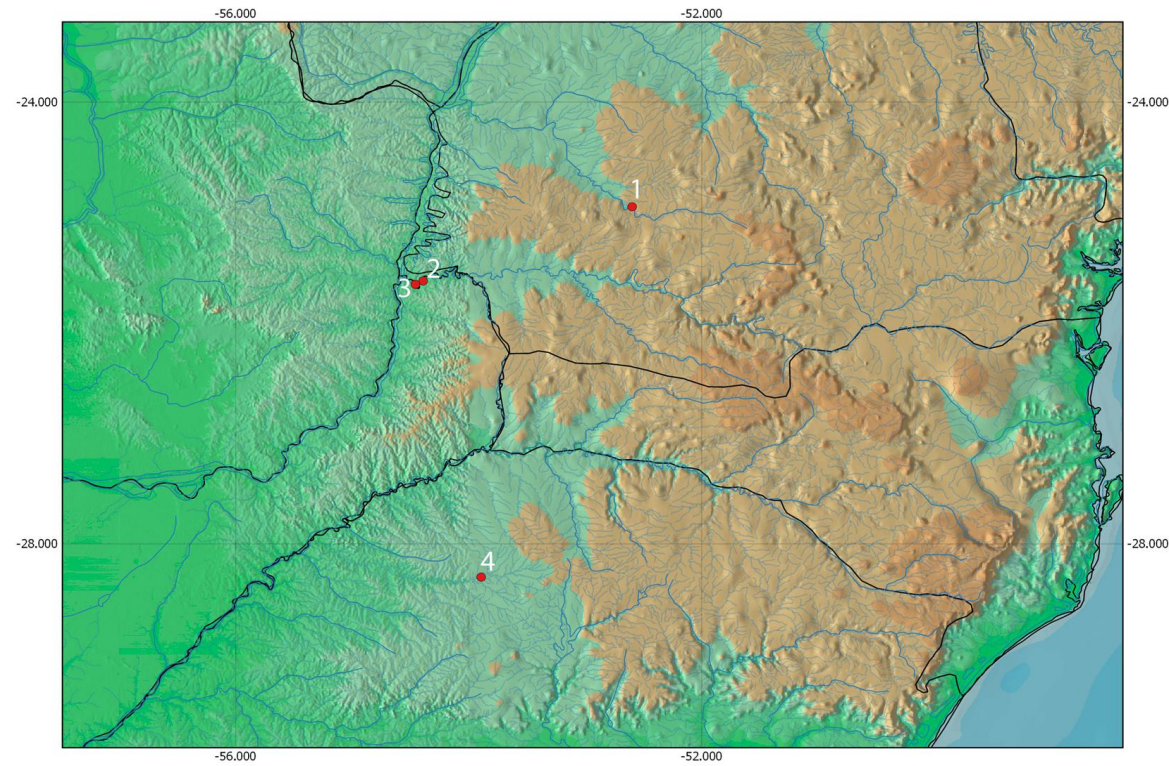


Fig. 1 Mapa dos locais de coleta dos exemplares de *Pimelodus*, (1) rio Piquiri, Bacia do Alto rio Paraná; (2) rio Iguazu, Bacia do Baixo rio Iguazu; (3) rio Iguazu - jusante às Cataratas do Iguazu, Bacia do Médio rio Paraná; (4) rio Ijuí, Bacia do Alto rio Uruguai.

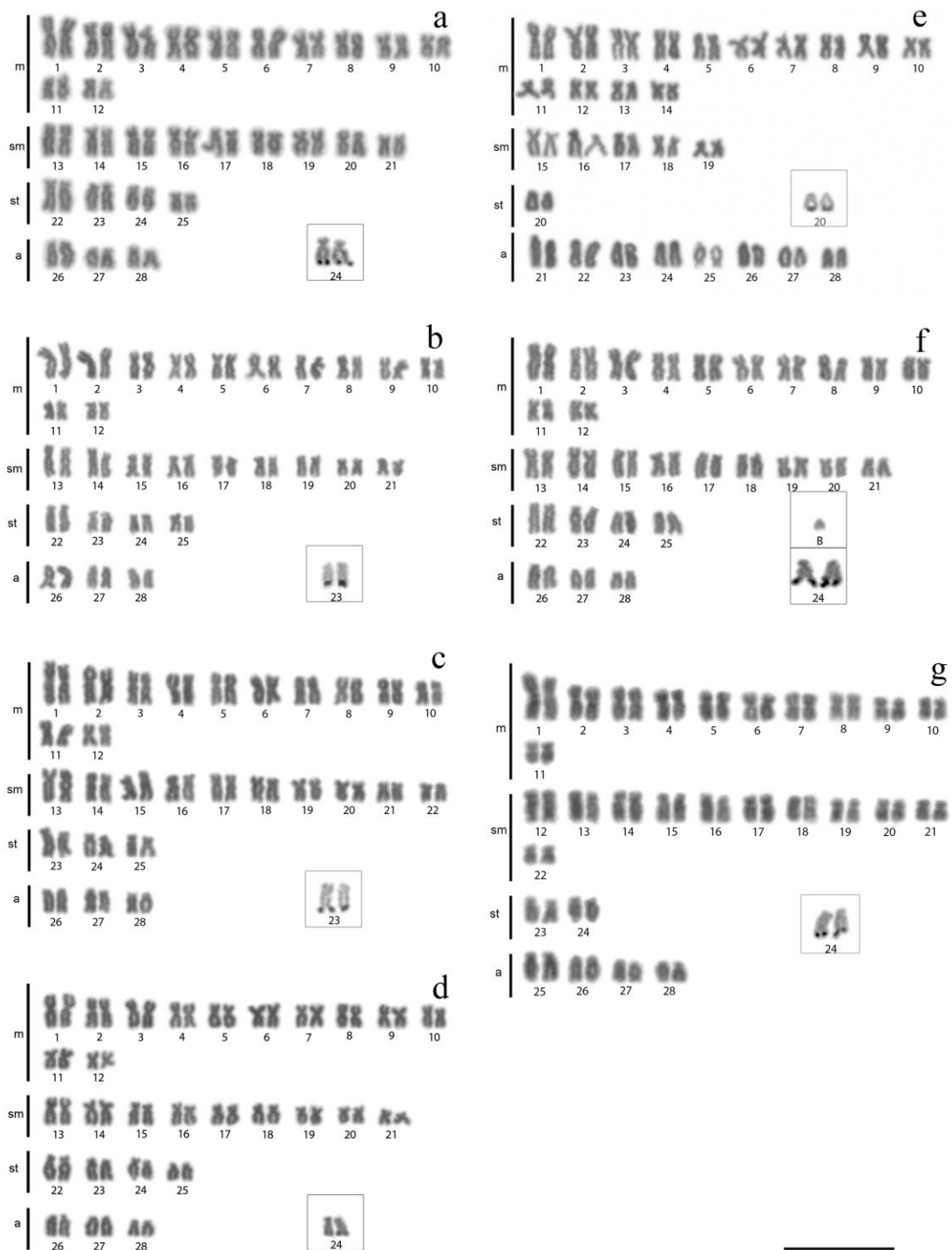


Fig. 2 Cariótipos corados com Giemsa de (a) *Pimelodus absconditus*; (b) *Pimelodus britskii*; (c) *Pimelodus maculatus*; (d) *Pimelodus microstoma*; (e) *Pimelodus mysteriosus*; (f) *Pimelodus ortmanni* e (g) *Pimelodus paranaensis*. Pares de AgRNs e cromossomos B estão nas caixas. A barra representa 10 μm.

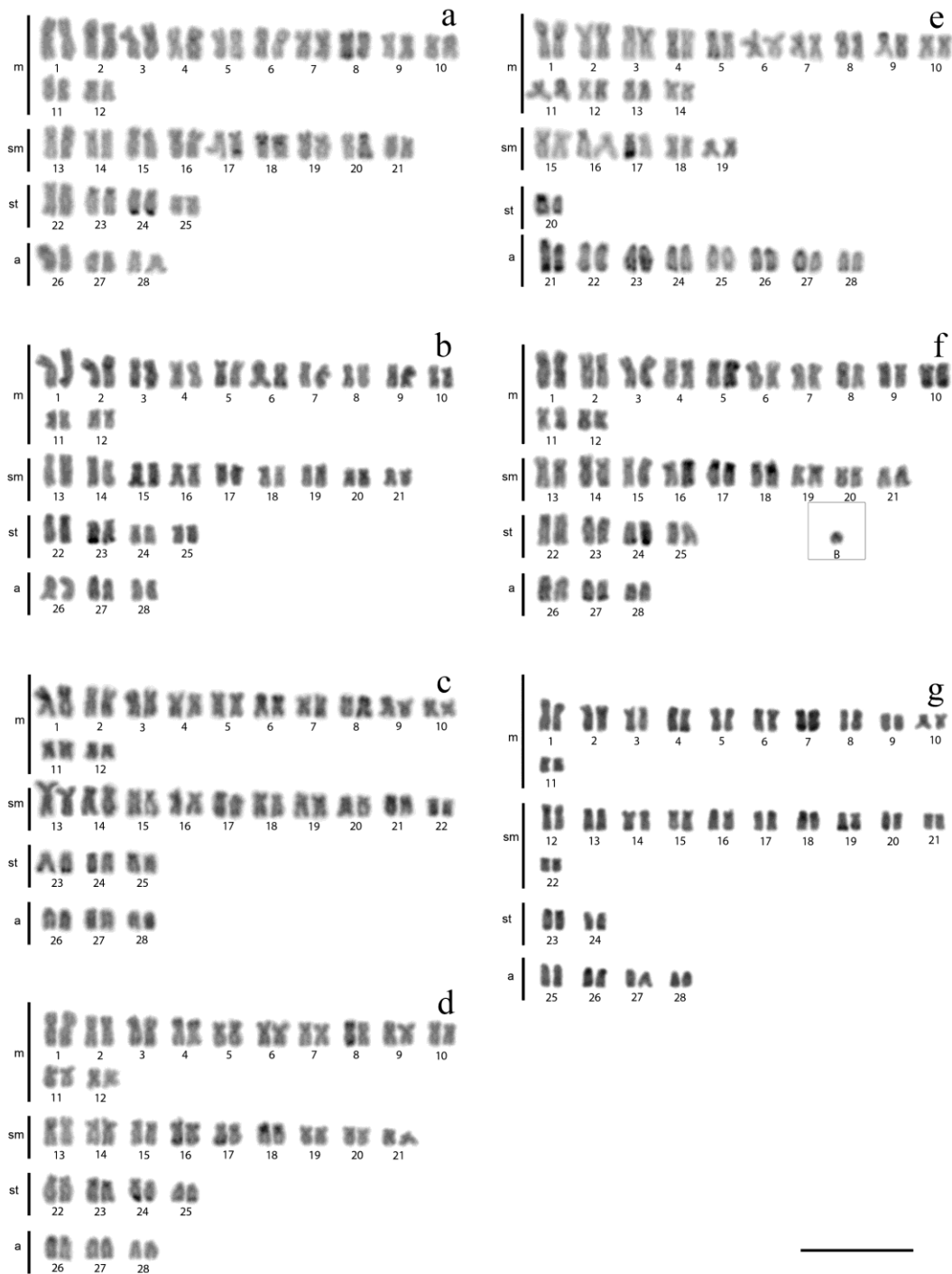


Fig. 3 Cariótipos C-bandados de (a) *Pimelodus absconditus*; (b) *Pimelodus britskii*; (c) *Pimelodus maculatus*; (d) *Pimelodus microstoma*; (e) *Pimelodus mysteriosus*; (f) *Pimelodus ortmanni* e (g) *Pimelodus paranaensis*. Cromossomos B estão nas caixas. A barra representa 10 μm.



Fig. 4 Cariótipos após a hibridização *in situ* fluorescente com sondas de DNAr 5S (rodamina, *vermelho*) e sonda de DNAr 18S (FITC, *verde*) em (a) *Pimelodus absconditus*; (b) *Pimelodus britskii*; (c) *Pimelodus maculatus*; (d) *Pimelodus microstoma*; (e) *Pimelodus mysteriousus*; (f) *Pimelodus ortmanni* e (g) *Pimelodus paranaensis*. A barra representa 10 μm .

Anexo I

Normas para publicação na revista *Environmental Biology of Fishes*

Manuscript Submission

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all co-authors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

Permissions

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

Online Submission

Authors should submit their manuscripts online. Electronic submission substantially reduces the editorial processing and reviewing times and shortens overall publication times. Please follow the hyperlink “Submit online” on the right and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

Authorship Guidelines

Authorship credit should be based on:

- 1) substantial contributions to conception and design, acquisition of data, or analysis and interpretation of data; AND
- 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content; AND
- 3) final approval of the version to be submitted for publication.

All of these conditions should be met by all authors.

Acquisition of funding, collection of data, or general supervision of the research group alone does not constitute authorship.

All contributors who do not meet the criteria for authorship should be listed in an acknowledgments section.

All authors must agree on the sequence of authors listed before submitting the article.

All authors must agree to designate one author as the corresponding author for the submission. It is the responsibility of the corresponding author to dialogue with the co-authors during the peer-reviewing and proofing stages and to also act on their behalf.

If the article is accepted for publication, after acceptance, no changes in authorship, the order of authors, or designation of the corresponding author will be permitted.

Article Types

Environmental Biology of Fishes welcomes a variety of article types.

Original Papers are original manuscripts that contain new findings in research consistent with the Journal’s aims and scope.

This would include, but is not limited to, new research findings in the fields of ecology, life history, epigenetics, behavior, physiology, morphology and evolution of marine and freshwater fishes. Original Papers can include the presentation of new hypotheses and experiments, concepts or theories, development of innovative experimental or numerical methods, or novel applications of existing methods and models, as well as research exploring the relationship between fishes and their external and internal environments.

The journal will not consider submissions of limited international interest or lacking a substantial impact. In addition, papers that merely comprise data collections based on the use of routine analytical methods are not acceptable. Repetition of already published knowledge, simply applied to the local level, will not be considered, nor will papers that do not highlight and explain clearly the new science versus the current knowledge.

Review Papers do not contain new information, but rather summarize emerging trends or recent developments.

In this section, contributions will be published that might not contain original new data but summarize existing information and synthesize recent findings. These manuscripts contain critical, state-

of-the-art reviews with the objectives of critically evaluating existing knowledge and providing background information for future significant research.

Authors who wish to review a particular topic should consult the Editor-in-Chief prior to submission of the manuscript (ebfi@oregonstate.edu). It should be noted that Review Papers will undergo a similar peer review procedure as Original Papers.

Brief Communications contain research that does not meet all the criteria for Original Papers.

Brief Communications are restricted to reports of unusual urgency, timeliness, and significance. A brief statement explaining how the manuscript meets the criteria of urgency and significance should be included in the author's remarks at submission.

Editorials are used as a forum for the Editor-in-Chief to convey general information to the journal's readership.

Authors may also be invited to submit Editorials by the Editor-in-Chief, and peer-review of such articles will be at the discretion of the Editor-in-Chief.

Book Reviews are welcome but are generally solicited by the Editorial Office.

Book Reviews should be discussed with the Editorial Office prior to submission (ebfi@oregonstate.edu).

Special Issues

We will consider the publication of a limited number of Special Issues. A Special Issue is devoted to a single, well-defined topic. The title of the topic, as well as the guest editors' names, will appear with the Special Issue.

A proposal for a special issue should be sent to the Editorial Office (ebfi@oregonstate.edu), and must include the following:

- Guest editors' names and affiliations
- Tentative title
- Outline summarizing the objectives of the special issue
- Tentative time schedule
- List of tentative contributions

A special issue proposal must be approved by both the Editor-in-Chief and the Publisher. If approved, an agreement will be drawn up between the guest editors and the Publisher, outlining the procedure and deliverables.

All papers must undergo the normal peer-review process, which includes the possibility of rejection. This process will be handled by the guest editors within the online reviewing system. The Managing Editor will provide proper training to the guest editors as requested.

Title page

Title Page

The title page should include:

- The name(s) of the author(s)
- A concise and informative title
- The affiliation(s) and address(es) of the author(s)
- The e-mail address, telephone and fax numbers of the corresponding author

Abstract

Please provide an abstract of 150 to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

Keywords

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

Manuscript Submission

Manuscript Submission

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all co-authors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

Permissions

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

Online Submission

Authors should submit their manuscripts online. Electronic submission substantially reduces the editorial processing and reviewing times and shortens overall publication times. Please follow the hyperlink “Submit online” on the right and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

Authorship Guidelines

Authorship credit should be based on:

1) substantial contributions to conception and design, acquisition of data, or analysis and interpretation of data;

AND

2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content;

AND

3) final approval of the version to be submitted for publication.

All of these conditions should be met by all authors.

Acquisition of funding, collection of data, or general supervision of the research group alone does not constitute authorship.

All contributors who do not meet the criteria for authorship should be listed in an acknowledgments section.

All authors must agree on the sequence of authors listed before submitting the article.

All authors must agree to designate one author as the corresponding author for the submission. It is the responsibility of the corresponding author to dialogue with the co-authors during the peer-reviewing and proofing stages and to also act on their behalf.

If the article is accepted for publication, after acceptance, no changes in authorship, the order of authors, or designation of the corresponding author will be permitted.

Article Types

Environmental Biology of Fishes welcomes a variety of article types.

Original Papers are original manuscripts that contain new findings in research consistent with the Journal’s aims and scope.

This would include, but is not limited to, new research findings in the fields of ecology, life history, epigenetics, behavior, physiology, morphology and evolution of marine and freshwater fishes. Original Papers can include the presentation of new hypotheses and experiments, concepts or theories, development of innovative experimental or numerical methods, or novel applications of existing methods and models, as well as research exploring the relationship between fishes and their external and internal environments.

The journal will not consider submissions of limited international interest or lacking a substantial impact. In addition, papers that merely comprise data collections based on the use of routine analytical methods are not acceptable. Repetition of already published knowledge, simply applied to the local level, will not be considered, nor will papers that do not highlight and explain clearly the new science versus the current knowledge.

Review Papers do not contain new information, but rather summarize emerging trends or recent developments.

In this section, contributions will be published that might not contain original new data but summarize existing information and synthesize recent findings. These manuscripts contain critical, state-of-the-art reviews with the objectives of critically evaluating existing knowledge and providing background information for future significant research.

Authors who wish to review a particular topic should consult the Editor-in-Chief prior to submission of the manuscript (ebfi@oregonstate.edu). It should be noted that Review Papers will undergo a similar peer review procedure as Original Papers.

Brief Communications contain research that does not meet all the criteria for Original Papers.

Brief Communications are restricted to reports of unusual urgency, timeliness, and significance. A brief statement explaining how the manuscript meets the criteria of urgency and significance should be included in the author’s remarks at submission.

Editorials are used as a forum for the Editor-in-Chief to convey general information to the journal’s readership.

Authors may also be invited to submit Editorials by the Editor-in-Chief, and peer-review of such articles will be at the discretion of the Editor-in-Chief.

Book Reviews are welcome but are generally solicited by the Editorial Office.

Book Reviews should be discussed with the Editorial Office prior to submission (ebfi@oregonstate.edu).

Special Issues

We will consider the publication of a limited number of Special Issues. A Special Issue is devoted to a single, well-defined topic. The title of the topic, as well as the guest editors' names, will appear with the Special Issue.

A proposal for a special issue should be sent to the Editorial Office (ebfi@oregonstate.edu), and must include the following:

- Guest editors' names and affiliations
- Tentative title
- Outline summarizing the objectives of the special issue
- Tentative time schedule
- List of tentative contributions

A special issue proposal must be approved by both the Editor-in-Chief and the Publisher. If approved, an agreement will be drawn up between the guest editors and the Publisher, outlining the procedure and deliverables.

All papers must undergo the normal peer-review process, which includes the possibility of rejection. This process will be handled by the guest editors within the online reviewing system. The Managing Editor will provide proper training to the guest editors as requested.

Title page

Title Page

The title page should include:

- The name(s) of the author(s)
- A concise and informative title
- The affiliation(s) and address(es) of the author(s)
- The e-mail address, telephone and fax numbers of the corresponding author

Abstract

Please provide an abstract of 150 to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

Keywords

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

Text

Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

- Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text.
- Use italics for emphasis.
- Use the automatic page numbering function to number the pages.
- Do not use field functions.
- Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.
- Use the table function, not spreadsheets, to make tables.
- Use the equation editor or MathType for equations.
- Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX.

[LaTeX macro package \(zip, 182 kB\)](#)

Headings

Please use no more than three levels of displayed headings.

Abbreviations

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

Footnotes

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables.

Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols.

Always use footnotes instead of endnotes.

Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section before the reference list. The names of funding organizations should be written in full.

Scientific Style

Authors are urged to comply with the rules of biological nomenclature, as expressed in the International Code of Zoological Nomenclature, the International Code of Botanical Nomenclature, and the International Code of Nomenclature of Bacteria. When a species name is used for the first time in an article, it should be stated in full, and the name of its describer should also be given. Descriptions of new taxa should comprise official repository of types (holotype and paratypes); author's collections as repositories of types are unacceptable.

Genus and species names should be in italics.

Authors are encouraged to place all species distribution records in a publicly accessible database such as the National Global Biodiversity Information Facility (GBIF) nodes (www.gbif.org) or data centers endorsed by GBIF, including BioFresh (www.freshwaterbiodiversity.eu)

- National Global Biodiversity Information Facility (GBIF)
- BioFresh
- References
- Citation
- Cite references in the text by name and year in parentheses. Some examples:
- Negotiation research spans many disciplines (Thompson 1990).
- This result was later contradicted by Becker and Seligman (1996).
- This effect has been widely studied (Abbott 1991; Barakat et al. 1995; Kelso and Smith 1998; Medvec et al. 1999).

Reference list

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text. Do not use footnotes or endnotes as a substitute for a reference list.

Reference list entries should be alphabetized by the last names of the first author of each work.

- Journal article
Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Thevenet D, Nourry C, Nottin S, Bosquet L (2009) Effect of high intensity intermittent training on heart rate variability in prepubescent children. *Eur J Appl Physiol* 105:731-738. doi: 10.1007/s00421-008-0955-8

Ideally, the names of all authors should be provided, but the usage of “et al” in long author lists will also be accepted:

Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Future of health insurance. *N Engl J Med* 965:325–329

- Article by DOI
Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *J Mol Med*. doi:10.1007/s001090000086
- Book
South J, Blass B (2001) *The future of modern genomics*. Blackwell, London
- Book chapter
Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) *The rise of modern genomics*, 3rd edn. Wiley, New York, pp 230-257
- Online document
Cartwright J (2007) Big stars have weather too. IOP Publishing PhysicsWeb. <http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1>. Accessed 26 June 2007

- Dissertation

Trent JW (1975) Experimental acute renal failure. Dissertation, University of California

Always use the standard abbreviation of a journal's name according to the ISSN List of Title Word Abbreviations, see

- ISSN.org LTWA

If you are unsure, please use the full journal title.

For authors using EndNote, Springer provides an output style that supports the formatting of in-text citations and reference list.

- EndNote style (zip, 2 kB)

Tables

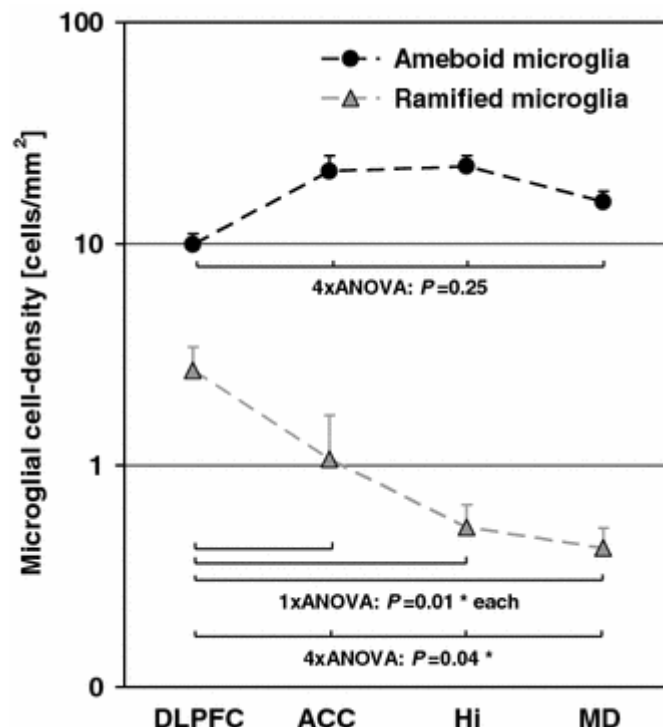
- All tables are to be numbered using Arabic numerals.
- Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.
- For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.
- Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.
- Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

Artwork and Illustrations Guidelines

Electronic Figure Submission

- Supply all figures electronically.
- Indicate what graphics program was used to create the artwork.
- For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MSOffice files are also acceptable.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.
- Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

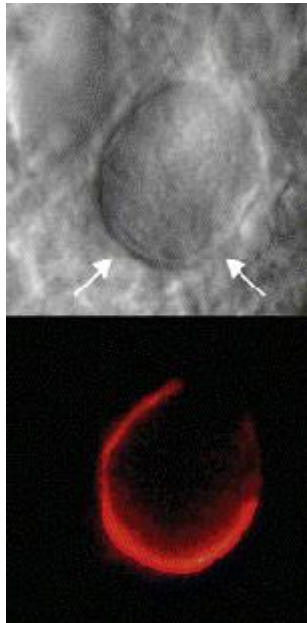
Line Art



- Definition: Black and white graphic with no shading.
- Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.
- All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.

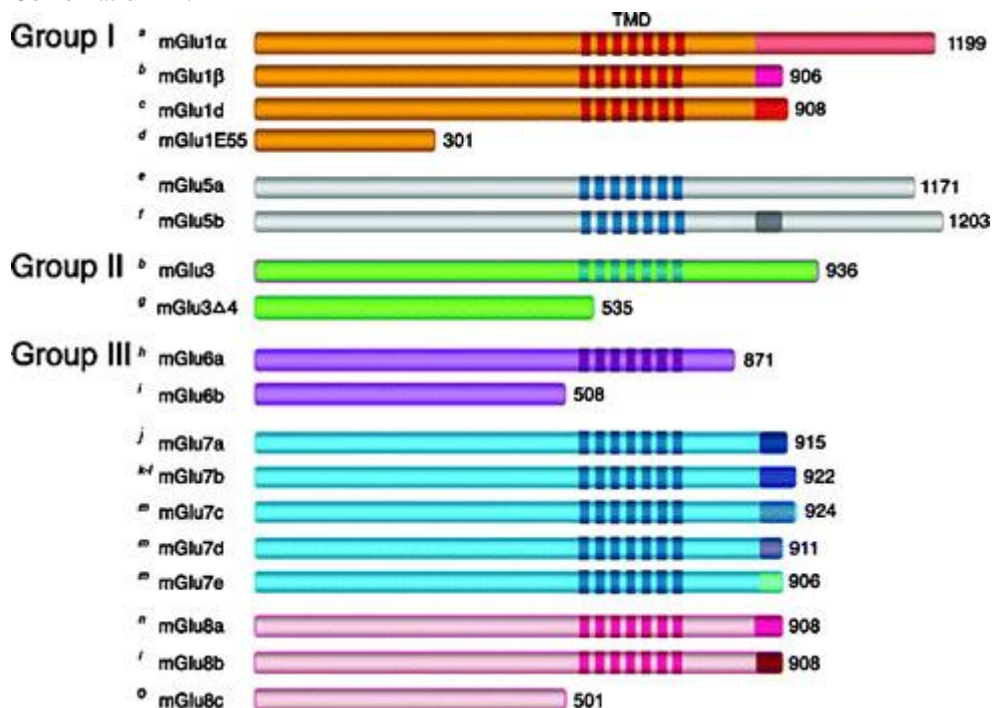
- Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

Halftone Art



- Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.
- If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.
- Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.

Combination Art



- Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.
- Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.
- Color Art
- Color art is free of charge for online publication.

- If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent.
- If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions.
- Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

Figure Lettering

- To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).
- Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).
- Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label.
- Avoid effects such as shading, outline letters, etc.
- Do not include titles or captions within your illustrations.

Figure Numbering

- All figures are to be numbered using Arabic numerals.
- Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.
- Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).
- If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures, "A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

Figure Captions

- Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.
- Figure captions begin with the term Fig. in bold type, followed by the figure number, also in bold type.
- No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption.
- Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.
- Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

Figure Placement and Size

- When preparing your figures, size figures to fit in the column width.
- For most journals the figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm.
- For books and book-sized journals, the figures should be 80 mm or 122 mm wide and not higher than 198 mm.

Permissions

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that

- All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware)
- Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (colorblind users would then be able to distinguish the visual elements)
- Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

Electronic Supplementary Material

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book chapter. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

Submission

- Supply all supplementary material in standard file formats.
- Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author.
- To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.

Audio, Video, and Animations

- Always use MPEG-1 (.mpg) format.

Text and Presentations

- Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability.
- A collection of figures may also be combined in a PDF file.

Spreadsheets

- Spreadsheets should be converted to PDF if no interaction with the data is intended.
- If the readers should be encouraged to make their own calculations, spreadsheets should be submitted as .xls files (MS Excel).

Specialized Formats

- Specialized format such as .pdb (chemical), .vrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

Collecting Multiple Files

- It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

Numbering

- If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables.
- Refer to the supplementary files as "Online Resource", e.g., "... as shown in the animation (Online Resource 3)", "... additional data are given in Online Resource 4".
- Name the files consecutively, e.g. "ESM_3.mpg", "ESM_4.pdf".

Captions

- For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file.

Processing of supplementary files

- Electronic supplementary material will be published as received from the author without any conversion, editing, or reformatting.

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your supplementary files, please make sure that

- The manuscript contains a descriptive caption for each supplementary material
- Video files do not contain anything that flashes more than three times per second (so that users prone to seizures caused by such effects are not put at risk)

Ethical Responsibilities of Authors

This journal is committed to upholding the integrity of the scientific record. As a member of the Committee on Publication Ethics (COPE) the journal will follow the COPE guidelines on how to deal with potential acts of misconduct.

Authors should refrain from misrepresenting research results which could damage the trust in the journal, the professionalism of scientific authorship, and ultimately the entire scientific endeavour. Maintaining integrity of the research and its presentation can be achieved by following the rules of good scientific practice, which include:

- The manuscript has not been submitted to more than one journal for simultaneous consideration.
- The manuscript has not been published previously (partly or in full), unless the new work concerns an expansion of previous work (please provide transparency on the re-use of material to avoid the hint of text-recycling (“self-plagiarism”).
- A single study is not split up into several parts to increase the quantity of submissions and submitted to various journals or to one journal over time (e.g. “salami-publishing”).
- No data have been fabricated or manipulated (including images) to support your conclusions
- No data, text, or theories by others are presented as if they were the author’s own (“plagiarism”). Proper acknowledgements to other works must be given (this includes material that is closely copied (near verbatim), summarized and/or paraphrased), quotation marks are used for verbatim copying of material, and permissions are secured for material that is copyrighted.

Important note: the journal may use software to screen for plagiarism.

- Consent to submit has been received explicitly from all co-authors, as well as from the responsible authorities - tacitly or explicitly - at the institute/organization where the work has been carried out, **before** the work is submitted.
- Authors whose names appear on the submission have contributed sufficiently to the scientific work and therefore share collective responsibility and accountability for the results.

In addition:

- Changes of authorship or in the order of authors are not accepted **after** acceptance of a manuscript.
- Requesting to add or delete authors at revision stage, proof stage, or after publication is a serious matter and may be considered when justifiably warranted. Justification for changes in authorship must be compelling and may be considered only after receipt of written approval from all authors and a convincing, detailed explanation about the role/deletion of the new/deleted author. In case of changes at revision stage, a letter must accompany the revised manuscript. In case of changes after acceptance or publication, the request and documentation must be sent via the Publisher to the Editor-in-Chief. In all cases, further documentation may be required to support your request. The decision on accepting the change rests with the Editor-in-Chief of the journal and may be turned down. Therefore authors are strongly advised to ensure the correct author group, corresponding author, and order of authors at submission.
- Upon request authors should be prepared to send relevant documentation or data in order to verify the validity of the results. This could be in the form of raw data, samples, records, etc.
- If there is a suspicion of misconduct, the journal will carry out an investigation following the COPE guidelines. If, after investigation, the allegation seems to raise valid concerns, the accused author will be contacted and given an opportunity to address the issue. If misconduct has been established beyond reasonable doubt, this may result in the Editor-in-Chief’s implementation of the following measures, including, but not limited to:
 - If the article is still under consideration, it may be rejected and returned to the author.
 - If the article has already been published online, depending on the nature and severity of the infraction, either an erratum will be placed with the article or in severe cases complete retraction of the article will occur. The reason must be given in the published erratum or retraction note.
- The author’s institution may be informed.

Compliance with Ethical Standards

To ensure objectivity and transparency in research and to ensure that accepted principles of ethical and professional conduct have been followed, authors should include information regarding sources of funding, potential conflicts of interest (financial or non-financial), informed consent if the

research involved human participants, and a statement on welfare of animals if the research involved animals.

Authors should include the following statements (if applicable) in a separate section entitled “Compliance with Ethical Standards” before the References when submitting a paper:

- Disclosure of potential conflicts of interest
- Research involving Human Participants and/or Animals
- Informed consent

Please note that standards could vary slightly per journal dependent on their peer review policies (i.e. double blind peer review) as well as per journal subject discipline. Before submitting your article check the Instructions for Authors carefully.

The corresponding author should be prepared to collect documentation of compliance with ethical standards and send if requested during peer review or after publication.

The Editors reserve the right to reject manuscripts that do not comply with the above-mentioned guidelines. The author will be held responsible for false statements or failure to fulfill the above-mentioned guidelines.

Disclosure of potential conflicts of interest

Authors must disclose all relationships or interests that could have direct or potential influence or impart bias on the work. Although an author may not feel there is any conflict, disclosure of relationships and interests provides a more complete and transparent process, leading to an accurate and objective assessment of the work. Awareness of a real or perceived conflicts of interest is a perspective to which the readers are entitled. This is not meant to imply that a financial relationship with an organization that sponsored the research or compensation received for consultancy work is inappropriate. Examples of potential conflicts of interests **that are directly or indirectly related to the research** may include but are not limited to the following:

- Research grants from funding agencies (please give the research funder and the grant number)
- Honoraria for speaking at symposia
- Financial support for attending symposia
- Financial support for educational programs
- Employment or consultation
- Support from a project sponsor
- Position on advisory board or board of directors or other type of management relationships
- Multiple affiliations
- Financial relationships, for example equity ownership or investment interest
- Intellectual property rights (e.g. patents, copyrights and royalties from such rights)
- Holdings of spouse and/or children that may have financial interest in the work

In addition, interests that go beyond financial interests and compensation (non-financial interests) that may be important to readers should be disclosed. These may include but are not limited to personal relationships or competing interests directly or indirectly tied to this research, or professional interests or personal beliefs that may influence your research.

The corresponding author collects the conflict of interest disclosure forms from all authors. In author collaborations where formal agreements for representation allow it, it is sufficient for the corresponding author to sign the disclosure form on behalf of all authors. Examples of forms can be found [here](#):

The corresponding author will include a summary statement in the text of the manuscript in a separate section before the reference list, that reflects what is recorded in the potential conflict of interest disclosure form(s).

See below examples of disclosures:

Funding: This study was funded by X (grant number X).

Conflict of Interest: Author A has received research grants from Company A. Author B has received a speaker honorarium from Company X and owns stock in Company Y. Author C is a member of committee Z.

If no conflict exists, the authors should state:

Conflict of Interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

Research involving human participants and/or animals

1) Statement of human rights

When reporting studies that involve human participants, authors should include a statement that the studies have been approved by the appropriate institutional and/or national research ethics committee and have been performed in accordance with the ethical standards as laid down in the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments or comparable ethical standards.

If doubt exists whether the research was conducted in accordance with the 1964 Helsinki Declaration or comparable standards, the authors must explain the reasons for their approach, and demonstrate that the independent ethics committee or institutional review board explicitly approved the doubtful aspects of the study.

The following statements should be included in the text before the References section:

Ethical approval: “All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.”

For retrospective studies, please add the following sentence:

“For this type of study formal consent is not required.”

2) Statement on the welfare of animals

The welfare of animals used for research must be respected. When reporting experiments on animals, authors should indicate whether the international, national, and/or institutional guidelines for the care and use of animals have been followed, and that the studies have been approved by a research ethics committee at the institution or practice at which the studies were conducted (where such a committee exists).

For studies with animals, the following statement should be included in the text before the References section:

Ethical approval: “All applicable international, national, and/or institutional guidelines for the care and use of animals were followed.”

If applicable (where such a committee exists): “All procedures performed in studies involving animals were in accordance with the ethical standards of the institution or practice at which the studies were conducted.”

If articles do not contain studies with human participants or animals by any of the authors, please select one of the following statements:

“This article does not contain any studies with human participants performed by any of the authors.”

“This article does not contain any studies with animals performed by any of the authors.”

“This article does not contain any studies with human participants or animals performed by any of the authors.”

After Acceptance

Upon acceptance of your article you will receive a link to the special Author Query Application at Springer’s web page where you can sign the Copyright Transfer Statement online and indicate whether you wish to order OpenChoice and offprints.

Once the Author Query Application has been completed, your article will be processed and you will receive the proofs.

Open Choice

In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article is granted to customers who have purchased a subscription), Springer now provides an alternative publishing option: Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular subscription-based article, but in addition is made available publicly through Springer’s online platform SpringerLink.

- [Springer Open Choice](#)

Copyright transfer

Authors will be asked to transfer copyright of the article to the Publisher (or grant the Publisher exclusive publication and dissemination rights). This will ensure the widest possible protection and dissemination of information under copyright laws.

Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open access, the author(s) agree to publish the article under the Creative Commons Attribution License..

Offprints

Offprints can be ordered by the corresponding author.

Color illustrations

Publication of color illustrations is free of charge.

Proof reading

The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content, e.g., new results, corrected values, title and authorship, are not allowed without the approval of the Editor.

After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article.

Online First

The article will be published online after receipt of the corrected proofs. This is the official first publication citable with the DOI. After release of the printed version, the paper can also be cited by issue and page numbers.

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

◆ O número diplóide das espécies analisadas foi de $2n=56$ cromossomos, mantendo o padrão mais comum para a família.

◆ As AgRONS correspondentes ao DNAr 18S foram conservadas nas espécies analisadas, estando presente sempre em um par de cromossomos, na região telomérica do braço longo. A presença destas sequências no braço longo é frequentemente observada em espécies dos subclados "*Iheringichthys-Parapimelodus*" e "*Pimelodus maculatus*", e pode representar um carácter derivado para este grupo, visto que na maioria das espécies de Pimelodidae esta sequência é encontrada no braço curto.

◆ A distribuição da heterocromatina, nas espécies aqui estudadas, segue o padrão observado em Pimelodidae, que apresenta blocos heterocromáticos pálidos e alguns blocos conspícuos distribuídos na região dos centrômeros, telômeros e intersticial. As espécies apresentaram padrões próprios que permitem identificá-las, com exceção de *P. absconditus* e *P. microstoma* que possuem padrões semelhantes.

◆ O DNAr 5S nas espécies estudadas variaram quanto ao número e a posição. Em *I. labrosus*, *I. cf. syi*, *P. microstoma*, *P. ortmanni*, *P. maculatus* e *P. absconditus* esta sequência está localizada em apenas um par de cromossomos, enquanto que *P. britskii*, *P. mysteriosus* e *P. paranaensis* apresentam estes sítios em três pares de cromossomos.

◆ Os estudos disponíveis sobre a localização do DNAr 5S mostram que as espécies dos subclados "*Iheringichthys-Parapimelodus*" e "*Pimelodus maculatus*" possuem estes sítios no braço longo, enquanto que, em espécies do grupo "Sorubiminae" e de *Steindachneridion* encontram-se no braço curto, o que pode representar um importante marcador taxonômico.

- ◆ A FISH-DNAr 5S é um importante marcador para diferenciar as espécies de *Iheringichthys* aqui estudadas.
- ◆ Localização sintenica entre o DNAr 5S e o DNAr 18S foi observado em *P. britskii* e *P. maculatus*, o que pode indicar uma condição derivada e possível proximidade filogenética entre estas espécies.
- ◆ Variações interpopulacionais na localização do DNAr 5S em *P. maculatus* podem sugerir a existência de um complexo de espécies.
- ◆ Cromossomos B foram observados em *I. cf. syi* e em *P. ortmanni*, com variação intrapopulacional, sendo um cromossomo B o número mais frequente em ambas as espécies.
- ◆ As espécies dos subclados "*Iheringichthys-Parapimelodus*" e "*Pimelodus maculatus*" apresentam características citogenéticas diferente das observadas nos outros grupos da família e no gênero basal *Stendachneridium*, o que possivelmente reflete uma evolução cariotípica divergente dos demais Pimelodidae.
- ◆ Os resultados obtidos mostraram a existência de marcadores, que permitem a caracterização das espécies de Pimelodidae, e que podem ser correlacionados com propostas filogenéticas, auxiliando na compreensão das relações entre as espécies.