

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM**  
**ECOLOGIA DE AMBIENTES AQUÁTICOS CONTINENTAIS**

**ANÁLISE ISOENZIMÁTICA DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE**  
**PEIXES DA PLANÍCIE DE INUNDAÇÃO DO ALTO RIO PARANÁ.**

MARIA DOLORES PERES LASSALA MACHADO

**Maringá – Paraná**  
**2005**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



MARIA DOLORES PERES LASSALA MACHADO

**ANÁLISE ISOENZIMÁTICA DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE PEIXES DA PLANÍCIE DE INUNDAÇÃO DO ALTO RIO PARANÁ.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em “Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais – Ciências Ambientais, da Universidade Estadual de Maringá, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor(a) em Ciências Ambientais.

Orientador: Prof. Dr. Erasmo Renesto

**Maringá – Paraná  
2005**



*A Deus*

*... que me deu coragem, força e sabedoria para vencer todas as dificuldades e alcançar mais esta vitória;*

*Aos meus pais **Rubens** e **Rosa***

*... que tanto me amam e sempre me deram todas as condições para eu chegar até aqui;*

*Ao meu filho **Vinicius***

*... que é alegria da minha vida, tesouro precioso que Deus me concedeu;*

*Ao **Gilmar***

*... meu amado, que caminhou comigo, lado a lado na busca deste ideal.*

*Aos meus irmãos **Edson** e **Adilson***

*... que compartilharam e torceram pelos meus sonhos;*

***Dedico***



## **Agradecimentos**

*Ao Prof. Dr. Erasmo Renesto pela oportunidade, confiança e orientação na realização deste trabalho;*

*Aos amigos do laboratório de Genética Animal e Vegetal -DBC, Ana Sílvia, Zé Ricardo, Cláudio, Maria Cláudia, Fafá, Claudete, Adriana, Ivone, Suzana, Andreyra, Ana Luíza, Liz, Denise, Débora pela boa convivência e amizade.*

*A técnica Soninha e as auxiliares Luzia e Leila que sempre tiveram paciência comigo e muito me auxiliaram no laboratório;*

*As secretárias do DBC Rosana, Edenir e Merc, pelo carinho e atenção;*

*Aos colegas do laboratório de Citogenética de Peixes pelo tempo que nos aguentaram como inquilinos, Prof.a. Isabel Cristina, Prof.a. Ana Luísa, Prof. Horácio, Alexandre, Katia, Fernanda, Ricardo.... entre muitos outros;*

*As minhas amigas que são as irmãs que não tive Dani, Denise, Gislaine e Neiva, fontes de oração pela minha vida e imprescindíveis na caminhada;*

*As secretárias do curso de Pós-graduação Aldenir e Mércia, pelo auxílio prestado;*

*Ao NUPELLA( Núcleo de Pesquisa em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura) que me acolheu com tanto carinho, fornecendo sempre o apoio necessário;*

*À CAPES pelo suporte financeiro para aquisição do material, realização de coletas e concessão de bolsa de pesquisa por todos estes anos (Mestrado e Doutorado);*

*A todos os demais amigos, professores e funcionários que de alguma forma contribuíram para tornar possível a realização deste trabalho.*





# ***SUMÁRIO***

## **RESUMO**

**i**

**CAPÍTULO 1** – Variabilidade genética em *Astyanax altiparanae* Garutti & Britski, 2000 (Osteichthyes: Characidae) da bacia do alto rio Paraná, Paraná - Brasil.

Resumo	1
Introdução	2
Material e Métodos	3
Resultados	7
Discussão	14
Referências Bibliográficas	17

\*Este artigo segue as normas bibliográficas da Revista Genetics and Molecular Biology .

**CAPÍTULO 2** – Relações entre variabilidade genética e estratégias reprodutivas de peixes tropicais.

Resumo	22
Introdução	23
Material e Métodos	25
Resultados	31
Discussão	38
Referências Bibliográficas	42

\*Este artigo segue as normas bibliográficas da Revista Genética.

**CAPÍTULO 3** – Variabilidade genética em uma população de *Leporinus lacustris* Campos, 1945 (Osteichthyes: Anostomidae) da Lagoa do Carão, planície de inundação do alto rio Paraná, MS – Brasil

Resumo	47
Introdução	48
Material e Métodos	49
Resultados	52
Discussão	56
Referências Bibliográficas	58

\* Este artigo foi aceito pela Revista *Acta Scientiarum* e por isso segue as normas bibliográficas da referida revista. O mesmo foi parte dos resultados obtidos ao longo do projeto de pesquisa deste curso de doutorado.



## Resumo

O rio Paraná é formado pela confluência dos rios Grande e Paranaíba na região centro-sul do Brasil, seu comprimento total é de 2.739 Km dos quais 1.240 km em território Argentino, 619 Km inteiramente em território brasileiro e 880 Km como limítrofe entre a República do Paraguai e Argentina ou Brasil. É o décimo maior rio do mundo em descarga de água ( $5 \times 10^8 \text{ m}^3 \cdot \text{ano}^{-1}$ ) e o quarto em área de drenagem ( $2,8 \times 10^6 \text{ Km}^2$ ). A bacia do rio Paraná destaca-se pelo elevado número de reservatórios construídos para geração de energia elétrica, no trecho superior há quatro grandes reservatórios, Ilha Solteira, Jupia, Porto Primavera e Itaipu. Estudos desenvolvidos nesta planície de inundação têm registrado quase 3.000 espécies de animais e plantas. Devido a esta grande riqueza de espécies, dados obtidos desde 1986 pelo NUPELIA (Núcleo de Pesquisas em Limnologia Ictiologia e Aquicultura) têm demonstrado que o rio Paraná e sua planície de inundação tem sofrido rápidas transformações devido as atividades humanas. Entende-se por sistema *rio-planície de inundação* os ecossistemas sujeitos a alagamentos periódicos, que selecionam adaptações nos organismos e comunidades neles existentes, tornando-as, muitas vezes, características destes ambientes. Devido ao fato desta área ser uma das poucas que representa o sistema rio planície de inundação na bacia do alto rio Paraná, foram criadas três unidades de conservação, visando proteger a biodiversidade. São elas Área de Proteção das Ilhas e Várzeas do Rio Paraná (1.000.310 ha), Parque Nacional de Ilha Grande (78.000 ha) e o Parque Estadual do Rio Ivinhema (70.000 ha). Recentemente toda a área foi incorporada à Reserva da Biosfera da Mata Atlântica por MAB/UNESCO. Estudos realizados nas planícies de inundação dos rios Paraná e do Paraguai demonstraram que a preservação da heterogeneidade dos habitats das planícies de

inundação é vital para a manutenção da diversidade biológica das espécies, sendo que o controle do fluxo, principalmente em períodos de secas prolongadas, podem afetar o recrutamento de espécies que utilizam a planície de inundação como área de refúgio e alimentação. Esta área é objeto de estudo do PELD (Programa de Estudos Ecológicos de Longa Duração) que está sendo monitorada desde 2000, em seus aspectos físicos, hidrológicos, meteorológicos e biológicos visando o manejo e diminuição da ação antrópica desenfreada neste ambiente tão singular. Um dos aspectos deste amplo projeto (PELD) é o monitoramento e a conservação da diversidade genética das espécies animais que aí vivem. Alguns trabalhos sobre a variabilidade genética de peixes já foram desenvolvidos com curimba (*Prochilodus lineatus*), com cascudos (*Hypostomus* e *Loricariichthys*), com *Hemisorubim platyrhynchos*, com pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*), com morenitas (*Gymnotus*), com *Steindachnerina*, com traíra (*Hoplias* aff. *malabaricus*), com *Astyanax altiparanae* e tucunaré (*Cichla*). Porém, devido ao grande número de espécies de peixes desta planície de inundação, muitas ainda não foram estudadas. Com o objetivo de estudar a variabilidade genética de peixes da bacia do alto rio Paraná, foram selecionadas nove das espécies mais abundantes nos levantamentos realizados pelo Nupelia (1999 e 2000), para serem analisadas por eletroforese de isoenzimas, no intuito de contribuir com as medidas de manejo e preservação da ictiofauna.

**Palavras chave:** alto Rio Paraná, peixes, planície de inundação, variabilidade genética.

# Variabilidade genética em *Astyanax altiparanae* Garutti & Britski, 2000 (Osteichthyes: Characidae) da bacia do alto rio Paraná, Paraná- Brasil.

## Resumo

A diversidade genética em duas populações de *Astyanax altiparanae* da bacia do alto rio Paraná foi estimada a partir de dados de alozimas. Os indivíduos foram amostrados no sul do Brasil, no Ribeirão Ficha, Município de Ubatã e no rio Paraná, município de Porto Rico. Os autores analisaram 13 sistemas enzimáticos em eletroforese de amido de milho a 15% (AAT, ACP, EST, G3PDH, G6PDH, GPI, IDH, L-IDDH, LDH, MDH, MDHP, PGM e SOD) e identificaram 21 *loci*. A proporção de *loci* polimórficos foi estimada em 52,38% para a população do rio Paraná e em 38,10% para a população do Ribeirão Ficha. A heterozigosidade esperada (He) foi estimada em  $0,147 \pm 0,049$  para a população do rio Paraná e em  $0,090 \pm 0,046$  para a população do Ribeirão Ficha. Os dados de heterozigosidade em *A. altiparanae* foram semelhantes às estimativas anteriores para outras espécies de caracídeos da bacia do alto rio Paraná. As frequências alélicas nas populações foram significativamente diferentes para os *loci* *Acp-1*, *G3pdh-1*, *Gpi-A*, *Iddh-1*, *Mdhp-1*, e *Mdhp-2*. Os índices de fixação Fis, Fit, e Fst de Wright para todos os *loci* foram estimadas em 0,392, 0,480 e 0,145, respectivamente. Ficou demonstrado que as populações de *A. altiparanae* estudadas são geneticamente diferentes, e elas são caracterizadas por uma alta variabilidade genética.

**Titulo corrente:** variabilidade genética em *Astyanax altiparanae*.

**Palavras chaves:** alozimas, *Astyanax*, peixes, planície de inundação, rio Paraná, variabilidade genética.

## Abstract

Two populations of *Astyanax altiparanae* populations from the floodplain of Upper Paraná River were analyzed for genetic diversity through allozyme data. Specimens were sampled in Southern Brazil, in Ribeirão Ficha creek at Ubatã county and in Paraná River at Porto Rico county. The authors were able to analyze thirteen enzymatic systems on 15% corn starch gel electrophoresis (AAT, ACP, EST, G3PDH, G6PDH, GPI, IDH, L-IDDH, LDH, MDH, MDHP, PGM, and SOD), and identify twenty-one *loci*. Proportions of polymorphic *loci* were estimated as 52.38% in Paraná River population and as 38.10% in Ribeirão Ficha population. Expected heterozygosities (He) were estimated as  $0.147 \pm 0.049$  for Paraná River and  $0.090 \pm 0.046$  for Ribeirão Ficha populations. *Astyanax altiparanae* heterozygosities data were similar to previous estimates of other characid species from Upper Paraná River basin. Allele frequencies were significantly different between populations in *Acp-1*, *G3pdh-1*, *Gpi-A*, *Iddh-1*, *Mdhp-1*, and *Mdhp-2* *loci*. Wright's statistics Fis, Fit, and Fst for all *loci* were estimated as 0.392, 0.480, and 0.145, respectively. It was demonstrated that the studied *A. altiparanae* populations are genetically different, and they are characterized by a high genetic variability.

**Key words:** allozymes, *Astyanax*, fishes, floodplain, genetic variability, Paraná River.

## INTRODUÇÃO

Na bacia do alto rio Paraná há uma extensa planície de inundação representada por um trecho de 480 km entre os municípios de Três Lagoas (20°48'S/51°43'W) e Guaíra (24°04'S/52°57'W). Após o fechamento da usina hidrelétrica de Porto Primavera (22°30'S/52°57'W) em 1998, metade da área da planície de inundação foi submersa pelo reservatório e a planície de inundação ficou reduzida a um trecho de 230 km. Este é o único trecho do rio Paraná em território brasileiro a correr em uma planície de

inundação. Atualmente, seu regime de cheias tem sido em parte controlado pelas represas a montante (Agostinho *et al.*, 2001). Durante a estação de chuvas, quando ocorre a inundação do rio Paraná, ela pode atingir 20 km de largura na sua parte oeste.

Durante quase 20 anos, o Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aqüicultura (Nupelia) da Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil, tem estudado a ecologia de peixes, plantas, espécies bentônicas, zooplantônicas e fitoplanctônicas na planície de inundação do alto rio Paraná. Esse programa mostrou que há mais de 170 espécies de peixes na planície (Agostinho *et al.*, 2001). Destas, 33 espécies foram introduzidas da bacia do médio rio Paraná após o fechamento da usina hidroelétrica de Itaipu em 1982 (Julio Jr. e Agostinho, 2003). Enquanto os aspectos ecológicos de 64 espécies foram estudados intensivamente (Vazzoler *et al.*, 1997; Agostinho *et al.*, 2001) a genética de populações foi investigada somente para algumas espécies. As espécies de peixe *Prochilodus lineatus* (Revaldaves *et al.*, 1997) e *Hoplias malabaricus* (Peres *et al.*, 2002), foram estudadas com dados de alozimas, e as espécies *Steindachnerina insculpta*, *Steindachnerina brevipinna* (Oliveira *et al.*, 2002), *Cichla monoculus* Oliveira (2004) e *Pseudoplatystoma corruscans* (Sekine *et al.*, 2002) foram analisadas a partir de dados de DNA.

De acordo com Vida (1994) “o futuro da manutenção da diversidade de espécies está na diversidade genética das espécies. Em geral, quanto maior diversidade genética for mantida, maior a adaptabilidade e, conseqüentemente, a probabilidade de sobrevivência de uma espécie num ambiente inconstante”. Portanto, informações sobre a variabilidade genética da espécie a ser conservada é essencial para programas de conservação.

Sabe-se que no rio Paraná *A. altiparanae* se alimenta principalmente de insetos e microcrustáceos (Luz e Okada, 1999), enquanto nos riachos ele se alimenta principalmente de vegetais (Abes, 1998). Esta espécie tem desova parcelada de setembro a março. O tamanho da primeira maturação é de aproximadamente 6,9 cm, que é o tamanho quando cerca de 50% dos indivíduos estão se reproduzindo (Vazzoler *et al.*, 1997). Na bacia do alto rio Paraná, *A. altiparanae* é considerada uma das mais importantes fontes de alimento para muitas espécies piscívoras que são exploradas comercialmente. Por causa da sua importância ecológica, o conhecimento da variabilidade genética de *A. altiparanae* é fundamental na fixação de diretrizes de conservação.

No presente trabalho foi escolhida a técnica de alozimas porque seu papel no metabolismo e nas estratégias adaptativas é melhor conhecido atualmente do que para marcadores de DNA. Além disso, por causa da natureza dominante dos marcadores RAPD, a heterozigosidade estimada não pode ser maior que 0,5, enquanto que com eletroforese de alozimas pode ser detectada uma maior heterozigosidade por *locus*.

O objetivo deste trabalho foi estimar a variabilidade genética, com dados de isoenzimas, de duas populações de *A. altiparanae*, uma do alto rio Paraná e outra do ribeirão Ficha, e tentar ampliar o conhecimento dos fatores que mantêm a variabilidade genética em populações naturais.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados 31 indivíduos de *A. altiparanae* no rio Paraná (Fig. 1), município de Porto Rico (22°46'S/53°15'22"W) de março a agosto de 2002, por meio de rede de espera. De abril a novembro de 2004 foram coletados 33 indivíduos no Ribeirão Ficha, município de Ubatã (24°26'22"S/53°06'36"W), por meio de um covó.

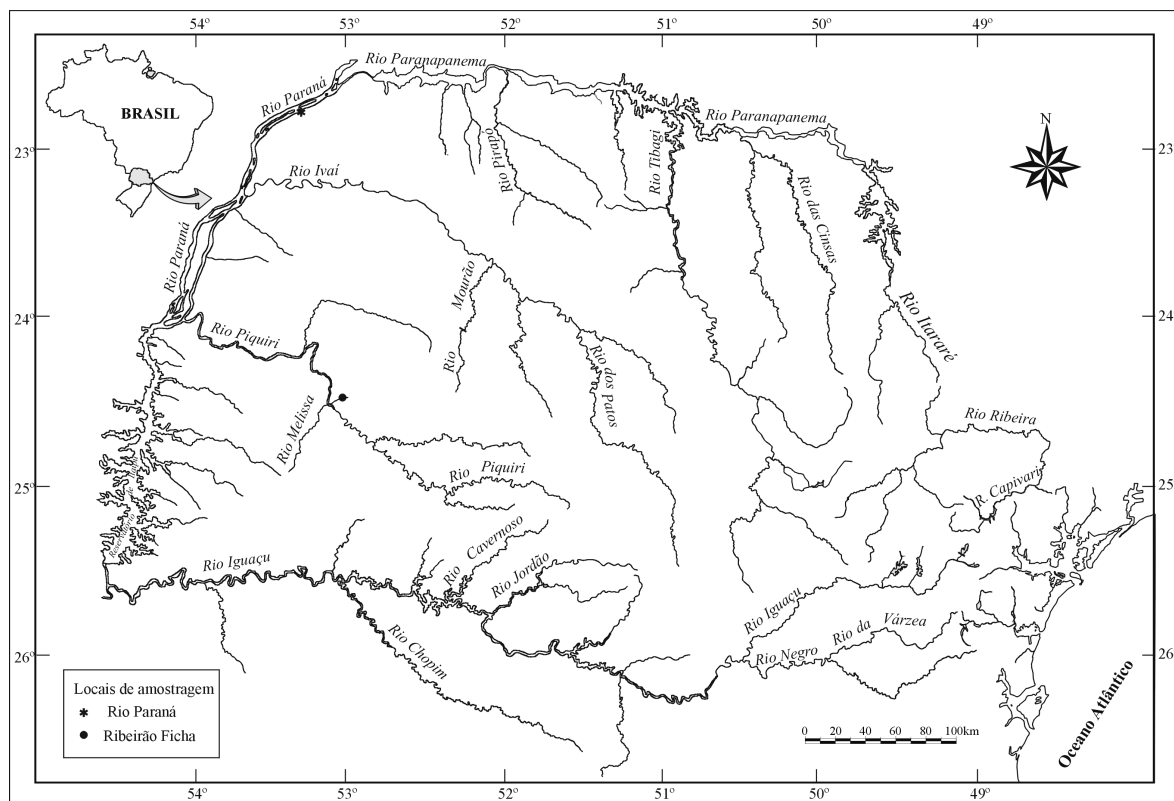


**Figura 1** - *Astyanax altiparanae* rio Paraná (8 cm - tambú; lambari-de-rabo-amarelo).

No local de amostragem (Fig. 2) o rio Paraná tem aproximadamente 4km de largura, e a temperatura média da água varia entre 18°C no inverno e 30°C no verão (Thomaz *et al.*, 1997). O Ribeirão



Ficha é um riacho estreito, de cerca de 2m de largura, que corre para o rio Piquiri, um afluente do rio Paraná. Ambas as margens deste riacho são cobertas por vegetação ripária de aproximadamente 2m de largura que faz sombra sobre a sua superfície. A temperatura média da água varia entre 15°C no inverno e 27°C no verão (Secretaria de Estado de Agricultura e do Abastecimento/ Instituto de Terras Cartografia e Florestas, 1987).



**Figura 2** – Locais de amostragem no alto rio Paraná e Ribeirão Ficha, Paraná, Brasil.

Imediatamente após a coleta, foram removidos os tecidos do fígado, músculo branco, brânquia, estômago, gônada, olho, rim e coração de cada peixe e congelados em nitrogênio líquido. Os tecidos foram homogeneizados com um bastão de plástico em microtubos de 1,5 ml, contendo tampão Tris/HCl 0,02M, pH 7,5 (1:1 tecido:tampão). Tetracloreto de Carbono ( $CCl_4$ ) foi adicionado às amostras homogeneizadas de fígado por causa da grande quantidade de gordura presente neste tecido (Pasteur *et al.*, 1988). As amostras homogeneizadas foram centrifugadas a 25.000rpm ( $45.114 \times g$ ) durante 30 minutos, a uma temperatura entre 1°C a 5°C. A porção sobrenadante foi submetida a eletroforese horizontal em gel de amido de milho a 15% (Val *et al.*, 1981).

A tabela 1 mostra a composição dos tampões, os sistemas enzimáticos e as condições de eletroforese. Foram utilizados os procedimentos padrões de coloração de Aebersold *et al.* (1987) para visualização das enzimas. A interpretação genética dos géis foi baseada na estrutura quaternária das enzimas, de acordo com Ward *et al.* (1992). A nomenclatura foi feita de acordo com a proposta por Murphy *et al.* (1996). Os dados foram analisados pelo programa POPGENE 1.31 (Yeh e Boyle, 1997). A

variabilidade genética foi estimada pelo índice de diversidade genética de Nei (1978), as frequências genotípicas foram testadas para equilíbrio de Hardy-Weinberg usando o teste do  $\chi^2$ , assim como a significância dos índices de fixação F de Wright (1978) e as diferenças da variabilidade genética entre as duas localidades foram testadas por teste *t* (Nei, 1987).

**Tabela 1** – Condições experimentais de 13 sistemas enzimáticos de *Astyanax altiparanae* do rio Paraná e do Ribeirão Fichta, Paraná, Brasil.

Enzima	Tampão da cuba	Tampão do gel	Duração	Referências
AAT, G6PDH	Tris-maleato-EDTA 0,1-0,1-0,01 M pH 7,4	Tris-maleato-EDTA 0,01-0,01-0,001 M pH 7,4	7 horas	Shaw e Prasad (1970)
ACP, EST	Tris-HCL 0,3 M pH 7,5	Tris-HCL 0,02 M pH 7,5	4 horas	Ruvolo-Takasusuki <i>et al.</i> , (2002)
SOD	Tris-borato-EDTA 0,18-0,1-0,004M pH 8,6	Tris-borato-EDTA 0,045-0,025- 0,001M pH 8,6	6 horas	Boyer <i>et al.</i> , (1963)
GPI, LDH	Tris-citrato 0,135-0,043M pH 7,0	Tris-citrato 0,009-0,003M pH 7,0	6 horas	Shaw e Prasad (1970)
G3PDH, IDDH, IDHP, MDH, MDHP, PGM	Tris-citrato 0,135-0,043M pH 8,0	Tris-citrato 0,009-0,003M pH 8,0	6 horas	Shaw e Prasad (1970)

## RESULTADOS

Como mostra a tabela 1, quatorze sistemas enzimáticos foram avaliados para indivíduos de *A. altiparanae* coletados na bacia de inundação do alto rio Paraná e no Ribeirão Fichá. Foram identificados 21 *loci* em 31 indivíduos. Desses, 11 (52,38%) foram polimórficos na amostra do rio Paraná e 8 (38,10%) na população do Ribeirão Fichá (Tabela 2). A tabela 3 mostra as heterozigozidades esperada ( $h_e$ ) e obtida ( $h_o$ ) para cada *locus* e a média ( $H_e$  e  $H_o$ ) para todos os *loci*. As heterozigozidades médias esperadas e observadas foram estimas em  $H_e = 0,147 \pm 0,049$  e  $H_o = 0,068 \pm 0,040$  para a população do rio Paraná e em  $H_e = 0,090 \pm 0,046$  e  $H_o = 0,073 \pm 0,039$  para a população do Ribeirão Fichá, respectivamente. O teste  $t$  revelou que a diferença entre as estimativas de  $H_e$  para as duas populações não foi significativa ( $t_{(40)} = 1,00$ ,  $p > 0,05$ ). As medidas de identidade e distância genética de Nei (1978) entre as populações foram 0,955 e 0,046, respectivamente.

Os dados revelaram que os *loci Acp-1*, *G6pdh-1*, *Iddh-1*, *Mdhp-1*, e *Mdhp-2* na população do rio Paraná, e o *locus Acp-1* na população do Ribeirão Fichá não estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Todos os 31 indivíduos amostrados no rio Paraná eram homozigotos para os alelos *Acp-1(c)* e *sMdh-B(a)*, enquanto todos os 33 indivíduos coletados no Ribeirão Fichá eram homozigotos para os alelos *G3pdh-1(a)*, *Iddh-1(a)*, *mMdh-1(a)*, *Mdhp-1(a)*, e *Mdhp-2(a)*. Os índices de fixação de Wright (Wright, 1978) mostraram que houve um excesso significativo de homozigotos na população do rio Paraná para os *loci G6pdh-1*, *Iddh-1*, *Mdhp-1* e *Mdhp-2* e na população do ribeirão Fichá para o *locus G6pdh-1* (Tab. 4) e os valores de  $F_{st}$  mostraram que as duas populações diferem significativamente para os *loci Acp-1*, *G3pdh-1*, *Gpi-A*, *Iddh-1*, *Mdhp-1* e *Mdhp-2*.

**Tabela 2** – Frequências alélicas em 21 *loci* de *Astyanax altiparanae* do alto rio Paraná e do Ribeirão Ficha, Paraná, Brasil.

Enzima	Tecidos *	Locus	Alelo	Paraná (n=31)	Ficha (n=33)
AAT	F	<i>Aat-1</i>	<i>a</i>	1,000	1,000
ACP	F, E	<i>Acp-1</i>	<i>a</i> <i>b</i> <i>c</i> <i>d</i>	1,000	0,160 0,240 0,440 0,160
EST	F	<i>Est-1</i>	<i>a</i> <i>b</i> <i>c</i>	0,065 0,903 0,032	0,015 0,970 0,015
		<i>Est-2</i>	<i>a</i> <i>b</i>	0,984 0,016	0,985 0,015
G3PDH	F	<i>G<sub>3</sub>pdh-1</i>	<i>a</i> <i>b</i>	0,919 0,081	1,000
		<i>G<sub>3</sub>pdh-2</i>	<i>a</i>	1,000	1,000
G6PDH	C	<i>G<sub>6</sub>pdh-1</i>	<i>a</i>	0,134	0,020
			<i>b</i>	0,775	0,900
			<i>c</i>	0,091	0,080
GPI	C	<i>Gpi-A</i>	<i>a</i>	0,113	0,131
			<i>b</i>	0,339	0,109
			<i>c</i>	0,161	0,152
			<i>d</i>	0,258	0,304
			<i>e</i>	0,097	0,130
			<i>f</i>	0,032	0,174
	C	<i>Gpi-B</i>	<i>a</i>	0,968	0,985
			<i>b</i>	0,032	0,015
IDDH	F	<i>Iddh-1</i>	<i>a</i>	0,581	1,000
			<i>b</i>	0,339	
			<i>c</i>	0,080	
IDHP	F	<i>Idhp-1</i>	<i>a</i>	0,032	0,058
			<i>b</i>	0,968	0,923
			<i>c</i>		0,019
	C	<i>Idhp-2</i>	<i>a</i>	1,000	1,000
LDH	B, C	<i>Ldh-A</i>	<i>a</i>	1,000	1,000
			<i>Ldh-B</i>	<i>a</i>	1,000
MDH	C	<i>mMdh-1</i>	<i>a</i>	0,984	1,000
			<i>b</i>	0,016	
		<i>sMdh-A</i>	<i>a</i>	1,000	1,000
		<i>sMdh-B</i>	<i>a</i> <i>b</i>	1,000	0,985 0,015
MDHP	C, M	<i>Mdhp-1</i>	<i>a</i>	0,800	1,000
			<i>b</i>	0,200	
		<i>Mdhp-2</i>	<i>a</i>	0,484	1,000
			<i>b</i>	0,516	
PGM	F	<i>Pgm-1</i>	<i>a</i>	1,000	1,000
SOD	F	<i>Sod-1</i>	<i>a</i>	1,000	1,000
<b>Frequência de loci polimórficos</b>				<b>52,38</b>	<b>38,10</b>

\* =B = Brânquia, F = Fígado, C = Coração, M = músculo, E = Estômago

**Tabela 3** – Heterozigosidade obtida (ho) e esperada (he) por *locus* de *Astyanax altiparanae* do alto rio Paraná e Ribeirão Ficha, Paraná, Brasil.

<i>Locus</i>	Rio Paraná			Ribeirão Ficha		
	<b>n</b>	<b>ho</b>	<b>he</b>	<b>n</b>	<b>ho</b>	<b>He</b>
<i>Aat-1</i>	<b>31</b>	0,0000	0,0000	<b>31</b>	0,0000	0,0000
<i>Acp-1</i>	<b>31</b>	0,0000	0,0000	<b>25</b>	0,5600	0,6976
<i>Est-1</i>	<b>31</b>	0,1290	0,1790	<b>33</b>	0,0606	0,0592
<i>Est-2</i>	<b>31</b>	0,0323	0,0317	<b>32</b>	0,0303	0,0298
<i>G3pdh-1</i>	<b>31</b>	0,1613	0,1483	<b>33</b>	0,0000	0,0000
<i>G3pdh-2</i>	<b>31</b>	0,0000	0,0000	<b>33</b>	0,0000	0,0000
<i>G6pdh-1</i>	<b>22</b>	0,0000	0,3760	<b>25</b>	0,0400	0,1832
<i>Gpi-A</i>	<b>31</b>	0,8065	0,0624	<b>24</b>	0,6667	0,7266
<i>Gpi-B</i>	<b>31</b>	0,0645	0,7425	<b>33</b>	0,0303	0,0298
<i>Iddh-1</i>	<b>31</b>	0,1290	0,5416	<b>23</b>	0,0000	0,0000
<i>Idhp-1</i>	<b>31</b>	0,0000	0,0000	<b>26</b>	0,0000	0,0000
<i>Idhp-2</i>	<b>31</b>	0,0645	0,0624	<b>32</b>	0,1154	0,1442
<i>Ldh-A</i>	<b>31</b>	0,0000	0,0000	<b>33</b>	0,0000	0,0000
<i>Ldh-B</i>	<b>31</b>	0,0000	0,0000	<b>33</b>	0,0000	0,0000
<i>mMdh-1</i>	<b>31</b>	0,0323	0,0317	<b>33</b>	0,0000	0,0000
<i>sMdh-A</i>	<b>31</b>	0,0000	0,0000	<b>33</b>	0,0000	0,0000
<i>sMdh-B</i>	<b>31</b>	0,0000	0,0000	<b>33</b>	0,0303	0,0298
<i>Mdhp-1</i>	<b>31</b>	0,0000	0,4121	<b>32</b>	0,0000	0,0000
<i>Mdhp-2</i>	<b>31</b>	0,0000	0,4995	<b>33</b>	0,0000	0,0000
<i>Pgm-1</i>	<b>31</b>	0,0000	0,0000	<b>33</b>	0,0000	0,0000
<i>Sod-1</i>	<b>31</b>	0,0000	0,0000	<b>33</b>	0,0000	0,0000
		Ho	He		Ho	He
<i>Média</i>		0,0676	0,147		0,0730	0,0905
<i>Erro padrão</i>		0,0385	0,0491		0,0399	0,0464

**Tabela 4** – Índices de fixação de Wright de populações de *Astyanax altiparanae* do alto rio Paraná e do Ribeirão Ficha, Paraná, Brasil.

<i>Locus</i>	Rio Paraná		Ribeirão Ficha		Total		
	n	Fis	n	Fis	Fis	Fit	Fst
<i>Aat-1</i>	31				0,0000	0,0000	0,0000
<i>Acp-1</i>	31		25	0,1972	0,1972*	0,3838*	0,2324*
<i>Est-1</i>	31	0,2791	33	-0,0233	0,2039	0,2157	0,0148
<i>Est-2</i>	31	-0,0164	32	-0,0154	-0,0159	-0,0159	0,0000
<i>G3pdh-1</i>	31	-0,0877	33		-0,0877	-0,0420*	0,0420*
<i>G3pdh-2</i>	31		33		0,0000	0,0000	0,0000
<i>G6pdh-1</i>	22	1,0000*	25	0,7817*	0,9285*	0,9303	0,0260
<i>Gpi-A</i>	31	-0,1194	24	0,0824	0,1062*	0,1221*	0,0705*
<i>Gpi-B</i>	31	-0,0877	33	-0,0154	-0,0756	-0,0503*	0,0235
<i>Iddh-1</i>	31	0,7062*	23		0,7062*	0,7728*	0,2268*
<i>Idhp-1</i>	31	-0,0333	26	0,2000	0,1295*	0,1358*	0,0072
<i>Idhp-2</i>	31		32		0,0000	0,0000	0,0000
<i>Ldh-A</i>	31		33		0,0000	0,0000	0,0000
<i>Ldh-B</i>	31		33		0,0000	0,0000	0,0000
<i>mMdh-1</i>	31	-0,0164	33		-0,0164*	-0,0081	0,0081
<i>sMdh-A</i>	31		33		0,0000	0,0000	0,0000
<i>sMdh-B</i>	31		33	-0,0154	-0,0154	-0,0076	0,0076
<i>Mdhp-1</i>	31	1,0000*	32		1,0000*	1,0000*	0,1698*
<i>Mdhp-2</i>	31	1,0000*	33		1,0000*	1,0000*	0,3478*
<i>Pgm-1</i>	31		33		0,0000	0,0000	0,0000
<i>Sod-1</i>	31		33		0,0000	0,0000	0,0000
<i>Média</i>		0,5039		0,1934	0,3919	0,4804	0,1455

\* = valores estatisticamente significativos

Os padrões eletroforéticos obtidos são descritos abaixo (Fig. 3).

**AAT** – A atividade desta enzima foi maior no fígado do que em outros tecidos. Foi observada uma única banda em todos os indivíduos analisados. Este fenótipo foi interpretado como devido a um *locus* monomórfico.

**ACP** – Esta enzima mostrou atividade restrita ao fígado e um padrão eletroforético de enzima dimérica codificada por um único *locus*.

**EST** – Esta enzima se expressou fortemente em todos os tecidos, exceto no coração e músculo branco nos quais esta expressão foi fraca. A EST apresentou uma forte expressão no fígado utilizando-se o substrato  $\alpha$ -naftil propionato. Foram detectadas três regiões de expressão, mas somente duas delas foi interpretável com confiança. Portanto, essas bandas foram consideradas como a expressão de dois *loci* polimórficos, *Est-1* com três alelos e *Est-2* com dois alelos.

**G3PDH** – Esta enzima dimérica se expressou apenas no fígado e permitiu a detecção de um *locus* polimórfico (*G3pdh-1*) e um monomórfico (*G3pdh-2*).

**G6PDH** – Esta enzima teve fraca expressão no coração e músculo e forte no fígado com a presença de uma única banda em cada indivíduo. Este fenótipo foi considerado como resultado de um *locus* polimórfico com três alelos.

**GPI** – Esta enzima dimérica, que é codificada por dois *loci* polimórficos, teve forte expressão no fígado, coração, músculo, gônada, rim e estômago, com formação de heterodímeros. As bandas menos anódicas são codificadas pelo *locus Gpi-B* e a mais anódicas pelo *locus Gpi-A*. As isozimas A<sub>2</sub> são predominantes no olho, gônada, brânquia, rim e estômago, enquanto B<sub>2</sub> foi predominante no coração.

**IDDH** – A expressão desta enzima foi restrita ao fígado com a presença de apenas uma banda em cada indivíduo, o que sugere a existência de um único *locus* polimórfico.

**IDHP** – Esta enzima apresentou expressão diferencial entre os tecidos analisados. Um *locus* polimórfico com três alelos se expressou na brânquia e fígado (*Idhp-2*) enquanto um outro *locus* monomórfico foi detectado no olho, coração e músculo branco (*Idhp-1*). Ambos os *loci* se expressaram fracamente na gônada, rim e estômago.

**LDH** – Um padrão de várias bandas foi detectado nesta enzima tetramérica, o qual foi interpretado como resultado da expressão de dois *loci* (*Ldh-A* e *Ldh-B*) em homozigose, com formação variável de



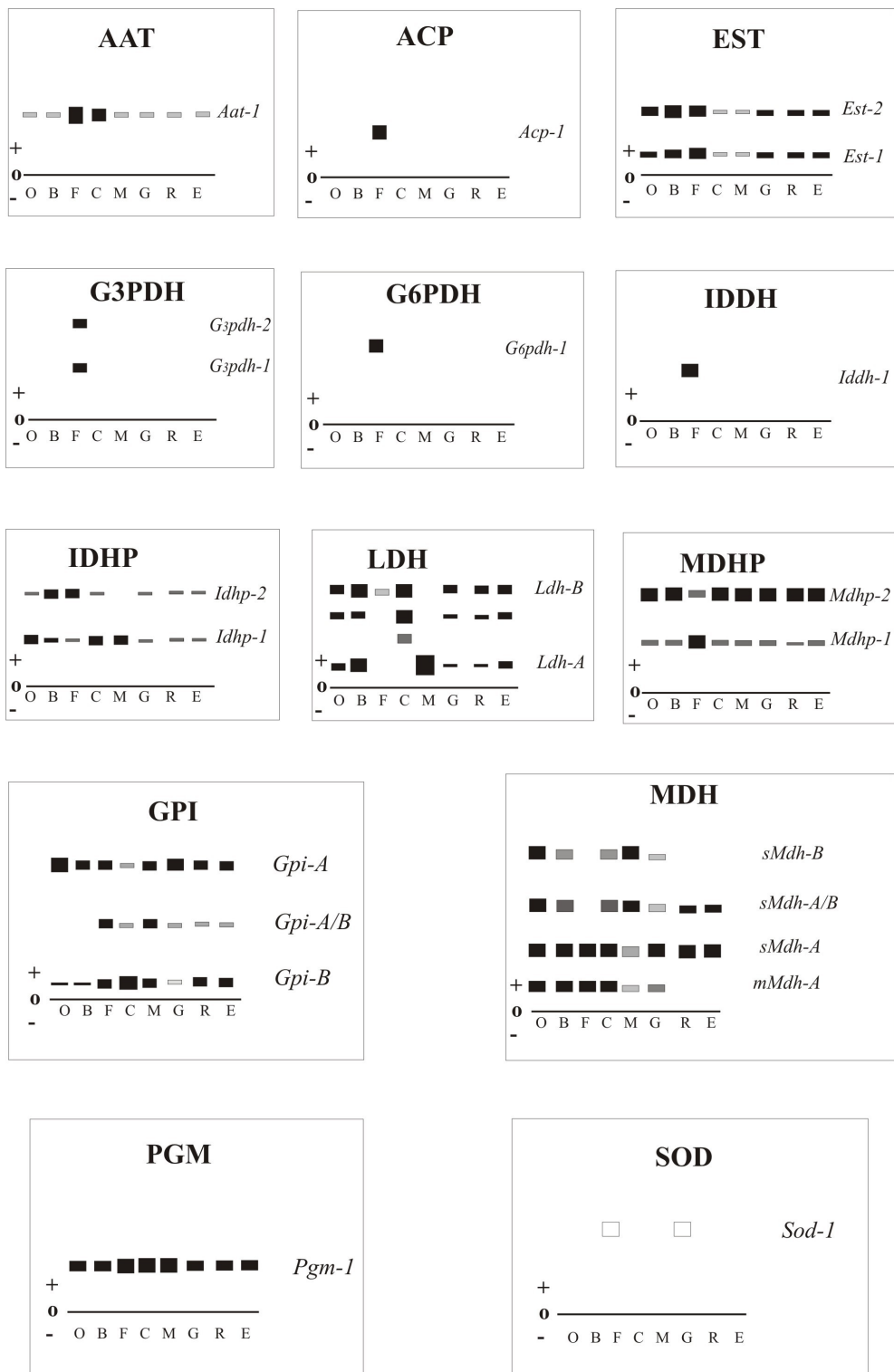
heterotetrâmeros (Fig. 3). Três bandas foram observadas no coração, presumivelmente B<sub>4</sub>, A<sub>1</sub>B<sub>3</sub> e A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>. Os dois *loci* se expressaram no olho, brânquia e estômago, mas o *locus Ldh-B* se expressou preferencialmente na gônada, rim e estômago.

**MDH** – Esta enzima dimérica apresentou quatro bandas de atividade no olho, brânquia, coração e músculo branco. No fígado, somente duas bandas anódicas foram detectadas enquanto o rim e o estômago exibiram duas bandas intermediárias. Este padrão foi interpretado como a expressão de três *loci*, *mMdh-A*, *sMdh-A* e *sMdh-B* com formação de heterodímero entre os *loci sMdh-A* e *sMdh-B*.

**MDHP** – Este sistema teve um padrão eletroforético típico de enzima codificada por dois *loci* (*Mdhp-1* e *Mdhp-2*). *Mdhp-2* se expressou mais fortemente em quase todos os tecidos menos no fígado que mostrou expressão mais forte do *locus Mdhp-1*.

**PGM** – Todos os tecidos mostraram apenas uma banda para esta enzima, típica de enzima monomérica codificada por um *locus* monomórfico.

**SOD** – A expressão desta enzima foi restrita aos tecidos do fígado e gônada, mostrando um padrão de uma única banda codificada por um *locus* monomórfico.



**Figura 3** – Padrões eletroforéticos e denominação de *locus* para treze sistemas enzimáticos de *Astyanax altiparanae* da alto rio Paraná e do Ribeirão Ficha, Paraná, Brasil, **O** = olho; **B** = brânquia; **F** = Fígado; **C** = coração; **M** = músculo branco; **G** = gônada; **R** = rim; **E** = estômago.

## DISCUSSÃO

Neste trabalho foi detectada uma alta variabilidade intrapopulacional nas populações de *A. altiparanae* do alto rio Paraná e do Ribeirão Ficha por meio da técnica de eletroforese de isoenzimas em gel de amido. A variabilidade genética de *A. altiparanae* foi analisada previamente por meio de marcadores moleculares. Moysés e Almeida-Toledo (2002) estudaram a variabilidade genética do mtDNA de *Astyanax lacustris* da bacia do Rio São Francisco e de *A. altiparanae* da bacia do alto rio Paraná usando a técnica de RFLP e encontraram diferenças entre elas. Marcadores RAPD e mtDNA demonstraram alta similaridade genética entre as populações de *A. altiparanae* dos rios Keller e Pirapó da bacia do alto rio Paraná e aquelas do rio Iguaçu (Prioli *et al.*, 2002). Leuzzi *et al.* (2004) analisaram a variabilidade genética de *A. altiparanae* de quatro localidades da represa Capivara, uma da represa de Rosana (à jusante de Capivara) e uma da represa de Jurumirim (à montante de Capivara) do rio Paranapanema (afluente do rio Paraná) pela técnica de RAPD e registraram alta variabilidade genética e alta diferenciação populacional.

Os fenótipos obtidos para os treze sistemas enzimáticos estudados de *A. altiparanae* foram semelhantes àqueles demonstrados previamente para outras espécies de characiformes da bacia do alto rio Paraná (Revaldaves *et al.*, 1997; Renesto e Zawadzki, 1997, 2001; Chiari e Sodré, 1999; Peres *et al.*, 2002) e para espécies de siluriformes (Almeida e Sodré, 1998; Renesto *et al.*, 2000; Zawadzki *et al.*, 1999, 2000, 2001). Os dados revelaram que *A. altiparanae* é portador de uma alta variabilidade genética, de 52,38% de *loci* polimórficos no rio Paraná e 38,10% no Ribeirão Ficha. A heterozigosidade esperada foi estimada em 0,147 para a população do rio Paraná e em 0,090 para a do Ribeirão Ficha, as quais são superiores à média 0,051 estimada para 195 espécies de peixes de várias localidades do mundo (para uma revisão veja Ward *et al.*, 1992), mas são semelhantes às de outros characiformes brasileiros.

A heterozigosidade esperada para cada *locus* variou de zero a 0,7492 na população de *A. altiparanae* da planície de inundação do alto rio Paraná, e de zero a 0,7266 na população do Ribeirão Ficha (Tab. 3).

A heterozigosidade de *Prochilodus lineatus* da bacia do alto rio Paraná foi estimada em 0,130 (Revaldaves *et al.*, 1997). Chiari e Sodré (1999) analisaram cinco espécies de anostomídeos do rio Tibagi, um afluente do rio Paranapanema, e acharam valores de heterozigosidade esperada de 0,142 para *Leporinus elongatus*, 0,132 para *L. frederici*, 0,090 para *L. obtusidens*, 0,092 para *Schizodon nasutus* e 0,072 para *S.*

*intermedius*. A heterozigosidade esperada para *Hoplias malabaricus* foi estimada em 0,140 para populações do rio Paraná e uma população de lagoa de uma ilha do rio Paraná (Peres *et al.*, 2002).

Embora as heterozigosidades esperadas para as duas populações analisadas não sejam significativamente diferentes, valores significativos de  $F_{st}$  foram verificados para *Acp-1*, *G3pdh-1*, *Gpi-A*, *Iddh-1*, *Mdhp-1*, e *Mdhp-2* (Tab. 4).

Alguns alelos são encontrados em uma população e estão ausentes na outra, como *Acp-1(a,b,c,d)* no ribeirão Ficha e apenas *Acp-1(c)* no rio Paraná e possivelmente a presença destes alelos raros levou a um excesso de homozigosidade (Tab. 2).

Se as frequências dos alelos *Acp-1(c)* e *sMdh-B(a)* na população do rio Paraná fossem iguais àquelas da população do Ribeirão Ficha, a probabilidade de que todos os 31 indivíduos coletados no rio Paraná fossem homozigotos seria  $7,835 \times 10^{-23}$  ( $0,44^2 \times 31$ ) para *Acp-1(c)* e 0,3918 ( $0,985^2 \times 31$ ) para *sMdh-B(a)*. Por outro lado, se as frequências dos alelos *G3pdh-1(a)*, *Iddh-1(a)*, *mMdh-1(a)*, *Mdhp-1(a)* e *Mdhp-2(a)* no Ribeirão Ficha fossem aproximadamente as mesmas que da população do rio Paraná, a probabilidade de que todos os 33 indivíduos coletados no Ribeirão Ficha fossem homozigotos para os alelos *G3pdh-1(a)*, *Iddh-1(a)*, *mMdh-1(a)*, *Mdhp-1(a)* e *Mdhp-2(a)* seria 0,0038,  $2,7266 \times 10^{-16}$ , 0,3449,  $4 \times 10^{-7}$ ,  $1,5841 \times 10^{-21}$ , respectivamente.

Estes dados mostram que com o número de peixes analisados, a probabilidade de que os alelos *G3pdh-1(a)*, *Iddh-1(a)*, *mMdh-1(a)*, *Mdhp-1(a)*, e *Mdhp-2(a)* não fossem detectados na população do rio Paraná era extremamente baixa. Esta diferença pode ser devido à falta de fluxo gênico entre as duas populações porque elas estão separadas por uma distância de aproximadamente 440 km de rio, o que permitiu o acúmulo de mutações diferentes. Estes dados indicam que as duas populações são geneticamente diferenciadas.

O locus *Gpi-A* foi o mais polimórfico (Tab. 3). Johnson (1974) sugeriu que o polimorfismo da GPI poderia ser considerado como uma alternativa metabólica, uma vez que este polimorfismo aumentaria a aptidão dos organismos em ambientes instáveis.

Um excesso significativo de homozigotos foi encontrado nos loci *G6pdh-1*, *Iddh-1*, *Mdhp-1* e *Mdhp-2* na população do rio Paraná e no locus *G6pdh-1* na população do Ribeirão Ficha (Tab. 4). Esta alta

homozigossidade provavelmente não seja atribuída à endogamia ou deriva genética porque *A. altiparanae* é altamente abundante na região. É possível que esteja ocorrendo seleção para homozigotos nestes *loci*.

A alta variabilidade genética de *A. altiparanae* detectada no presente trabalho pode ser explicada pela seleção natural para vantagem do heterozigoto em *loci* polimórficos. Por ser constituída de populações grandes, a alta variabilidade genética de *A. altiparanae* pode ser também explicada pelo acúmulo de mutações neutras ou quase-neutras (Kimura e Ohta, 1971). Uma outra possibilidade é que *A. altiparanae* seja um complexo de espécies crípticas como sugerida por estudos citogenéticos. Nesses estudos, vários autores têm registrado o mesmo número diplóide ( $2n = 50$ ), com diferentes fórmulas cariotípicas e diferentes números de cromossomos supranumerários em *A. altiparanae* (Vale e Martins-Santos, 1998; Daniel-Silva e Almeida-Toledo, 2001; Pacheco *et al.*, 2001; Porto e Martins-Santos, 2002; Fernandes e Martins-Santos, 2005).

A variabilidade genética de *A. altiparanae* se torna uma importante ferramenta de manejo em políticas de preservação ictiológicas.

## **Agradecimentos**

Os autores agradecem a Horácio Ferreira Júlio Jr. e Gilmar Lassala pela ajuda na coleta e identificação dos peixes, a Isabel Cristina Martins dos Santos pela ajuda com as figuras, a Maria de Fátima Pires da Silva Machado pela ajuda na interpretação dos géis, a Laudénir Maria Prioli pela ajuda na discussão, ao Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aqüicultura da Universidade Estadual de Maringá, pelo apoio logístico, à CAPES e PELD/CNPq pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abes SS (1998) Padrões espaço-temporais na composição específica e estrutura trófica da taxocenose de peixes do riacho Água Nanci, bacia do alto rio Paraná. Dissertação de mestrado, Curso de Pós-graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais, Universidade Estadual de Maringá.
- Aebersold PB, Winans GA, Tell DJ, Milner GB e Utter M (1987) Manual for starch gel electroforesis: a method for the detection of genetic variation. NOAA Technical Report NMFS 61:1-17.
- Agostinho AA, Gomes LC e Zalewski M (2001) The importance of floodplains for the dynamics of fish communities of the upper river Paraná. *Ecohydrology & Hydrobiology* 1-2:209-217.
- Almeida FS de e Sodr e LMK (1998) Analysis of genetic variability in three species of Pimelodidae (Ostariophysi-Siluriformes). *Genet Mol Biol* 21(4):487-492.
- Boyer SH, Fainer DC e Naughton MA (1963) Myoglobin: inherited structural variation in man. *Science* 140:1228-1231.
- Chiari L e Sodr e LMK (1999) Genetic variability in five species of anostomidae (Ostariophysi, Characiformes). *Genet Mol Biol* 4:517-523.
- Daniel-Silva MFZ e Almeida-Toledo LF (2001) Chromosome R-banding pattern and conservation of a marker chromosome in four species, genus *Astyanax* (Characidae, Tetragonopterinae). *Caryologia* 54:209-215.
- Fernandes CA e Martins-Santos IC (2005) Cytogenetic studies in two populations of *Astyanax asltiparanae* (Pisces, Characiformes), *Hereditas* 141 (in press).

- Garutti V and Britski HA (2000) Descrição de uma espécie nova de *Astyanax* (Teleostei: Characidae) da bacia do alto rio Paraná e considerações gerais sobre as demais espécies do gênero da bacia. *Comum Mus Ciênc Tecnol PUCRS Sér Zool* 13:65-88.
- Johnson GB (1974) Enzyme polymorphism and metabolism. *Science* 184:28-37.
- Julio Jr HF e Agostinho AA (2003) Introduced species into the Upper Paraná River floodplain by elimination of a geographical barrier and stocking programs. Joint Meeting of Ichthyologists and Herpetologists, Manaus, 26/06 a 01/07/2003.
- Kimura M e Ohta T (1971) Protein polymorphism as a phase of molecular evolution. *Nature* 229:467-469.
- Leuzzi MSP, Almeida FS, Orsi ML e Sodr  MLK (2004) Analysis by RAPD of the genetic structure of *Astyanax altiparanae* (Pisces, Characiformes) in reservoirs of the River Paranapanema, Brazil. *Genet Mol Biol* 27(3):355-362.
- Luz KDG e Okada EK (1999) Diet and dietary overlap of three sympatric fish species in lakes of the Upper Paraná River Floodplain. *Braz Arch Biol Technol* 42:441-447.
- Moysés CB e Almeida-Toledo LF (2002) Restriction fragment length polymorphisms of mitochondrial DNA among five freshwater fish species of the genus *Astyanax* (Pisces, Characidae). *Genet Mol Biol* 25:401-407.
- Murphy RW, Sites Jr, JW, Buth DG e Haufler CH (1996), Proteins: Isozyme electrophoresis: 51-120, In Hillis DM, Moritz C and Mable BK, (Eds.), *Molecular systematics*, Sunderland, Sinauer Assoc.
- Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583-590.

- Nei M (1987) *Molecular Evolutionary Genetics*, N. York, Columbia University Press, p.183-184.
- Oliveira AV, Prioli AJ, Prioli SMAP, Pavanelli, CS, Julio Jr HF e Panarari RS (2002) Diversity and genetic distance in populations of *Steindachnerina* in the upper Paraná river floodplain. *Genetica* 115:259-267.
- Oliveira AV (2004). Relações genéticas entre populações do gênero *Cichla* introduzidas na bacia do rio Paraná, evidenciadas por marcadores nucleares e do genoma mitocondrial. PhD.Thesis, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Brasil.
- Pacheco RB, Giuliano-Caetano L e Dias AL (2001) Cytotypes and multiple NORs in an *Astyanax altiparanae* population (Pisces, Tetragonopterinae). *Chromosome Sci* 5:109-114.
- Pasteur N, Pasteur G, Bonhomme F, Catalan J e Britton-Davidian J (1988) *Practical Isozyme Genetics*. Ellis Horwood Limited, Chichester, 215pp.
- Peres MD, Renesto E, Lapenta AS e Zawadzki CH (2002) Genetic variability in *Hoplias malabaricus* (Osteichthyes: Erytrinae) in fluvial and lacustrine environments in the Upper Paraná River floodplain (Paraná State, Brazil), *Biochem Genet* 40:209-223.
- Porto FE e Martins-Santos IC (2002), Diversidade cariotípica em populações de *Astyanax altiparanae* (Pisces, Characidae) das bacias do rio Paraná e Iguaçu. IX Simpósio de Citogenética e Genética de Peixes p, 3.
- Prioli SMAP, Prioli AJ, Júlio-Jr HF, Pavanelli CS, Oliveira AV, Carrer H, Carraro DM e Prioli LM (2002) Identification of *Astyanax altiparanae* (Teleostei, Characidae) in the Iguaçu River, Brazil, based on mitochondrial DNA and RAPD markers. *Genet Mol Biol* 25:421-430.



- Renesto E, Zawadzki, CH e Revaldaves, E (2000) Genetic evidence for two species of the genus *Pimelodus* Lacépède, 1803 (Siluriformes:Pimelodidae) in the Iguazu River (Brazil), *Genet Mol Biol* 23(4):809-813.
- Renesto E e Zawadzki, CH (1997) Taxonomia bioquímica de *Astyanax* do reservatório de Segredo. In Agostinho AA and Gomes LC (eds,) Reservatório de Segredo: bases ecológicas para manejo. Eduem, Universidade Estadual de Maringá, PR, Brasil, pp 85-96.
- Revaldaves E, Renesto E e Machado MFPS (1997) Genetic variability of *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae) in the Upper Paraná River Braz J Genet 20:381 – 388.
- Ruvolo-Takasusuki MCC, Machado MFPS e Conte H (2002) Esterase-3 polymorphism in the sugarcane borer *Diatraea saccharalis*. *Genet Mol Biol* 25:61-64.
- Secretaria de Estado de Agricultura e do Abastecimento, Instituto de Terras, Cartografia e Florestas (1987) Atlas do Estado do Paraná.
- Sekine ES, Prioli AJ, Prioli SMAP e Júlio JR HF (2002) Genetic differentiation among populations of *Pseudoplatystoma corruscans* (Agassiz, 1829) (Osteichthyes, Pimelodidae) isolated by the Guaíra Falls in the Paraná River, *Acta Scient* 24(2):507-512.
- Shaw CR e Prasad R (1970) Starch gel electrophoresis of enzymes: a compilation of recipes. *Biochem Genet* 4:297-320.
- Thomaz SM, Roberto MC e Bini LM (1997) Caracterização limnológica dos ambientes aquáticos e influência dos níveis fluviométricos. In: Vazzoler AEA, Agostinho A, Hahn NS (eds) A planície de inundação do alto rio Paraná: aspectos físicos, biológicos e socioeconômicos, Eduem, Universidade Estadual de Maringá, PR, Brazil, pp 250-265.

- Val AL, Schwantes AR, Schwantes MLB e De Luca PH (1981) Amido hidrolisado de milho como suporte eletroforético. *Ciência e Cultura* 33:737-741.
- Vale JD e Martins-Santos IC (1998) Estudo citogenético de duas populações de *Astyanax bimaculatus* (Pisces, Characidae). VII Simpósio de Citogenética Evolutiva Aplicada de Peixes Neotropicais: A8.
- Vazzoler AEA, Suzuki HI, Marques EE e Lizama MLAP (1997) Primeira maturação gonadal, períodos e áreas de reprodução. In: Vazzoler AEA, Agostinho A, Hahn NS (eds) *A planície de inundação do alto rio Paraná: aspectos físicos, biológicos e socioeconômicos*, Eduem, Universidade Estadual de Maringá, PR, Brazil, pp 250-265.
- Vida G (1994) Global issues of genetic diversity. In: Loeschcke V, Tomiuk J and Jain SK, (eds), *Conserv Genet*, Basel, Birkhauser Verlag.
- Yeh FC and Boyle TJB (1997) Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. *Belg J Bot* 129:157.
- Ward RD, Skibinski DOF e Woodward M (1992) Protein heterozygosity, protein structure and taxonomic differentiation. *Evol Biol* 26:73-59.
- Wright S (1978) *Evolution e The Genetics of Population*, Vol, 4. Variability within and among natural population, University of Chicago Press, Chicago, pp 79-103.
- Zawadzki CH, Machado, MFPS e Renesto, E (2001) Differential expression for tissue-specific isozymes in three species of *Hypostomus* Lacépède 1803 (Teleostei:Loricariidae). *Bioch Syst Ecol* 29:911-922.
- Zawadzki CH, Reis RE e Renesto, E (2000) Allozyme discrimination of three species of *Loricariichthys* (Siluriformes:Loricariidae) from southern Brazil. *Rev suisse de Zool* 107(4):663-674.
- Zawadzki CH, Renesto, E, e Bini LM (1999) Genetic and morphometric analysis of three species of the genus *Hypostomus* Lacépède 1803 (Osteichthyes:Loricariidae) from Rio Iguaçu basin (Brazil), *Rev suisse de Zool* 106(1):91-105.

## **Relações entre variabilidade genética e estratégias reprodutivas de peixes tropicais.**

### **Resumo**

Na tentativa de elucidar os fatores que contribuem para a manutenção do polimorfismo protéico e sua relação com estratégias reprodutivas, em populações naturais de peixes, foram estimadas as variabilidades genéticas pela heterozigosidade média esperada ( $H_e$ ) de nove espécies de peixes, da planície de inundação do alto rio Paraná (*Astyanax altiparanae*, *Hoplias malabaricus*, *Leporinus lacustris*, *Loricariichthys platymetopon*, *Parauchenipterus galeatus*, *Pimelodus maculatus*, *Rhaphiodon vulpinus*, *Roeboides paranensis* e *Serrasalmus marginatus*). A variabilidade genética estimada variou de zero a 0,147. Uma fraca correlação entre a abundância e a variabilidade genética foi detectada. As nove espécies analisadas diferiram quanto às médias de  $H_e$  quando separadas em grupos de estratégias reprodutivas. Quando dados de 75 espécies de peixes tropicais da literatura são adicionadas às nove do presente trabalho, os valores de  $H_e$  também diferem significativamente, entre os grupos de diferentes estratégias reprodutivas. A média de  $H_e$  do grupo não migrador e sem cuidado parental é a mais alta, seguida pela média das espécies migradoras de longas distâncias e sem cuidado parental, e a menor média encontrada foi para o grupo das espécies não migradoras, com cuidado parental ou fecundação interna.

**Palavras-chaves:** estratégias reprodutivas, heterozigosidade, peixes tropicais, polimorfismo protéico, rio Paraná, variabilidade genética.

## **Relationship between genetic variability and reproductive strategies of tropical fishes.**

### **Abstract**

In attempt to elucidate the factors that contribute to the maintenance of protein polymorphism and its relation with reproductive strategies, in natural populations of fish, it were been estimated the genetic variability by the expected mean heterozygosity ( $H_e$ ) of nine species of fish, of the Upper Paraná River floodplain (*Astyanax altiparanae*, *Hoplias malabaricus*, *Leporinus lacustris*, *Loricariichthys platymetopon*, *Parauchenipterus galeatus*, *Pimelodus maculatus*, *Rhaphiodon vulpinus*, *Roeboides paranensis* and *Serrasalmus marginatus*). The mean expected heterozygosity varied from zero to 0,147. A not significant correlation between the abundance and the genetic variability was detected. The heterozygosity of the analyzed species had differed, when separate in groups of reproductive strategies. When 75 species of tropical fish data of literature were added to the nine species of the present work, the  $H_e$  values differed significantly among the groups of different reproductive strategies. The highest mean  $H_e$  was for the non-migratory without parental care, followed by the long distance migrators without parental care, and the least mean was for the non-migratory with parental care or internal fecundation.

**Key words:** genetic variability, heterozygosity, Paraná River, protein polymorphism, reproductive strategies, tropical fishes.

## INTRODUÇÃO

As respostas que as espécies apresentam às pressões seletivas impostas pelo seu ambiente podem ser evidenciadas pelas estratégias exibidas nas diferentes funções vitais. As estratégias visam reduzir os custos energéticos com a manutenção do indivíduo, aumentar a eficiência na obtenção de energia e assim maximizar a eficiência reprodutiva. O sucesso da estratégia pode ser aferido pela capacidade individual de se fazer representar geneticamente nas próximas gerações (Agostinho & Júlio Jr., 1999).

As estratégias reprodutivas são extremamente diversificadas entre os peixes, incluindo variações no meio pelo qual eles encontram e atraem os parceiros, nos locais onde desovam e nos cuidados que dispensam à prole (Wootton, 1990). A ovuliparidade com fecundação e desenvolvimento externos é o padrão dominante para a maioria dos peixes teleósteos. Já a oviparidade, com fecundação interna e desenvolvimento externo, ocorre em algumas espécies de peixes nas bacias hidrográficas brasileiras, como a espécie *Parauchenipterus galeatus*.

Blumer (1982) definiu tipos de cuidado parental que variam de atividades de pré fertilização, como limpeza de substrato e construção de ninhos (*Hoplias malabaricus*) até guarda de ovos ou de jovens presos ao corpo ou na boca (incubador oral). Ou seja, é considerado cuidado parental qualquer investimento em um descendente individual que aumente a chance de sobrevivência da descendência (sucesso reprodutivo) à custa da capacidade dos pais de investirem em outro descendente.

A pressão de predadores parece ser um importante fator na evolução de algumas formas de cuidado parental para com os ovos e jovens. Moodie & Power (1982) sugerem que o hábito dos machos carregarem ovos nos lábios (alguns loriicarídeos) como o

*Loricariichthys platymetopon* evoluiu como um modo de superar a competição intra-específica por cavidades para ninhos.

A diversidade genética tem sido considerada a base das mudanças evolutivas (Nevo et al., 1988). A capacidade de adaptação a ambientes heterogêneos e instáveis, está relacionada à variabilidade genética presente nas espécies. A sua redução resultaria em limitações para o desempenho de suas atividades alimentares e reprodutivas, assim como para uma exploração mais eficiente do habitat (Kirpichnikov, 1992). A variação aloenzimática tem sido amplamente utilizada para estimar a variação genética em populações naturais (Nevo et al., 1988; Van Der Bank et al., 1989 e Ward et al., 1994).

Muitos são os esforços no sentido de justificar a existência e a manutenção da variabilidade genética em populações naturais. Nevo et al. (1988) analisaram as relações entre heterozigosidade e fatores ecológicos (*variáveis abióticas*: clima, distribuição geográfica e tipo de habitats; *variáveis bióticas*: fecundidade, tamanho do corpo e longevidade e *variáveis demográficas*: estrutura da população, mobilidade e sociabilidade) em 1.111 espécies (invertebrados, plantas e vertebrados) e consideraram que a heterogeneidade ambiental seria o maior fator na manutenção da diversidade genética em populações naturais.

Heithaus & Laushman (1997) testaram a influência dos fatores ecológicos (amplitude do nicho e heterogeneidade espacial), história de vida e qualidade da água sobre a variabilidade genética de peixes. Estes autores concluíram que existe uma tendência de decréscimo da variabilidade genética com a especialização das espécies.

O objetivo deste trabalho foi estimar a variabilidade genética de nove espécies de peixes da planície de inundação do alto rio Paraná e juntamente com dados da literatura de peixes tropicais verificar as relações com as estratégias reprodutivas.

## MATERIAL E MÉTODOS

As amostragens foram feitas no período de março a dezembro de 2002 na planície de inundação do alto rio Paraná, nos rios: Baía ( $22^{\circ}44'S/53^{\circ}17'W$ ) e Paraná ( $22^{\circ}46'S/53^{\circ}15'22''W$ ) (Fig. 1).

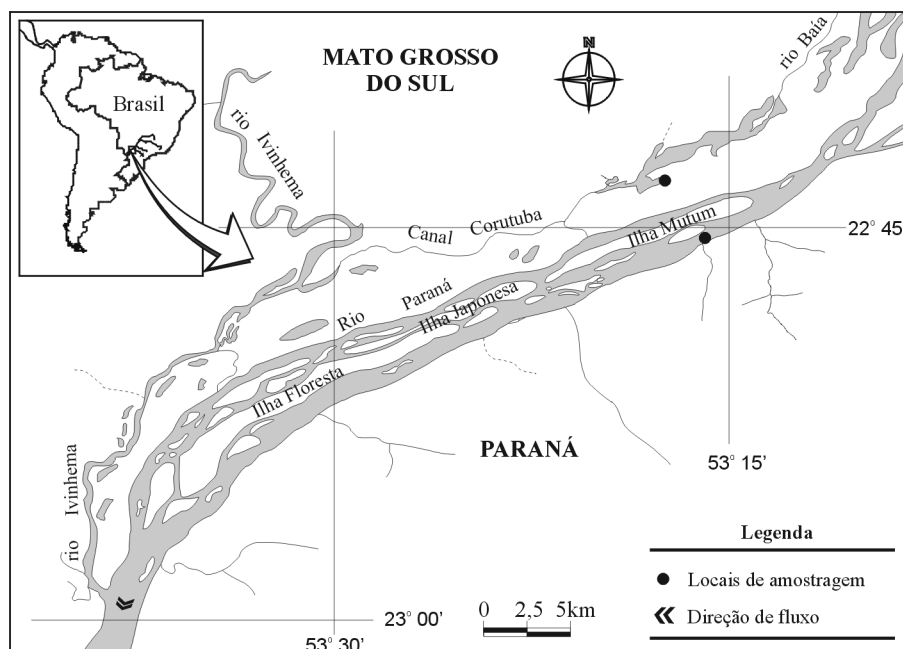


Figura 1. Locais de amostragem da planície de inundação do alto rio Paraná.

As espécies de peixes coletadas foram *Astyanax altiparanae* Garutti & Britski, 2000, *Hoplias malabaricus* (Bloch 1794), *Leporinus lacustris* Campos, 1945, *Loricariichthys platymetopon* Isbrücker & Nijssen, 1979, *Parauchenipterus galeatus* (Linnaeus, 1766), *Pimelodus maculatus* Lacépède, 1803, *Rhaphiodon vulpinus* Agassiz, 1829, *Roeboides paranensis* Pignalberi, 1975, *Serrasalmus marginatus* Valenciennes, 1847.

Estas espécies foram selecionadas por serem abundantes na região e possuírem diferentes estratégias reprodutivas.

Imediatamente após a coleta, os tecidos das brânquias, coração, estômago, fígado, músculo esquelético branco, olhos e rins foram removidos dos peixes, congelados em nitrogênio líquido (-200°C) e conservados a -80°C.

Para as análises eletroforéticas, estes tecidos foram macerados com bastões plásticos em microtubos de 1,5 ml com tampão Tris/HCl 0,02M, pH 7,5 em uma proporção de 1:1. Ao macerado de fígado foi necessária a adição de Tetracloreto de carbono (CCl<sub>4</sub>) na concentração de 1:2 (tecido: CCl<sub>4</sub>) devido à grande quantidade de gordura presente neste tecido (Pasteur et al., 1988). As amostras homogeneizadas foram centrifugadas a 25.000rpm (45.114 x g), por 30 minutos com a temperatura variando de 1°C a 5°C.

As frações sobrenatantes foram submetidas à eletroforese horizontal em gel de amido de milho (Penetrose 50®) 15% (Val et al., 1981). Os dezesseis sistemas enzimáticos testados, os tecidos e as condições de corrida são mostrados na Tabela 1.

Para visualização das isoenzimas foram utilizados os procedimentos padrões de coloração baseados nos protocolos de Aebersold et al. (1987). A interpretação genética dos géis foi feita tomando por base a estrutura quaternária das enzimas, conforme Ward et al. (1992). A nomenclatura utilizada segue o proposto por Murphy et al. (1996). Os dados foram analisados utilizando POPGENE 1.31 (Yeh & Boyle, 1997). A variabilidade genética foi estimada pelo índice de diversidade genética de Nei (1978) e as frequências alélicas testadas para o equilíbrio de Hardy-Weinberg pelo teste de  $\chi^2$ .

Para análise de correlação entre abundância e heterozigosidade média esperada (He) foram utilizados dados de captura por unidade de esforço (CPUE), ou seja, número de indivíduos em 1.000 m<sup>2</sup> de rede em 24hs, obtidos pelo Programa de Ecologia de

Longa Duração (PELD/CNPq/NUPELIA) para o ano de 2002. A análise de correlação foi feita utilizando-se o programa Statistica 6.0 (StatSoft, 2003).

As espécies foram separadas em três grupos distintos de estratégias reprodutivas conforme Vazzoler e Menezes (1992), migradoras de longas distâncias (>100Km) (G1 = *P. maculatus*, *R. vulpinus*), sedentárias ou migradoras de curtas distâncias (<100Km) sem cuidado parental (G2 = *A. altiparanae*, *L. lacustris*, *R. paranensis*) e sedentárias ou migradoras de curtas distâncias com fecundação interna ou cuidado parental (G3 = *H. malabaricus*, *L. platymetopon*, *P. galeatus*, *S. marginatus*) (Tab. 2). A estes dados, foram adicionados dados da literatura de 61 espécies da bacia do rio Paraná e 14 espécies de peixes africanos (Tab. 3).

As diferenças dos grupos de estratégias reprodutivas foram avaliadas por teste *t* utilizando-se o programa Statistica 6.0 (StatSoft, 2003), e análise de variância para Modelos Nulos, utilizando-se o programa EcoSim 7.0 (Gotelli & Entsminger, 2001). Em todas as análises foi adotado um nível de significância de  $\alpha = 0,05$ .



Tabela 1. Condições experimentais de 16 sistemas enzimáticos analisados para espécies de peixes da planície de inundação do alto rio Paraná.

Enzimas (Abreviação)	E. C. nº.	Tecidos	Tampão de corrida	Tempo de corrida
Aspartato aminotransferase (AAT)	2.6.1.1	F	I	14h
Álcool desidrogenase (ADH)	1.1.1.1	F	II	14h
$\alpha$ - Esterase (EST)	3.1.1.1	F	III	5,5h
Fosfatase Ácida (ACP)	3.1.3.2	F	III	5,5h
Glicose desidrogenase (GCDH)	1.1.1.118	F	IV	14h
Glicerol-3-fosfato desidrogenase (G <sub>3</sub> PDH)	1.1.1.8	F	IV	14h
Glicose-6-fosfato isomerase (GPI)	5.3.1.9	C, F e M	IV	14h
Glicose-6-fosfato desidrogenase (G <sub>6</sub> PDH)	1.1.1.49	F	I	14h
L-Iditol desidrogenase (L-IDDH)	1.1.1.14	F	IV	14h
Isocitrato desidrogenase -NADP <sup>+</sup> (IDHP)	1.1.1.42	C, B e F	IV	14h
L-Lactato desidrogenase (LDH)	1.1.1.27	C	IV	14h
Malato desidrogenase -NAD <sup>+</sup> (MDH)	1.1.1.37	B, C, F e M	IV	14 h
Malato desidrogenase -NADP <sup>+</sup> (MDHP)	1.1.1.40	C e M	IV	14h
Peroxidase (PER)	1.11.1.7	F	IV	14h
Fosfoglicomutase (PGM)	5.4.2.2	F e C	IV	14h
Superóxido dismutase (SOD)	1.15.1.1	F	II	14h

# E. C.= número de código internacional de enzimas (B= brânquias, C= coração, F= fígado, M= músculo) I= Tris/EDTA/Maleato (pH 7,4) (Shaw e Prasad, 1970); II= Tris/EDTA/borato (pH 8,6) (Boyer et al., 1963); III= Tris-HCl (pH 7,5) (Ruvolo-Takasusuki et al., 2002); IV= Tris/citrato (pH=7,0) (Shaw e Prasad, 1970).

Tabela 2. Estratégias reprodutivas das espécies de peixes analisadas da Planície de inundação do alto rio Paraná.

Espécies	Fecundação	Cuidado arental	Migração (>100Km)
<b>Grupo 1</b>			
<i>P. maculatus</i>	externa	ausente	sim
<i>R. vulpinus</i>	externa	ausente	sim
<b>Grupo 2</b>			
<i>A. altiparanae</i>	externa	ausente	não
<i>L. lacustris</i>	externa	ausente	não
<i>R. paranensis</i>	externa	ausente	não
<b>Grupo 3</b>			
<i>H. malabaricus</i>	externa	presente	não
<i>L. platymetopon</i>	externa	presente	não
<i>P. galeatus</i>	interna	ausente	não
<i>S. marginatus</i>	externa	presente	não

Tabela 3. Dados isoenzimáticos de variabilidade genética de peixes tropicais do Brasil e da África.

G1= Espécies migradoras; G2= Espécies sedentárias ou migradoras de curtas distâncias; G3= Espécies sedentárias ou migradoras de curtas distâncias, Fertilização interna ou cuidado parental.

Espécies	Grupos de Estratégias Reprodutivas	He	Local	Ref. >
<i>Chetia flaviventris</i>	G3	0,015	África	1
<i>Clarias gariepinus</i>	G3	0,042	África	2
<i>Crenicichla iguassuensis</i>	G3	0,033	Brasil	3
<i>Crenicichla</i> sp.	G3	0,063	Brasil	3
<i>Hemichromis elongatus</i>	G3	0,020	África	1
<i>Hisonotus</i> sp.	G3	0	Brasil	4
<i>Hypostomus albopunctatus</i>	G3	0,031	Brasil	5
<i>Hypostomus ancistroides</i>	G3	0,082	Brasil	5
<i>Hypostomus ancistroides</i>	G3	0,052	Brasil	4
<i>Hypostomus boulengeri</i>	G3	0,078	Brasil	6
<i>Hypostomus cochliodon</i>	G3	0,070	Brasil	6
<i>Hypostomus cochliodon</i>	G3	0,039	Brasil	5
<i>Hypostomus</i> aff. <i>commersoni</i>	G3	0,440	Brasil	7
<i>Hypostomus commersoni</i>	G3	0,088	Brasil	5
<i>Hypostomus</i> aff. <i>derbyi</i>	G3	0,037	Brasil	5
<i>Hypostomus derbyi</i>	G3	0,011	Brasil	7
<i>Hypostomus hemanni</i>	G3	0,068	Brasil	8
<i>Hypostomus</i> cf. <i>latirostris</i>	G3	0,029	Brasil	6
<i>Hypostomus latifrons</i>	G3	0,070	Brasil	6
<i>Hypostomus microstomus</i>	G3	0,023	Brasil	5
<i>Hypostomus margaritififer</i>	G3	0,061	Brasil	10
<i>Hypostomus margaritififer</i>	G3	0,106	Brasil	5
<i>Hypostomus myersi</i>	G3	0,017	Brasil	7
<i>Hypostomus paulinus</i>	G3	0,027	Brasil	9
<i>Hypostomus regani</i>	G3	0,033	Brasil	6
<i>Hypostomus regani</i>	G3	0,056	Brasil	4
<i>Hypostomus regani</i>	G3	0,098	Brasil	5
<i>Hypostomus</i> sp.1	G3	0,042	Brasil	4
<i>Hypostomus</i> sp.1	G3	0,028	Brasil	9
<i>Hypostomus</i> sp.1	G3	0,107	Brasil	5
<i>Hypostomus</i> sp.1	G3	0,143	Brasil	8
<i>Hypostomus</i> sp.1	G3	0,060	Brasil	6
<i>Hypostomus</i> sp.2	G3	0	Brasil	9
<i>Hypostomus</i> sp.2	G3	0,059	Brasil	8
<i>Hypostomus</i> sp.2	G3	0,062	Brasil	5
<i>Hypostomus</i> sp.2	G3	0,009	Brasil	4
<i>Hypostomus</i> sp.2	G3	0,072	Brasil	6
<i>Hypostomus</i> sp.3	G3	0,048	Brasil	5
<i>Hypostomus</i> sp.3	G3	0,091	Brasil	8
<i>Hypostomus</i> sp.3	G3	0,053	Brasil	6
<i>Hypostomus</i> sp.3	G3	0,032	Brasil	4

Tabela 3 (Continuação)

Espécies	Grupos de Estratégias Reprodutivas	He	Local	Ref. >
<i>Hypostomus</i> sp.4	G3	0,080	Brasil	4
<i>Hypostomus</i> sp.5	G3	0,099	Brasil	4
<i>Hypostomus</i> sp.6	G3	0,021	Brasil	4
<i>Hypostomus</i> sp.7	G3	0,063	Brasil	4
<i>Hypostomus ternetzi</i>	G3	0,069	Brasil	5
<i>Iheringichthys labrosus</i>	G2	0,083	Brasil	11
<i>Leporinus elongatus</i>	G1	0,142	Brasil	12
<i>Leporinus friederici</i>	G2	0,132	Brasil	12
<i>Leporinus obtusidens</i>	G1	0,090	Brasil	12
<i>Loricariichthys anus</i>	G3	0,023	Brasil	13
<i>Loricariichthys platymetopon</i>	G3	0,050	Brasil	13
<i>Loricariichthys</i> sp.	G3	0,035	Brasil	13
<i>Megalancistrus parananus</i>	G3	0,019	Brasil	5
<i>Neoplecostomus paranensis</i>	G3	0	Brasil	14
<i>Neoplecostomus</i> sp.	G3	0,030	Brasil	14
<i>Oreochromis andersonii</i>	G3	0,019	África	1
<i>Oreochromis macrochir</i>	G3	0,031	África	1
<i>Pimelodus ortimani</i>	G2	0,024	Brasil	15
<i>Pimelodus</i> sp.	G2	0,006	Brasil	15
<i>Pinirampu pirinampus</i>	G1	0,043	Brasil	11
<i>Prochilodus lineatus</i>	G1	0,132	Brasil	16
<i>Pterygoplichthys anisitsi</i>	G3	0,032	Brasil	5
<i>Pterygoplichthys anisitsi</i>	G3	0,038	Brasil	6
<i>Rhinelepis aspera</i>	G1	0,032	Brasil	5
<i>Schizodon nasutus</i>	G2	0,092	Brasil	12
<i>Serranochromis angusticeps</i>	G3	0,013	África	1
<i>Serranochromis carlottae</i>	G3	0,031	África	1
<i>Serranochromis condingtonii</i>	G3	0,035	África	1
<i>Serranochromis giardi</i>	G3	0,013	África	1
<i>Serranochromis macrocephalus</i>	G3	0,021	África	1
<i>Serranochromis robustus</i>	G3	0,018	África	1
<i>Serranochromis thumbergi</i>	G3	0,018	África	1
<i>Tilapia rendalli</i>	G3	0,031	África	1
<i>Tilapia sparrmanii</i>	G3	0,032	África	1

Referências: 1. Van der Bank et al. (1989), 2. Van der Bank et al. (1992), 3. Renesto et al. (2001), 4. Zawadzki e Renesto (2001), 5. Zawadzki et al. (2005), 6. Renesto E. (comunicação pessoal), 7. Zawadzki et al. (1999), 8. Zawadzki et al. (2004)a, 9. Paiva et al. (2005), 10. Zawadzki et al. (2002), 11. Almeida & Sodré (1998), 12. Chiari & Sodré (1999), 13. Zawadzki et al. (2000), 14. Zawadzki et al. (2004)b, 15. Renesto et al. (2000), 16. Revaldaves et al. (1997).

## RESULTADOS

### ***Variabilidade Genética***

Neste trabalho foram analisados 16 sistemas enzimáticos em 277 espécimes de 9 espécies de peixes, sendo 30 indivíduos para cada espécie à exceção de *A. altiparanae* (n = 31), *H. malabaricus* (n = 24) e *R. vulpinus* (n = 42). As frequências alélicas e a variabilidade genética destas espécies estão sumarizadas na Tabela 4.

Para *A. altiparanae* foram detectados 39 alelos distribuídos em 21 *loci*, sendo a maior proporção de *loci* polimórficos detectada entre as espécies (52,38%) e também o maior número médio de alelos por *locus* ( $K = 1,8$ ). Esta espécie apresentou a maior variabilidade genética,  $H_e = 0,147$ . Os *loci G6pdh-1*, *Iddh-1* e *Mdhp-1* não encontram-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $p < 0,05$ ) (Tab. 4).

Foram detectados 24 *loci* em *H. malabaricus*, dos quais 33,3% são polimórficos e entre estes apenas *Mdhp-1* e *Est-1* estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $p > 0,05$ ). A variabilidade genética para esta espécie foi de  $H_e = 0,137$  (Tab. 4).

*Loricariichthys platymetopon* apresentou o menor percentual de *loci* polimórficos entre as espécies estudadas (10,7%), estando todos os *loci* em equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $p > 0,05$ ). A variabilidade genética da espécie foi estimada em  $H_e = 0,026$ , sendo o terceiro menor valor entre as espécies analisadas (Tab. 4).

Em *R. paranensis* foram detectados 31 alelos distribuídos em 21 *loci*, sendo a proporção de *loci* polimórficos de 38,10%. A variabilidade genética da espécie foi estimada em  $H_e = 0,084$ . Todos os *loci* analisados encontram-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg (Tab. 4).

*Rhaphiodon vulpinus* apresentou uma peculiaridade, apesar de seu número amostral ter sido maior que o das outras espécies, nenhum polimorfismo isoenzimático foi detectado nos dezesseis sistemas enzimáticos testados (Tab. 4).

Foram detectados 30 *loci* para *L. lacustris*, sendo 26,7% destes polimórficos, em média com 1,3 alelos por *locus*. A variabilidade genética da espécie foi estimada em  $He = 0,081$ . Todos os *loci* analisados encontram-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg (Tab. 4).

*Parauchenipterus galeatus* foi a espécie que apresentou o maior número de *loci* detectados, 41 alelos distribuídos em 31 *loci*, dos quais 22,6% polimórficos. A variabilidade genética da espécie foi estimada em  $He = 0,062$ . Somente o *locus Gdh-2* não se encontra em equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $p < 0,05$ ) (Tab. 4).

Foram detectados 29 *loci* em *P. maculatus* dos quais 17,2% foram polimórficos. A variabilidade genética obtida foi a mesma que a esperada para esta espécie,  $He = 0,011$ , sendo a segunda menor variabilidade genética observada entre as espécies analisadas. Todos os *loci* analisados encontram-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg (Tab. 4).

Em *S. marginatus* foram detectados 30 alelos distribuídos em 23 *loci*, sendo a proporção de *loci* polimórficos de 21,7%. A heterozigosidade esperada para a espécie foi de  $He = 0,045$ . Somente o *locus Gdh-1* não se encontra em equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $p < 0,05$ ) (Tab. 4).

Tabela 4. Frequências alélicas de espécies de peixes abundantes da planície de inundação do alto rio Paraná. Números em negrito representam as frequências alélicas que não estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg. N= número de indivíduos analisados K= número médio de alelos por locus;  $P_{0,99}$  = frequência de loci polimórficos;  $H_o$  = heterozigosidade média obtida;  $H_e$  = heterozigosidade média esperada. Abreviações: **Apar**, *Astyanax altiparanae*; **Hmal**, *Hoplias malabaricus*; **Lcut**, *Leporinus lacustris*; **Lpty**, *Loricariichthys platymetopon*; **Pmct**, *Pimelodus maculatus*; **Rvlp**, *Rhaphiodon vulpinus*; **Rprn**, *Roeboides paranensis*; **Smgt**, *Serrasalmus marginatus*; **Pglt**, *Parauchenipterus galeatus*.

Locus	Alelos	Apar	Lcut	Lpty	Pmct	Rvlp	Rprn	Smgt	Pglt	Hmal
<i>Aat-1</i>	<i>a</i>	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,965	1,000	1,000	1,000
	<i>b</i>						0,035			
<i>Aat-2</i>	<i>a</i>				1,000	1,000	1,000	0,033	1,000	1,000
	<i>b</i>							0,967		
<i>Acp-1</i>	<i>a</i>		1,000	1,000	1,000	1,000	0,967	1,000	1,000	1,000
	<i>b</i>						0,033			
	<i>c</i>	1,000								
<i>Acp-2</i>	<i>a</i>		1,000			1,000			1,000	
<i>Adh-1</i>	<i>a</i>		1,000	1,000	1,000	1,000	0,200		1,000	<b>0,729</b>
	<i>b</i>						0,800			<b>0,271</b>
<i>Adh-2</i>	<i>a</i>								1,000	
<i>Est-1</i>	<i>a</i>	0,065	1,000	1,000	1,000	1,000	0,817	0,017	1,000	0,090
	<i>b</i>	0,903					0,150	0,766		0,455
	<i>c</i>	0,032					0,033	0,217		0,455
<i>Est-2</i>	<i>a</i>	0,984	0,683	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	
	<i>b</i>	0,016	0,300							
	<i>c</i>		0,017							
<i>Est-3</i>	<i>a</i>		1,000	1,000	1,000	1,000		1,000	0,783	
	<i>b</i>								0,217	
<i>Est-4</i>	<i>a</i>				0,983					
	<i>b</i>				0,017					
<i>Gdh-1</i>	<i>a</i>		1,000	0,167	0,033	1,000	1,000	<b>0,034</b>	1,000	1,000
	<i>b</i>			0,833	0,967			<b>0,828</b>		
	<i>c</i>							<b>0,138</b>		
<i>Gdh-2</i>	<i>a</i>		1,000			1,000			<b>0,200</b>	
	<i>b</i>								<b>0,767</b>	
	<i>c</i>								<b>0,033</b>	
<i>G3pdh-1</i>	<i>a</i>	0,919	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	
	<i>b</i>	0,081								
<i>G3pdh-2</i>	<i>a</i>	1,000	0,967	1,000	1,000				1,000	
	<i>b</i>		0,033							
<i>G6pdh-1</i>	<i>a</i>	<b>0,134</b>	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	<b>0,833</b>
	<i>b</i>	<b>0,775</b>								<b>0,167</b>
	<i>c</i>	<b>0,091</b>								
<i>G6pdh-2</i>	<i>a</i>		1,000			1,000				
<i>Gpi-A</i>	<i>a</i>	0,113	0,983	1,000	0,933	1,000	1,000	1,000	0,950	<b>0,750</b>
	<i>b</i>	0,339	0,017		0,067				0,050	<b>0,250</b>
	<i>c</i>	0,161								

Tabela 4 (Continuação)

Locus	Alelos	Apar	Lcut	Lpty	Pmct	Rvlp	Rprn	Smgt	Pgl	Hmal
	<i>d</i>	0,258								
	<i>e</i>	0,097								
	<i>f</i>	0,032								
Gpi-B	<i>a</i>	0,968	0,367	0,850	1,000	1,000	0,850	0,983	1,000	<b>0,208</b>
	<i>b</i>	0,032	0,617	0,117			0,133	0,017		<b>0,479</b>
	<i>c</i>		0,017	0,033			0,017			<b>0,313</b>
Iddh-1	<i>a</i>	<b>0,581</b>	1,000	1,000	1,000	1,000		1,000	1,000	
	<i>b</i>	<b>0,339</b>								
	<i>c</i>	<b>0,080</b>								
Iddh-2	<i>a</i>		1,000	1,000				1,000		
Idhp-1	<i>a</i>	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,833	1,000	1,000
	<i>b</i>							0,167		
Idhp-2	<i>a</i>	0,032	0,964	1,000	1,000	1,000	0,933	1,000	0,983	1,000
	<i>b</i>	0,968	0,036				0,067		0,017	
Idhp-3										1,000
Ldh-A	<i>a</i>	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Ldh-B	<i>a</i>	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
mMdh-1	<i>a</i>	0,984	1,000	1,000	1,000			1,000	1,000	1,000
	<i>b</i>	0,016								
sMdh-A	<i>a</i>	1,000	1,000	0,100	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
	<i>b</i>			0,900						
sMdh-B	<i>a</i>	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,983	<b>0,604</b>
	<i>b</i>								0,017	<b>0,396</b>
Mdhp-1	<i>a</i>	<b>0,800</b>	0,767	1,000	1,000	1,000	0,933	1,000	1,000	0,938
	<i>b</i>	<b>0,200</b>	0,233				0,067			0,063
Mdhp-2	<i>a</i>	<b>0,484</b>	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000		1,000	1,000
	<i>b</i>	<b>0,516</b>								
Per-1	<i>a</i>		1,000	1,000	1,000	1,000		1,000	1,000	1,000
Per-2	<i>a</i>		1,000	1,000	1,000	1,000			1,000	1,000
Per-3	<i>a</i>			1,000						
Pgm-1	<i>a</i>	1,000	0,717	1,000	0,967	1,000	0,467	1,000	0,067	1,000
	<i>b</i>		0,283		0,033		0,533		0,433	
	<i>c</i>								0,500	
Sod-1	<i>a</i>	1,000	0,352	1,000	1,000	1,000	1,000		0,633	<b>0,318</b>
	<i>b</i>		0,093						0,333	<b>0,0682</b>
	<i>c</i>		0,555						0,033	
Sod-2	<i>a</i>				0,983	1,000			1,000	
	<i>b</i>				0,017					
N		31	30	30	30	42	30	30	30	24
K		1,8	1,3	1,1	1,2	1,0	1,4	1,3	1,3	1,4
P <sub>0,99</sub>		0,524	0,267	0,107	0,172	0	0,381	0,217	0,226	0,333
Ho		0,068	0,062	0,006	0,011	0	0,052	0,039	0,039	0,048
He		0,147	0,081	0,026	0,011	0	0,084	0,045	0,062	0,137
DP		0,225	0,171	0,077	0,028	0	0,142	0,108	0,154	0,220
EP		0,041	0,031	0,014	0,005	0	0,025	0,020	0,028	0,045

### *Correlação entre Abundância e Variabilidade Genética*

A correlação entre a abundância (indexada pela captura por unidade de esforço; CPUE) e a heterozigosidade esperada ( $H_e$ ) foi baixa ( $r$  de Pearson = 0,16;  $p > 0,05$ ) (Fig. 2)

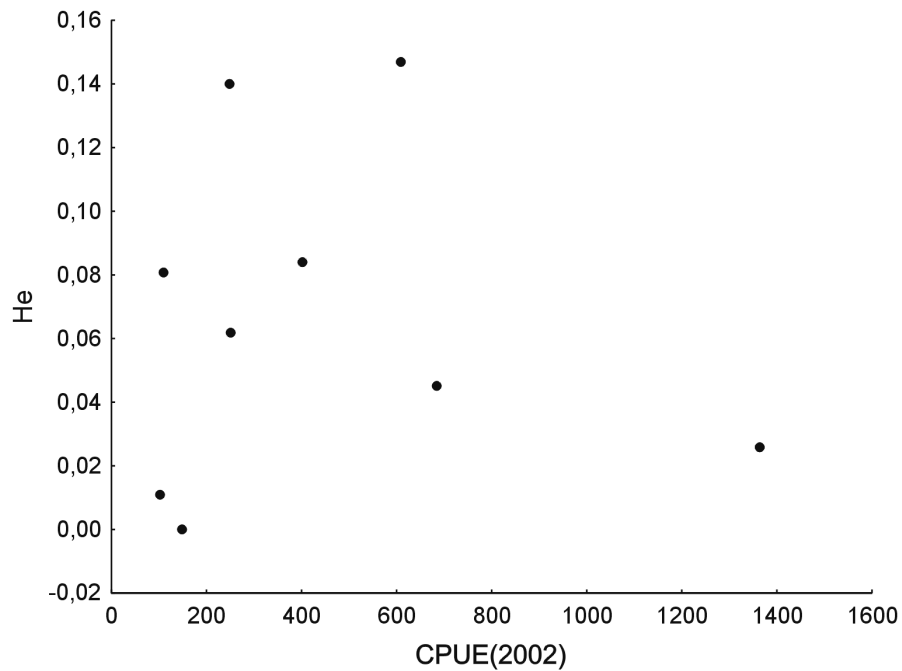


Figura 2. Correlação entre abundância e variabilidade genética das espécies analisadas da planície de inundação do alto rio Paraná.



### ***Heterozigosidade e as Estratégias Reprodutivas***

A distribuição dos valores médios de heterozigosidade (He) por grupos de estratégias reprodutivas é mostrada na figura 3.

As espécies migradoras foram as que apresentaram os menores valores de He (*R. vulpinus* He = 0 e *P. maculatus* He = 0,011) e conseqüentemente a menor média (He = 0,005) (Tab. 4).

A maior média de He foi observada para o grupo das espécies sedentárias ou migradoras de curtas distâncias, sem cuidado parental (He = 0,110). *Astyanax altiparanae*, que pertence a este grupo, apresentou o maior valor de heterozigosidade dentre as espécies analisadas (He = 0,147).

Espécies de fecundação interna (*P. galeatus*, He = 0,062) ou cuidado parental (*L. platymetopon*, He = 0,026) sedentárias ou migradoras de curtas distâncias apresentaram média de heterozigosidade intermediárias aos demais grupos (He = 0,067) (Fig. 3).

O teste *t* detectou diferença estatística significativa entre os grupos de espécies de peixes migradores e sem cuidado parental (G1) e o grupo de espécies sedentárias ou migradoras de pequenas distância e sem cuidado parental (G2) ( $t_{(3)} = 3,508$ ;  $p < 0,05$ ). Os demais grupos de estratégias reprodutivas, não apresentaram diferenças significativas entre si.

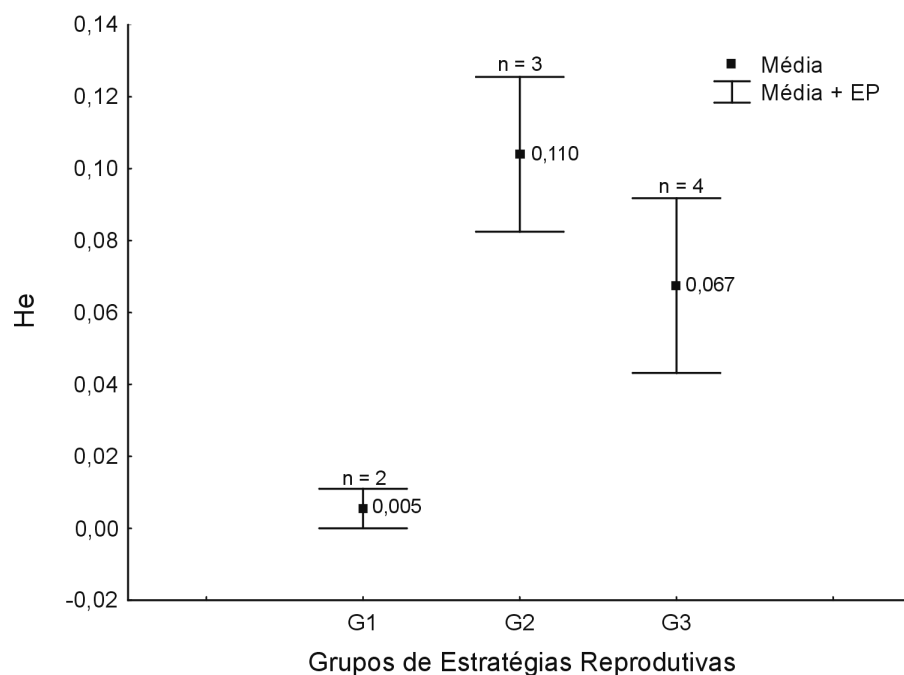


Figura 3. Valores médios de heteroziguidade nos grupos de estratégias reprodutivas de peixes da planície de inundação do alto rio Paraná. G1= Espécies migradoras G2= Espécies sedentárias ou migradoras de curtas distâncias G3= Espécies sedentárias ou migradoras de curtas distâncias, Fertilização interna ou cuidado parental.

No intuito de ampliar as análises e assim obter uma melhor compreensão das relações entre variabilidade genética de peixes e estratégias reprodutivas, os dados de heteroziguidade isoenzimática de 75 espécies de peixes tropicais da literatura (Brasil  $n = 61$  e África  $n = 14$ ) foram adicionadas às nove espécies analisadas.

Com a adição destes valores houve uma modificação da média de He das espécies migradoras que se elevaram de 0,005 para 0,064, enquanto que a média do grupo de peixes com cuidado parental abaixou de 0,067 para 0,046. A maior média de He continuou sendo observada para o grupo das espécies sedentárias ou migradoras de curtas distâncias, sem cuidado parental ( $He = 0,081$ ) (Fig. 4).

A análise de variância de Modelos Nulos detectou diferença estatística significativa entre os três grupos de estratégias reprodutivas ( $F_{2,81} = 4,02$ ;  $p < 0,05$ ). O

grupo de peixes sedentários ou migradores de curtas distâncias (G2) diferiu significativamente do grupo de peixes sedentários ou migradores de curtas distâncias, com fertilização interna ou cuidado parental (G3) ( $t_{(75)} = 2,83$   $p < 0,05$ ).

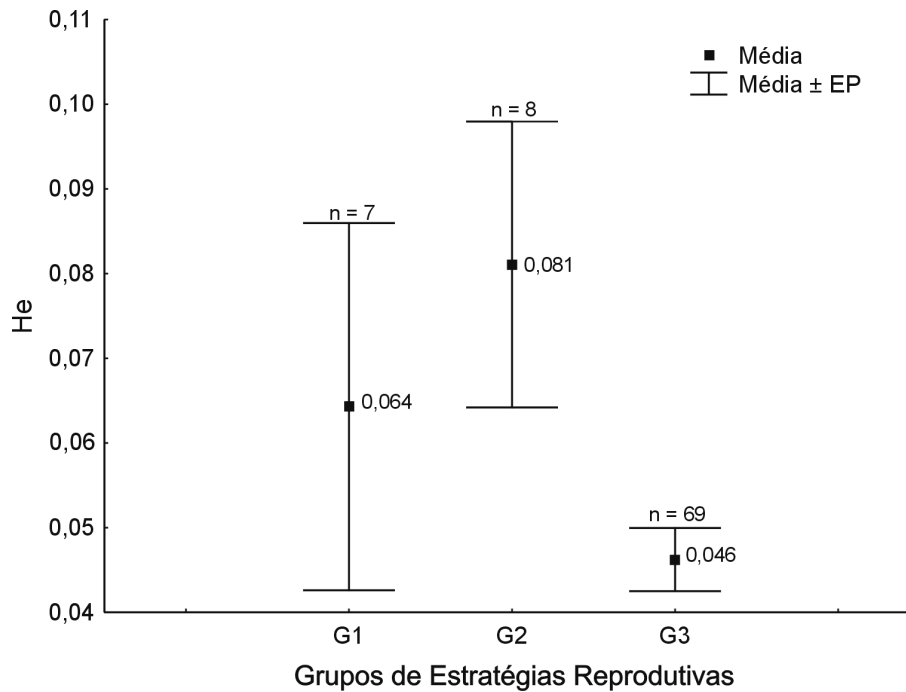


Figura 4. Valores médios de heteroziguidade nos grupos de estratégias reprodutivas de peixes tropicais (Brasil e África). G1= Espécies migradoras G2= Espécies sedentárias ou migradoras de curtas distâncias G3= Espécies sedentárias ou migradoras de curtas distâncias, Fertilização interna ou cuidado parental.

## DISCUSSÃO

A variabilidade genética detectada para as nove espécies de peixes analisadas da planície de inundação do alto rio Paraná, variou entre valores de heteroziguidade muito baixos, iguais ou muito próximos de zero, a valores bastante altos ( $He = 0,147$ ).

Tem sido amplamente aceita a idéia de que entre populações migradoras, capazes de percorrer grandes distâncias, o fluxo gênico é alto e que, conseqüentemente, a

variabilidade genética também deve ser elevada, ou seja, uma relação positiva entre capacidade de migração e variabilidade genética. Porém apesar de termos apenas duas espécies migradoras analisadas, nossos dados não corroboram esta hipótese.

A ausência de polimorfismo detectada em *R. vulpinus*, espécie migradora de longas distâncias, possivelmente seja devido à existência de uma pequena variabilidade genética nesta espécie e que os 29 *loci* enzimáticos amostrados não tenham sido suficientes para detectar tal variação. A ausência de polimorfismo isoenzimático em peixes também foi observada por Zawadzki et al. (2004b) em *Neoplecostomus paranensis*, do alto rio Paraná e por Paiva et al. (2005) para *Hypostomus* sp. 2, do ribeirão Maringá, na mesma bacia.

*Pimelodus maculatus*, espécie migradora de longas distâncias (> 100Km), também apresentou baixos valores de variabilidade genética ( $H_e = 0,011$ ), contrastando com o observado para outras espécies migradoras como *Prochilodus lineatus* ( $H_e = 0,132$ ) analisada por Revaldaves et al. (1997) e *Leporinus friderici* ( $H_e = 0,132$ ) estudada por Chiari & Sodré (1999).

A variabilidade genética detectada nas espécies *S. marginatus* ( $H_e = 0,045$ ) e *P. galeatus* ( $H_e = 0,062$ ), pode ser considerada intermediária quando comparada aos valores descritos por Ward et al. (1994) para 49 espécies de peixes de água doce ( $H_e = 0,046$ ). Além destes, os valores obtidos para *A. altiparanae* ( $H_e = 0,147$ ), *H. malabaricus* ( $H_e = 0,137$ ), *R. paranensis* ( $H_e = 0,084$ ) e *L. lacustris* ( $H_e = 0,081$ ) podem ser considerados bastante altos quando comparados à média obtida por Ward et al. (1994).

Nei & Graur (1984) consideram que um grande tamanho populacional, elevaria o número de mutações e aumentaria a variabilidade genética das espécies. Contrário a isso,

uma fraca correlação entre abundância e variabilidade genética foi detectada para espécies de peixes abundantes da planície de inundação do alto rio Paraná.

As nove espécies da planície de inundação analisadas diferiram quanto as médias de heterozigosidade, sendo nos peixes migradores e sem cuidado parental significativamente menores do que nos peixes sedentários ou migradores de pequenas distâncias e sem cuidado parental.

Com a análise destas nove espécies foi possível concluir que, a migração seja o fator de maior influência nos valores de heterozigosidade, entretanto, é preciso considerar que o grupo das espécies migradoras é pequeno, apenas duas espécies, e que o fato de ter no grupo uma espécie com ausência de polimorfismo isoenzimático poderia ter gerado uma conclusão tendenciosa. Assim, a complementação com dados de espécies tropicais da literatura foi importante para que a tendência dos dados fosse confirmada.

As 84 espécies de peixes tropicais também diferiram significativamente quanto as médias de heterozigosidade, sendo a fertilização interna e o cuidado parental o que diferencia as espécies em relação as estratégias reprodutivas. O grupo reprodutivo não migrador e sem cuidado parental apresentou a maior média de  $H_e$ , seguida pela média das espécies migradoras de longa distância e sem cuidado parental e a menor média encontrada foi para o grupo das espécies não migradoras, com cuidado parental ou fecundação interna. Estes resultados indicam que o cuidado parental e a fecundação interna poderiam estar associados com baixos valores de heterozigosidade.

Espécies com cuidado parental, utilizam-se desta estratégia com investimento maior na prole individual, proporcionando uma sobrevivência mais elevada e uma menor flutuação nas populações locais (Vazzoler, 1996). Isto pode ser observado para *L. platymetopon*, que carrega suas posturas parcialmente protegidas sob o grande lábio

inferior do macho, espécie esta que se mantém por anos seguidos como a espécie mais abundante da planície do alto rio Paraná.

Acredita-se que a alta taxa de sobrevivência das espécies que possuem cuidado parental ou fecundação interna, permita uma uniformidade genética das mesmas; já no caso de espécies sem cuidado parental, genótipos mais diversificados teriam maior possibilidade de sobrevivência.

Se as populações vivessem num ambiente estável tenderiam ser monomórficas para um genótipo com alto valor adaptativo. Entretanto, isto não ocorre, pois os ambientes naturais sofrem constantes variações. Sendo assim, as variantes genéticas diferem em valor adaptativo e constituem a matéria prima para a adaptação a novos regimes seletivos.

Devido a grande quantidade de fatores que influem na variabilidade genética das espécies, mais estudos são necessários para esclarecer as relações entre variabilidade genética e aspectos ecológicos das espécies de peixes.

## **Agradecimentos**

Os autores são gratos ao Horácio Ferreira Júlio Jr. e Gilmar Lassala, pelo auxílio nas coletas e identificação dos peixes. Ao Jaime L. Pereira pela confecção do mapa. A Gislaïne Iachstel Manetta pelo apoio e valiosas considerações. Ao NUPELIA-UEM pelo suporte logístico. Ao Conselho Nacional de Pesquisa e a Capacitação de Pessoal de Ensino Superior pelo suporte financeiro. A Deus pela vitória de mais um trabalho concluído.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Aebersold, P.B., G.A. Winans, D.J. Tell, G.B. Milner & M. Utter, 1987. Manual for starch gel electrophoresis: a method for the detection of genetic variation. NOAA Technical Report NMFS 61: 1-17.
- Agostinho, A.A. & H.F. Júlio Júnior, 1999. Peixes da bacia do alto rio Paraná, pp. 374-400 in Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais, edited by R.H. Lowe-McConnell, translation E.A. Vazzoler, A.A. Agostinho & P.T.M. Cunningham. EDUSP, São Paulo-SP.
- Almeida, F.S. & L.M.K. Sodr , 1998. Analysis of genetic variability in three species of Pimelodidae (Ostariophysi-Siluriformes). Genet. Mol. Biol. 21(4):487-492.
- Boyer, S.H., D.C. Fainer & M.A. Naughton, 1963. Myoglobin: inherited structural variation in man. Science 140:1228-1231.
- Blumer, L.S., 1982. A bibliography and categorization of bony fishes exhibiting parental care. Zool. J. Lin. Soc. 75:1-22.
- Chiari, L. & L.M.K. Sodr , 1999. Genetic variability in five species of anostomidae (Ostariophysi, Characiformes). Genet. Mol. Biol. 4:517-523.

- Gotelli, N.J & G.L. Entsminger, 2001. EcoSim: Null Models software for ecology. Version 7.0. Acquired Intelligence Inc. & Kesey-Bear. <http://homepages.together.net/~gentsmin.htm>.
- Heithaus, M.R. & R.H. Laushman, 1997. Genetic variation and conservation of stream fishes: influence of ecology, life history, and water quality. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 54: 1822-1836.
- Kirpichnikov, V.S., 1992. Adaptive nature of intrapopulational biochemical polymorphism in fish. *J. Fish Biol.* 40:1-16.
- Moodie, G.E.E. & M. Power, 1982. The reproductive biology of an armoured catfish, *Loricaria uracantha*, from Central America. *Environ. Biol. Fishes.* 7:143-148.
- Murphy, R.W., J.W. Sites Jr., D.G. Buth & C.H. Haufler, 1996. Proteins: isozyme electrophoresis, pp. 51-120 in *Molecular Systematics*, 2<sup>nd</sup> edn., edited by D. M. Hillis, C. Moritz & B.K. Mable. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Nei, M. & D. Graur, 1984. Extent of protein polymorphism and the neutral mutation theory. *Evol. Biol.* 17: 73-118.
- Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583-590.
- Nevo, E., 1988. Genetic diversity in nature. *Evol. Biol.* 23: 217-246.
- Paiva, S., E. Renesto & C.H. Zawadzki, 2005. Genetic variability of *Hypostomus* (Teleostei: Loricariidae) from the Ribeirão Maringá, a stream of the upper Rio Paraná basin, Brazil. *Genet. Mol. Biol.* 28(3):370-375.
- Pasteur, N., G. Pasteur, F. Bonhomme, J. Catalan & J. Britton-Davidian, 1988. *Practical Isozyme Genetics*, 215p. Ellis Horwood Limited, Chichester.



- Renesto, E., C.H. Zawadzki & E. Revaldaves, 2001. Biochemical taxonomy of *Crenicichla* (Pisces: Perciformes: Cichlidae) of the Iguaçu river, Brazil. Brazil. Arch. Biol. Technol. 44(1):15-22.
- Renesto, E., C.H. Zawadzki & E. Revaldaves, 2000. Genetic evidence for two species of genus *Pimelodus* Lacépède, 1803 (Siluriformes, Pimelodidae) in the Iguaçu River (Brazil). Genet. Mol. Biol. 23(4):809-813.
- Revaldaves, E., E. Renesto & M.F.P.S. Machado, 1997. Genetic variability of *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae) in the upper Paraná river. Rev. Brasil. Genet. 20(3):381-388.
- Ruvolo-Takasusuki, M.C.C., M.F.P.S. Machado & H. Conte, 2002. Esterase-3 polymorphism in the sugarcane borer *Diatraea saccharalis*. Genet. Mol. Biol. 25:61-64.
- Shaw, C.R. & R. Prasad, 1970. Starch gel electrophoresis of enzymes: a compilation of recipes. Biochem. Genet. 4:297-320.
- StatSoft, Inc., 2003. STATISTICA (Data analysis software system), version 6.0. <http://www.statsoft.com>.
- Val, A.L., A.R. Schwantes, M.L.B. Schwantes & P.H. De Luca, 1981. Amido hidrolisado de milho como suporte eletroforético. Ciência e Cultura 33:737-741.
- Van Der Bank, F.H., J.P. Grobler & H.H. Du Preez, 1992. A comparative biochemical genetic study of three populations of domesticated and wild african catfish, *Clarias gariepinus*. Comp. Biochem. Physiol. 101(3):387-390.
- Van Der Bank, F.H., W.S. Grant & J.T. Ferreira, 1989. Electrophoretically detectable genetic data for fifteen southern african cichlids. J. Fish Biol. 34: 465-483.

- Vazzoler, A.E.A. & N.A. Menezes, 1992. Síntese de conhecimentos sobre o comportamento reprodutivo dos Characiformes da América do Sul (Teleostei, Ostariophysa). Rev. Bras. Biol. 52(4):627-640.
- Vazzoler, A.E.A., 1996. Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática, 169p. Editora da Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná.
- Ward, R.D., D.O.F. Skibinski & M. Woodward, 1992. Protein heterozygosity, protein structure and taxonomic differentiation. Evol. Biol. 26: 73-59.
- Ward, R.D., M. Woodward & D.O.F. Skibinski, 1994. A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater, and anadromous fishes. J. Fish Biol. 44:213-232.
- Wootton, R.J., 1990. Ecology of teleost fishes, p. 404, Chapman & Hall, London.
- Yeh, F.C. & T.J.B. Boyle, 1997. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. Belg. J. Bot. 129:156-157.
- Zawadzki, C.H., E. Renesto, R.E. Reis, M.O. Moura & R.P. Mateus, 2005. Allozyme relationships in hypostomines (Teleostei: Loricariidae) from the Itaipu Reservoir, Upper Rio Paraná basin, Brazil. Genetica 123:271-283.
- Zawadzki, C.H., E. Renesto, S. Paiva & M.C.S. Lara-Kamei, 2004a. Allozyme differentiation of four populations of *Hypostomus* (Teleostei: Loricariidae) from Ribeirão Keller, a small stream in the upper Rio Paraná basin, Brazil. Genetica 121:251-257.
- Zawadzki, C.H., A.L. Alves, E. Renesto & C. Oliveira, 2004b. Biochemical evidence of a possible new species of *Neoplecostomus* (Teleostei: Loricariidae) from the upper Rio Paraná basin, Brazil. Biochem. Syst. Ecol. 32:573-582.

- Zawadzki, C.H., C. Weber, C.S. Pavanelli & E. Renesto, 2002. Morphological and Biochemical comparison of two allopatrid populations of *Hypostomus margaritifer* (Regan, 1907) (Osteichthyes, Loricariidae) from the upper Paraná River basin, Brazil. - Acta Scientiarum 24(2): 499-505.
- Zawadzki, C.H. & E. Renesto, 2001. Sistemática e variação aloenzimática do gênero *Hypostomus* Lacépède, 1803 (Teleostei: Loricariidae) da bacia do rio Corumbá, pp.81-99 in: Estudos ictiológicos na área de influência do AHE Corumbá, Relatório Final, edited by A. A. Agostinho, R. Fugi, S. Veríssimo & J.D. Latini. UEM/Nupélia & FURNAS CENTRAIS ELÉTRICAS, Maringá, PR.
- Zawadzki, C.H., R.E. Reis & E. Renesto, 2000. Allozyme discrimination of three species of *Loricariichthys* (Siluriformes: Loricariidae) from Southern Brazil. Rev. suis. Zool. 107(4):1-12.
- Zawadzki, C.H., E. Renesto & L.M. Bini, 1999. Allozyme discrimination of three species of the genus *Hypostomus* Lacépède, 1803 (Osteichthyes: Loricariidae) from the rio Iguaçu basin (Brazil). Rev. suis. Zool. 106(1):91-105.

# Variabilidade genética em uma população de *Leporinus lacustris* Campos, 1945 (Osteichthyes: Anostomidae) da Lagoa do Carão, planície de inundação do alto rio Paraná, MS - Brasil.

## Resumo

A variabilidade genética de *Leporinus lacustris* foi estimada a partir de uma população coletada na lagoa do Carão (22°44'S/53°17'W), na planície de inundação do alto rio Paraná. Foram identificados trinta *loci* em dezesseis sistemas enzimáticos analisados (AAT, ACP, ADH, EST, GDH, G<sub>3</sub>PDH, G<sub>6</sub>PDH, GPI, IDHP, L-IDDH, LDH, MDH, MDHP, PER, PGM, e SOD), por eletroforese em gel de amido de milho 15%. A proporção de *loci* polimórficos foi estimada em 26,67%. A heterozigosidade média esperada foi estimada em  $0,0806 \pm 0,0313$ , a qual foi menor que as estimadas anteriormente para *L. friderici*, *L. elongatus* e *L. obtusidens* do rio Tibagi, um tributário da bacia do rio Paraná. A baixa heterozigosidade da população de *L. lacustris* analisada pode ser atribuída aos hábitos sedentários desta espécie.

**Título corrente:** Variabilidade genética em *Leporinus lacustris*.

**Palavras chave:** alozimas, variabilidade genética, *Leporinus lacustris*, heterozigosidade, rio Paraná

## Abstract

A *Leporinus lacustris* population from the floodplain of Upper Paraná River was analyzed for genetic diversity by allozyme data. Specimens were sampled in Southern Brazil, at Lagoa do Carão (22°44'S/53°17'W) in the floodplain of Upper Paraná River. A total of thirty *loci* were identified in sixteen enzymatic systems (AAT, ACP, ADH, EST, GDH, G<sub>3</sub>PDH, G<sub>6</sub>PDH, GPI, IDHP, L-IDDH, LDH, MDH, MDHP, PER, PGM, and SOD), on 15% corn starch gel electrophoresis. Proportions of polymorphic *loci* were estimated as 26.67 %. Expected heterozygosity was estimated as  $0.0806 \pm 0.0313$ , which was lower than previous estimates for *L. friderici*, *L. elongatus* and *L. obtusidens* from the Tibagi River, a tributary of the Paraná River basin. The low heterozygosity of the *L. lacustris* analyzed population could be attributed to the sedentary habit of this species.

**Key words:** allozymes, genetic variability, *Leporinus lacustris*, heterozygosity, Paraná River.

## INTRODUÇÃO

Nas Américas Central e do Sul, o gênero *Leporinus* Agassiz in Spix & Agassiz, 1829 da família Anostomidae compreende 87 espécies de peixes (Garavello e Britski, 2003). As espécies *Leporinus ambliorhynchus*, *L. elongatus*, *L. friderici*, *L. lacustris*, *L. macrocephalus*, *L. microphthalmus*, *L. obtusidens*, *L. octofasciatus* e *L. striatus* ocorrem na bacia do alto rio Paraná (Agostinho e Júlio Jr., 1999). Durante quase vinte anos o núcleo de pesquisas Nupelia, da Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil, tem estudado a ecologia das espécies de peixes na planície de inundação do alto rio Paraná. Foi verificado que *L. friderici* e *L. lacustris* estão entre as dez espécies mais abundantes da planície de inundação (Luiz *et al.*, 2004).

O conhecimento da variabilidade genética de populações naturais é importante para planejar programas de efetiva conservação capazes de garantir sua manutenção em longo prazo e sua evolução. A variabilidade genética de *L. elongatus*, *L. friderici*, *L. obtusidens*, *Schizodon intermedius* e *S. nasutus* do rio Tibagi, um tributário da bacia do rio Paraná, foi analisada por alozimas (Chiari e Sodré, 1999) e por marcadores RAPD (Chiari e Sodré, 2001). Em estudos prévios, Renno *et al.* (1989, 1990) analisaram a variabilidade genética de popula es de *L. friderici*, *L. granti*, *L. aff. steyermarki*, e *L. lebailli* da Guiana Francesa.

Enquanto os anostom deos analisados por Chiari e Sodré (1999, 2001) vivem em ambientes l ticos e são migradores de longa (*L. elongatus*, *L. obtusidens*) ou curta-distância (*L. friderici*), *L. lacustris*   t pico de ambientes lênticos e tem sido caracterizada como uma espécie sedentária (Suzuki *et al.*, 2004). A lagoa do Car o tem níveis mais baixos de oxig nio, maior concentra o de clorofila- $\alpha$ , menor pH e condutividade elétrica, temperaturas mais variáveis e maior concentra o de nitrogênio do que ambientes l ticos (Thomaz *et al.*, 2004). *Leporinus lacustris* tem sido descrita como uma espécie herbívora na planície de inundação do alto rio Paraná (Hahn *et al.*, 2004) onde ela atinge até 19 cm de comprimento total e se reproduz de setembro a março (Vazzoler *et al.*, 1997).

O objetivo deste trabalho foi estimar a variabilidade genética de uma popula o de *L. lacustris* da planície de inundação do alto rio Paraná e compará-la com aquela estimada previamente para outras espécies de *Leporinus* de outras localidades da bacia do rio Paraná (Chiari e Sodré, 1999). Os dados poderão contribuir para o entendimento da rela o entre habitats, características ambientais e diversidade genética nesta espécie.

## MATERIAL E MÉTODOS

Entre março e agosto de 2002, 30 indivíduos adultos de *Leporinus lacustris* foram coletados com redes de espera na lagoa do Carão (22°44'S/53°17'W), planície de inundação da bacia do alto rio Paraná. A lagoa do Carão é uma lagoa conectada ao rio Baía que é afluente do rio Paraná (Fig. 1).

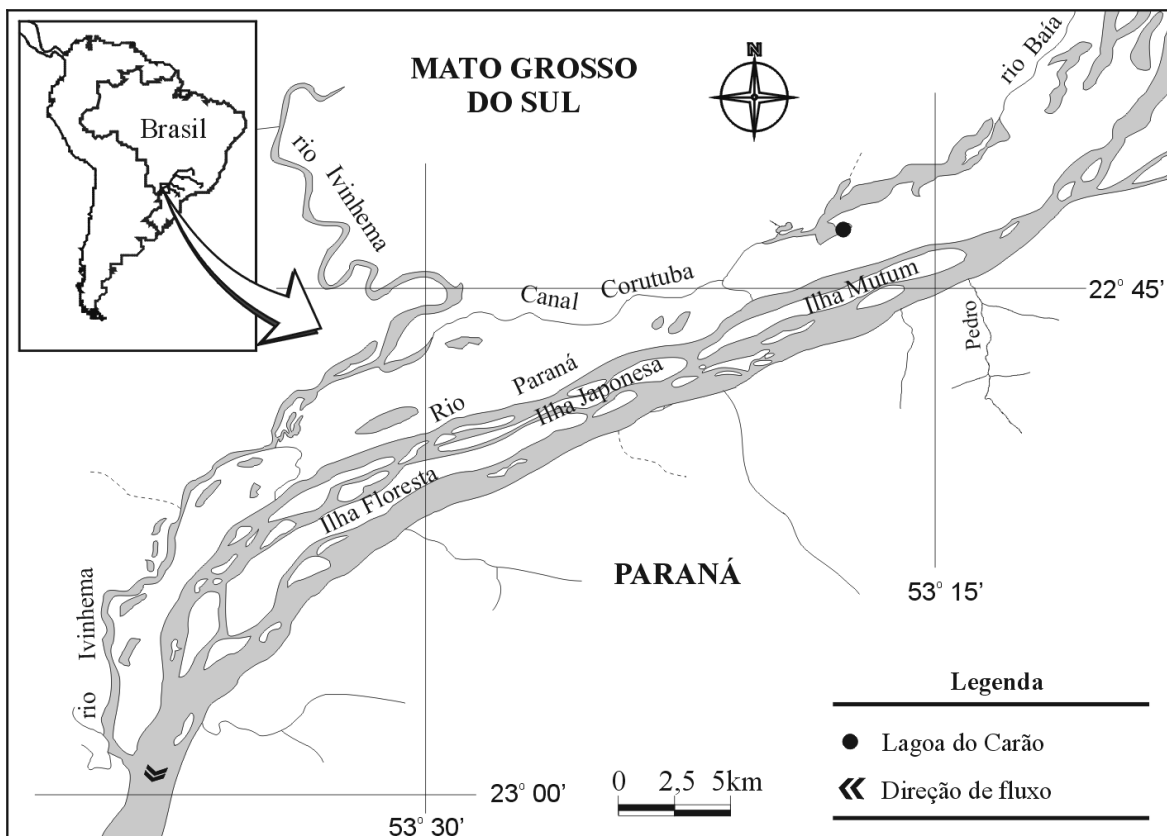


Figura. 1. Localização geográfica da Lagoa do Carão na planície de inundação do alto rio Paraná.

Imediatamente após a coleta, foram removidos os tecidos do fígado, músculo branco, músculo vermelho, brânquia, estômago, olho e coração de cada peixe e congelados em nitrogênio líquido. Os tecidos foram homogeneizados com um bastão de plástico em microtubos de 1,5 ml, contendo tampão Tris/HCl 0,02M, pH 7,5 (1:1 tecido:tampão). Tetracloreto de Carbono ( $\text{CCl}_4$ ) foi adicionado às amostras homogeneizadas de fígado por causa da grande quantidade de gordura presente neste tecido (Pasteur *et al.*, 1988). As amostras homogeneizadas foram centrifugadas a 25.000rpm (45.114 x g) durante 30 minutos, a uma temperatura entre 1°C e 5°C. A porção sobrenadante foi submetida a eletroforese horizontal em gel de amido de milho a 15% (Val *et al.*, 1981).

Dezesseis sistemas enzimáticos, Fosfatase ácida (ACP; E. C. 3.1.3.2), Álcool desidrogenase (ADH; E. C. 1.1.1.1), Aspartato aminotransferase (AAT; E. C. 2.6.1.1), Esterase (EST; E. C. 3.1.1.1), Glicerol-3-fosfato desidrogenase (G3PDH; E. C. 1.1.1.8), Glicose desidrogenase ( $\text{NAD}^+$ ) (GCDH; E. C.

1.1.1.118), Glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH; E. C. 1.1.1.49), Glicose-6-fosfato isomerase (GPI; E. C. 5.3.1.9), L-Iditol desidrogenase (L-IDDH; E. C. 1.1.1.14), Isocitrato desidrogenase (NADP<sup>+</sup>) (IDHP; E. C. 1.1.1.42), L-Lactato desidrogenase (LDH; E. C. 1.1.1.27), Malato desidrogenase (NAD<sup>+</sup>) (MDH; E. C. 1.1.1.37), Malato desidrogenase (NADP<sup>+</sup>), (MDHP; E. C. 1.1.1.40), Peroxidase (PER; E. C. 1.11.1.6), Fosfoglicomutase (PGM; E. C. 5.4.2.2) e Superóxido dismutase (SOD; E. C. 1.15.1.1), foram analisados (Tab. 1).

Tabela 1 – Condições experimentais usadas na eletroforese de 16 sistemas enzimáticos de *Leporinus lacustris* da planície de inundação do alto rio Paraná.

Enzima	Tampão da cuba	Tampão do gel	Duração	Referências
AAT, G <sub>6</sub> PDH	Tris-maleato-EDTA 0,1-0,1-0,01 M pH 7,4	Tris-maleato-EDTA 0,01-0,01-0,001 M pH 7,4	14 horas	Shaw e Prasad (1970)
ACP, EST	Tris-HCL 0,02 M pH 7,5	Tris-HCL 0,002 M pH 7,5	5,5 horas	Ruvolo-Takasusuki <i>et al.</i> , (2002)
ADH, SOD	Tris-borato-EDTA 0,18-0,1-0,004M pH 8,6	Tris-borato-EDTA 0,045-0,025-0,001M pH 8,6	14 horas	Boyer <i>et al.</i> , (1963)
GPI, LDH	Tris-citrato 0,135-0,043M pH 7,0	Tris-citrato 0,009-0,003M pH 7,0	14 horas	Shaw e Prasad (1970)
G <sub>3</sub> PDH, GDH, IDDH, IDHP, MDH, MDHP, PER, PGM	Tris-citrato 0,135-0,043M pH 8,0	Tris-citrato 0,009-0,003M pH 8,0	14 horas	Shaw e Prasad (1970)

Todos os tecidos foram submetidos à eletroforese para visualizar os padrões de expressão enzimática (Tab. 2) e escolher os tecidos mais adequados para a análise populacional.

Tabela 2. Expressão tecidual de diferentes *loci* enzimáticos identificados em *Leporinus lacustris* da Lagoa do Carão, planície de inundação do alto rio Paraná.

Locus	olho	brânquia	figado	coração	Músculo branco	Músculo vermelho	estômago
<b>Aat</b>	+	+	++	+++	+	+++	++
<i>Acp-1</i>	+	++	+	-	-	-	-
<i>Acp-2</i>	-	++	+++	-	-	-	-
<i>Adh-1</i>	-	-	+++	-	-	-	-
<i>Est-1</i>	+++	+++	+++	+	+	++	+++
<i>Est-2</i>	++	++	++	+	-	+	++
<i>Est-3</i>	-	+	+	-	+	++	-
<b>Gdh-1</b>	-	-	++	-	-	-	-
<i>Gdh-2</i>	-	-	++	-	-	-	-
<i>G3pdh-1</i>	-	-	++	-	-	-	-
<i>G3pdh-2</i>	-	-	++	-	-	-	-
<i>G6pdh-1</i>	-	-	++	-	-	-	-
<i>G6pdh-2</i>	+	+++	+++	+	-	-	++
<i>Gpi-A</i>	++	++	++	++	-	++	+++
<i>Gpi-B</i>	++	++	+	++	+++	+++	+
<i>Iddh-1</i>	-	-	+++	-	-	-	-
<i>Iddh-2</i>	-	-	+++	-	-	-	-
<i>Idhp-1</i>	++	++	-	++	+	+++	+++
<i>Idhp-2</i>	++	++	+++	-	-	-	++
<i>Ldh-A</i>	+	+	+	++	+	+	+
<i>Ldh-B</i>	+++	+++	-	++	-	+	+++
<i>sMdh-A</i>	++	++	+++	++	+	+++	+++
<i>SMdh-B</i>	+	+	-	++	++	+++	-
<i>MMdh</i>	++	++	++	++	+	+++	+++
<i>Mdhp-1</i>	+	-	+++	++	+	++	-
<i>Mdhp-2</i>	+	+	-	++	+	+	+
<i>Per-1</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Per-2</i>	++	++	++	++	-	+	+
<i>Pgm-1</i>	++	++	+++	+++	++	++	++
<i>Sod-1</i>	-	-	++	-	-	-	-

- = nenhuma expressão; + = expressão fraca; ++ = expressão intermediária; +++ = expressão forte

A Tabela 1 mostra a composição dos tampões, os sistemas enzimáticos e as condições de eletroforese. Foram utilizados os procedimentos padrões de coloração de Aebersold *et al.* (1987) para visualizar as enzimas. A interpretação genética dos géis foi baseada na estrutura quaternária das enzimas, de acordo com Ward *et al.* (1992). A nomenclatura foi feita de acordo com a proposta por Murphy *et al.* (1996). Os dados foram analisados pelo programa POPGENE 1.31 (Yeh e Boyle, 1997). A variabilidade genética foi estimada pela frequência de *loci* polimórficos (*loci* com mais de um alelo) e heterozigidade (He) não tendenciosa de Nei (Nei, 1978), as frequências genotípicas foram testadas para equilíbrio de Hardy-Weinberg usando o teste do  $\chi^2$ . Os dados foram comparados com os de Chiari e Sodré (1999) por meio de teste *t* (Nei, 1987).

## RESULTADOS



Foram identificados 30 loci enzimáticos nos indivíduos coletados na lagoa do Carão na planície de inundação do alto rio Paraná. A tabela 2 mostra os resultados da expressão de cada enzima em cada tecido, considerando tanto a intensidade como o número de bandas. Como se pode observar, a expressão de cinco *loci* enzimáticos foi restrita ao fígado (ADH, GDH, G3PDH, IDDH e SOD). As figuras 2 e 3 mostram os padrões eletroforéticos de onze sistemas enzimáticos em sete tecidos diferentes de *L. lacustris* onde se pode observar o número e intensidade de coloração de cada banda.

Os padrões eletroforéticos dos sistemas enzimáticos de *L. lacustris* foram semelhantes àqueles relatados anteriormente para outras espécies de *Leporinus* (Chiari e Sodré, 1999) e para outras espécies de peixes da bacia do alto rio Paraná (Peres *et al.* 2002; Zawadzki *et al.*, 2000, 2001, 2004a, 2004b). Oito loci (26,67%) foram polimórficos (Tab. 3) e todos estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg. A heterozigosidade esperada ( $h_e$ ) e obtida ( $h_o$ ) para cada *locus* e a heterozigosidade média observada ( $H_o$ ) e esperada ( $H_e$ ) para todos os loci estão na Tabela 3. A heterozigosidade média observada e esperada foram estimadas em  $H_o = 0,0623 \pm 0,0281$  e  $H_e = 0,0806 \pm 0,0313$ , as quais foram significativamente inferiores às estimadas por Chiari e Sodré (1999) para *L. friderici* ( $t_{47} = 4,28$ ;  $P < 0,001$ ), e para *L. elongatus* ( $t_{46} = 4,40$ ;  $P < 0,001$ ) mas não foi significativamente diferente da estimada para *L. obtusidens* ( $t_{46} = 0,62$ ;  $P > 0,05$ ). Os dados revelaram um excesso significativo de homozigotos na amostra de *L. lacustris* porque a heterozigosidade média observada ( $H_o$ ) foi inferior esperada ( $H_e$ ), o que resultou num  ndice de fixa o de 0,227.

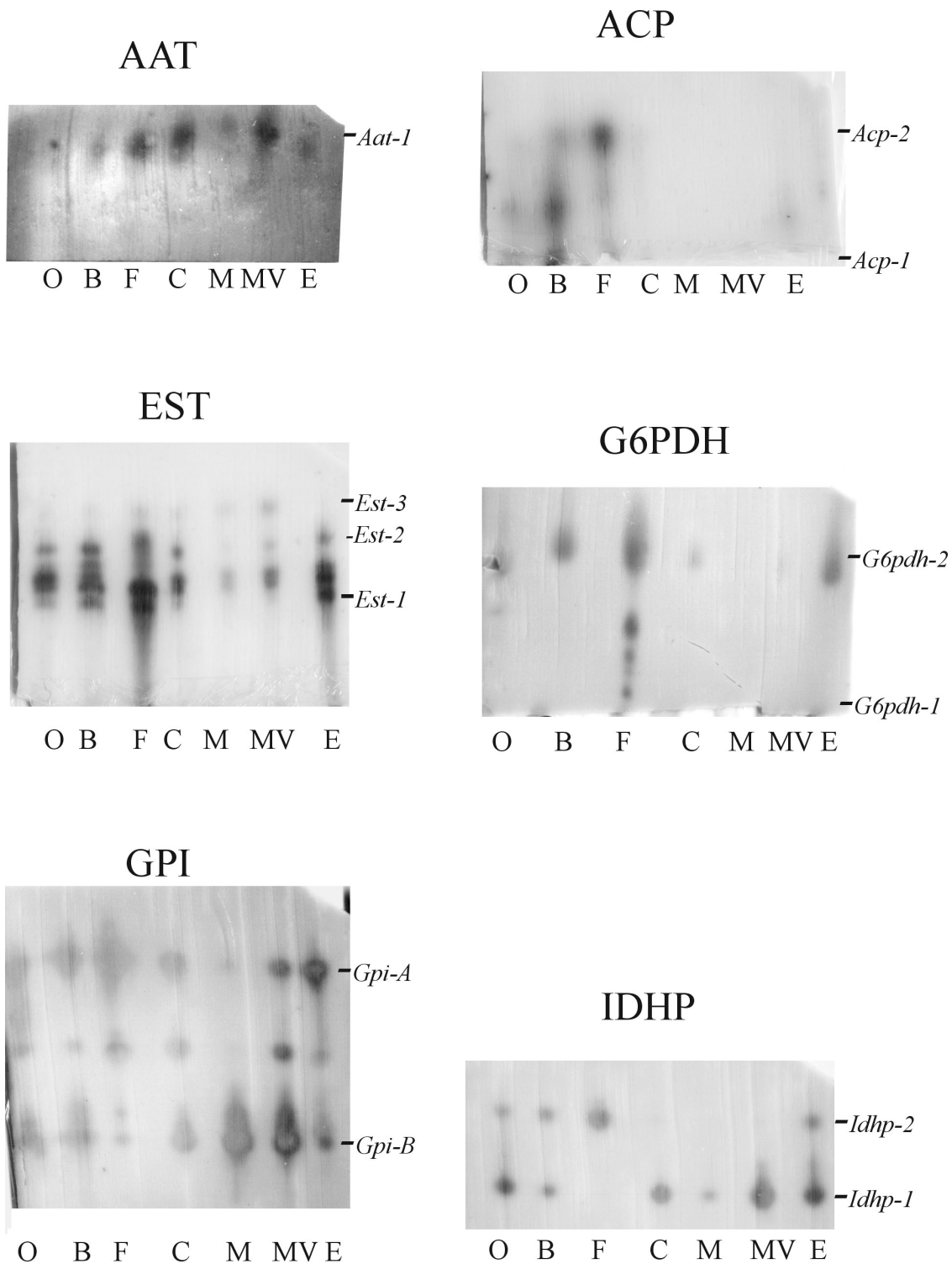


Fig. 2. Expressão tecidual de diferentes *loci* enzimáticos identificados em *Leporinus lacustris* da Lagoa do Carão, planície de inundação do alto rio Paraná. AAT = Aspartato aminotransferase; ACP = Fosfatase ácida; EST = Esterase; G<sub>6</sub>PDH = Glicose-6-fosfato desidrogenase; GPI = Glicose-6-fosfato isomerase;

IDHP = Isocitrato desidrogenase; **O** = olho; **B** = brânquia; **F** = Fígado; **C** = coração; **M** = músculo branco; **MV** = músculo vermelho; **E** = estômago.

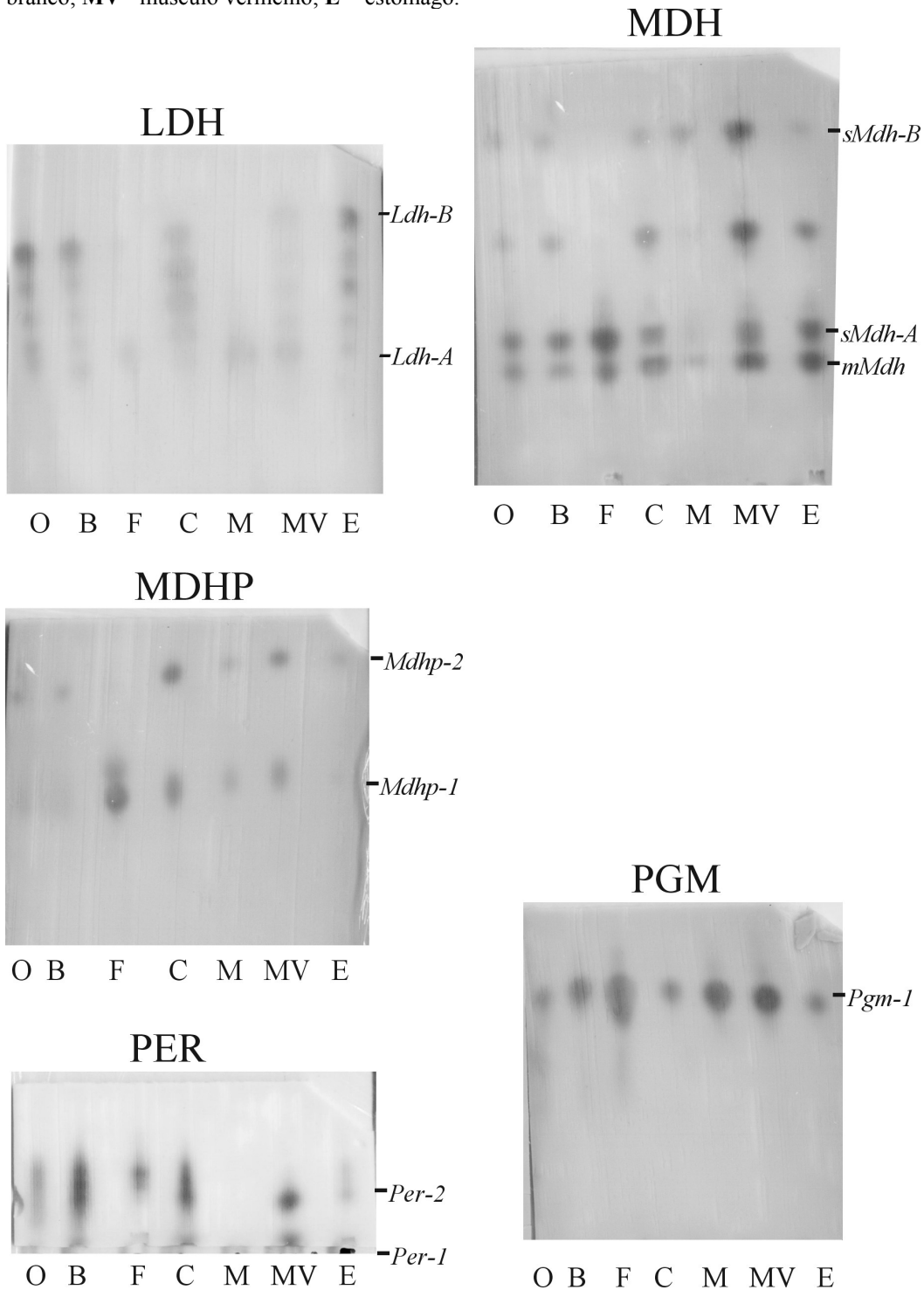


Fig. 3. Expressão tecidual de diferentes *loci* enzimáticos identificados em *Leporinus lacustris* da Lagoa do Carão, planície de inundação do alto rio Paraná. LDH = Lactato desidrogenase; MDH = Malato desidrogenase (NAD<sup>+</sup>); MDHP = Malato desidrogenase (NADP<sup>+</sup>); PER = Peroxidase; PGM =

Fosfoglicomutase; **O** = olho; **B** = brânquia; **F** = Fígado; **C** = coração; **M** = músculo branco; **MV**= músculo vermelho; **E** = estômago.

Tabela 3. Frequências alélicas (freq.), heterozigosidades observada (ho) e esperada (he) para cada locus, heterozigosidades médias observada (Ho) e esperada (He) para todos os *loci*, frequência de *loci* polimórficos identificados em *Leporinus lacustris* da Lagoa do Carão, Planície de inundação do alto rio Paraná.

Locus-Alelo	N	Frequência	ho	he
<b>Aat-1-a</b>	30	1,0000	0,0000	0,0000
<i>Acp-1-a</i>	30	1,0000	0,0000	0,0000
<i>Acp-2-a</i>	30	1,0000	0,0000	0,0000
<i>Adh-1-a</i>	30	1,0000	0,0000	0,0000
<i>Est-1-a</i>	30	1,0000	0,0000	0,0000
<i>Est-2-a</i>	30	0,6833	0,4667	0,4428
<b>Est-2-b</b>	30	0,3000		
<i>Est-2-c</i>	30	0,0167		
<i>Est-3-a</i>	30	1,0000	0,0000	0,0000
<i>Gdh-1-a</i>	30	1,0000	0,0000	0,0000
<i>Gdh-2-a</i>	30	1,0000	0,0000	0,0000
<i>G3pdh-1-a</i>	30	1,0000	0,0000	0,0000
<i>G3pdh-2-a</i>	30	0,9667	0,0667	0,0644
<i>G3pdh-2-b</i>	30	0,0333		
<i>G6pdh-1-a</i>	30	1,0000	0,0000	0,0000
<i>G6pdh-2-a</i>	30	1,0000	0,0000	0,0000
<i>Gpi-B-a</i>	30	0,3667	0,3000	0,4850
<i>Gpi-B-b</i>	30	0,6167		
<i>Gpi-B-c</i>	30	0,0167		
<i>Gpi-A-a</i>	30	0,9833	0,0333	0,0328
<i>Gpi-A-b</i>	30	0,0167		
<i>Iddh-1-a</i>	30	1,0000	0,0000	0,0000
<i>Iddh-2-a</i>	30	1,0000	0,0000	0,0000
<i>Idhp-1-a</i>	28	0,9643	0,0714	0,0689
<i>Idhp-1-b</i>	28	0,0357		
<i>Idhp-2-a</i>	28	1,0000	0,0000	0,0000
<i>Ldh-A-a</i>	30	1,0000	0,0000	0,0000
<i>Ldh-B-a</i>	30	1,0000	0,0000	0,0000
<i>mMdh-a</i>	30	1,0000	0,0000	0,0000
<i>sMdh-A-a</i>	30	1,0000	0,0000	0,0000
<i>sMdh-B-a</i>	30	1,0000	0,0000	0,0000
<i>Mdhp-1-a</i>	30	0,7667	0,0000	0,3578
<i>Mdhp-1-b</i>	30	0,2333		
<i>Mdhp-2-a</i>	30	1,0000	0,0000	0,0000
<i>Per-1-a</i>	30	1,0000	0,0000	0,0000
<i>Per-2-a</i>	30	1,0000	0,0000	0,0000
<i>Pgm-1-a</i>	30	0,7167	0,3000	0,4061
<i>Pgm-1-b</i>	30	0,2833		
<i>Sod-1-a</i>	27	0,3519	0,6296	0,5590
<i>Sod-1-b</i>	27	0,0926		
<i>Sod-1-c</i>	27	0,5556		
Médias	29,5		0,0623(Ho)	0,0806(He)
EP	0,19		0,0281	0,0313

O número de loci polimórficos é 8 (26,67 %)



## DISCUSSÃO

Os padrões eletroforéticos das mesmas enzimas estudadas neste trabalho e no de Chiari e Sodré (1999) para espécies de *Leporinus* foram semelhantes. Entretanto, no trabalho de Chiari e Sodré (1999) foram analisados apenas cinco sistemas enzimáticos em cora o, músculo e fígado e eles não fornecem fotos dos géis. Os sistemas enzimáticos EST, IDHP, LDH e MDH de espécies de *Leporinus* mostraram o mesmo número de bandas e de *loci*. Para os sistemas PGM e G3PDH há algumas diferenças. Chiari e Sodré (1999) identificaram três *loci* para PGM enquanto nós identificamos apenas um em *L. lacustris*. A Figura 1 de Chiari e Sodré (*op. Cit.*) mostra que o *locus* PGM-3\* tem maior intensidade de colora o do que os *loci* PGM-1\* e PGM-2\*. Essas bandas mais fracas podem ser devidas   forma o de sub-bandas em vez de expressão de *locus*. Richardson *et al.* (1986) relatam este fato para enzimas PGM. Uma outra possibilidade   diferença nos tempos de colora o. Neste experimento a soluço de colora o era lavada assim que apareciam as bandas para evitar escurecimento do gel, enquanto no experimento de Chiari e Sodré (1999) os géis foram corados por um tempo maior, permitindo a revela o de outros *loci* de expressão mais fraca. Chiari e Sodré (1999) identificaram quatro *loci* para G3PDH em *L. friderici* e três em *L. elongatus* e *L. obtusidens*, enquanto somente dois foram identificados em *L. lacustris*. A enzima G3PDH tem estrutura quaternária dimérica (Ward *et al.*, 1992) e   codificada por dois *loci* com forma o de heterodímeros, o que resulta num padrão de três bandas. Então, as bandas identificadas por aquelas autoras como *locus* G-3-PDH-1\* pode ser uma sub-banda, e o *locus* G-3-PDH-3\* pode ser um heterodímero entre os *loci* G-3-PDH-2\* e G-3-PDH-4\*.

A variabilidade genética dentro da popula o analisada de *L. lacustris* da Lagoa do Car o foi estimada em 26,67% de *loci* polimórficos. A heterozigosidade média esperada ( $He = 0,081 \pm 0,031$ ) foi maior do que a média 0,051 descrita para 195 espécies de peixes de várias localidades do mundo (Ward *et al.*, 1992). De acordo com Ward *et al.* (1994), os valores estimados de heterozigosidade média esperada para 107 espécies analisadas por eletroforese em gel de amido variou entre zero e 0,05 para 54% das espécies, de 0,05 a 0,10 para 30%, de 0,10 a 0,15 para 12% e superior a 0,15 para 4% delas. Embora a heterozigosidade esperada estimada para *L. lacustris* possa ser considerada alta quando comparada aos dados de Ward *et al.* (1994), ela foi inferior às estimadas para outras espécies de *Leporinus*. Chiari e Sodré (1999) estimaram a heterozigosidade média esperada para *L. friderici* ( $0,132 \pm 0,046$ ), *L. elongatus* ( $0,142 \pm 0,054$ ), e *L. obtusidens* ( $0,090 \pm 0,042$ ). A heterozigosidade média esperada para a popula o de *L. lacustris* foi  $0,0806 \pm 0,0313$ , que foi significativamente inferior a estimada para *L. friderici* ( $t_{47} = 4,28$ ;  $P < 0,001$ ), e para *L. elongatus* ( $t_{46} = 4,40$ ;  $P < 0,001$ ) mas não foi significativamente diferente da estimada para *L. obtusidens* ( $t_{46} = 0,62$ ;  $P > 0,05$ ). Portanto, os dados de *L. lacustris* foram mais semelhantes a *L. obtusidens* do que a outras espécies de *Leporinus*.

Possivelmente, a variabilidade genética menor detectada em *L. lacustris* poderia ser atribuída primariamente a um isolamento desta popula o em seu ambiente. Tem sido registrado que esta   uma espécie sedentária (Suzuki *et al.* 2004), o que poderia levar ao isolamento e a endogamia. Uma baixa

variabilidade genética tem sido descrita para outras espécies sedentárias de loricariídeos como *Hypostomus* (Zawadzki *et al.*, 2004b), *Loricariichthys* (Zawadzki *et al.*, 2000) e *Neoplecostomus* (Zawadzki *et al.*, 2004a) que vivem em ambientes lóticos. Como contraste, a variabilidade genética de *Hoplias malabaricus*, uma outra espécie sedentária da planície de inundação do alto rio Paraná foi estimada como  $He = 0,14 \pm 0,04$  tanto em ambientes lênticos como em lóticos (Peres *et al.*, 2002). Hábitos sedentários podem capacitar *L. lacustris* a evitar alta heterogeneidade ambiental, os quais levariam a um tipo de isolamento e altos níveis de endogamia, com conseqüente redução da heterozigosidade.

Estudos adicionais são necessários para entender melhor as interações entre variabilidade genética de espécies de peixes tropicais e sub-tropicais com seu ecossistema e habitats reprodutivos.

## **Agradecimentos**

Os autores desejam agradecer a Horácio Ferreira Julio Jr. E Gilmar Lassala pela ajuda na coleta e identificação, ao Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura da Universidade Estadual de Maringá pelo apoio logístico, a Laudenir Maria Prioli e Cláudio Henrique Zawadzki pela revisão do manuscrito e à CAPES e CNPq pelo apoio financeiro.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AEBERSOLD, P. B.; WINANS, G. A.; TELL, D. J.; MILNER, G. B.; UTTER, M. Manual for starch gel electrophoresis: a method for the detection of genetic variation. Seattle, NOAA Technical Report NMFS v. 61, p.1-17, 1987.
- AGOSTINHO, A. A.; JULIO-JR, H. F. Peixes da Bacia do Alto Rio Paraná. In: LOWE-MCCONNELL, R. H. *Estudos Ecológicos de comunidades de Peixes Tropicais*. São Paulo: Editora da Universidade Estadual de São Paulo, p.374-400, 1999.
- BOYER, S. H. *et al.* Myoglobin: inherited structural variation in man. *Science*, Hanover, v. 140, p.1228-1231, 1963,
- CHIARI, L.; SODRÉ, L. M. K. Genetic variability in five species of Anostomidae (Ostariophysi, Characiformes). *Genet. Mol. Biol.*, Ribeirão Preto, v. 22, n.4, p.517-523, 1999.
- CHIARI, L.; SODRÉ, L. M. K. Study of eight species of the Anostomidae family (Pisces, Characiformes) by RAPD analysis. *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 23, n.2, p.445-451, 2001.
- GARAVELLO, J. C.; BRITSKI, H. A. Family Anostomidae. In: REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS-JR, C. J. *Checklist of the Freshwater Fishes of South and Central America*. Porto Alegre, Editora da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. 2003, p.71-84.
- HAHN, N. S.; FUGI, R.; LOURERO-CRIPPA, V. E.; PERETTI, D.; RUSSO, M. R. Trophic Structure of the Fish Fauna. In: AGOSTINHO, A. A.; RODRIGUES, L.; GOMES, L. C.; THOMAZ, S. M.; MIRANDA, L. E. *Structure and functioning of the Paraná River and its Floodplain: LTER – site 6 – (PELD – sítio 6)*. Maringá: Editora da Universidade Estadual de Maringá. 2004, p.139-143.
- LUIZ, E. A.; LUZ, K. D. G.; COSTA, R. S.; LATINI, J. D.; JULIO-JR, H. F.; GOMES, L. C. Structure of the fish Assemblage in Biotopes and Subsystems of the Upper Paraná River Floodplain. In: AGOSTINHO, A. A.; RODRIGUES, L.; GOMES, L. C.; THOMAZ, S. M.; MIRANDA, L. E. *Structure and functioning of the Paraná River and its Floodplain: LTER – site 6 – (PELD – sítio 6)*. Maringá: Editora da Universidade Estadual de Maringá. 2004, p.117-123.
- MURPHY, R. W.; SITES-JR, J. W.; BUTH, D. G.; HAUFLE, C. H. Proteins: Isozyme electrophoresis. In: HILLIS, D. M.; MORITZ, C.; MABLE, B. K. *Molecular systematics*. Sunderland: Sinauer Assoc. 1996, p.51-120.
- NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, Bethesda, v. 89, p.583-590, 1978.
- NEI, M. *Molecular Evolutionary Genetics*. N. York: Columbia University Press, 1987, p.183-184.
- PASTEUR, N.; PASTEUR, G.; BONHOMME, F.; CATALAN, J.; BRITTON-DAVIDIAN, J. *Practical Isozyme Genetics*. Chichester: Ellis Horwood Limited, 1988.
- PERES, M. D.; RENESTO, E.; LAPENTA, A. S.; ZAWADZKI, C. H. Genetic variability in *Hoplias malabaricus* (Osteichthyes: Erytrinae) in fluvial and lacustrine environments in the Upper Paraná river floodplain (Paraná State, Brazil). *Biochem. Genet.*, New York, 40, p.209-223, 2002.
- RENNO, J. F.; BERRREBI, P.; BOUJARD, T.; GUYOMARD, R. Intraspecific genetic differentiation of *Leporinus friderici* (Anostomidae: Pisces) in French Guiana and Brazil: a genetic approach to the refuge theory. *J. Fish Biol.*, London, v. 36, p. 85-95, 1990.

- RENNO, J. F.; GUYOMARD, R.; BOUJARD, T.; BASTIDE, C. Evidence for genetic isolation among four morphological species of *Leporinus* (Anostomidae, Pisces) in French Guiana. *Aquat. Liv. Resour.*, Paris, v. 2, p.127-134, 1989.
- RICHARDSON, B. J.; BAVERSTOCK, P. R.; ADAMS, M. *Allozyme electrophoresis. A handbook for animal Systematics and Populations Studies*. Academic Press, North Ride, 1986
- RUVOLO-TAKASUSUKI M. C. C. *et al.* Esterase-3 polymorphism in the sugarcane borer *Diatraea saccharalis*. *Genet. Mol. Biol.*, Ribeirão Preto, v. 25, p.61-64, 2002.
- SHAW C. R. and PRASAD R. Starch gel electrophoresis of enzymes: a compilation of recipes. *Biochem. Genet.*, New York, v. 4, p.297-320, 1970.
- SUZUKI, H.I.; PELICICE, F. M.; LUIZ, E. A.; LATINI, J. D.; AGOSTINHO, A. A. Reproductivity Strategies of the Fish Community of the Upper Paraná River Floodplain. In: AGOSTINHO, A. A.; RODRIGUES, L.; GOMES, L. C.; THOMAZ, S. M.; MIRANDA, L. E. *Structure and functioning of the Paraná River and its Floodplain: LTER – site 6 – (PELD – sítio 6)*. Maringá: Editora da Universidade Estadual de Maringá. 2004, p.125-130.
- THOMAZ, S. M.; PAGIORO, T. A.; BINI, L. M.; ROBERTO, M. C.; ROCHA, R. R. A. Lymnology of the Upper Paraná Floodplain habitats: Patterns of Spacio-temporal Variations and Influence of the Water Levels. In: AGOSTINHO, A. A.; RODRIGUES, L.; GOMES, L. C.; THOMAZ, S. M.; MIRANDA, L. E. *Structure and functioning of the Paraná River and its Floodplain: LTER – site 6 – (PELD – sítio 6)*. Maringá: Editora da Universidade Estadual de Maringá. 2004, p.37-42.
- VAL, A. L.; SCHWANTES A. R.; SCHWANTES M. L. B.; DE LUCA, P.H. Amido hidrolisado de milho como suporte eletroforético. *Ciê. Cult.*, São Paulo, v. 33, p.737-741
- VAZZOLER, A. E. A.; SUZUKI, H. I.; MARQUES, E. E.; LIZAMA, M. L. A. P. Primeira maturação gonadal, períodos e áreas de reprodução. In: VAZZOLER, A E A, AGOSTINHO, A. A.; HAHN, N. S. *A planície de inundação do alto rio Paraná: aspectos físicos, biológicos e socioeconômicos*. Maringá: Editora da Universidade Estadual de Maringá, 1997. p.250-265.
- WARD, R. D.; SKIBINSKI, D. O. F.; WOODWARD, M. Protein heterozygosity, protein structure and taxonomic differentiation. *Evol. Biol.*, New York, v. 26, p.73-59, 1992.
- WARD, R. D.; WOODWARD, M.; SKIBINSKI, D. O. F. A comparison of genetic diversity levels in marine, freshwater, and anadromous fishes. *J. Fish. Biol.*, London, v. 44, p.213-232, 1994.
- YEH, F. C.; BOYLE, T. J. B. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. *Bel. J. Bot.*, Meise, v. 129, p.157, 1997.
- ZAWADZKI, C. H.; REIS, R. E.; RENESTO, E. Allozyme discrimination of three species of *Loricariichthys* (Siluriformes:Loricariidae) from southern Brazil. *Rev. suisse de Zool.*, Geneva, v. 107, n.4, p.663-674, 2000.
- ZAWADZKI, C. H.; MACHADO, M. F. P. S.; RENESTO, E. Differential expression for tissue-specific isozymes in three species of *Hypostomus* Lacépède 1803 (Teleostei:Loricariidae). *Bioch. Syst. Ecol.*, Kidlington, v. 29, p.911-922, 2001.
- ZAWADZKI, C. H.; ALVES, A. L.; RENESTO, E.; OLIVEIRA, C. Biochemical evidence of a possible new species of *Neoplecostomus* (Teleostei: Loricariidae) from the Upper Rio Paraná basin, Brazil. *Bioch. Syst. Ecol.*, Kidlington, v. 32, p.573-582, 2004a.
- ZAWADZKI, C. H.; RENESTO, E.; PAIVA, S.; LARA-KAMEI, M. C. S. Allozyme differentiation of four populations of *Hypostomus* (Teleostei: Loricariidae) from Ribeirão Keller, a small stream in the Upper Rio Paraná basin, Brazil. *Genetica*, Dordrecht, v. 121, p.251-257, 2004b.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)