

Caracterização Cromossômica de *Hoplias malabaricus* (Characiformes: Erythrinidae) da Bacia do Rio Madeira, Rondônia

Dayana Tamiris Brito dos Santos Catâneo^{1,4*}, Rafael Maurício Rugeles Guzman^{1,5}, Carolina Rodrigues da Costa Doria², Eliana Feldberg³, Rubiani de Cássia Pagotto^{1,6}

¹ Laboratório de Genética Molecular Prof^o Dr. Bernardo Beiguelman- Universidade Federal de Rondônia - UNIR, Porto Velho, Rondônia, Brasil.

² Laboratório de Ictiologia e Pesca- Universidade Federal de Rondônia- UNIR, Porto Velho, Rondônia, Brasil.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1638-0063>

³ Laboratório de Genética Animal- Instituto de Pesquisas da Amazônia -INPA, Manaus, Amazonas, Brasil. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2962-4541>

⁴ ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6465-9638>. *Autor para correspondência. E-mail: daybrito65@gmail.com.

⁵ ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1165-1514>

⁶ ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0445-802x>

Resumo

A espécie *Hoplias malabaricus*, popularmente conhecida por traíra, é amplamente distribuída na região Neotropical. São peixes detentores de uma grande variabilidade em número e estrutura cromossômica, sendo caracterizados pela presença de sete cariomorfos em suas populações. O objetivo deste trabalho foi caracterizar citogeneticamente duas populações de *H. malabaricus* da bacia do Madeira, a fim de verificar possíveis variações cromossômicas e/ou ocorrência de novos cariomorfos. Um total de 14 indivíduos foram coletados em dois igarapés da bacia do rio Madeira, na cidade de Porto Velho: o Igarapé que se localiza nos limites do Campus José Ribeiro Filho da Universidade Federal de Rondônia (N=7) e o igarapé Belmont (N=7). Observamos variações cariotípicas nos indivíduos das duas localidades. Os indivíduos coletados no igarapé Belmont apresentaram $2n=39$ cromossomos metacêntricos nos machos e $2n=40$ nas fêmeas, dos quais, 38 são metacêntricos e o segundo par é submetacêntrico ($38m + 2sm$) e apontam para a ocorrência de um novo cariomorfo (D) para a bacia do Rio Madeira. Os indivíduos do igarapé da Unir mostraram $2n=40$, sendo 28 metacêntricos e 12 submetacêntricos para ambos os sexos e um aparente sistema de cromossomos sexuais XX/XY, mostrando maior similaridade com o cariomorfo C. Esses resultados mostram ocorrência de três cariomorfos para a bacia do rio Madeira.

Palavras-chave: Citogenética, Traíra, Belmont, Amazônia.

Introdução

Hoplias malabaricus (Bloch, 1794), conhecida popularmente por traíra, é uma espécie de peixe da família Erythrinidae, ordem Characiformes, que apresenta uma das maiores faixas de distribuição dentre os peixes de água doce (Berra, 2007), amplamente distribuída nos rios da bacia amazônica e em toda região Neotropical (Oyakawa & Mattox, 2009). Na bacia do rio Madeira, sua ocorrência é descrita ao longo de todo trecho entre a foz do rio Mamoré à foz do rio Madeira, estando presente em diferentes habitats que vão de lago à corredeiras, sendo, porém, mais abundantes em ambientes lênticos (Oyakawa *et al.*, 2013).

Apresentam um corpo cilíndrico com manchas distribuídas ao longo do mesmo, podendo medir até 40 cm de comprimento, apresentam dentes cônicos, nadadeira caudal arredondada e dorsal com 13 a 15 raios (Santos *et al.*, 2006). Uma característica distintiva de *H. malabaricus* em relação a outras espécies de *Hoplias* é que a sua linha dentária converge em forma de “V” com o vértice apontando

para a sínfise mandibular (Oyakawa & Mattox, 2009). Normalmente *Hoplias malabaricus* é considerado uma única espécie nominal, entretanto, alguns autores o consideram um complexo de espécies com necessidade de revisão taxonômica (Bertollo *et al.*, 2000; 2004; Oyakawa & Mattox, 2009; Santos *et al.*, 2009).

Estudos citogenéticos com *H. malabaricus* se iniciaram com Bertollo *et al.* (1979) e, desde o princípio, tem se mostrado um grupo bem heterogêneo. Esse e outros trabalhos realizados em diferentes bacias hidrográficas da América do Sul, evidenciaram formas cariotípicas distintas entre as populações, com variações quanto ao número diploide ($2n= 39/40$ a 42), morfologia e presença/ausência de sistemas de cromossomos sexuais heteromórficos (Bertollo, 1983; Ferreira *et al.*, 1989; Dergam & Bertollo, 1990; Lopes & Fenocchio, 1994; Scavone *et al.*, 1994; Bertollo *et al.*, 1997; Lopes *et al.*, 1998; Born & Bertollo, 2000). Estudos posteriores com a espécie, concentraram-se em entender diversificação do grupo e as relações evolutivas entre os cariomorfos, no entanto, novas variações cariotípicas foram identificadas (Born & Bertollo, 2006; Santos *et al.*, 2010; Vitorino *et al.*, 2011), como por exemplo, a unidade evolutiva independente de traíras do Médio Araguaia (Vitorino *et al.*, 2011).

Bertollo *et al.* (2000) classificaram as variações cariotípicas encontradas nos estudos anteriores em sete cariomorfos (A-G) e os dividiu em dois grupos, o primeiro com os cariomorfos A, B, C, D e o segundo com os E, F e G. Os cariomorfos A e C são os mais difundidos na região Neotropical, principalmente nos rios da bacia Amazônica, onde também já foram encontrados E, F e G. Os cariomorfos B, D e E têm ocorrência mais restrita ao alto rio Paraná, rio Doce e Trombetas, respectivamente.

Para a bacia do rio Madeira foram realizados dois estudos citogenéticos com *H. malabaricus* (Bertollo *et al.*, 1997; Bertollo *et al.*, 2000), nos quais foram descritas características cromossômicas que os agrupou aos cariomorfos C e G, mostrando diversidade cariotípica nos representantes dessa bacia hidrográfica. Tendo em vista a ocorrência abundante dessa espécie na bacia do rio Madeira, os poucos estudos citogenéticos da espécie nesta bacia e ausência de consenso acerca da taxonomia desse grupo, fica evidente a importância de estudos para identificação das variações cromossômicas, sejam elas em relação ao número diploide ou à macroestrutura cromossômica, o que poderia indicar novos cariomorfos.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi caracterizar, citogeneticamente, duas populações de *H. malabaricus* da bacia do Madeira, a fim de verificar possíveis variações cromossômicas e/ou ocorrência de novos cariomorfos, gerando informações sobre a diversidade genética da espécie.

Material e Métodos

Coleta do material biológico e área de estudo

As coletas de *H. malabaricus* foram realizadas sob a licença do SISBIO N° 49925-1, em dois igarapés da Bacia do rio Madeira, ambos na cidade de Porto Velho (Figura 1): o Igarapé que se localiza nos limites do Campus José Ribeiro Filho da Universidade Federal de Rondônia, referido nesse estudo como Igarapé da UNIR (8°50'5"S 63°56'39"O). Sua nascente localiza-se próximo ao Aterro Sanitário Municipal e deságua no igarapé Mato Grosso onde completa seu curso em direção ao rio Madeira (Costa e Malagutti-Filho, 2008). O igarapé Belmont é um dos principais afluentes do Rio Madeira, sua localização fica há aproximadamente 30 km da cidade de Porto Velho, no final de

uma estrada de acesso (estrada do Belmont), que se inicia no Bairro Nacional (08°38'33.7"S, 63°50'58.5"O).

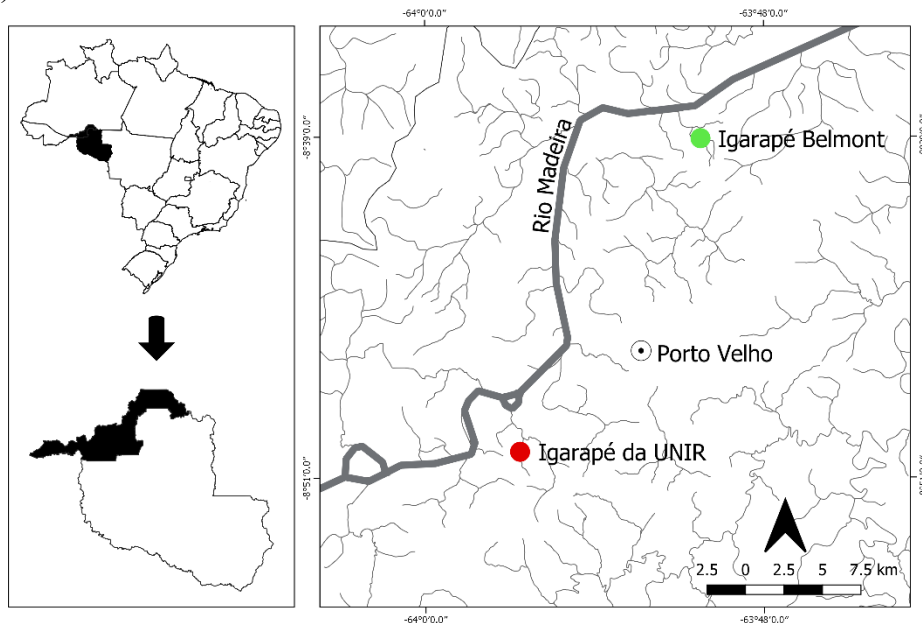


Figura 1. Mapa destacando os pontos onde foram coletados os indivíduos de *H. malabaricus*, na bacia do rio Madeira, Porto Velho, Rondônia. Ponto em verde indica o Igarapé da UNIR e em vermelho o Igarapé Belmont. Elaborado por Marcela Oliveira.

As coletas foram realizadas em período noturno, utilizando redes de arrasto e puçá. Os indivíduos foram levados vivos para o Laboratório de Genética Molecular Prof. Dr. Bernardo Beiguelman (LABGEMBB) - Departamento de Biologia- UNIR, e mantidos em aquários aerados para coleta de tecidos e realização das análises. Posteriormente os indivíduos foram identificados e armazenados no LABGEMBB, até posterior depósito e tombamento na coleção de ictiofauna da Universidade Federal de Rondônia.

Caracterização cromossômica

Com intuito de estimular a divisão celular e obter uma boa quantidade e qualidade de células em metáfase, fizemos a indução de mitoses segundo Oliveira *et al.* (1988), injetando-se na região dorso-lateral dos peixes, uma solução de fermento biológico (0,5g de fermento biológico, 0,5g de dextrose e 15 ml de água destilada), na proporção de 1mL para cada 100g de peso. Após 24 horas os animais foram anestesiados com óleo de cravo para obtenção das preparações cromossômicas a partir de fragmentos do rim dos peixes coletados.

Para a obtenção de cromossomos mitóticos foi utilizada a técnica de Gold *et al.* (1990). Os fragmentos de rim foram transferidos para uma cubeta de vidro contendo 10 mL de meio RPMI e foi realizada a dissociação do tecido com o auxílio de uma seringa de vidro desprovida de agulha, com o intuito de se obter uma solução homogênea. Em seguida foram acrescentados à solução, 380 µL de colchicina (0,0125%) e a solução foi incubada na estufa por 27 minutos a 37 °C.

Depois do tratamento com colchicina, o material foi centrifugado por 10 min a 1200rpm. Em seguida, o sobrenadante foi descartado, acrescentou-se 10 mL de solução hipotônica KCl (0,075 M) e incubou-se a preparação em estufa por 30 minutos a 37 °C. Após o tempo de incubação, foi acrescentado à solução 1 mL de fixador (3 partes metanol: 1 parte ácido acético) e a mesma foi centrifugada por 10 min/1200rpm. Em seguida o sobrenadante foi descartado e acrescentados 10 mL

da solução fixadora, repetindo-se a centrifugação e posterior descarte do sobrenadante. Esse procedimento foi realizado por mais duas vezes com troca do fixador. Por fim, adicionou-se 2 mL de fixador novo e o material foi armazenado em microtubos de polipropileno para serem analisados em lâminas.

Para determinar o número e morfologia dos cromossomos foi realizada a coloração convencional por Giemsa 10% por 10 minutos. As lâminas foram analisadas em fotomicroscópio LEICA DFC295 e as melhores metáfases foram fotografadas e estabelecido o número modal de cromossomos a partir da contagem de cerca de 30 metáfases por indivíduo. Os cariótipos foram montados com o programa Adobe Photoshop CC2015 e a nomenclatura dos cromossomos foi estabelecida com base na posição do centrômero de acordo com Levan *et al.* (1964).

Resultados

Foram coletados 14 exemplares de *H. malabaricus*, sendo sete do igarapé Belmont e sete do igarapé da UNIR. Apesar do número mínimo de metáfases a serem contadas por indivíduo ser 30, houveram alguns espécimes cujas suspensões havia poucas células metafásicas e mesmo após a análise de várias lâminas, esse número não pôde ser alcançado. Entretanto, para a maioria dos indivíduos, foram contabilizadas 30 metáfases, quantidade suficiente para o estabelecimento do número diploide (Tabela 1).

Tabela 1. Quantidade de células analisadas, número diploide modal e sexo dos indivíduos de *H. malabaricus* do Igarapé Belmont e do Igarapé da UNIR (M=macho, F=fêmea, NI=Não identificado).

IGARAPÉ BELMONT							
Número de registro dos indivíduos	Sexo	Número de cromossomos					Total de células
		36	37	38	39	40	
06	M	2	2	3	19	4	30
08	M	1	3	2	21	3	30
09	M		1	2	11	3	17
11	M		3	2	21	4	30
12	M	3	2	2	17	6	30
10	F	5	2	2	18	3	30
14	F		1	1	5	23	30
	Total	6	14	14	112	46	197
	%	3,05	7,11	7,11	56,85	23,35	100

IGARAPÉ DA UNIR							
Número de registro dos indivíduos	Sexo	Número de cromossomos					Total de células
		36	37	38	39	40	
26	M	1		2	1	7	11
18	M					2	2
16	F	3	2	3	2	20	30
25	F	3	4	1	3	19	30
17	F		1	9		20	30
24	F			2	1	15	18
27	N.I	2	2	17	1	11	16
	Total	9	9	34	8	94	137
	%	6,57	6,57	24,82	5,84	68,61	100

Os indivíduos coletados no igarapé Belmont apresentaram o número diploide modal igual a 39 cromossomos metacêntricos nos machos (2n=39m) e 40 nas fêmeas, dos quais, 38 são metacêntricos e o segundo par é submetacêntrico (2n=38m + 2sm) (Tabela 1; Figura 2A).

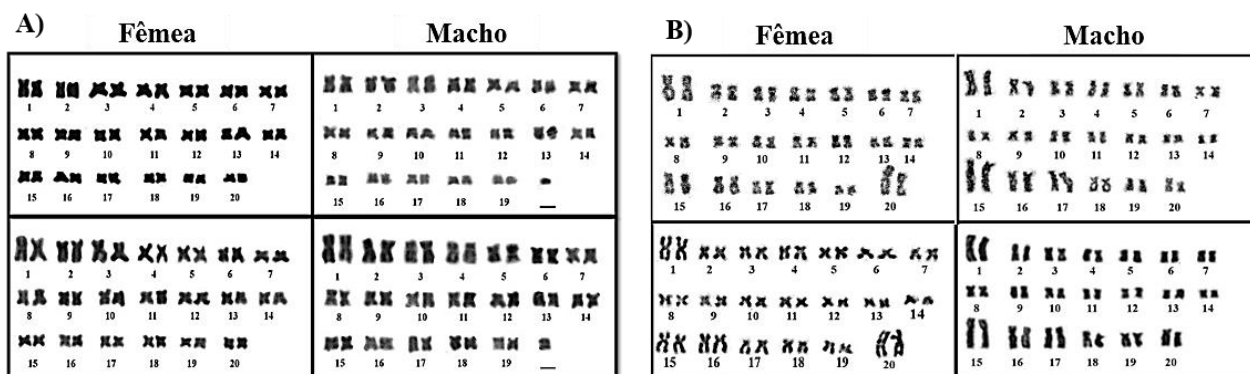


Figura 2. A) Cariótipo de indivíduos de *H. malabaricus* coletados no igarapé Belmont, evidenciando o número diploide e a morfologia dos cromossomos em ambos os sexos. B) Cariótipo de indivíduos de *H. malabaricus* coletados no igarapé da UNIR, evidenciando o número diploide e a morfologia dos cromossomos em ambos os sexos.

Os indivíduos de *H. malabaricus* coletados no igarapé da UNIR, apresentaram uma melhor qualidade das células metafásicas, porém a quantidade variou. O número diploide modal desses indivíduos (Tabela 1), foi igual a 40 cromossomos para ambos os sexos, sendo 28 metacêntricos e 12 submetacêntricos ($2n=28m+12sm$), com um aparente sistema de cromossomos sexuais XX/XY evidenciado pelo par 20 (Figura 2B).

Discussão

Os resultados do presente trabalho mostraram variações cariotípicas em ambas populações estudadas, corroborando assim com o proposto por alguns autores, que o táxon *H. malabaricus* é um grupo muito diverso e constitui um complexo de espécies (Bertollo *et al.*, 2000; Galetti Jr *et al.*, 2008; Vitorino *et al.*, 2011; Jacobina *et al.*, 2011; Cioffi *et al.*, 2012). Apesar do número diploide encontrado nessas populações já terem sido descritos por Bertollo *et al.* (2000), as fórmulas cariotípicas encontradas, apresentaram peculiaridades em relação às de outras localidades.

As traíras do igarapé Belmont mostraram um número diploide que ainda não havia sido descrito para a Bacia do Madeira: $2n=39$ cromossomos metacêntricos nos machos e 40 nas fêmeas ($2n=38m+2sm$). Dentre os cariomorfos descritos por Bertollo *et al.* (2000), essa população pode ser agrupada, pelo número diploide, ao cariomorfo D, cuja ocorrência foi descrita somente para o norte do Paraná, sendo no Madeira um novo registro. No entanto, vale ressaltar que, a fórmula cariotípica dos indivíduos do Belmont apresentou-se distinta, devido à ausência do sistema de cromossomos sexuais múltiplos característico do cariomorfo D, podendo representar um novo cariomorfo para a bacia do Madeira.

Quanto às características cromossômicas das Traíras do igarapé da UNIR, identificados como $2n=28m+12sm$, temos duas possibilidades de agrupamento: cariomorfos C ou F. Ambos apresentam número diploide similar ($2n=40$), diferindo pela presença de um par de cromossomos grandes, o maior conhecido para essa espécie, presente no cariomorfo F. Assim, a ausência desse par de cromossomos no cariótipo dos indivíduos analisados nesse trabalho, compartilhou mais similaridades com o cariomorfo C, incluindo um aparente sistema de cromossomos sexuais XX/XY, que também já foi identificado em outros trabalhos em estágio de diferenciação (Cioffi & Bertollo, 2010).

Considerando a ocorrência do cariomorfo C e incluindo o cariomorfo G descrito anteriormente, essa bacia passa agora a ser representada por três cariomorfos. Tal fato corrobora com o proposto em Bertollo *et al.* (2000), que sugerem a ocorrência de diferentes cariomorfos em simpatria. O cariomorfo C ($2n=40$) é o mais predominante na Amazônia e América do Sul, embora, características específicas

quanto morfologia dos cromossomos, tenham sido observadas em populações com esse cariomorfo (Bertollo *et al.*, 1997; Bertollo *et al.*, 2000; Santos *et al.*, 2016; Marques *et al.*, 2013; Guimarães *et al.*, 2017).

É possível que essas peculiaridades das formas cariotípicas encontradas em populações de diferentes bacias hidrográficas possam estar relacionadas às características específicas de suas respectivas áreas de origem, pois sabe-se que a bacia Amazônica é detentora de grande diversidade de ambientes, que exerce papel importante nos processos adaptativos dos organismos que nela habitam (Junk *et al.*, 1989). Santos *et al.* (2016), através da caracterização cromossômica de populações de *H. malabaricus* provenientes de ambientes de água branca, água clara e água preta da bacia amazônica, observou que a variação citogenômica tinha associação com os processos adaptativos locais da espécie a diferentes condições ambientais.

Embora a caracterização cromossômica com coloração convencional, realizada no presente estudo, não forneça dados suficientes para relacionar as variações cariotípicas ao ambiente, é importante considerar em estudos futuros que a bacia do rio Madeira é bastante heterogênea (Py-Daniel, 2007), e apresentava antes da construção dos complexo de hidrelétricas do Madeira em 2012, um trecho com dezoito corredeiras na sua porção alta, as quais desempenharam papel significativo na composição das espécies da região (Torrente-Vilara *et al.*, 2011; Cella-Ribeiro *et al.*, 2013), exercendo funções importantes nas adaptações genéticas locais, história evolutiva e estruturação de grupos biológicos como sugerem alguns estudos (Gravena *et al.*, 2014; Muniz *et al.*, 2017). É possível que essa configuração ambiental contribua em parte para o surgimento das diferentes formas cariotípicas em *H. malabaricus*.

Várias são as hipóteses acerca do que levou o grupo *malabaricus* a exibir tamanha variabilidade genética, sendo mais pertinentes as relacionadas ao estilo de vida com formação de pequenos e isolados grupos, o que não é característico somente nessa espécie da família Erythrinidae, mas também em *Erythrinus erythrinus* e *Hoplerythrinus unitaeniatus* (Bertollo *et al.*, 2004; Blanco *et al.*, 2011; Martinez *et al.*, 2015). O fato dessa espécie não realizar migrações resulta na formação de pequenas populações locais com pouca conexão e conseqüentemente pouco fluxo gênico, decorrente de isolamento por distância (Prioli *et al.*, 2000).

Esse isolamento pode também ser ocasionados por outros fatores, Galetti *et al.* (2008), por exemplo, aponta a fragmentação de habitats como sendo um dos causadores de variações intraespecíficas, pois, isolam pequenos grupos tornando-os restritos a essas determinadas áreas, perdendo a conexão. Além disso, eventos geológicos e a história da formação de uma bacia também favorecem fixação de variações cromossômicas e diversificação de grupos, pois dão origem a barreiras naturais que favorecem o isolamento reprodutivo (Da Rosa *et al.*, 2012).

Uma outra hipótese levantada por Vitorino *et al.* (2011) sugere que a capacidade de sobrevivência das Traíras por longos períodos sem disponibilidade de oxigênio, condição essa que ocasiona a morte de muitos outros organismos, pode ter também favorecido o estabelecimento de pequenas populações desta espécie e ocasionado a fixação de variações cromossômicas, dando origem a outras formas cariotípicas. Nesse sentido, a sazonalidade hidrológica dos rios amazônicos poderia ser também um fator determinante, uma vez que em longos períodos de seca, isolam corpos d'água com pequenas populações de peixes (Magoulick & Kobza 2003), e deixam o ambiente com as características semelhantes à essas, aumentando a mortalidade de peixes (Tramer, 1977). O reestabelecimento de populações a partir de poucos indivíduos resistentes à baixa oxigenação, tais como as Traíras, podem favorecer, a longo prazo, o surgimento de formas cariotípicas e até mesmo a evolução de espécies (Matthews & Marsh-Matthews, 2003).

É certa a grande diversidade genética de *H. malabaricus* e todas hipóteses apresentadas são suficientes para explicar essa variabilidade, sejam elas consideradas isoladamente ou mesmo pela soma delas. Nesse sentido, estudos com este táxon mostram-se importantes para o conhecimento de sua diversidade genética e distribuição geográfica dos diferentes cariomorfos, além de apresentar contribuições importantes através da citotaxonomia, ferramenta importante para grupos taxonomicamente problemáticos (Artoni *et al.*, 2000)

Os estudos cromossômicos têm se mostrado muito importantes na caracterização de espécies e populações. Apesar dos dados aqui apresentados terem sido analisados apenas com coloração convencional com Giemsa, eles são de extrema importância para o conhecimento da diversidade genética de *H. malabaricus* do rio Madeira e apontam as principais variações cromossômicas estruturais e numérica existentes. Além disso, ressaltam que a continuidade de estudos citogenéticos dessa e de outras espécies de peixes desta região é relevante para auxiliar na compreensão dos eventos cromossômicos que originaram a diversidade dessas populações.

Agradecimentos

Esse estudo foi realizado com suporte do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico- CNPq. Agradecemos à colaboração e parceria das equipes do Laboratório de Genética Animal-INPA, Laboratório de Ictiologia e Pesca- UNIR e Laboratório de Biogeoquímica- UNIR no desenvolvimento deste trabalho.

Referências

- Artoni, R. F., Vicari, M. R., & Bertollo, L. A. C. (2000) Citogenética de peixes neotropicais: métodos, resultados e perspectivas (neotropical fish cytogenetics: methods, results and perspectives). *Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde*, 6(1), 43-60. doi: <https://doi.org/10.5212/publicatio%20uepg.v6i1.257>
- Berra, Tim M. *Freshwater Fish Distribution*. University of Chicago Press, 2008.
- Bertollo, L. A. C., Oliveira, C., Molina, W. F., Margarido, V. P., Fontes, M. S., Pastori, M. C., Falcão, J. N., & Fenocchio, A. S. (2004) Chromosome evolution in the erythrinid fish, *Erythrinus erythrinus* (Teleostei: Characiformes). *Heredity*, 93(2), 228–233. doi: <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800511>
- Bertollo, L. A. C. (1983) Multiple Sex Chromosomes in the Genus *Hoplias* (Pisces: Erythrinidae). *Cytologia*, 48, 1–12. doi: <https://doi.org/10.1508/cytologia.48.1>
- Bertollo, L. A. C., Born, G. G., Dergam, J. A., Fenocchio, A. S., & Moreira-Filho, O. (2000) A biodiversity approach in the neotropical Erythrinidae fish, *Hoplias malabaricus*. Karyotypic survey, geographic distribution of cytotypes and cytotaxonomic considerations. *Chromosome Research*, 8(7), 603–613. doi: <https://doi.org/10.1023/A:1009233907558>
- Bertollo, L. A. C., Moreira-Filho, O., & Soares, M. (1997) Karyotypic diversity and distribution in *Hoplias malabaricus* (Pisces, Erythrinidae): cytotype with 2n=40 chromosomes. *Brazilian journal of genetic*, 20, 237–242.
- Bertollo, L. A. C., Takahashi, C. S., & Filho, O. M. (1979) Karyotypic studies of two allopatric populations of the genus *Hoplias* (pisces, Erythrinidae). *Brazilian journal of genetic*, 1, 17–39.
- Blanco, D. R., Lui, R. L., Bertollo, L. A. C., Margarido, V. P., & Moreira-Filho, O. (2011) Comparative cytogenetics of giant trahiras *Hoplias aimara* and *H. intermedius* (Characiformes, Erythrinidae): Chromosomal characteristics of minor and major ribosomal DNA and cross-

- species repetitive centromeric sequences mapping differ among morphological. *Cytogenetic and Genome Research*, 132(1–2), 71–78. doi: <https://doi.org/10.1159/000320923>
- Born, G. G., & Bertollo, L. A. C. (2006) A new sympatric region for distinct karyotypic forms of *Hoplias malabaricus* (Pisces, Erythrinidae). *Brazilian Journal of Biology*, 66(1B), 205–210. doi: <https://doi.org/10.1590/S1519-69842006000200004>
- Born, G. G., Bertollo, L. A. C. (2000) An XX/XY sex chromosome system in a fish species, *Hoplias malabaricus*, with a polymorphic NOR-bearing X chromosome. *Chromosome Research*, 8(2), 111–8. doi: <https://doi.org/10.1023/A:1009238402051>
- Cella-Ribeiro A., Torrente-Vilara G., Hungria D. B., & Oliveira M. (2013) As corredeiras do Rio Madeira. Em: Queiroz L. J., Torrente-Vilara G., Ohara, W. M., Pires, T. H. S., Zuanon, J., & Doria C. R. C. *Peixes do Rio Madeira*, São Paulo: Santo Antônio Energia A.S., pp 47–53.
- Cioffi, M. B., & Bertollo, L. A. C. (2010) Initial steps in XY chromosome differentiation in *Hoplias malabaricus* and the origin of an X1X2Y sex chromosome system in this fish group. *Heredity*, 105(6), 554–561. doi: <https://doi.org/10.1038/hdy.2010.18>
- Cioffi, M. B., Martins, C., & Bertollo, L. A. (2009) Comparative chromosome mapping of repetitive sequences. Implications for genomic evolution in the fish, *Hoplias malabaricus*. *BMC genetics*, 10(1), 34. doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2156-10-34>
- Costa, A. F., & Malagutti-Filho, W. (2008) Caracterização estrutural e geofísica da lixeira de Porto Velho (RO). *Geosciences= Geociências*, 27(2), 229–236.
- Da Rosa, R., Rubert, M., Martins-Santos, I. C., & Giuliano-Caetano, L. (2012) Evolutionary trends in *Hoplerythrinus unitaeniatus* (Agassiz 1829)(Characiformes, Erythrinidae). *Reviews in fish biology and fisheries*, 22(2), 467–475. doi: <https://doi.org/10.1007/s11160-011-9237-3>
- Dergam, J. A., & Bertollo, L. A. (1990) Karyotypic diversification in *Hoplias malabaricus* (Osteichthyes, Erythrinidae) of the São Francisco and alto Paraná basins, Brazil. *Brazilian Journal of Genetics*, 13(4), 755–766.
- Ferreira, R. H. R. (1989) Cytogenetics of fishes from Parque Florestal do Rio Doce (MG). I. Preliminary study of " *Hoplias malabaricus*"(Pisces, Erythrinidae) from Lagoa Carioca and Lagoa dos Patos. *Rev. Brasil. Genet.*, 12, 219–226.
- Galetti Jr, P. M., Rodrigues, F. P., Solé-Cava, A., Miyaki, C. Y., Carvalho, D., Eizirik, E., Veasey, E. A., Santos, F. R., Farias, I. P., Vianna, J. A., Oliveira, L. R., Weber, L. I., Almeida-Toledo, L. F., Francisco, M. R., Redondo, R. A. F., Siciliano, S., Del Lama, S. N., Freitas, T. R. O., Hrbek, T., & Molina, W. F. (2008) *Genética da conservação na biodiversidade brasileira*. Ribeirão Preto: Editora SBG, Ribeirão Preto, 290p.
- Gold, J. R., Li, Y. C., Shipley, N. S., & Powers, P. K. (1990) Improved methods for working with fish chromosomes with a review of metaphase chromosome banding. *Journal of Fish Biology*, 37(4), 563–575. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1990.tb05889.x>
- Gravena, W., Farias, I. P., da Silva, M. N., da Silva, V. M., & Hrbek, T. (2014) Looking to the past and the future: were the Madeira River rapids a geographical barrier to the boto (Cetacea: Iniidae)?. *Conservation Genetics*, 15(3), 619–629. doi: <https://doi.org/10.1007/s10592-014-0565-4>
- Guimaraes, E. M. C., Carvalho, N. D. M., Schneider, C. H., Feldberg, E., & Gross, M. C. (2017) Karyotypic Comparison of *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794)(Characiformes, Erythrinidae) in Central Amazon. *Zebrafish*, 14(1), 80–89. doi: <https://doi.org/10.1089/zeb.2016.1283>
- Jacobina, U. P., Paiva, E., & Dergam, J. A. (2011) Pleistocene karyotypic divergence in *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794)(Teleostei: Erythrinidae) populations in southeastern Brazil.

- Neotropical Ichthyology*, 9(2), 325-333. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1679-62252011005000023>
- Junk, W. J., Bayley, P. B., Sparks, R. E. (1989) The flood pulse concept in river-floodplain systems. In: Dodge, D.P (Ed.). Proceedings of the International Large River Symposium (LARS). Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences 106. Canadá, pp.110-127. <http://www.dfo-mpo.gc.ca/Library/111846.pdf>
- Levan, A., Fredga, K., & Sandberg, A. A. (1964) Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52(2), 201-220. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1964.tb01953.x>
- Lopes, P. A., Alberdi, A. J., Dergam, J. A., & Fenocchio, A. S. (1998) Cytotaxonomy of *Hoplias malabaricus* (Osteichthyes, Erythrinidae) in the Aguapey River (Province of Corrientes, Argentina). *Copeia*, (2), 485-487. doi: 10.2307/1447447
- Lopez, P. A. (1994) Confirmation of two different cytotypes for the neotropical fish *Hoplias malabaricus* Gill 1903 (Characiformes). *Cytobios*, 80, 217-221.
- Magoulick, D. D., & Kobza, R. M. (2003). The role of refugia for fishes during drought: a review and synthesis. *Freshwater biology*, 48(7), 1186-1198. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2427.2003.01089.x>
- Marques, D. F., Santos, F. A. D., Silva, S. S. D., Sampaio, I., & Rodrigues, L. R. R. (2013) Cytogenetic and DNA barcoding reveals high divergence within the trahira, *Hoplias malabaricus* (Characiformes: Erythrinidae) from the lower Amazon River. *Neotropical Ichthyology*, 11(2), 459-466. doi: <https://doi.org/10.1590/S1679-62252013000200015>
- Martinez, J. D. F., Lui, R. L., Traldi, J. B., Blanco, D. R., & Moreira-Filho, O. (2015) Occurrence of natural hybrids among sympatric karyomorphs in *Hoplerythrinus unitaeniatus* (Characiformes, Erythrinidae). *Zebrafish*, 12(4), 281-287. doi: <https://doi.org/10.1089/zeb.2015.1083>
- Matthews, W. J., & Marsh-Matthews, E. (2003) Effects of drought on fish across axes of space, time and ecological complexity. *Freshwater biology*, 48(7), 1232-1253. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2427.2003.01087.x>
- Muniz, F. L., Campos, Z., Rangel, S. H., Martínez, J. G., Souza, B. C., De Thoisy, B., Botero-Arias, R., Hrbek, T., Farias, I. P. (2018) Delimitation of evolutionary units in Cuvier's dwarf caiman, *Paleosuchus palpebrosus* (Cuvier, 1807): insights from conservation of a broadly distributed species. *Conservation genetics*, 19(3), 599-610. doi: <https://doi.org/10.1007/s10592-017-1035-6>
- Oliveira, C., Almeida-Toledo, L. F., Foresti, F., Britski, H. A., & Toledo-Filho, S. D. (1988) Chromosome formulae of Neotropical freshwater fishes. *Rev. Brasil. Genet*, 11(3), 577-624.
- Oyakawa, O. T., & Mattox, G. M. (2009) Revision of the Neotropical trahiras of the *Hoplias lacerdae* species-group (Ostariophysi: Characiformes: Erythrinidae) with descriptions of two new species. *Neotropical Ichthyology*, 7(2), 117-140. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1679-62252009000200001>
- Oyakawa, O. T., Toledo-Piza, M. & Mattox, J. M. T. (2013) *Erythrinidae*. Em: Queiroz, L. J., Torrente-Vilara, G., Ohara, W. M., Pires, T. H. S., Zuanon, J. & Doria, C. R. C (Org). Peixes do Rio Madeira. 1ª ed. Dialeto Latin American Documentary, São Paulo, pp. 70-76.
- Prioli, A. J., Horácio, F. J., Prioli, S. M. A. P., Pavanelli, C. S., Souza, M. C., Zawadzki, C. H., Romagnolo, M. B., Oliveira, A. V., Le, L. & Maniglia, T.C. (2000) Variabilidade e estrutura genética de populações naturais. *Componente biótico*, 221–262 p.
- Py-Daniel, L. R. (2007) Caracterização da área amostrada. In: Rapp Py-Daniel, L. H., Deus, C. P., Henriques, A. L., Pimpão, D., & Ribeiro, O. M. (Eds.). *Biodiversidade do médio Madeira: bases científicas para propostas de conservação*. Editora INPA, pp. 35-42.

- Santos, F. A. D., Marques, D. F., Terencio, M. L., Feldberg, E., & Rodrigues, L. R. R. (2016) Cytogenetic variation of repetitive DNA elements in *Hoplias malabaricus* (Characiformes-Erythrinidae) from white, black and clear water rivers of the Amazon basin. *Genetics and molecular biology*, 39(1), 40-48. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2015-0099>
- Santos, G. M. D., Ferreira, E. J., & Zuanon, J. A. (2009) *Peixes comerciais de Manaus*. Editora INPA, 146 p. doi: <https://repositorio.inpa.gov.br/handle/1/4700>
- Santos, S. L. M., & Ferreira, M. M. (2010) Avaliação das vertentes da bacia do Igarapé Belmont, Porto Velho-RO. *GEOGRAFIA* (Londrina), 19(2), 85-114. doi: <http://dx.doi.org/10.5433/2447-1747.2010v19n2p85>
- Santos, U., Völcker, C. M., Belei, F. A., Cioffi, M. B., Bertollo, L. A. C., Paiva, S. R., & Dergam, J. A. (2009) Molecular and karyotypic phylogeography in the Neotropical *Hoplias malabaricus* (Erythrinidae) fish in eastern Brazil. *Journal of Fish Biology*, 75(9), 2326-2343. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2009.02489.x>
- Scavone, M. D. P. (1994) Sympatric occurrence of two karyotypic forms of *Hoplias malabaricus* (Pisces, Erythrinidae). *Cytobios*, 80, 223-227.
- Sember, A., Bertollo, L. A., Ráb, P., Yano, C. F., Hatanaka, T., de Oliveira, E. A., & Cioffi, M. D. B. (2018) Sex chromosome evolution and genomic divergence in the fish *Hoplias malabaricus* (Characiformes, Erythrinidae). *Frontiers in genetics*, 9, 71. doi: <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00071>
- Torrente-Vilara, G., Zuanon, J., Leprieur, F., Oberdorff, T., & Tedesco, P. A. (2011) Effects of natural rapids and waterfalls on fish assemblage structure in the Madeira River (Amazon Basin). *Ecology of Freshwater Fish*, 20(4), 588-597. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0633.2011.00508.x>
- Tramer, E. J. (1977) Catastrophic mortality of stream fishes trapped in shrinking pools. *American Midland Naturalist*, 469-478.
- Vitorino, C. A., Souza, I. L., Rosa, J. N., Valente, G. T., Martins, C., & Venere, P. C. (2011) Molecular cytogenetics and its contribution to the understanding of the chromosomal diversification in *Hoplias malabaricus* (Characiformes). *Journal of fish biology*, 78(4), 1239-1248. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2011.02930.x>