



**Felipe André Schütz Santos; Nelson Fagundes; Luiz Roberto Malabarba.**

## Análise Filogeográfica de *Cyanocharax alburnus* (Helsen, 1870), nas Bacias Hidrográficas da Região Sul do Brasil (Teleostei: Characidae)

### INTRODUÇÃO

O gênero *Cyanocharax* descrito por Malabarba & Weitzman (2003), inclui 7 espécies, tendo sido considerado por estes autores como filogeneticamente relacionado à subfamília Glandulocaudinae e a vários gêneros *incertae sedis* em Characidae. Este grupo de espécies foi posteriormente denominado de Stevardiinae por Mirande (2010). *Cyanocharax alburnus* (Helsen, 1870) foi descrito para a bacia da laguna dos Patos, tendo sua distribuição ampliada para as bacias do rio Uruguai e Tramandaí (Fig. 1) na redescruição da espécie (Malabarba, 1983). Recentemente, novos espécimes da bacia do rio Iguaçu, alto rio Paraná, foram enviados para análise por Carla Pavanelli (Nupélia) e tentativamente identificados como *Cyanocharax alburnus*. Diferentemente das demais espécies de *Cyanocharax*, que possuem distribuições geográficas mais restritas e alopátricas, *C. alburnus* ocorre em simpatria nas áreas de distribuição das demais espécies.

Esse trabalho tem como objetivos investigar as relações entre as diferentes populações de *Cyanocharax alburnus* através da análise de divergências nas linhagens gênicas mitocondriais e da análise de caracteres morfológicos.

### MATERIAIS E MÉTODOS

A análise morfológica inclui 13 medidas corporais e de estruturas da cabeça e 16 contagens de raios, dentes e escamas, seguindo a metodologia descrita em Malabarba & Weitzman (2003). As análises foram feitas com os lotes das drenagens: sistema lagunar Tramandaí, lagoa Itapeva (10 exemplares), laguna dos Patos, analisado como rio Jacuí (27 exemplares) e lago Guaíba (10 exemplares), depositados na coleção do laboratório de ictiologia UFRGS, e drenagem do rio Iguaçu (11 exemplares). As comparações dos dados merísticos entre populações foram feitas pelo teste de Mann-Whitney, para  $\alpha = 0,05$ . A análise molecular utilizou os lotes da coleção de tecido do laboratório de ictiologia UFRGS, das seguintes drenagens, rio Uruguai, sistema do rio Tramandaí - lagoa Itapeva, rio Negro – Uruguai, rio Iguaçu, e laguna dos Patos, analisados como rio Jacuí, lago Guaíba e laguna dos Patos. Preliminarmente, foi sequenciado apenas um exemplar de cada drenagem. A extração de DNA, segundo protocolo de extração de sal (Medrano et al., 1990), amplificação a partir da Polymerase Chain Reaction (PCR) utilizando um fragmento de DNA mitocondrial, Citocromo Oxidase I (COX I), e sendo sequenciado pela Macrogen®, em Seul, Coréia do Sul, em um sequenciador automático. As análises das sequências gênicas se deram através dos programas de bioinformática, DnaBaser, BioEdit e MEGA5.05, através do critério de máxima parsimônia com 500 replicações de Bootstrap, afim de avaliar o suporte dos nós da árvore de máxima parsimônia.

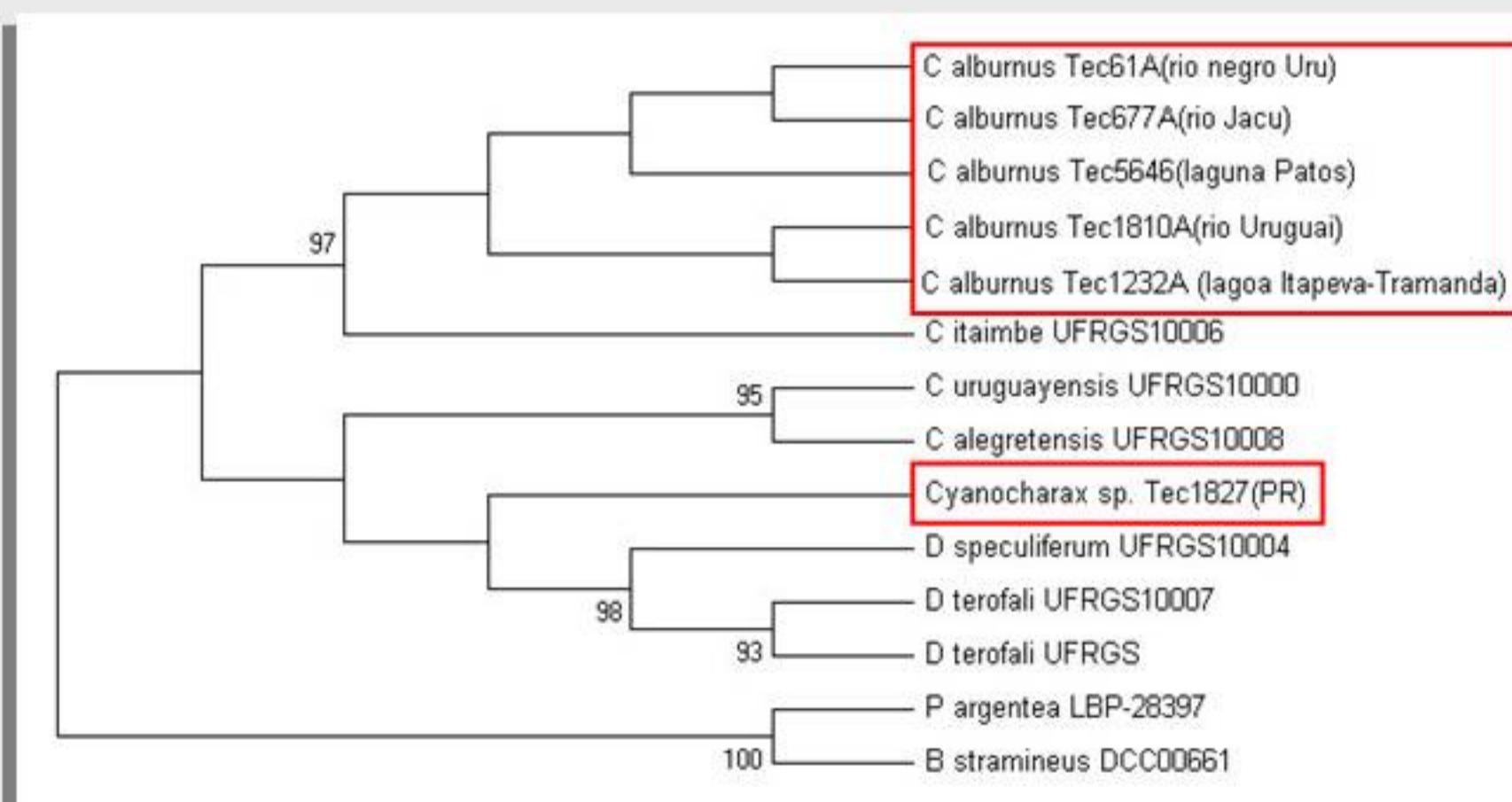
### RESULTADOS

#### Análise Morfológica

Foram observadas diferenças estatisticamente significativas quanto no número de raios da nadadeira anal entre as populações do rio Iguaçu (PR), rio Tramandaí e bacia da laguna dos Patos (incluindo lago Guaíba e rio Jacuí) (Fig. 2). A amostra do rio Iguaçu apresenta de 23-25 raios ramificados nesta nadadeira, correspondendo a valores maiores do que a variação descrita por Malabarba (1983) - 20-23 raios ramificados – para as populações das bacias do sistema da laguna dos Patos e sistema do rio Tramandaí. Com relação ao número de raios da nadadeira peitoral, as contagens das populações de *C. alburnus* da bacia da laguna dos Patos (11-12) resultaram estatisticamente diferentes daquelas do rio Iguaçu e rio Tramandaí (9-10) (Fig. 3).

#### Análise Molecular

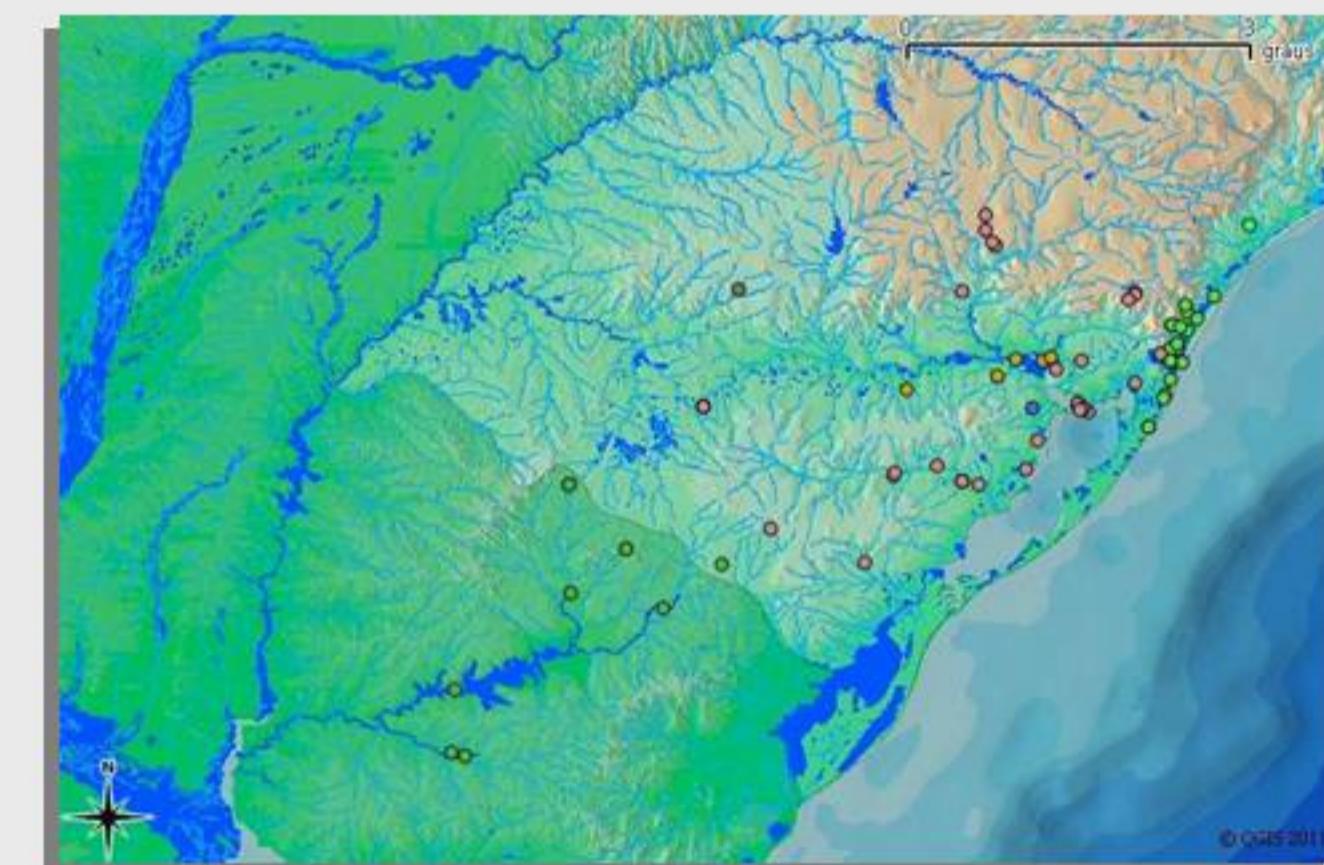
As análises preliminares demonstram que as populações de *Cyanocharax alburnus* das bacias do rios Uruguai, laguna dos Patos e sistema do rio Tramandaí formam um grupo monofilético. Não é possível, entretanto, observar uma estruturação geográfica clara entre os indivíduos analisados, com um indivíduo da bacia do rio Uruguai agrupado a um indivíduo da bacia do rio Tramandaí (distantes geograficamente) e com o segundo indivíduo da bacia do rio Uruguai (rio Negro) agrupado com os exemplares do sistema da laguna dos Patos. O aumento do número de indivíduos sequenciados poderá eventualmente resultar em uma estruturação mais clara nas relações entre estas populações. A população de *Cyanocharax* do rio Iguaçu forma um clado juntamente com *Cyanocharax alegretensis*, *C. uruguayensis*, *Diapoma terofali* e *D. speculiferum*, refutando a classificação tentativa como *C. alburnus*.



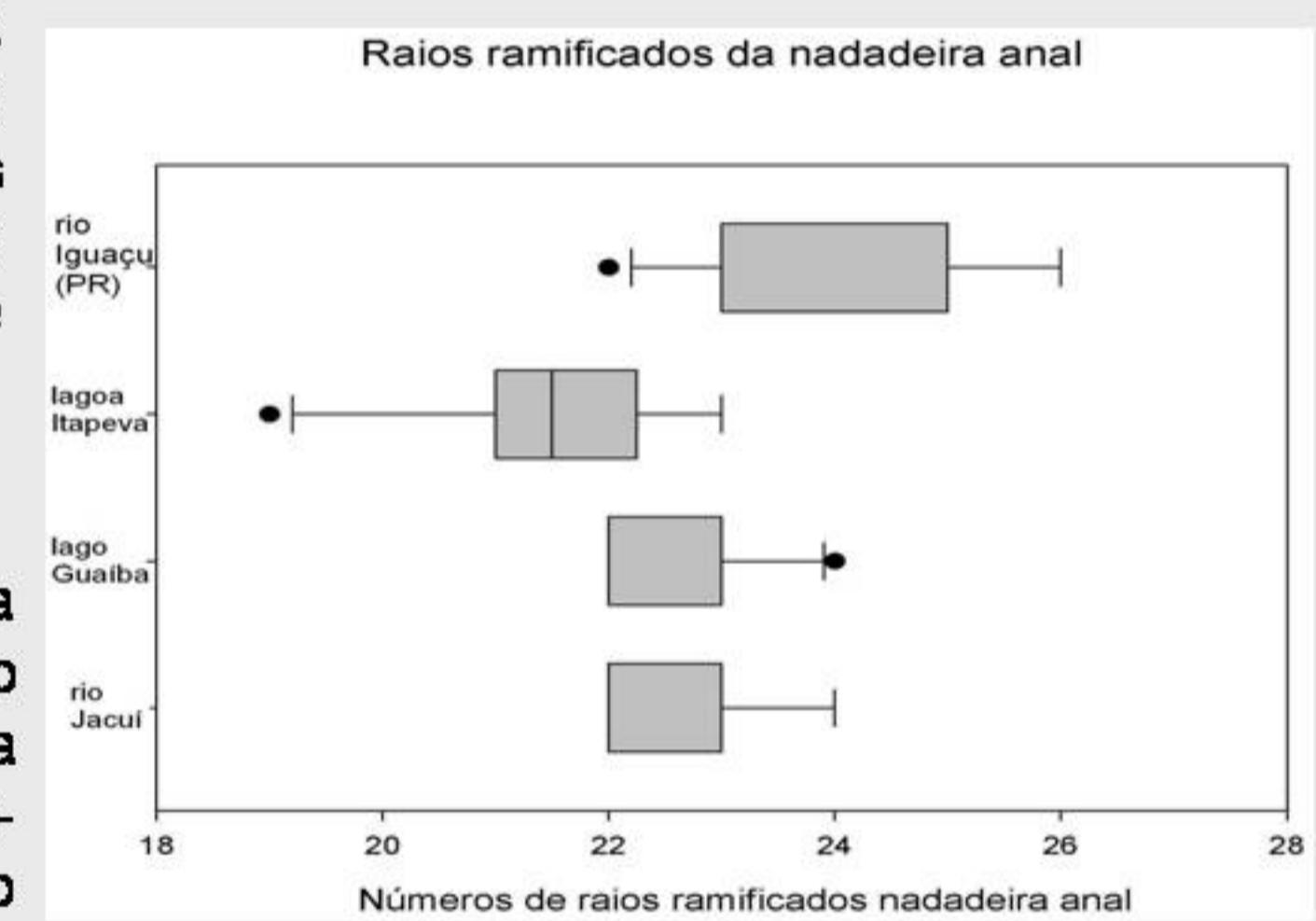
■ Figura 4. Árvore de máxima parcimônia de *Cyanocharax alburnus*.

■ Tabela 1. Distância evolutiva, em proporção, por taxa de mutação de *Cyanocharax alburnus*.

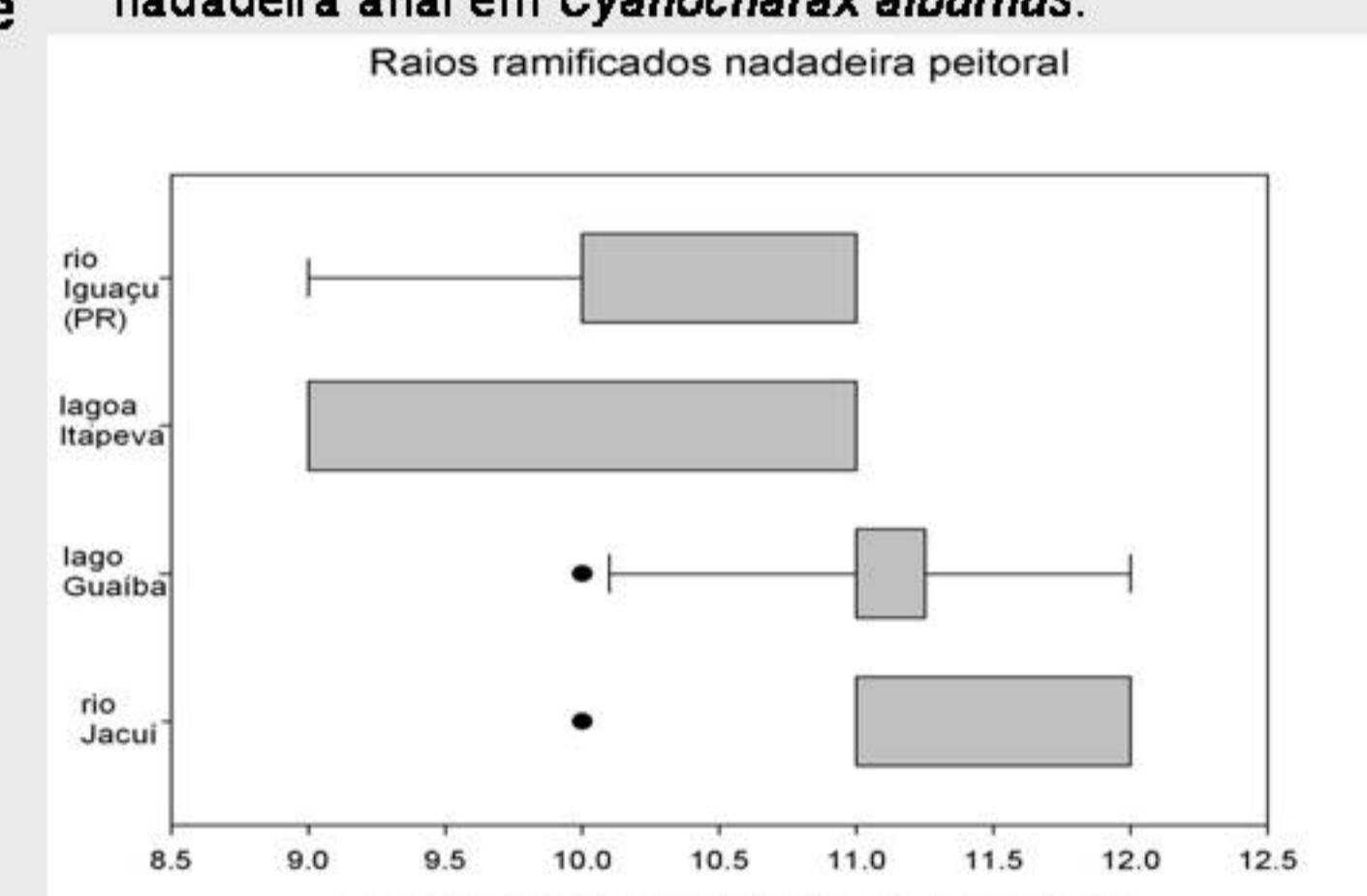
<i>C.alburnus_Tec61A(rio Negro,Uru)</i>							
<i>C.alburnus_Tec677A(rio Jacu)</i>							
<i>C.alburnus_Tec5646(laguna Patos)</i>							
<i>C.alburnus_Tec1810A(rio Urugua)</i>							
<i>C.alburnus_Tec1232A (lagoa Itapeva-Tramanda)</i>							
<i>C. itaimbe_UFRGS10006</i>							
<i>C. uruguayensis_UFRGS10000</i>							
<i>C. alegretensis_UFRGS10008</i>							
<i>Cyanocharax sp. Tec1827(PR)</i>							
<i>D. speculiferum_UFRGS10004</i>							
<i>D. terofali_UFRGS10007</i>							
<i>D. terofali_UFRGS10005</i>							
<i>P. argentea_LBP-28397</i>							
<i>B. stramineus_DCC00661</i>							
<i>C.alburnus_Tec61A(rio Negro,Uru)</i>	0,0366						
<i>C.alburnus_Tec677A(rio Jacu)</i>	0,0374	0,0636					
<i>C.alburnus_Tec5646(laguna Patos)</i>	0,0365	0,0000	0,0622				
<i>C.alburnus_1810A(rio Urugua)</i>	0,0179	0,0139	0,07312	0,01316			
<i>C.alburnus_Tec1232A (lagoa Itapeva-Tramanda)</i>	0,0214	0,01538	0,07312	0,01754	0,01581		
<i>C. itaimbe_UFRGS10006</i>	0,0268	0,0272	0,07314	0,02767	0,0367	0,0363	
<i>D. terofali_UFRGS10007</i>	0,0335	0,0841	0,0666	0,05929	0,06324	0,06475	
<i>D. terofali_UFRGS10005</i>	0,0317	0,0613	0,06318	0,06161	0,06548	0,0844	0,0318
<i>D. speculiferum_UFRGS10004</i>	0,0235	0,06139	0,06235	0,06126	0,06917	0,07312	0,0714
<i>C. uruguayensis_UFRGS10000</i>	0,0475	0,0841	0,06475	0,05929	0,06719	0,07115	0,06475
<i>C. alegretensis_UFRGS10008</i>	0,0194	0,0653	0,07014	0,06522	0,07510	0,07905	0,0665
<i>P. argentea_LBP-28397</i>	0,0898	0,0723	0,10072	0,07905	0,08893	0,08993	0,08484
<i>B. stramineus_DCC00661</i>	0,0898	0,0732	0,10262	0,07510	0,0901	0,0869	0,09206



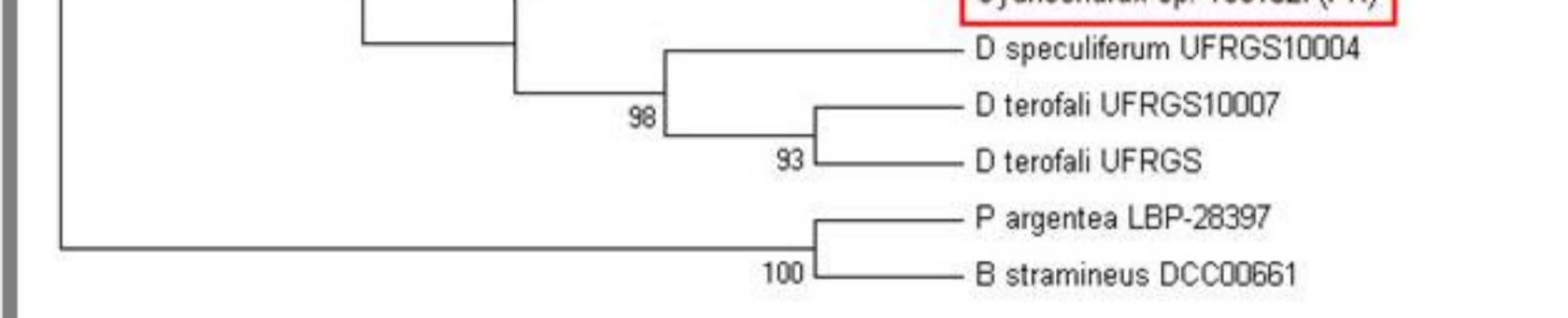
■ Figura 1. Mapa da distribuição geográfica dos lotes de *Cyanocharax alburnus* depositados na coleção de peixes do Laboratório de Ictiologia UFRGS



■ Figura 2. Variação do número de raios ramificados nadadeira anal em *Cyanocharax alburnus*.



■ Figura 3. Variação do número de raios ramificados da nadadeira peitoral, em *Cyanocharax alburnus*.



■ Figura 4. Árvore de máxima parcimônia de *Cyanocharax alburnus*.

### Discussão

Conforme as análises obtidas até o momento, observa-se que os espécimes do rio Iguaçu (PR) tentativamente identificados como *Cyanocharax alburnus* apresentam diferenças morfológicas no número de raios da nadadeira anal e peitoral em comparação aos exemplares analisados das drenagens do Rio Grande do Sul. As análises moleculares corroboram as análises morfológicas, sugerindo que a população do rio Iguaçu constitui uma espécie diferente de *C. alburnus*. Foram observadas diferenças morfológicas entre as populações de *C. alburnus* das bacias hidrográficas do Rio Grande do Sul, porém sem corroboração pela análise filogeográfica. A análise de um maior número de indivíduos permitirá verificar se estes padrões refletem uma história biogeográfica destas populações.

### Bibliografia

- Malabarba L.R. 1983. Redescrição e discussão da posição taxonômica de *Astyanax hasemani* Eigenmann, 1914 (Teleostei: Characidae). Comunicação do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS, Porto Alegre, nº29, p. 177-199. Malabarba L.R. & S.H. Weitzman. 2003. Description of a new genus with six species from Southern Brazil, Uruguay, Argentina with discussion of a putative Characid clade (Teleostei: Characiformes: Characidae). Comunicação do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS, série Zoológica 16(1): 67-151. Medrano, J.F., E. Aasen, & L. Sharow, 1990. DNA extraction from nucleated red blood cells. Biotechniques. 8 (1): 43. Mirande, J.M. 2010. Phylogeny of the family Characidae (Teleostei: Characiformes): from characters to taxonomy. Neotropical Ichthyology. 8: 385-568.