

Encontro anual de
INICIAÇÃO 
CIENTÍFICA DA UNESPAR

ANÁLISE CITOGENÉTICA EM *ASTYANAX BIFASCIATUS* DO RIO IGUAÇU (UNIÃO DA VITÓRIA/PARANÁ)

Angelita Barth (PIC, Fundação Araucária)
Unespar/Campus de União da Vitória, angebarth1@hotmail.com
Carla Andréia Lorscheider (Orientador),
Unespar/Campus de União da Vitória, profcarlab@gmail.com

RESUMO: *Astyanax bifasciatus* descrita recentemente por Garavello e Sampaio (2010), possui sua distribuição restrita a bacia hidrográfica do rio Iguaçu, o qual é caracterizado pelo elevado grau de endemismo, possivelmente em virtude de eventos geológicos que contribuíram para o seu isolamento. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo caracterizar citogeneticamente *A. bifasciatus* proveniente do médio rio Iguaçu. Os exemplares (16 machos e 15 fêmeas) foram coletados em União da Vitória, Paraná, Brasil (26° 15' 1.11" S, 51° 6' 10.67" W), com auxílio de redes de pesca. Os peixes foram sacrificados após uma *overdose* de óleo de cravo. Os espécimes foram identificados e depositados na coleção Ictiológica do Núcleo de Pesquisas de Limnologia, Ictiologia e Aquicultura – NUPÉLIA (NUP 16898), da Universidade Estadual de Maringá (UEM). Posteriormente, realizou-se a obtenção de cromossomos mitóticos (BERTOLLO et al., 1978) e detecção de heterocromatina constitutiva (Banda C) (SUMMER, 1972). Os cromossomos foram classificados e organizados segundo Levan et al. (1964). Calculou-se o número fundamental (NF) considerando cromossomos metacêntricos, submetacêntricos e subtelocêntricos contendo dois braços e os acrocêntricos contendo um braço. As imagens foram capturadas com a câmera digital Olympus DP71, acoplada ao microscópio Olympus Bx 41 e com a utilização do programa DP- Controller-BSW. O número diploide encontrado para *Astyanax bifasciatus* foi de 50 cromossomos, Fórmula Cariotípica (FC) de 6m+26sm+8st+10a e NF=82. *Astyanax* sp B (por Garavello e Sampaio, 2010 como *A. bifasciatus*) do rio Iguaçu, região de Salto Caxias estudado por Fazoli et al. (2003) apresentou o mesmo número diploide, com diferenças na FC (6m+24sm+6st+14a) e NF=86, para ambos os sexos. Com relação ao padrão de distribuição de heterocromatina constitutiva, verificou-se marcações preferencialmente na região centromérica ou pericentroméricas da maioria dos cromossomos, resultado semelhante também foram encontradas por Fazoli et al. (2003), contrastando com fortes marcações na região teloméricas do braço curto do par submetacêntrico 19 e nos braços longos de apenas um cromossomo do par 17 e dos pares 4, 6 e 19, diferindo de *A. bifasciatus* do rio Iguaçu, região de União da Vitória, que apresentou grandes blocos heterocromático na região telomérica do braço longo dos pares 20, 21, 22. Assim, a citogenética mostrou-se uma excelente ferramenta para diferenciar e caracterizar as populações de *A. bifasciatus* analisados.

Palavras-chave: Lambari. Endêmica. Cariótipo.

INTRODUÇÃO

Os peixes constituem um grupo de vertebrados muito antigo e numeroso, presente em todos os ambientes aquáticos do planeta (NELSON, 2006), com especial representatividade na região neotropical, a qual comporta a ictiofauna dulcícola mais rica do mundo. Uma das ordens de peixes mais abundantes nesta região e que representa cerca de 30% dos peixes neotropicais é Characiformes com cerca de 1.700 espécies, distribuídas em 18 famílias, cuja distribuição geográfica vai desde a África Subsaariana, sul da América do Norte, América central e do Sul (MOREIRA, 2007).

Encontro Anual de Iniciação Científica da Unespar

A diversidade de tamanhos entre os indivíduos desta ordem é notável existindo desde animais com cerca de 26 mm até mais de um metro, os quais habitam ambientes lênticos e lóticos e apresentam hábitos alimentares variados podendo ser predadores, herbívoros, iliófagos, lepidófagos ou se alimentar das nadadeiras de outros peixes (KAVALCO, 2008).

Dentre as famílias de Characiformes, Characidae é a maior e mais complexa, compreendendo cerca de 270 gêneros, que exibem grande heterogeneidade entre si (OLIVEIRA et al., 2009). Compreende os peixes caracterizados por ser bons nadadores, pela presença da nadadeira caudal adiposa, dentes bem desenvolvidos, nadadeira pélvica, nadadeira anal curta a moderadamente longa e linha lateral curvilínea, as vezes incompleta (BARBOSA, 2013).

Considerando os aspectos citogenéticos, a família Characidae apresenta um cariótipo com reduções no número de cromossomos pouco frequente e inversões que alteram a morfologia estrutural dos cariótipos (SANTOS, 2010) sendo que a maioria das espécies apresenta um número diploide variando entre 48 e 54 cromossomos e o primeiro par de cromossomos como um metacêntrico grande que se destaca dos demais metacêntricos (OLIVEIRA et al., 1988). Com relação a filogenia a família Characidae por comportar uma grande quantidade de organismos com uma imensa variedade de formas possui uma sistemática mal definida, representando um aglomerado filogenético (FERREIRA, 2004).

Astyanax, o principal gênero de Characidae foi descrito por Baird e Girard (1854) e inclui animais conhecidos popularmente como lambaris, que de acordo com Vazzoller e Menezes (1992) são animais não migratórios, com fecundação externa e ausência de cuidado parental. Possuem tamanho reduzido, nadadeira caudal adiposa, linha lateral completa e relativamente curva para frente, pré maxilar não protrátil, dentes com cúspides sendo os pré maxilares dispostos em duas fileiras de cinco dentes, além de escamas de tamanho normal recobrando a base da nadadeira caudal (BRISTSKI et al., 1988).

Peixes do gênero *Astyanax* distribuem-se desde o sul dos Estados Unidos até a bacia do rio da prata na Argentina (WEITZMAN e FINK, 1983). No Brasil, os *Astyanax* apresentam ampla distribuição geográfica, abundância elevada e dominância em varias bacias hidrográfica brasileiras, fato que pode ocorrer em virtude das espécies pertencentes ao gênero apresentarem grande potencial reprodutivo e oportunismo trófico (WOLFF, 2007).

Em geral, as espécies do gênero possuem comprimento padrão máximo em torno de 150 mm e podem viver em cardumes que habitam uma gama de ambientes como cabeceiras e cursos principais dos rios, próximos a áreas de mangue e inclusive em rios de dentro de cavernas (MOREIRA, 2007).

Os membros pertencentes ao gênero *Astyanax* apresentam grande similaridade morfológica, o que dificulta sua classificação a nível específico e além disso, exibem grande variabilidade cariotípica,

Encontro Anual de Iniciação Científica da Unespar

com número diploide variando de 36 cromossomos em *Astyanax shubarti*, para 50 em outras, como *Astyanax scabripinnis* e mesmo dentro de uma única espécie pode ocorrer variações no número diplóide quando comparadas populações diferentes (SANTOS, 2010).

Com aproximadamente 140 espécies alocadas no gênero, *Astyanax bifasciatus* foi recentemente estudada taxonomicamente e descrita por Garavello e Sampaio (2010). Esta espécie é herbívora possui corpo claro, nadadeira anal, caudal e dorsal avermelhadas, mancha umeral preta verticalmente alongada, sendo a porção superior mais larga que a inferior, seguida de uma mancha pós-umeral difusa, faixa longitudinal escura e larga, mais evidente a partir da segunda mancha umeral, que se prolonga sobre os raios caudais medianos, prateada quando, espaço entre o 3º infraorbital e o pré-opérculo ausente ou reduzido (BAUMGARTNER, 2012).

Astyanax bifasciatus é uma espécie endêmica da bacia do rio Iguaçu, e amplamente distribuída ao longo desta bacia, apresentando grande abundância especialmente nas regiões do alto e médio Iguaçu (WOLFF, 2007). A ictiofauna do Iguaçu caracteriza-se pelo elevado grau de endemismo e também pela ausência das famílias de peixes migradores mais comuns na bacia do rio Paraná, embora dele seja tributário desde sua formação (GARAVELLO et al., 1997). O isolamento causado pelas Cataratas do Iguaçu, associado a fenômenos climáticos, podem ter levado a uma compartimentalização geológica da bacia, sendo estes alguns dos principais fenômenos responsáveis pelo desenvolvimento de uma ictiofauna peculiar (CARDOSO, 2012). Deve-se considerar ainda que a distribuição longitudinal da ictiofauna ao longo da bacia hidrográfica do rio Iguaçu não é uniforme, pois algumas espécies são encontradas apenas em regiões de maior altitude, próximas às cabeceiras desse sistema, enquanto outras são exclusivas das regiões do curso médio e baixo (ABILHOA et al., 2011).

O gênero *Astyanax* ao qual *Astyanax bifasciatus* pertence propicia estudos devido as suas características biológicas peculiares como a grande semelhança morfológica entre seus indivíduos fato, que torna o entendimento da citogenética populacional uma ferramenta importante, pois permite conhecer as diferenças cromossômicas geradas por processos evolutivos e suas relações com as diferenças adaptativas das populações, além de contribuir para a compreensão das relações de parentesco entre as espécies (SANTOS, 2010). Desta forma, o presente estudo teve como objetivo caracterizar citogeneticamente *A. bifasciatus* proveniente do médio rio Iguaçu, município de União da Vitória (PR) utilizando como ferramenta a citogenética, estudo que foi de grande valia, pois segundo Abe (2011) dados revelam que mais de 2.600 espécies/subespécies de diversas ordens foram cariotipadas, número considerado pequeno visto a grande diversidade de peixes existente.

MATERIAIS E MÉTODOS

Encontro Anual de Iniciação Científica da Unespar

Os exemplares de *Astyanax bifasciatus* (16 machos e 15 fêmeas) (Figura 1) foram coletados na região do médio Iguaçu, Paraná, Brasil (26° 15' 1.11" S, 51° 6' 10.67" W) (Figura 2), com auxílio de redes de pesca.



Figura 1. Exemplar de *Astyanax bifasciatus* do médio rio Iguaçu, município de União da Vitória (PR).

Após coletados os indivíduos foram encaminhados vivos para o laboratório de pesquisa da Universidade Estadual do Paraná – UNESPAR - *Campus* União da Vitória, PR. Os peixes foram sacrificados após uma *overdose* de óleo de cravo. Todos os espécimes foram identificados e depositados na coleção Ictiológica do Núcleo de Pesquisas de Limnologia, Ictiologia e Aquicultura – NUPÉLIA (NUP 16898) (NUP= acronímia Nupélia), da Universidade Estadual de Maringá - UEM (Paraná, Brasil). Posteriormente realizou-se a obtenção de cromossomos mitóticos a partir do rim anterior do animal seguindo a técnica descrita por Bertollo et al. (1978).

Após esta etapa, utilizou-se o material obtido para a preparação de lâminas, as quais foram coradas convencionalmente com Giemsa. A detecção de heterocromatina constitutiva (Banda C) foi realizada de acordo com Summer (1972). Os cromossomos foram classificados e organizado segundo Levan et al. (1964). Calculou-se o número fundamental considerando cromossomos metacêntricos, submetacêntricos e subtlocêntricos contendo dois braços e os acrocêntricos contendo apenas um braço. As imagens foram capturadas com a câmera digital Olympus DP71, acoplada ao microscópio Olympus Bx 41 e com a utilização do programa DP- Controller-BSW no Laboratório de Citogenética Animal da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). Os cromossomos foram cortados e pareados utilizando o programa Adobe Photoshop CS5.

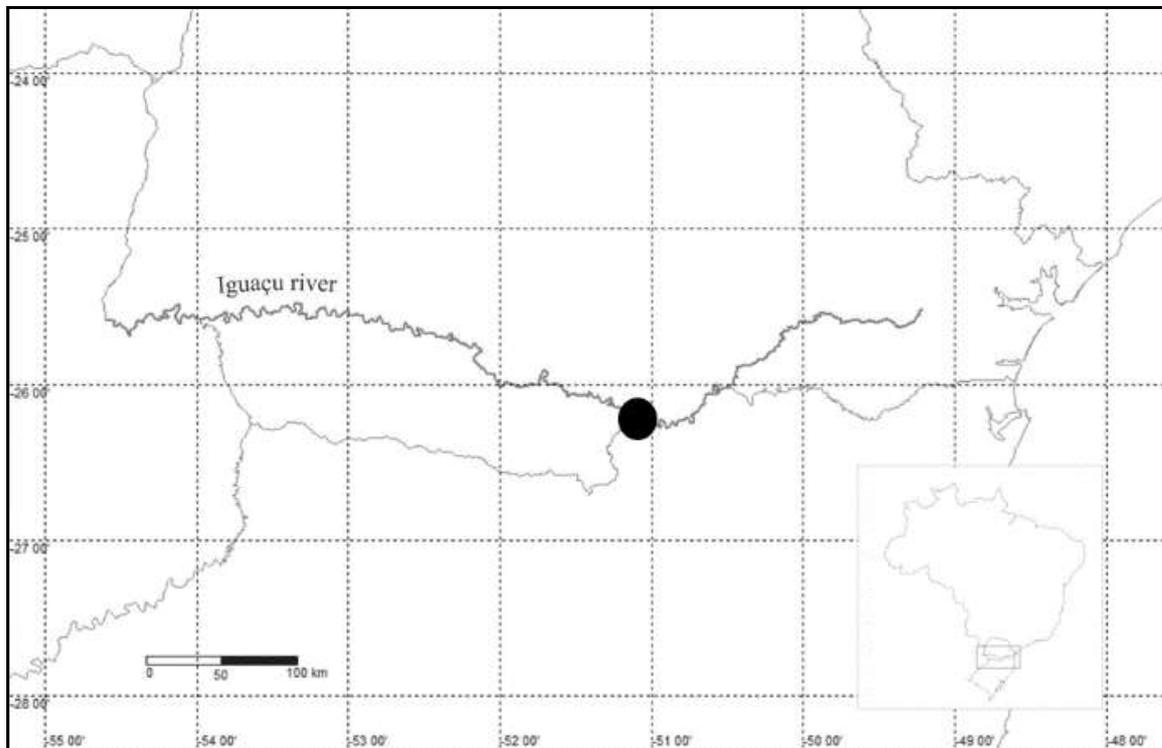


Figura 2. A área de estudo inserida na Bacia Hidrográfica do Rio Iguaçu, no trecho de União da Vitória, Paraná. Legenda: (●) local de coleta. Fonte: Google Maps.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O gênero *Astyanax* apresenta uma marcante diversidade cariotípica, podendo variar de $2n=36$ cromossomos em *Astyanax schubarti* (MORELLI, 1983) até $2n=50$ cromossomos, considerado o mais frequente na maioria das espécies deste gênero (PAZZA e KAVALCO, 2007). O número diploide encontrado para *Astyanax bifasciatus* foi de 50 cromossomos para ambos os sexos (Figura 3A). Fazoli et al. (2003), encontrou o mesmo resultado para *Astyanax* sp B, coletado no rio Iguaçu, na região de Salto Caxias, tal espécie foi descrita recentemente por Garavello e Sampaio (2010) como *A. bifasciatus*. O $2n=50$ cromossomos é considerado uma condição ancestral para o gênero, assim como a presença do primeiro par de metacêntricos de tamanho significativamente maior que os demais cromossomos do complemento (PAZZA e KAVALCO, 2007), fato observado na espécie aqui analisada.

As duas populações analisadas de *A. bifasciatus* apresentaram cariótipos compostos por todos os tipos cromossômicos e predominância de cromossomos bi-braçados. No entanto, houve diferenças na fórmula cariotípica (FC) e no número fundamental (NF). A população de *A. bifasciatus* de União da Vitória aqui analisada apresentou fórmula cariotípica composta por 6 cromossomos do tipo metacêntrico, 26 cromossomos submetacêntrico, 8 cromossomos subtelo-cêntricos e 10 cromossomos acrocêntricos, resultando em um número fundamental de 82 (Figura 3A). Enquanto, a população de *A.*

Encontro Anual de Iniciação Científica da Unespar

bifasciatus de Salto Caxias, é constituída por 6 cromossomos metacêntricos, 24 cromossomos submetacêntricos, 6 cromossomos subteloacêntricos e 14 acrocêntricos e $NF=86$ (FAZOLI et al., 2003), diferindo no número de cromossomos submetacêntricos e acrocêntrico.

As diferenças encontradas nas fórmulas cariotípicas entre a população de *A. bifasciatus* de União da Vitória e a população de Salto Caxias (FAZOLI et al., 2003) podem representar variações interpopulacionais existentes, ou causadas por rearranjos cromossômicos, dificuldades técnicas na determinação da posição exata do centrômero, uma vez que o valor da relação dos braços pode estar muito próximo aos limites estabelecidos, ou ainda estarem relacionadas a diferenças na condensação relativa entre alguns cromossomos, como observados por Feldberg e Bertollo (1985) e Loureiro (1999).

Com relação ao padrão de distribuição de heterocromatina constitutiva para a população de *A. bifasciatus*, verificou-se marcações preferencialmente na região centromérica ou pericentromérica da maioria dos cromossomos, resultado semelhante também foram encontradas para a população de Salto Caxias (FAZOLI et al., 2003). Diferenças de heterocromatina foram observadas entre as duas populações, sendo que fortes marcações na região teloméricas do braço curto do par submetacêntrico 19 e nos braços longos de apenas um cromossomo do par 17 e dos pares 4, 6 e 19, foram observadas apenas para a população de União da Vitória, diferindo de *A. bifasciatus* de Salto Caxias, que apresentou grandes blocos heterocromático na região telomérica do braço longo dos pares 20, 21, 22 (Figura 3B).

Diferenças relacionadas a distribuição da heterocromatina constitutiva são frequentes no gênero *Astyanax* como afirma Paiz (2013) e mesmo dentro de populações de uma mesma espécie isoladas geograficamente (SANTOS, 2010). Na espécie *Astyanax fasciatus* são evidenciadas grandes diferenças com relação ao padrão de heterocromatina interpopulacional (CARDOSO, 2012), fato observado também quando se consideram os dados obtidos para *Astyanax bifasciatus*, estudado em locais diferentes na calha principal do rio Iguaçu. Esta heterocromatina, caracterizada pela baixa atividade gênica e pelo elevado grau de condensação possui tendência a se agrupar nas regiões centroméricas e pericentroméricas dos cromossomos, entretanto, sua localização exata é característica de cada população de peixes, visto que existem divergências interpopulacionais com relação a distribuição da heterocromatina (PAIZ, 2013). A grande variabilidade cromossômica encontrada dentro de *Astyanax*, principalmente no que diz respeito a heterocromatina deve-se a decorrência de polimorfismos estruturais (SANTOS, 2010).

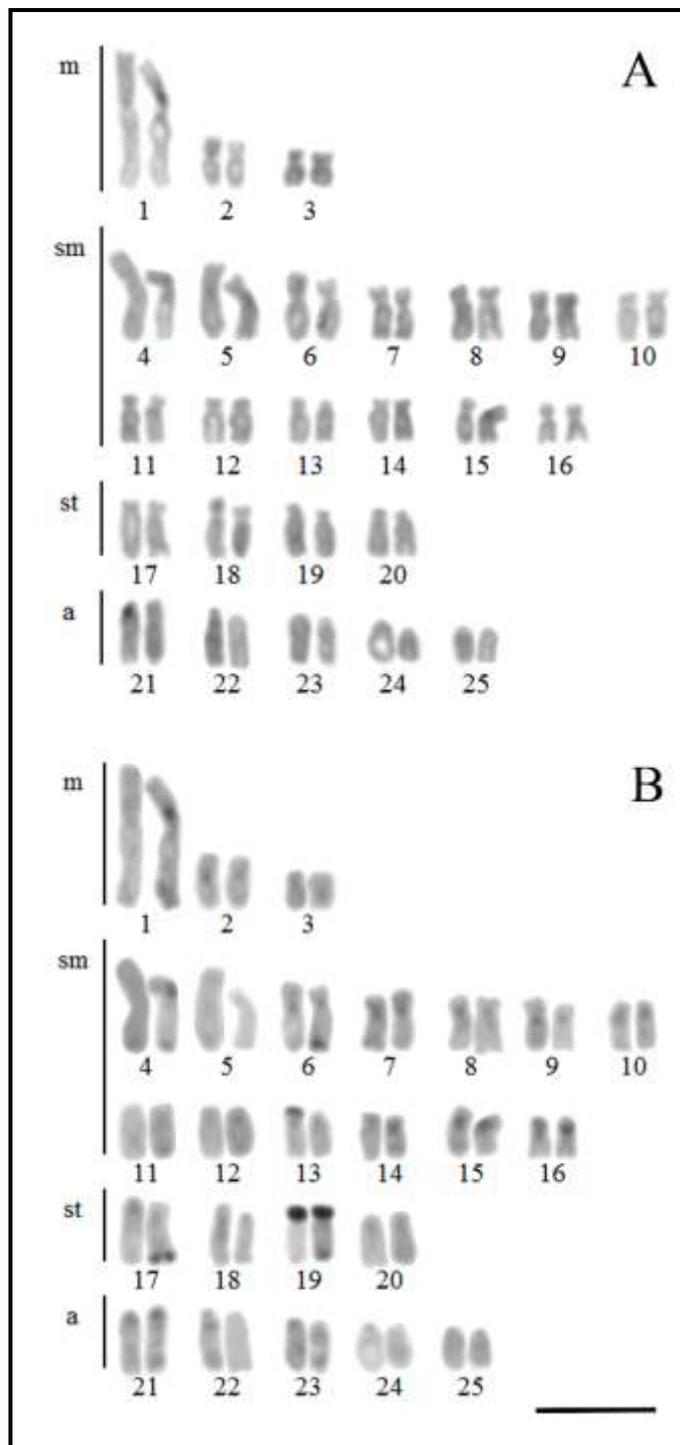


Figura 3. Cariótipos de *Astyanax bifasciatus* coletados no médio Rio Iguaçu, no trecho de União da Vitória, Paraná. Em (A) o cariótipo corado com Giemsa e em (B) os cromossomos tratados com a técnica de bandeamento C. Legenda m (metacêntrico), sm (submetacêntrico), st (subtelocêntrico) e a (acrocêntrico). A barra corresponde a 10μm.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Encontro Anual de Iniciação Científica da Unespar

Os dados obtidos são marcadores para a população de União da Vitória, ou as populações de *A. bifasciatus* de União da Vitória e Salto Caxias não se tratam da mesma espécie, sendo necessário ampliar os estudos citogenéticos e taxonômicos.

REFERÊNCIAS

- ABE, K.T. **Análise das relações filogenéticas entre espécies da subfamília Bryconinae (Ostariophysi: Characiformes: Characidae) utilizando sequências de DNA mitocondrial e nuclear.** 140f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Departamento de Zoologia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, São Paulo, 2011.
- ABILHOA, V.; BRAGA, R.R.; BORNATOWSKI, H; VITULE, J.R.S. Fish of the Atlantic Rain Forest streams: ecological patterns and conservation. In: GRILLO, O.; VENORA, G. **Changing Diversity in Changing Environmen.** Rijeka: Intech, p.392, 2011a.
- BAIRD, S. F. e GIRARD, C. F. **Descriptions of new species of fishes collected in Texas, New Mexico and Sonora.** Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia, Philadelphia, v.7, p.26-27, 1854.
- BARBOSA, P. **Elementos genômicos repetitivos no complex *Astyanax scalabrinnis* (Teleostei/Characidae).** 65f. Dissertação (Mestrado em Biologia Evolutiva) - Departamento de Biologia Evolutiva, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, Paraná, 2013.
- BAUMGARTNER, G.; PAVANELLI, C.S.; BAUMGARTNER, D.; BIFI, A.G.; DEBONA, T.; FRANA, V.A. **Peixes do baixo rio Iguaçu.** Maringá: Eduem. 2012.
- BERTOLLO, L.A.C., TAKAHASHI, C.S., MOREIRA-FILHO, O. Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). **Brazilian Journal of Genetics.** v.1, n.2, p.103-120, 1978.
- BRITSKI, H.A., SATO, Y., ROSA, A.B.S.. **Manual de identificação de peixes da região de Três Marias (com chaves de identificação para os peixes da bacia do São Francisco).** Minas Gerais: Codesvasf, 1988.
- CARDOSO, C.G. **INFLUÊNCIAS FILOGENÉTICA, TEMPORAL E ESPACIAL NA DIETA DE PEIXES EM DOIS RESERVATÓRIOS DE UMA REGIÃO NEOTROPICAL DE ALTO ENDEMISMO.** 65f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação), Departamento de Ecologia e Conservação, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 2012.
- FAZOLI, L.C.; SILVA, V.A.B.; PORTELA-CASTRO, A.L.B.; JÚLIO, H.F. Chromosome characterization of *Astyanax* sp. B (Characidae, Tetragonopterinae), endemic species of the Iguaçu river, Paraná, Brazil. **Cytologia.** v.68, n.4, p.389-394, 2003.
- FELDBERG E. e BERTOLLO L.A.C. Karyotypes of 10 Species of Neotropical Cichlids (Pisces, Perciformes). **Caryologia.**v.38, p.68-257, 1985.
- FERREIRA, A. **Ecologia trófica de *Astyanax paranae* (Osteichthyes/Characidae) em córregos do rio Passa-Cinco, estado de São Paulo.** 71f. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Agrossistemas), Departamento de Ecologia da Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, 2004.

**Encontro Anual de Iniciação Científica
da Unespar**

GARAVELLO, J.C., PAVANELLI, C.S., SUZUKI, H. Caracterização da ictiofauna do Rio Iguaçu. In AGOSTINHO, A. A.; Gomes, LC. (Eds.). **Reservatório de Segredo: bases ecológicas para o manejo**. Maringá: EDUEM, 1997.

GARAVELLO, J.C. & SAMPAIO F.A. Five new species of genus *Astyanax* Baird & Girard, 1854 from Rio Iguaçu, Paraná, Brazil (Ostariophysi, Characiformes, Characidae). **Brazilian Journal of Biology**. v.70, p.847–865, 2010.

KAVALCO, K.F. **Estudos Evolutivos no Gênero *Astyanax* (Pisces, Characidae)**. 223f. Tese (Doutorado em Biologia Genética), Departamento de Zoologia do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, São Paulo, 2008.

LEVAN, A., FREDGA, K., SANDBERG, A.A. Nomenclatura for Centromeric Position on Chromosomes. **Hereditas**. v.25, n.2, p.201-220, 1964.

LOUREIRO, M.A. **Cytogenetic analysis of four species of the family Cichlidae (Pisces, Perciformes)**. 199f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento), Departamento. Departamento de Biologia Geral, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, 1999.

MOREIRA, C.R. **Relações Filogenéticas na ordem Characiformes (Teleostei: Ostariophysi)**. 484f. Tese (Doutorado em Zoologia), Departamento de Zoologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, São Paulo, 2007.

MORELLI, S. Cytogenetic considerations on the genus *Astyanax* (Pisces, Characidae). I. Karyotypic variability. **Caryologia**, v.36, n.3, p.235–244, 1983.

NELSON, J.S. **Fishes of the World**. New York: John Wiley & Sons, 2006.

OLIVEIRA, C.; ALMEIDA-TOLEDO, L.F.; FORESTI, F.; BRITSKI, H.A.; TOLEDO-FILHO, S.A.. Chromosome formulae of Neotropical Freshwater Fishes. **Braz. J. Gen.**, v.11, n.3, p.577-624, 1988.

OLIVEIRA, C., FORESTI, F., HILSDORF, A.W.S. Genetics of fish: from chromosomes to populations. **Fish Physiology and Biochemistry**. v.35, 81-100, 2009.

PAIZ, L.M. **CITOGENÉTICA COMO FERRAMENTA NO ESTUDO DA BIODIVERSIDADE DE “LAMBARIS” (CHARACIFORMES: CHARACIDAE) COLETADOS À JUSANTE DO RIO IGUAÇU, PARQUE NACIONAL DO IGUAÇU, BRASIL**. 76f. . Dissertação (Mestrado em Conservação e Manejo de Recursos Naturais) – Departamento de de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade do Oeste do Paraná, Cascavel, Paraná, 2013.

PAZZA, R., KAVALCO, K.F. Chromosomal evolution in the Neotropical characin *Astyanax* (Teleostei, Characidae). **The nucleus**. v.50, n.3, p.519-543, 2007.

SANTOS, N. M. **Mapeamento Gênico de sítios repetitivos de DNAr 5S e 18S em *Astyanax scabripinnis* (Characiformes, Characidae)**. 136f. Dissertação (Mestrado em Biociências) – Departamento de Zoologia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, 2010.

SUMNER, A.T.A. Simple Technique for Demonstrating Centromeric Heterochromatin. **Cell Research**. v.75, p.304-306, 1972.

**Encontro Anual de Iniciação Científica
da Unespar**

VAZZOLLER, A.E.A.; MENEZES, N.A. Síntese dos conhecimentos sobre o comportamento reprodutivo dos Characiformes da América do Sul (Teleostei, Ostariophysi). **Ver Brasil Biol.** v.52, p.627-640, 1992.

WEITZMAN, S.H.; FINK, W.L. Relationship of the neon tetras, a group of South American freshwater fish (Teleostei, Characidae), with comments on the phylogeny of New World Characiforms. **Bull Mus. Comp. Zool.** v.150, p.339-395, 1983.

WOLFF, L.L. **Estrutura populacional, biologia reprodutiva e ecologia alimentar do lambari *Astyanax spB* (Characidae: tetragonoptertinae) em dois trechos do rio das Pedras, Graupuava – Paraná.** 119f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e conservação) – Departamento de Ecologia e Conservação, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 2007.