

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO

VARIABILIDADE GENÉTICA DE UM PROGRAMA DE REPOVOAMENTO E DE
UM PROGRAMA DE MELHORAMENTO GENÉTICO DE TAMBAQUI

AMÉRICO MORAES NETO

CAMPO GRANDE
MATO GROSSO DO SUL – BRASIL
FEVEREIRO DE 2017

AMÉRICO MORAES NETO

VARIABILIDADE GENÉTICA DE UM PROGRAMA DE REPOVOAMENTO E DE
UM PROGRAMA DE MELHORAMENTO DE TAMBAQUI

Genetic variability between tambaqui brodstocks of reproduction programs

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul como requisito à obtenção do título de Doutor em Ciência Animal. Área de concentração: Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Bahiense Ferraz Filho

CAMPO GRANDE
MATO GROSSO DO SUL – BRASIL
FEVEREIRO DE 2017

Certificado de aprovação

AMÉRICO MORAES NETO

**VARIABILIDADE GENÉTICA DE UM PROGRAMA DE REPOVOAMENTO E DE
UM PROGRAMA DE MELHORAMENTO DE TAMBAQUI**

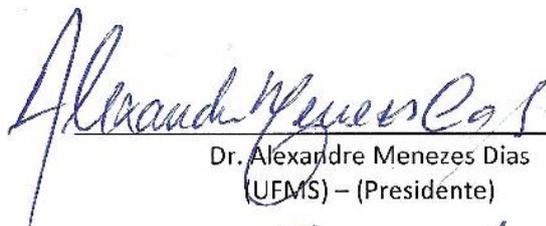
Genetic variability between tambaqui brodstocks of reproduction programs

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de doutor em Ciência Animal.

Área de concentração: Produção Animal.

Aprovado(a) em: 24-02-2017

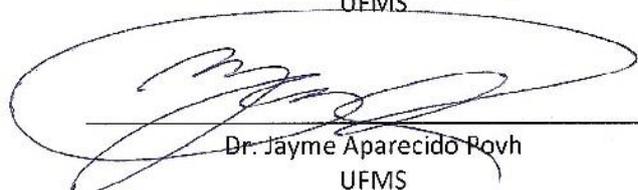
BANCA EXAMINADORA:


Dr. Alexandre Menezes Dias
UFMS) – (Presidente)


Dr. Roberto Ferreira Artoni
UEPG


Dr. Luis Antonio Kioshi Aoki Inoue
EMBRAPA


Dr. Charles Kiefer
UFMS


Dr. Jayme Aparecido Rovh
UFMS

Dedico esta tese aos meus pais, os mecenas do sonho de um menino que desde sempre quis trabalhar com ciência, por tudo que fizeram pelos meus estudos e pelo meu futuro.

Dedico também àqueles que sonham em fazer um mestrado ou um doutorado. Não desistam!

AGRADECIMENTOS

É tão interessante a expressão das pessoas quando você fala que depois de formado ainda estuda, que faz pós-graduação. É ainda mais interessante a convicção das pessoas de que pós-graduação não é trabalho, muitas dizem "Por que você não trabalha e estuda?" ou "E quando você pretende trabalhar?". Ninguém entende o quão exaustivo e árduo é cursar um mestrado ou um doutorado. No começo, queremos “mudar o mundo” com nosso trabalho, diante da empolgação, queremos ser melhor do que outros pra se destacar, trabalhamos sempre pensando em atingir a perfeição. Mas, em meio a disciplinas que temos que cursar, diante de tanto trabalho, fica visível que se destacar e ser o melhor não é o mais importante. O mais importante é se superar.

Esses quatro anos e meio foram muitos desgastantes psicologicamente e sei que não é diferente pra a maioria das pessoas. No meu caso, comecei com um projeto de melhoramento genético bovino (área totalmente nova pra mim) e, diante das várias dificuldades e da pouca ajuda que tive frente as minhas necessidades, quase desisti do curso. Nessa época, lembrava muito de uma famosa frase sobre como “medir” o caráter das pessoas. Sempre me perguntava “Se alguém pode ajudar outro alguém, por que não fazê-lo?” e fiquei impressionado como a soberba e a arrogância de pessoas que encontrei no caminho (alguns que até tinham por obrigação ajudar). Algumas pessoas tentaram me ajudar, pessoas cuja obrigação não era essa, pessoas que nem moravam em Campo Grande. Mas não foi o suficiente pra eu continuar com meu projeto inicial. Pra não desistir do sonho do doutoramento eu voltei pra minha antiga área do mestrado. Contar isso em poucas linhas parece simples mas se não fosse a colaboração das pessoas maravilhosas que me ajudaram eu não teria conseguido. Por isso, após esse breve desabafo, quero agradecer aqueles que "(re)apareceram" pra me dar uma força.

Inicialmente agradeço muito ao prof. Dr. Paulo Bahiense Ferraz Filho, que aceitou me orientar sem me conhecer, e lamento o fato do senhor não morar em Campo Grande, imagino que tudo teria sido mais fácil. Agradeço aos funcionários da secretaria do PPG do curso – Marilete Otaño Peixoto Ferencz, Letícia Carvalho Gomes e Ricardo de Oliveira dos Santos – por terem sido sempre muito prestativos; aos membros das minhas bancas de qualificação e de defesa; aos professores do PPG mas, especialmente, aos professores Dr. Charles Kiefer, Dr. Júlio César de Souza, Dr. Ruy Alberto Caetano Corrêa filho, Dra. Eliane Vianna Costa e Silva, pela força, pelos conselhos e ajuda que deram pra eu não desistir e focar meu trabalho.

Agradeço ao amigo e técnico da piscicultura da UFMS Eliezer Azevedo Lopes; aos estagiários, em especial, aos alunos da zootecnia que ajudaram com minhas amostras em pleno final de semana de manhã e aos alunos da biologia Thiago Miguel Oliveira Saiefert e Luiza Steinmeyer pelas muitas vezes que ajudaram na coleta e organização das minhas amostras; e aos colegas de pós-graduação, em especial, Gabriela Dalla Marta, Rosana Moreira e Maurício Vargas da Silveira.

Merecem um parágrafo só pra eles nos meus agradecimentos os meus ex-colegas de república, de EMBRAPA e frequentadores de república. Nos divertíamos jogando PS3, tomando tereré e churrasqueando. Também nos ajudávamos nas disciplinas que tínhamos em comum. Enfim, crescemos muito juntos durante nosso tempo de convívio. Muito obrigado Caroline Oliveira, Joilson Echeverria, Thiago Toigo, André Aguirre, Irene Elisei, Bruno Pacito, Nivaldo Karvate Jr, Marcos Valério Garcia, Jaqueline

Matias, Cauby de Medeiros Neto, Clovis David Medeiros Martins, Tiago Miqueloto, e Bruno A. Silva.

Quero agradecer aos meus amigos de Campo Grande: Eduardo Falcão, Stephani Morgantini, dona Lourdes Willms, Elton Cunha Lima, Thales F. Vieira, Wítiler V. Perbone, Pablito B. Galvao e Simone Neto. Sua amizade e companheirismo foi muito importante pra mim! Vocês me ajudaram muito durante esses quatro anos e meio! Foi muito bom tê-los por perto!

Obrigado, amigos da cidade de Ponta de Grossa (PR) e da UEPG por tudo que fizeram por mim enquanto estive aí e também enquanto eu não estive, porque muitos me ajudaram a distância. Em especial, gostaria de explicitar minha gratidão a profa. Dra. Dalva Cassie Rocha, profa. Dra. Maria Albertina de Miranda Soares, prof. Dr. Marcos Pileggi, Prof. Dr. Rafael Bertoni da Silveira, prof. Dr. Rodrigo Rodrigues Matiello, Dra. Caroline de Jesus Coelho, profa. Dra. Mara Cristina de Almeida Matiello, prof. Dr. Mateus Henrique Santos, Jonathan Pena Castro, William Guilherme Gross, Matheus Azambuja, Miguel Airton Carvalho, Luz Elena "Shakira" De La Ossa Guerra, Miguel "Valdivia" Angel Soto Ortiz, Bruno Kubis, Lucas Rosolen, Maria Elvira de Oliveira, Leonardo "Schweinsteiger" Goll, Gabriel Farhat, Nubbia Macedo Rodrigues Farhat, Samara Schmidt, Josely Mattos, Fernando "Fejão" Rebonato, Lorene Armstrong, José Ivan Vieira de Lima, Soraya G. Abdulack e família, Fabrício "Vermêio" Vieira Furtado e família, Jean Elias Dener "Jesus", Felipe Moreira e Mariana Pardo. Entre aqueles que já não moram mais em Ponta Grossa quero agradecer a Maelin Silva, Milena de Julio e Leila B. Ribeiro.

Aliás, á Milena de Julio, eu também dedico essa tese. Você sabe o quanto você fez parte da história de desenvolvimento desse trabalho. Você, como poucos, Mi, entende tudo o que eu passei, entende o que é apanhar e continuar lutando. Se não fosse seu apoio, minha amiga-irmã, não sei se esta tese teria um desfecho. É curioso que depois que acabamos a graduação quase não tivemos tanto contato. Acho que nossos caminhos tinham mesmo que se cruzar durante nossos cursos de doutorado. Você foi, Mi, um dos motivos pra eu lutar, trabalhar e acreditar que eu conseguiria. Por isso, você também é um pedaço disso tudo.

Eu não posso deixar de agradecer aos amigos de outros lugares. Ao prof. Dr. Nelson Maurício Lopera Barrero (UEL/Londrina) e profa. Dra. Denize Rocha Ayres (UFMT/Rondonópolis) pela ajuda direta que me deram com análise dos dados. Ao prof. Dr. Cláudio Zawadzki que me recebeu em sua casa em Maringá. Ao meu grande amigo Andrei L. B. Tacito (S.J. Rio Preto), Lyndi Cooper (EUA), Luís Marques (Portugal) e Michael Claeys (Bélgica) por me ajudarem com o resumo em inglês. A minha querida amiga Adriana C. Azevedo por me ajudar a encontrar os erros de português e formatação que eu não encontrei. Em comum todos me ajudaram com suas amizades!

Gostaria de agradecer aos meus familiares pela força, compreensão, apoio financeiro e pela paciência que tiveram comigo. Agradeço a dona Maria Salete Garcia e Sr Antônio Garci "Toninho" (pais da minha mulher) por se preocuparem comigo e sempre me estimularem a ser forte pra concluir meu trabalho. Agradeço minha família em Campo Grande: Julliana Garcia (minha mulher) e aos nossos animais de estimação por todo carinho que me deram!

Por último agradeço àqueles cuja ajuda foi mais do que fundamental. Aos professores Dr. Roberto F. Artoni e Jayme A. Povh pela imensa ajuda que me deram. Vocês acabaram sendo meus orientadores. Obrigado prof. Jayme por me ceder o material que utilizei nesta tese. O senhor acabou fazendo um papel que não era seu e graças ao senhor minha tese saiu em seis meses. Eu teria abandonado tudo se não fosse pela sua ajuda, professor. Quanto ao prof. Artoni, depois de uma tentativa de defesa frustrada que me aconteceu, o senhor me incentivou a não desistir e abriu as portas do seu laboratório na UEPG pra eu finalizar meu trabalho. Estes são homens tão atribulados, muitas vezes sem tempo pra própria família, e mesmo assim aceitaram me ajudar.

Agradeço também à Fundação de Apoio ao Desenvolvimento de Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT) pela bolsa de doutorado que possibilitou a realização deste trabalho. No fim, tudo valeu a pena!

"...Você, eu ou ninguém, vai bater tão duro quanto a vida. Mas não se trata do quão duro você bate... E sim do quanto você aguenta apanhar, e continuar lutando... o quanto você pode suportar, e continuar em frente. "É assim que se ganha" ... "

ROCKY BALBOA

"Eu vou dar tudo que eu tenho... quando você tem a possibilidade de lutar, quando você tem a fé, a esperança, aí depende de você realmente lutar, trabalhar e acreditar que você pode ir até o final."

AYRTON SENNA

"Não é importante ser melhor do que alguém e sim ser melhor do que ontem."

SENSEI JIGORO KANO

"A melhor medida de caráter de uma pessoa é o seu modo de tratar quem não pode lhe trazer benefício algum e quem está abaixo dela."

ABIGAIL VAN BUREN

"A educação tem raízes amargas mas seus frutos são doces."

ARISTÓTELES

"Tudo vale a pena se a alma não é pequena."

FERNANDO PESSOA

RESUMO

MORAES NETO, A. Variabilidade genética de um programa de repovoamento e de um programa de melhoramento de tambaqui. 2017. Número de folhas 44f. Tese (Doutoramento) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2017.

Resumo – A priori, apresenta-se uma breve revisão sobre o panorama da aquicultura no Brasil enfatizando seu potencial, sua posição no ranking dos maiores produtores mundiais de pescados e a piscicultura de peixes nativos no cenário nacional destacando a importância do tambaqui e dos marcadores moleculares de DNA para a produção de peixes com qualidade genética. Em seguida, são relatados dois trabalhos realizados com o objetivo de avaliar a variabilidade genética de dois estoques de reprodutores de tambaqui de uma piscicultura de Rondônia utilizados em programas de repovoamento (artigo 1) e avaliar a variabilidade genética de duas gerações de tambaqui melhorados geneticamente em uma piscicultura de Mato Grosso (artigo 2). No primeiro estudo (artigo 1) foram obtidas ampliações nos quatro *loci* microssatélites investigados. Estes produziram 14 alelos no estoque de reprodutores A e 10 alelos no estoque de reprodutores B. No estoque de reprodutores A foi observada baixa frequência de alelos nos *loci* Cm1A11, Cm1C8, Cm1F4 e Cm1H8 enquanto o estoque de reprodutores B não apresentou *locus* nessas condições. Os *loci* Cm1A11, Cm1C8 e Cm1H8 exibiram significativo déficit de heterozigotos em ambos os estoques de reprodutores, sugerindo alteração no equilíbrio de Hardy-Weinberg. O segundo estudo (artigo 2) apresentou 21 alelos para os dois *loci* microssatélites amplificados. A geração zero exibiu 11 alelos enquanto a geração um exibiu 10 alelos. Tanto o *loci* TB13 quanto o TB14 exibiram deficiência de heterozigotos em ambas as gerações estudadas o que sugere a possibilidade de endogamia.

Palavras-chave: *Colossoma macropomum*, cachama, conservação genética, peixe, pescado, microssatélite.

ABSTRACT

MORAES NETO, A. Genetic variability between tambaqui brodstocks of reproduction programs. 2017. Número de folhas 44f. Tese (Doutoramento) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, MS, Campo Grande, 2017.

Abstract – Firstly, a brief review is presented on the Brazilian aquaculture landscape emphasizing its potential, its position in the world's largest fish producers ranking and the fish farming of native species in the national context highlighting the importance of tambaqui and molecular markers for production of fish with genetic quality. Next, two studies were carried out to evaluate the genetic variability of two stocks of tambaqui fish from a fishery in Rondônia state used in restocking programs (article 1) and the genetic variability of two generations of tambaqui fish genetically improved from a fishery in Mato Grosso state (article 2). In the first study (article 1) amplifications were obtained in the four microsatellite *loci* investigated. These produced 14 alleles in the broodstock A and 10 alleles in the broodstock B. In broodstock A, low allele frequencies were observed at *loci* Cm1A11, Cm1C8, Cm1F4 and Cm1H8 exhibited significant heterozygous deficits in both broodstocks, suggesting Hardy-Weinberg equilibrium change. The second study (article 2) presented 21 alleles for the two amplified microsatellite *loci*, TB13 and TB14. The generation zero exhibited 11 alleles while generation one exhibited 10 alleles. Both the analysed microsatellite *loci* exhibited heterozygous deficiency in both studied generations which indicates the hypothesis of inbreeding.

Keywords: *Colossoma macropomum*, cachama, genetics conservation, capture fisheries, microsatellite.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** – A Bacia Amazônica, de acordo ANA (2016), está distribuída entre Venezuela (0,7%), Peru (17%), Guiana (0,2%), Equador (2,2%), Colômbia (5,8%), Bolívia (11%) e Brasil (63%). Entre os estados brasileiros a Bacia Amazônica distriui-se por Roraima/RR, Rondônia/RO, Pará/PA, Mato Grosso/MT, Amazonas/AM, Amapá/AP e Acre/AC.....6
- Figura 2** – Bacia do Rio Orinoco, segundo Dominguez Ossa (2017), compreende uma área aproximada de 1.032.524 km² e está distribuída em 388.101 km² (37,6%) do território colombiano e 644.423 km² (62,4%) em território venezuelano.....6
- Figura 3** – Exemplar de tambaqui adulto com ventre enegrecido e dorso amarelado padrão da espécie.....7
- Figura 4** – Exemplar de tambaqui juvenil sem coloração típica do indivíduo adulto.....8

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Ranking dos 25 maiores produtores mundiais de pescados no biênio 2012-2013 (Pos), suas respectivas produções em toneladas, participações na produção mundial (% Part. 2013) e evolução no biênio (% Evol.).....	3
Tabela 2 – Crescimento populacional da produção de pescados em toneladas e do consumo per capita aparente anual em quilograma por habitante ao ano (Kg/Hab/Ano).....	5
Tabela 3 – Heterozigose observada (H_o), Heterozigose esperada (H_e), Coeficiente de endogamia (F_{is}) e teste do equilíbrio de Hardy-Weinberg (PHW) dos <i>loci</i> microsatélite obtidos para dois lotes de reprodutores de tambaqui avaliados.....	27
Tabela 4 – Heterozigosidade observada (H_o), Heterozigosidade esperada (H_e) e teste para o equilíbrio de Hardy-Weinberg (PHW) dos <i>loci</i> de microsatélites usados nas duas gerações de <i>C. macropomum</i> estudadas.....	36

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Cenário da Aquicultura no Brasil	2
2.2 Tambaqui: caracterização, importância ecológica e econômica.....	6
2.3 A importância da variabilidade alélica	10
2.4 Marcadores microssatélites e seu uso em análises em peixes	11
3. REFERÊNCIAS	14
4. DIVERSIDADE GENÉTICA DE ESTOQUES DE REPRODUTORES DE TAMBAQUI UTILIZADOS EM PROGRAMAS DE REPOVOAMENTO	23
4.1 Resumo	23
4.2 Abstract.....	23
4.3 Introdução	24
4.4 Material e Métodos	24
4.5 Resultados e Discussão	25
4.6 Conclusão.....	28
4.7 Agradecimentos	29
4.8 Referências.....	29
5. AVALIAÇÃO GENÉTICA DE DUAS GERAÇÕES DE TAMBAQUI DE UM PROGRAMA DE MELHORAMENTO GENÉTICO.....	31
5.1 Resumo	31
5.2 Abstract.....	31
5.3 Introdução	32
5.4 Material e Métodos	33
5.5 Resultados e Discussão.....	35
5.6 Conclusão.....	37
5.7 Agradecimentos	38
5.8 Referências.....	38
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	43

1. INTRODUÇÃO

No ranking mundial dos países produtores de pescado, publicado pela Organização das Nações Unidas para alimentação e agricultura – FAO (2014), o Brasil não se encontra em uma posição de destaque e, mesmo se tratando do maior país da América Latina o qual abriga oito grandes bacias hidrográficas, está atrás de México, Peru e Chile. Porém, dados do Instituto Brasileiro de Geografia Estatística – IBGE (2016) revelam um crescimento expressivo na produção de pescados nos últimos anos e um crescimento estimado em 17% no setor de piscicultura continental durante o biênio 2013-2014.

Dentre os organismos com significativa relevância para o crescimento do setor aquícola, segundo IBGE (2016), está o tambaqui (*Colossoma macropomum*, CUVIER 1818), espécie nativa dulcícola mais cultivada na América do Sul seguida, respectivamente, por pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e curimba (*Prochilodus spp*) ou, nos países de colonização espanhola, sábalo, segundo FAO (2010). Esta organização informa ainda que o Brasil é o maior produtor de tambaqui desde 1995, ano em que este registrou a primeira produção desta espécie e assumiu o posto da Venezuela, e que a superfície de cultivo total de tambaqui no Brasil em 2010 era cerca de 7.650ha, com rendimento estimado em 4 toneladas/ha.

Em contraste com o exposto acima, dados de 2007 do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA (2009) revelam que a captura do tambaqui como mercadoria da prática extrativista caiu significativamente nas últimas décadas devido a ação do homem. Populações de peixes submetidas a forte pressão de redução de tamanho podem sofrer alterações em sua constituição genética que podem comprometer os estoques pesqueiros, o que ressalta a importância do monitoramento genético de tais estoques. Além de representar um risco às populações locais e ao desenvolvimento da piscicultura, não somente do tambaqui mas também de outras espécies endêmicas.

O desafio da piscicultura brasileira nos últimos dez anos foi passar de uma atividade incipiente para uma cadeia estruturada (Streit Jr et al., 2015). A produção de peixes nativos no país é uma das poucas atividades da produção animal que não apresenta programa de melhoramento genético consolidado, este é incipiente, ao contrário do que ocorre, por ex., com a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Segundo Oliveira et al. (2012), os programas de melhoramento genético de peixes são relevantes para atender a

demanda do setor produtivo pesqueiro por animais com maior rendimento e padronização, capazes de promover um maior retorno econômico para a atividade.

Estudos genéticos de grupos de indivíduos em aquicultura, dirigidos a programas de melhoramento genético ou preservação de espécies, tem contribuído para o controle da endogamia, a manutenção da variabilidade genética e identificação de indivíduos geneticamente superiores (no caso de programas de melhoramento genético) e, dessa forma, mostram-se eficazes para se trabalhar de forma apropriada na reprodução de estoques para obtenção de peixes jovens com qualidade genética. Seja em um programa de melhoramento genético ou de bioconservação, um descontrole sobre endogamia pode comprometer de modo imprevisível a qualidade das progênes.

Entre as ferramentas que permitem o monitoramento genético de lotes de indivíduos ou populações estão os marcadores moleculares de DNA, que permitem acessar detalhes do genoma ligados a fenótipos de interesse. Entre os mais empregados estão os microssatélites os quais tem se destacado à medida que demonstram sua eficácia na avaliação da variabilidade genética em projetos conservação e melhoramento genético de peixes (Povh et al., 2008).

O conhecimento acerca da variabilidade genética dentro de estoques de reprodutores é essencial para o planejamento eficaz da piscicultura, seja de cunho comercial ou conservacionista. Dessa forma, realizou-se este estudo com o objetivo de avaliar a variabilidade genética de estoques de reprodutores de tambaqui de um programa de repovoamento e de um programa de melhoramento genético.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cenário da Aquicultura no Brasil

Conforme dados da FAO (2014) o setor de pesca de aquicultura encontra-se em plena expansão e a produção mundial pesqueira e aquícola no ano de 2013 foi estimada em 191.063.087 toneladas (tabela 1), crescimento de 4,6% em relação ao ano anterior. Desse montante, a China foi responsável por 38,6% com 73.671.124 de toneladas e continua sendo o maior produtor mundial, o qual lidera desde 1989 (Brasil, 2012b). De acordo com informações da instituição financeira RABOBANK BRAZIL (2015) a proteína animal que proporciona maior volume de comércio no mundo é a do pescado e, neste cenário, a carne de peixe, em termos de valor, supera a carne de frango, suína e

bovina. O que denota a importância do setor pesqueiro dentro do setor mundial de produção de carnes.

De acordo com informações de Albert & Reis (2011) e Eschmeyer et al. (2014), são cerca de 32.000 espécies de peixes descritas no mundo, destas, em torno de 7.000 espécies estão na regional neotropical, onde está incluída a América do sul. Albert & Reis (2011), relatam também que espécies dulcícolas neotropicais representam cerca de um quinto das espécies de peixes do mundo. Estima-se que aproximadamente 21% de todas as espécies de peixes continentais existentes estejam em território brasileiro (Buckup et al., 2007; Brasil, 2015), ou seja, aproximadamente 6.720 são endêmicas da região.

Tabela 1 – Ranking dos 25 maiores produtores mundiais de pescados no biênio 2012-2013 (Pos), suas respectivas produções em toneladas, participações na produção mundial (% Part. 2013) e evolução no biênio (% Evol.).

Pos	País	2012	2013	%Part 2013	%Evol.
1°	China	70.368.028	73.671.124	38,6	4,7
2°	Indonésia	15.422.366	19.267.434	10,1	24,9
3°	Índia	9.086.109	9.199.291	4,8	1,2
4°	Vietnã	6.025.500	6.098.280	3,2	1,2
5°	Peru	4.925.089	6.002.015	3,1	21,9
6°	EUA	5.557.832	5.863.477	3,0	2,3
7°	Japão	4.823.790	4.769.145	2,5	-1,1
8°	Myanmar	4.467.619	4.717.620	2,5	5,6
9°	Filipinas	4.868.773	4.708.790	2,5	-3,3
10°	Rússia	4.484.450	4.506.749	2,4	0,5
11°	Noruega	3.612.672	3.476.378	1,8	-3,8
12°	Bangladesh	3.261.781	3.410.254	1,8	4,6
13°	Chile	4.084.458	3.334.592	1,7	-18,4
14°	Coréia do Sul	3.189.471	3.139.886	1,6	-1,6
15°	Thailândia	2.991.728	2.900.691	1,5	-3
16°	Malásia	2.116.237	2.023.490	1,1	-4,4
17°	México	1.725.326	1.806.143	0,9	4,7
18°	Egito	1.371.976	1.454.402	0,8	6,0
19°	Islândia	1.384.106	1.390.895	0,7	0,5
20°	Taiwan	1.256.223	1.273.240	0,7	1,4
21°	Marrocos	1.168.140	1.260.728	0,7	7,9
22°	Espanha	1.196.277	1.259.104	0,7	5,3
23°	Brasil	1.323.867	1.239.446	0,6	-6,4
24°	Canadá	1.005.905	1.039.021	0,5	3,3
25°	Nigéria	922.652	1.000.061	0,5	8,4
--	Outros Países	22.069.966	22.430.831	11,7	1,6
Total		182.710.341	191.063.087	100,00%	4,60%

Fonte: Adaptado de DERAL, 2015.

No que diz respeito ao setor pesqueiro e de aquicultura, Lopera-Barrero et al. (2011) destacam que o Brasil apresenta um dos maiores potenciais do mundo por apresentar clima predominantemente tropical e ser um dos maiores produtores de insumos na área em questão. Entre outros argumentos que evidenciam a potencialidade do Brasil no setor pode-se citar: 63% dos 6.110.000km² de área total da bacia amazônica estão divididos entre os estados do Acre, Amapá, Amazonas, Mato Grosso, Pará, Rondônia e Roraima (figura 1), segundo a Agência Nacional de Águas – ANA (2016); o país possui

a maior planície inundável interiorana do planeta – bioma pantanal – com área de 150.355km² (IBGE, 2004); o litoral brasileiro apresenta mais de 8.000 km de extensão (Tessler & Goya, 2005); 12% das reservas de água doce do planeta estão no país (ANA, 2002).

A despeito de todo seu potencial, informações da FAO (2014) mostram que o Brasil ocupou em 2012 a 20ª posição no ranking mundial de produção de pescados (que considera tanto a forma extrativista quanto a de cultivo) com cerca de 1.323.867 toneladas, o equivalente a 0,72% da produção mundial. Enquanto no ano de 2013, conforme a mesma publicação, o país ocupou a 23ª posição com produção estimada em 1.239.446 toneladas, o que corresponde a 0,60% da produção mundial (tabela 1). Dados publicados pelo Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas – SEBRAE (2015), demonstram que, ao contrário das exportações, as importações de pescados pelo Brasil vêm aumentando constantemente e que no ano de 2013 o país importou um volume de 383.391.965 toneladas, o que representa um aumento de 165% no volume de importação em relação a 2003, quando o Brasil importou 144.489.260 toneladas.

Analisando-se a série histórica de 1996 a 2013 da produção brasileira de pescados, do aumento populacional e do consumo por habitante no país observa-se que embora o crescimento populacional tenha sido constante e a produção pesqueira praticamente tenha dobrado entre 1996 e 2011, o consumo de pescado per capita no Brasil apresentou queda entre 1996 e 2006 mas encontra-se numa crescente desde então (tabela 2). Informações de Brasil (2012a) e SEBRAE (2015), admitem que as importações de pescados contribuíram com 323 mil toneladas entre 2005 e 2010, ou 50% do crescimento da demanda brasileira no período e, com isso, a participação das compras externas no consumo nacional passou de 25,9% para 34,2%. Entre 1996 e 2013, conforme os mesmos autores, a produção brasileira de pescados saltou de 693.172.500 toneladas para 1.239.446.000 toneladas, respectivamente.

Informações de Streit Jr. et al. (2015) relatam crescimento, entre 2003 e 2012, na ordem de 16,% na criação de peixes e, entre 2011 e 2012, um crescimento de cerca de 6,9%. Informações publicadas pelo IBAMA em 2009 revelam que a produção de peixes nativos cultivados no país aumentou cerca de 43,25% entre os anos de 2003 e 2007. Neste sentido, em 2008 iniciou-se o primeiro programa de melhoramento de organismos aquáticos nativos no Brasil, sendo o tambaqui uma das espécies escolhidas.

Na atual conjuntura de valorização de artigos oriundos da pesca e aquicultura, segundo o IBGE (2016), o tambaqui é o peixe nativo mais produzido no país e é considerado

uma das espécies mais importantes para a produção aquícola brasileira. Este peixe, de acordo com o mesmo instituto, representa a segunda maior produção aquícola nacional (atrás somente da espécie tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*), sendo criado em 25 dos 26 estados brasileiros (com destaque para as regiões norte, nordeste e centro-oeste).

Tabela 2 – Crescimento populacional da produção de pescados em toneladas e do consumo per capita aparente anual em quilograma por habitante ao ano (Kg/Hab/Ano).

Ano	População	produção	Kg/Hab./Ano
2013	201.032.714	1.239.446.000	10,75
2012	193.946.886	1.323.867.000	10,63
2011	192.376.496	1.431.974.400	10,14
2010	190.732.694	1.264.764.913	9,75
2009	189.990.983	1.240.813.500	8,96
2008	187.885.996	1.156.364.000	8,28
2007	185.738.317	1.072.226.000	7,78
2006	183.554.255	1.050.808.000	7,16
2005	181.341.499	1.009.073.000	6,55
2004	179.113.540	1.015.914.000	6,60
2003	176.876.443	990.272.000	6,46
2002	174.632.960	1.006.869.000	6,76
2001	172.385.826	939.756.000	6,79
2000	170.143.121	843.376.500	6,71
1999	167.909.738	744.597.500	6,15
1998	165.687.517	710.703.500	6,77
1997	163.470.521	732.258.500	7,24
1996	161.247.046	693.172.500	7,62

Fonte: Adaptado de Brasil, 2012b.

Informações do SEBRAE (2015) afirmam que a piscicultura brasileira é representada em 83% por tilápias e pelo grupo dos peixes redondos, onde estão incluídos tambaqui, pacu, pirapitinga (*Piaractus brachypomus*) e seus híbridos (tambacu, tambatinga e patinga). Ainda de acordo com esta instituição, após a tilápia e o tambaqui, as principais espécies da aquicultura brasileira são o camarão, o tambacu e a tambatinga.

Com base nos anos de 2012 e 2013, a produção de tambaqui alcançou a quantia de 111.084,10 toneladas e com a inserção de outros peixes redondos a produção chegou a 228.064,00 toneladas (IBGE, 2016). Atualmente, nota-se uma tendência no aumento do número de criadores de tambaqui no Brasil. Estatísticas da produção desse peixe no país revelam um crescimento na produção na ordem de 123% entre os anos de 2003 e de 2009, com média anual estimada em 14% (Dairiki & Silva, 2011). Já entre os anos de 2013 e 2014

o aumento registrado na produção de tabaquis foi de aproximadamente 36,27% (IBGE, 2016).

2.2 Tabaqui: caracterização, importância ecológica e econômica

De nome científico *Colossoma macropomum*, o tabaqui (chamado de cachama negra ou gamitama nos países de colonização espanhola), faz parte da ordem Characiforme, família Serrasalmidae e sub-família Myleinae (Araújo-Lima & Goulding, 1998; Santos et al., 2006). Trata-se de um peixe autóctone das bacias Amazônica (figura 1) e do Rio Orinoco (figura 2), com frequência encontrado em lagos de várzea e, embora seja amplamente encontrado em estações de piscicultura por toda a América do Sul, sua ocorrência natural abrange os seguintes países: Venezuela, Peru, Colômbia, Guiana, Bolívia e Brasil (Araújo-Lima & Goulding, 1998; Gomes et al., 2003; Jégu, 2003). De acordo com a FAO (2010), devido ao seu potencial o tabaqui foi introduzido também na África, sudeste da Ásia, Costa Rica, Estados Unidos, Guatemala, Honduras e Panamá.



Figura 1 – A Bacia Amazônica, de acordo ANA (2016), está distribuída entre Venezuela (0,7%), Peru (17%), Guiana (0,2%), Equador (2,2%), Colômbia (5,8%), Bolívia (11%) e Brasil (63%). Entre os estados brasileiros a Bacia Amazônica distribui-se por Roraima/RR, Rondônia/RO, Pará/PA, Mato Grosso/MT, Amazonas/AM, Amapá/AP e Acre/AC (Fonte: Própria autoria).



Figura 2 – Bacia do Rio Orinoco, segundo Dominguez Ossa (2017), compreende uma área aproximada de 1.032.524 km² e está distribuída em 388.101 km² (37,6%) do território colombiano e 644.423 km² (62,4%) em território venezuelano (Fonte: adaptado de FAO 2006).

Esta espécie é considerada o segundo maior peixe de escamas da América do Sul, em seu ambiente natural pode chegar a cerca de 100 cm de comprimento e 30 kg de peso (Santos et al., 2013). O tambaqui exhibe corpo alto, romboidal, lábios grossos, dentes molariformes, rastros branquiais longos, sem espinho pré-dorsal e nadadeira adiposa com raios (Santos et al., 2006).

Este peixe é capaz de suportar concentrações baixas de oxigênio dissolvido na água (Araújo-Lima & Gomes, 2010), e variações significativas de pH (Wood et al., 1998). De forma geral, os rios amazônicos e adjacentes onde o tambaqui é encontrado podem ser classificados em 3 categorias: águas brancas, cujo o pH é estimado em 7,5 (Rios Solimões, Madeira, Purus e Amazonas); águas pretas, com pH ao redor de 4 (Rio Negro); e águas claras as quais têm pH intermediário entre águas brancas e pretas (Rios Xingu e Tapajós), conforme dados de Queiroz et al. (2009).

Informações apresentadas por Araújo-Lima & Goulding (1998) e Santos et al. (2006) descrevem o tambaqui como uma espécie migradora de maturidade sexual tardia, quando comparada a outras espécies amazônicas. Quando adulto, o tambaqui tem a região ventral do seu corpo escurecida e a dorsal amarelada e, quando juvenil, este exhibe corpo amarelado, conforme as figuras 3 e 4, respectivamente.

Araújo-Lima & Gomes (2010) relatam que os indivíduos dessa espécie estão maduros sexualmente com idade média de 3 a 4 anos (comumente quando alcançam

aproximadamente 55 cm de comprimento), quando se juntam aos cardumes de adultos que deixam a várzea na vazante e migram contra a corrente nos rios de águas barrentas (ricas em nutrientes). Os mesmos pesquisadores relatam que a migração não é contínua e cardumes da espécie são encontrados em remansos nas proximidades às margens do rio, onde se dá a desova durante o início da enchente quando, posteriormente, as larvas são carregadas pela corrente d'água até a várzea enquanto os indivíduos desovados se dispersam pelo rio e, eventualmente, em direção as florestas inundáveis.



Figura 3 – Exemplar de tambaqui adulto com o ventre enegrecido e dorso amarelado padrão da espécie (Fonte: Prof. Dr. Jayme A. Povh/UFMS).



Figura 4 – Exemplar de tambaqui juvenil sem coloração típica da espécie (Fonte: Prof. Dr. Jayme A. Povh/UFMS).

A respeito da dieta natural das larvas de tambaqui, Araújo-Lima & Gomes (2010) colocam que esta abrange inicialmente componentes do zooplâncton (particularmente cladóceros e copépodos) mudando rapidamente para invertebrados maiores (como quironomídeos) com uma semana de vida ou cerca de 9 mm. Estes pesquisadores afirmam

ainda que juvenis da espécie continuam predando invertebrados e que sua alimentação passa incorporar, gradualmente, pequenas sementes e frutas conforme à disponibilidade destas.

Quando adulto, embora continue fazendo consumo de zooplâncton e outros invertebrados filtrados em seus rastros branquiais, alimenta-se preferencialmente de frutos e sementes durante a enchente e a cheia, fato que torna o tambaqui uma espécie chave no ecossistema amazônico, pois este é um grande dispersor de sementes de árvores e arbustos de várzea nas planícies de inundação desse ecossistema (Goulding, 1980). O tambaqui é um dos poucos peixes amazônicos de grande porte conhecidos que exhibe em conjunto rastros branquiais longos e dentes molariformes fortes, combinação anatômica singular esta que contribui com sua dieta onívora (Araújo-Lima & Goulding, 1998; Santos et al., 2006).

Durante a vazante e a seca, segundo informações de Araújo-Lima & Gomes (2010), há escassez de frutas, sementes e plâncton nos rios e os tambaquis alimentam-se, ocasionalmente, com folhas e animais. Entre as principais sementes ingeridas pelos tambaquis, relatam os mesmos autores, estão as da *Hevea spruceana* (seringa barriguda), *Astrocaryum jauari* (jauri), e *Tabebuia barbata* (capitari).

Vários são os atributos zootécnicos favoráveis à piscicultura apresentados pelo tambaqui e seus híbridos, como por ex.: facilidade de manejo; boa adaptabilidade ao consumo de rações, a criação e reprodução em cativeiro; boa conversão alimentar; crescimento rápido; grande rusticidade (Araújo-Lima & Gomes, 2010; Lopera-Barrero et al., 2011; Streit Jr et al., 2012). No que tange ao mercado consumidor interno e externo, de acordo com FAO (2010), as costelas do tambaqui e seus híbridos têm excelente valor comercial e grande aceitação, e no mercado interno, o tambaqui também é vendido inteiro e eviscerado. O tambaqui proveniente de piscicultura chega a idade reprodutiva entre 4 e 5 anos com tamanho de 55cm, aproximadamente (Araújo-Lima & Gomes, 2010).

Não obstante, dados do IBAMA de 2007 admitem que a captura deste peixe como produto extrativista diminuiu consideravelmente nas últimas décadas devido a destruição de seu ambiente natural – poluição, sobrepesca, construção de hidroelétricas, desmatamento das matas ciliares, atividade pecuária próxima a rios e riachos, entre outros fatores – prejudicando o mercado de pescados e culminando na entrada do tambaqui no Livro Vermelho de Espécies Ameaçadas de Extinção (Rosa & Lima, 2008). Entre as medidas tomadas para mitigar o impacto ambiental causado pelo homem nos rios destaca-se o repovoamento de peixes e a criação de peixes em pisciculturas comerciais.

Em decorrência do crescente interesse pelo tambaqui, embora ainda incipientes em comparação com outros organismos aquáticos, pesquisas em diversas áreas têm sido conduzidas, incluindo análises genéticas (Almeida-Toledo et al., 1987; Toledo-filho et al., 1994; Santos et al., 2009; Ribeiro et al., 2017); investigações fisiológicas (Almeida-Val et al., 1991; Wood et al., 1998; Inoue et al. 2011); estudos de manejo (Affonso et al. 2002; Silva et al., 2007; Gomes & Silva, 2009); efeitos da pesca (Silvano et al., 2009); trabalhos nas áreas de parasitologia e de reprodução (Araújo-Lima & Goulding, 1998; Santos et al., 2013, Galo et al., 2015; Varela Júnior et al., 2015).

2.3 A importância da variabilidade alélica

Segundo Ramalho et al. (2012), a genética estuda dois fenômenos distintos: a hereditariedade e a variação (ou variabilidade). A hereditariedade explica o fato dos descendentes se assemelharem aos seus ascendentes, a variação relaciona-se a todas as diferenças entre os organismos ligados pela descendência, tais diferenças podem estar relacionadas a fatores ambientais ou a constituição genética do indivíduo. Ou seja, a hereditariedade está relacionada com as semelhanças entre os indivíduos parentes enquanto a variação é exatamente o oposto. Ainda conforme tais autores, embora antagônicas sob essa ótica, a hereditariedade e a variação são forças que se completam no âmbito da adaptabilidade, pois, se por um lado a variação permite que existam diferenças sobre as quais atua a seleção natural possibilitando a evolução, por outro lado, o resultado da seleção só será mantido se a variação sobre a qual ela atuou for herdável.

Embora um indivíduo diplóide possa demonstrar apenas duas alternativas de alelos para um mesmo *locus* gênico em cromossomos homólogos, uma população pode apresentar muitos alelos diferentes presentes (para esse mesmo *locus*) nos genótipos/indivíduos que a compõe, isto é, toda variabilidade genética existente para o tal *locus* de tal população (Meffe & Carroll, 1994; Artoni & Shibatta, 2006). Logo, o termo variabilidade genética refere-se à variação de genótipos diferentes presentes numa determinada população ou estoque.

Quando a presença de diferentes formas de um gene (alelos) diminui numa população, as possibilidades de combinações alélicas em potencial também decrescem. A homogeneidade alélica numa população restringe a possibilidade de prováveis combinações entre diferentes alelos segundo o cálculo: 2^n é igual ao número de possíveis combinações alélicas, tal que “2” é igual ao número de cromossomos homólogos e a variável “n” é igual ao número de alelos diferentes presentes no *pool* gênico.

É a variabilidade genética que torna possível a perpetuação das espécies e o progresso das tecnologias de melhoramento genético, além de ser o elo entre programas de melhoramento e de conservação da biodiversidade. A variabilidade genética elevada dentro de uma população tem relação positiva com a adaptabilidade (Ronzelli Júnior, 1996; Pereira, 2012; Artoni & Shibatta, 2006) e a importância das variações num *pool* gênico vai desde as diversas possibilidades adaptativas das espécies selvagens, em resposta às mudanças ambientais, até as diversas possibilidades de criação de genótipos mais produtivos, através de técnicas de melhoramento genético.

No Brasil, é crescente o número de pesquisas direcionadas à análise de perfis genéticos para auxiliar tanto projetos de cunho conservacionista quanto de melhoramento genético envolvendo peixes e, nessa conjuntura, o uso de técnicas de biologia molecular relacionadas a marcadores de DNA tem ganhado cada vez mais importância, proporcionando mais confiabilidade e rapidez na geração de resultados (Artoni & Almeida, 2003; Porto-Foresti et al., 2004; Artoni & Shibatta, 2006; Jacometo et al., 2010; Matoso et al., 2011; Moraes Neto et al., 2011; Povh et al., 2011; Lui et al., 2012; Lopera-Barrero et al., 2015).

Como consequência do impacto ambiental causado pelo homem a variabilidade genética intra e interpopulacional da ictiofauna diminui deixando muitas espécies e populações selvagens sob o risco de extinção além de ameaçar o estoque pesqueiro dessas espécies. A redução do número de indivíduos das populações selvagens favorece o acasalamento entre parentes a medida em que esta vai diminuindo, que por sua vez contribui com a extinção de combinações alélicas importantes e a manifestação de genes letais (ou relacionados a problemas endogâmicos) que comprometem a viabilidade da progênie.

Portanto, o monitoramento da variabilidade genética intra e interpopulacional é de demasiada importância para o planejamento e sucesso tanto de programas de melhoramento genético quanto para projetos de conservação da biodiversidade (Artoni & Shibatta, 2006; Povh et al., 2008; Moraes Neto, 2009).

2.4 Marcadores microssatélites e seu uso em análises em peixes

A biologia molecular, argumentam Torres et al. (2004), tem disponibilizado nos últimos anos diversas ferramentas (como os marcadores moleculares, por ex.) capazes de acessar as variações genéticas existentes nos peixes neotropicais e relacioná-las a fatores ambientais e antrópicos. Povh et al. (2008) corroboram os argumentos de tais autores ao

afirmar que os marcadores moleculares são utensílios relevantes para o estudo de populações e lotes de peixes. Estes colocam ainda que o desenvolvimento de tecnologias moleculares tem permitido análises do genoma e de variações existentes, tanto em regiões codificadoras de produtos gênicos, como naquelas cujas funções continuam desconhecidas.

Marcadores moleculares são quaisquer fenótipos moleculares herdáveis provenientes de um gene expresso ou de um segmento de DNA polimórfico que possa ser usado para diferenciar dois ou mais indivíduos em qualquer estágio de suas vidas (Ferreira & Grattapaglia, 1998; Milach, 1998). Em outras palavras, são regiões polimórficas no DNA ou seus produtos (proteínas ou RNAs) que apresentam alguma variabilidade que permita discriminar indivíduos ou populações (Avisé, 2012; Maitoli & Fernandes, 2012).

O DNA apresenta regiões com cópias únicas e regiões com sequências repetidas altamente variáveis que geram os padrões DNA *fingerprinting* usados, por ex., na área forense (Torres et al., 2004). Entre as sequências repetidas estão as Sequências Simples Repetidas – SSR (do inglês, *Simple Sequences Repeats*) ou microssatélites, um tipo de repetição curta *in Tandem* – STR (do inglês, *Short Tandem Repeats*), geralmente de 2 a 6 pares de base (pb) e que se repetem de 3 a 100 vezes numa região do DNA (Borém & Caixeta, 2009; Crawford & Beaty, 2013).

Borém & Caixeta (2009) estabelecem que as diferentes repetições de microssatélites encontradas são divididas em: (a) repetições perfeitas, quando não tem nenhuma interrupção; (b) repetições imperfeitas, quando são interrompidas por bases não repetidas; e (c) repetições compostas, quando duas ou mais repetições (classes) de microssatélites estão dispostas de modo adjacente. Ainda afirmam que repetições compostas podem ser perfeitas ou imperfeitas.

Os microssatélites estão entre os marcadores mais convenientes para investigações na área da genética de populações, argumentam Ferreira & Grattapaglia (1998), uma vez que esses marcadores mostram-se polialélicos e codominantes – possibilitam diferenciar homozigotos de heterozigotos – e apresentam segregação mendeliana. Os mesmos autores relatam também que, quando um determinado *locus* de microssatélite é analisado para um determinado número de indivíduos, vários alelos podem ser encontrados e a análise de variabilidade genética pode ser verificada através do número alelos observados/esperados entre os indivíduos para o *locus* em questão.

Yue & Orban (2002) colocam que os microssatélites garantem uma análise mais específica nas estruturas populacionais, visto que apresentam elevadas taxas de mutações (*hotspots*) quando comparadas a outras partes do DNA e, conseqüentemente, são excelentes para estudos de fluxo gênico e de acasalamentos, possibilitando testes confiáveis de paternidade e de análise de endogamia. Com a introdução de sistemas de amplificação simultânea – PCR multiplex – que permitem a obtenção de informações de vários *loci* numa única reação, os estudos de microssatélites foram bastante simplificados com a otimização do tempo de estudo, da quantidade de DNA e dos reagentes (Crawford & Beaty, 2013).

Outros pontos positivos dos microssatélites são: alta reprodutibilidade; distribuem-se de forma generalizada no genoma eucariota e por não expressarem proteínas são considerados seletivamente neutros; permitem a detecção de um elevado grau de polimorfismo, colocando-se como marcadores muito informativos (Tautz & Renz, 1984; Milach, 1998; Faleiro, 2007; Crawford & Beaty, 2013).

De acordo com Sousa et al. (2007) e Povh et al. (2008), os microssatélites estão entre os marcadores baseados em DNA mais usados em estudos envolvendo o grupo dos peixes e vários são os trabalhos que podem ser citados com esse marcador. Lopera-Barrero et al. (2010) avaliaram o perfil genético de populações naturais e estoques de um programa de repovoamento de pacu utilizando microssatélites. Pohv et al. (2011) avaliaram através desse marcador a diversidade genética de pacus usados em duas estações de piscicultura utilizados em programas de repovoamento do rio Paranapanema. Streit Jr et al. (2012) recomendam o uso de técnicas de biologia molecular, entre elas os microssatélites, para que seja feito o monitoramento genético com a finalidade de otimizar os índices reprodutivos do tambaqui criado em pisciculturas. Lopera-Barrero et al. (2014) fizeram uso de microssatélites para avaliar a diversidade genética e a paternidade de *Brycon orbignyianus* obtidas pelos sistemas reprodutivos por extrusão e semi natural. Varela et al. (2015) usaram microssatélites para estimar o parentesco genético em reprodutores de tambaqui de uma piscicultura comercial, sem as informações de procedência de pedigree.

Entretanto, não há estudos no Brasil fazendo uso de marcadores moleculares para se monitorar o comportamento da variabilidade genética através de gerações de peixes nativos melhorados, tendo em vista o pioneirismo do melhoramento genético nesse contexto.

3. REFERÊNCIAS

AFFONSO, E. G.; POLEZ, V. L. P.; CORRÊA, C. F.; MAZON, A. F.; ARAÚJO, M. R. R.; MORAES, G.; RANTIN, F. T. (2002). Blood parameters and metabolites in the teleost fish *Colossoma macropomum* exposed to sulfide or hypoxia. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.133, n.3, p.375-382, 2002.

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. **A Evolução da Gestão dos Recursos Hídricos no Brasil**. Brasília: ANA, 2002.

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. **Região Hidrográfica Amazônica: A maior do mundo em disponibilidade de água**. Disponível em: <<http://www2.ana.gov.br/Paginas/portais/bacias/amazonica.aspx>> Acesso em: 07 Mar. 2016.

ALBERT, J. E.; REIS, R. E. Introduction to Neotropical freshwaters. In: Albert, J. E. & R. E. Reis (Eds.). **Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes**. Berkeley, University of California Press, p.3-19, 2011.

ALMEIDA-TOLEDO, L.F.; FORESTI, F.; TOLEDO-FILHO, S.A.; BERNARDINO, G.; FERRARI, V.A., ALCANTARA, R.C.F. Cytogenetic studies in *Colossoma mitrei*, *C. macropomum* and their interspecific hybrid. **Selection, Hybridization and Genetic Engineering in Aquaculture**, v.1, p.189-195, 1987.

ALMEIDA-VAL, V. M. F.; SCHAWNTES, M.L.B.; VAL, A. L. LDH isozymes in Amazon fishes – II. Temperature and pH effects on LDH kinetics properties from *Mylossoma duriventris* and *Colossoma macropomum* (Serrasalminidae). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.98, n.1, p.79-86, 1991.

ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; GOULDING, M. **Os frutos do Tambaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia**. Tefé: Sociedade Civil Mamirauá/CNPq/Rainforest Alliance, Brasil. 186p., 1998.

ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; GOMES, L. DE C. Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: Baldisserotto, B.; Gomes, L.C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. rev. ampl. Santa Maria: Editora UFSM, p.175-193, 2010.

ARTONI, R. F.; ALMEIDA, M.C. Genética de peixes neotropicais. I. Aspectos da conservação genética dos peixes do Parque Estadual de Vila Velha, Paraná, Brasil. **Publicatio UEPG**. Ciências Biológicas e da Saúde, Ponta Grossa, v.9, n.2, p.7-15, 2003.

ARTONI, R. F.; SHIBATTA, O. A. **Peixes do Parque Estadual de Vila Velha: aspectos da história natural, da biologia evolutiva e da conservação**. 1ª ed. Ponta Grossa: Editora UEPG, v.1, 155p., 2006.

AVISE, J.C. **Molecular Markers, Natural History and Evolution**. Springer Science & Business Media, 2012.

BORÉM, A.; CAIXETA, E.T. **Marcadores moleculares**. 2ª ed. Visconde do Rio Branco: Suprema Grafica e Editora, v.1, 532p., 2009.

BRASIL, 2012a. **Valor Econômico Destaca Crescimento do Mercado de Pescados**. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/ultimas-noticias/1322-valor-economico-destaca-crescimento-do-mercado-de-pescado-no-brasil>> Acesso em: 10 Mar. 2016.

BRASIL, 2012b. **Ministério da Pesca e Aquicultura. Boletim Estatístico da pesca e Aquicultura, Brasília**. 128p. Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/files/docs/Informacoes_e_Estatisticas/Boletim%20Estat%20C3%ADstico%20MPA%202010.pdf> Acesso em: 10 Mar. 2016

BRASIL, 2015. **Meio Ambiente: Pesquisadores avaliam biodiversidade de peixes amazônicos**. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/meio-ambiente/2015/03/pesquisadores-avaliam-biodiversidade-de-peixes-ao-longo-do-rio-jutai>> Acesso em: 10 Mar. 2016

BUCKUP, P.A.; MENEZES, N.A.; GHAZZI, M.S. **Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil**. Museu Nacional, Rio de Janeiro, v.1, 195p., 2007.

CRAWFORD, M.H.; BEATY, K.G. DNA fingerprinting in anthropological genetics: past, present, future. **Investigative Genetics**, v.4, n.23, 2013.

DAIRIKI, J.K.; SILVA, T.B.A. Revisão de Literatura: Exigências nutricionais do tambaqui-compilação de trabalhos, formulação de ração adequada e desafios futuros. **Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental**, AM, 2011.

DEPARTAMENTO DE ECONOMIA RURAL DO ESTADO DO PARANÁ – DERAL. **Piscicultura: Análise da Conjuntura**. Responsável:

Edmar Wardensk Gervásio . (2015). Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/2016/pesca_e_aquicultura_2016.pdf> Acesso em: 12 abril 2016.

DOMÍNGUEZ OSSA, C.A. **La Gran Cuenca Del Orinoco**. Disponível em: <<http://www.banrepcultural.org/blaavirtual/faunayflora/orinoco/orinoco3a.htm>> Acesso em: 20 Abr. 2017.

ESCHMEYER, W.N. & J. D. FONG. (2014). **Species by Family/Subfamily. Catalog of fishes electronic version**. Disponível em: <<http://research.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>> Acesso em: 02 Mar. 2016.

FALEIRO, F. G. **Marcadores genético-moleculares aplicados aos programas de conservação e uso de recursos genéticos**. 1. ed. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 102p., 2007.

FERREIRA, M.E.; D. GRATTAPAGLIA. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. EMBRAPA, Brasília. 220p., 1998.

GALO, J. M., RIBEIRO, R. P. B., STREIT, D. P., ALBUQUERQUE, D. M., FORNARI, D. C., ROMA, C. F. C., AND GUERREIRO, L. R. J. Oocyte quality of Tambaqui (*Colossoma macropomum*) during the reproductive season. **Brazilian Journal of Biology**, v.75, n.2, p.279-284, 2015.

GOULDING, M. **Fishes and the Forest**. University of California Press, 1980.

GOMES, L.C.; LIMA, C.A.R.A.; ROUBACH, R.; URBINATI, E.C. Avaliação dos efeitos da adição de sal e da densidade no transporte de Tambaqui. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, p.283-290, 2003.

GOMES, L.C.; SILVA, C.R. Impact of Pound management on tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier), production during growth-out phase. **Aquaculture Research**, v.40, p.825-832, 2009.

INOUE, L.A.K.A.; BOIJINK, C.L; RIBEIRO, P.T; SILVA, A.M.D., AFFONSO, E.G. Avaliação de respostas metabólicas do tambaqui exposto ao eugenol em banhos anestésicos. **Acta Amazonica**, v.41, n.2, p.327-332, 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Estatística da pesca 2007 Brasil: Grandes regiões e unidades da federação**. IBAMA, Brasília, DF. 175p., 2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. (2004). **Mapa de biomas e vegetação**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/21052004biomashtml.shtm>> Acesso em: 07 Mar. 2016.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. (2016). **Produção total de tambaqui (*Colossoma macropomum*)**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=3940&z=t&o=21>> Acesso em: 10 Mar. 2016.

JACOMETO, C.B.; LOPERA-BARRERO, N. M.; RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, M. P.; GOMES, P. C.; POVH, J. A.; STREIT JR., D. P.; VARGAS, L.; RESENDE, E. K.; RIBEIRO, R.P. Variabilidade genética de tambaqui (Teleostei - Characidae) de diferentes regiões do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, p.481-487, 2010.

JÉGU, M. Subfamily Serrasalminae (Pacus and piranhas). In: Reis, R.E; Kullander, S.O.; Ferraris Jr, C.J. **Check list of the freshwater fishes of South and Central America**. Editora da Pontifícia Universidade Católica, Porto Alegre, Brasil, p.182-196, 2003.

LOPERA-BARRERO, N.M.; RIBEIRO, R.P.; POVH, J.A.; SIROL, R.N.; MANGOLIN, C.A. Avaliação genética de populações naturais e de estoques de um programa de repovoamento de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) utilizando marcadores microssatélites. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.4, p.954-963, 2010.

LOPERA-BARRERO, N.M.; RIBEIRO, R.P.; POVH, J.A.; MENDEZ, L.V.; POVEDA-PARRA, A.R. **Produção de organismos aquáticos: uma visão geral no Brasil e no mundo**. Guaíba: Agrolivros, 320p., 2011.

LOPERA-BARRERO, N. M.; ALVAREZ, C.A.R.; RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, M. P.; POVH, J.A.; VARGAS, L.; STREIT JR, D.P.; SIROL, R.N.; RIBEIRO, R. P. Genetic diversity and paternity of *Brycon orbignyanus* offspring obtained for diferente reproductive systems. **Semina: Ciências Agrárias**, v.35, n.1, p.541-554, 2014.

LOPERA-BARRERO, N. M.; RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, M. P.; RESENDE, E. K.; SOUZA, F. P.; BRACCINI, G.; FURLAN, P. J.; POVH, J. A.; POVEDA-PARRA, A. R.; FORNARI, D. C.; RIBEIRO, R. P. Variabilidade genética de tambaqui (teleostei ? characidae) da região nordeste do brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v.36, n.6, 2015.

LUI, R. L.; BLANCO, D.R.; MARGARIDO, V. P.; KUHN, G.C.E.S.; GOMES, V. N.; PRIOLI, A. J.; MOREIRA FILHO, O. A recent transposition of river involving Paraná and São Francisco basins: Effects on the genetic variability and structure of the neotropical fish (Siluriformes, Auchenipteridae). **Mitochondrial DNA Journal**, v.23, p.388-395, 2012.

MATIOLI, S.R.; FERNANDES, F.M.C. **Biologia Molecular e Evolução**. 2ª ed., 2012.

MATOSO, D. A.; SILVA, M.; CORTINHAS, M. C. S.; CESTARI, M.M.; ALMEIDA, M. C.; VICARI, M. R.; ARTONI, R. F. Two genetic stocks of *Steindachneridion melanodermatum* living in sympatry in nature and genetic variability of wild parents and F1 generation. **Genetics and Molecular Research**, v.10, p.2606-2612, 2011.

MEFFE, G.K.; CARROLL, R. Genetics: Conservation of diversity within species. In: **Principles of conservation biology**, p.143-178, 1994.

MILACH, S. **Principais tipos de marcadores moleculares e suas características. Marcadores moleculares em plantas**, p.17-28, 1998.

MORAES NETO, A. Investigação da variabilidade genética em bagres de interesse comercial e para a conservação. **Dissertação** – Programa de Pós-Graduação em Biologia Evolutiva, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa (PR), Brasil. 68p., 2009.

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

OLIVEIRA, C. A. L.; RIBEIRO, R. P. ; Streit Jr, D. ; POVH, J. A. ; Resende, E. K. . Melhoramento genético de peixes: uma realidade para piscicultura brasileira. **Panorama da Aquicultura**, v. 130, p. 38-47, 2012.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E AGRICULTURA – FAO. (2006). Country Pasture/Forage Resource Profiles: **BOLIVARIAN REPUBLIC OF VENEZUELA**. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/agp/agpc/doc/counprof/venezuela/venezuela.htm>> Acesso em: 07 Mar. 2016.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E AGRICULTURA – FAO. (2010). **Peces Nativos de Agua Dulce de América del Sur de Interés para la Acuicultura**. Serie Acuicultura en Latinoamérica. N° 1. p 200.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E AGRICULTURA – FAO. **State of World Fisheries and Aquaculture**. Roma: FAO Fisheries Department. 153p., 2014.

PEREIRA, J. C. C. **Melhoramento Genético Aplicado à Produção Animal**. 6. ed. Belo Horizonte: FEPMVZ editora, v.1, 758p., 2012.

PORTO-FORESTI, F.; OLIVEIRA, C.; GOMES, E.A.; TABATA, Y.A.; RIGOLINO, M.G.; FORESTI, F. A lethal effect associated with polymorphism of the NOR-bearing chromosomes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, p.51-54, 2004.

POVH, J. A.; LOPERA BARRERO, N. M.; RIBEIRO, R. P.; LUPCHINSKI JR, E.; GOMES, P. C.; LOPES, T. S. Monitoreo genético de programas de repoblamiento de peces mediante marcadores moleculares. **Ciencia e Investigación Agraria**, v.35, n.1, p.25-35, 2008.

POVH, J. A. ; RIBEIRO, R.P.; LOPERA-BARRERO, N. M.; JACOMETO, C.B.; VARGAS, L.; GOMES, P.C.; LOPES, T.S. Microsatellite analysis of pacu broodstocks used in the stocking program of Paranapanema River, Brazil. **Scientia Agricola**, v.68, p.308-313, 2011.

QUEIROZ, M. M. A.; HORBE, A. M. C.; SEYLER, P.; MOURA, C. A. V. Hidroquímica do Rio Solimões na região entre Manacapuru e Alvarães – Amazonas – Brasil. **Acta Amazonica**, v.39, n.4, p.943-952, 2009.

RABOBANK BRAZIL. Disponível em: <<http://www.rabobank.com.br/pt/content/index.html>> Acesso em: 12 Abr. 2015.

RAMALHO, M. A. P. ; SANTOS, J. B. dos ; PINTO, C. A. B. P. ; SOUZA, E. A. de ; GONÇALVES, F. M. A. ; SOUZA, J. C. de. **Genética Na Agropecuária**. 5. ed. Lavras: Editora UFLA, 565p., 2012.

RIBEIRO, L.B.; MORAES-NETO, A.; ARTONI, R.F.; MATOSO, D.A.; FELDBERG, E. **Chromosomal Mapping of Repetitive Sequences (Rex3, Rex6, and rDNA Genes) in Hybrids Between *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) and *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887)**. Zebrafish, p.01., 2017.

RONZELLI JÚNIOR, P. **Melhoramento Genético de Plantas**. Curitiba: P. Ronzelli Jr., 219p., 1996.

ROSA, S.R.; LIMA; F.C.T. Os peixes brasileiros ameaçados de extinção. In: MACHADO, A.B.; DRUMOND, G.M.; PAGLIA, A.P. (Orgs). **Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção**. Brasília, D.F.: Ministério do Meio Ambiente, p.9-275, 2008.

SANTOS. G.; FERREIRA. E.; ZUANON. J. **Peixes comerciais de Manaus**. Edição Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA. Manaus/AM, ProVárzea, 54p., 2006.

SANTOS, M.C.F.; HRBEK, T.; FARIAS, I.P. Microsatellite markers for the tambaqui (Serrasalminae, Characiformes), na economically importante keystone species of the Amazon River floodplain. **Molecular Ecology Resources**, v.9, p.874-876, 2009.

SANTOS, E. F.; TAVARES-DIAS, M.; PINHEIRO, D. A.; RIGÔR NEVES, L.; MARINHO; R. G. B.; REIS DIAS, M. K. Parasitic fauna of tambaqui *Colossoma macropomum* (Characidae) farmed in cages in the State of Amapá, eastern Amazon. **Acta Amazonica**, v.43, n.1, 2013.

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS – SEBRAE. (2015). **Aquicultura no Brasil, Série de Estudos Mercadológicos**. 76 p. Disponível em: <[http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/4b14e85d5844cc99cb32040a4980779f/\\$File/5403.pdf](http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/4b14e85d5844cc99cb32040a4980779f/$File/5403.pdf)> Acesso em: 10 Mar. 2016.

SILVA, C.R.; GOMES, L.C.; BRANDÃO, F.R. Effect of feeding rate and frequency on tambaqui (*Colossoma macropomum*) growth, production and feeding costs during the first growth phase in cages. **Aquaculture**, v.264, n.1, p.135-139, 2007.

SILVANO, R.A.M.; RAMIRES, M.; ZUANON, J. Effects of fisheries management on fish communities in the floodplain lakes of a Brazilian Amazonian Reserve. **Ecology of Freshwater Fish**, v.8, p.156-166, 2009.

SOUSA, A.B. de; CARVALHO, D.C. de; MELO, D.C. de; SEERIG, A.S.; OLIVEIRA, A.A. de; RIBEIRO, L.P.; TEIXEIRA, E.A.; CREPALD, D.V.; FARIA, P.M.C. A utilização de baixo número de matrizes em piscicultura: perda de recursos genéticos para programas de repovoamento. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v30, p.100-104, 2007.

STREIT JR, D.P.; POVH, J.A.; FORNARI, D.C.; GALO, J.M.; GUERREIRO, L.R.J.; OLIVEIRA, D. de; DIGMAYER, M.; GODOY, L.C. de. **Recomendações técnicas para a reprodução do tambaqui**. Teresina: Embrapa Meio Norte, 30p., 2012.

STREIT JR, D.P.; FORNARI, D.C.; POVH, J.A.; GODOY, F.M.; OLIVEIRA, C.A.L.; KAWAKAMI, E.; RIBEIRO, R.P. Germplasm banking and its role in the development of the fish genetic improvement programme in Brazil. **CryoLetters**, v.36, n.6, p.399-404, 2015.

TAUTZ, D.; RENZ, M. Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. **Nucleic Acids**, v.12, n.10, p.4126-4138, 1984.

TESSLER, M.G.; GOYA, S.C. (2005). Conditioning factors of coastal processes in the Brazilian Coastal Area. **Revista do Departamento de Geografia**, n. 17,p. 11-23.

TOLEDO-FILHO, S.A.; ALMEIDA-TOLEDO, L.F.; FORESTI, F.; BERNARDINO, G.; CALCAGNOTTO, D. Monitoramento de conservação em projeto de hibridação entre pacu e tambaqui. **Cadernos de ictiogenética**, v.2, p.1-25, 1994.

TORRES, R.A.; MATOSO, D.A.; ARTONI, R.F. Genética de peixes neotropicais. II. Biologia molecular de peixes neotropicais. **Publicatio UEPG**. Ciências Biológicas e da Saúde, Ponta Grossa, v.10, n.2, p.27-37, 2004.

VARELA JUNIOR, A. S.; GOULARTE, K. L.; ALVES, J. P.; PEREIRA, F. A.; SILVA, E. F.; CARDOSO, T. F.; JARDIM, R. D.; STREIT JR, D. P.; CORTINI, C. D. Methods of criopreservation of tambaqui semem, *Colossoma macropomum*. **Animal Reproduction Science**, v.157, p.71-77, 2015.

WOOD, C. M.; WILSON; R. W.; GONZALEZ, R. J.; PATRICK, M. L.; BERGMAN, H. L.; NARAHARA, A. VAL, A. L. Responses of a Amazoniam Teleost, The Tambaqui (*Colossoma macropomum*), to Low pH in Extremely Soft Water. **Physiological Zoology**, v.71, n.6, p.658-670, 1998.

YUE, G.H.; ORBAN, L. Microsatellites from genes show polymorphism in two related *Oreochromis* species. **Molecular Ecology Notes**, v.2, p.99-100, 2002.

4. DIVERSIDADE GENÉTICA DE ESTOQUES DE REPRODUTORES DE TAMBAQUI UTILIZADOS EM PROGRAMAS DE REPOVOAMENTO

4.1 Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar a variabilidade genética de dois estoques de reprodutores de tambaqui utilizados em programas de repovoamento. Foram obtidas ampliações em quatro *loci* microssatélite, os quais produziram 14 alelos no estoque de reprodutores A e 10 alelos no estoque de reprodutores B. No estoque de reprodutores A foi observado alelos de baixa frequência nos *loci* Cm1A11, Cm1C8, Cm1F4 e Cm1H8. O estoque de reprodutores B não apresentou *locus* com baixa frequência alélica. Os *loci* Cm1A11, Cm1C8 e Cm1H8 exibiram significativo déficit de heterozigotos em ambos os estoques de reprodutores, indicando alteração no equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Termos para indexação: *Colossoma macropomum*, conservação genética, marcadores moleculares, microssatélite.

Genetic diversity of tambaqui from the broodstock of a stock enhancement program

4.2 Abstract – The objective of this work was to assess the genetic variability of tambaqui from the broodstocks used in stock enhancement program. Four microsatellite *loci* amplifications were obtained and they produced 14 alleles in the the broodstock A and 10 alleles in the broodstock B. In the broodstock A was observed low allelic frequency at *loci* Cm1A11, Cm1C8, Cm1F4 and Cm1H8. The broodstock B had no low allelic frequency *locus*. Cm1A11, Cm1C8 and Cm1H8 *loci* exhibited significant heterozygotes deficit in both broodstocks suggesting Hardy-Weinberg equilibrium change.

Index terms: *Colossoma macropomum*, genetics conservation, molecular markers, microsattelite.

4.3 Introdução

O Brasil apresenta a maior diversidade de peixes continentais e disponibilidade de água doce do mundo, apresenta clima favorável para aquicultura e se caracteriza como grande produtor de insumos do setor aquícola, características que revelam o grande potencial aquícola do país (Lopera-Barrero et al., 2011). Todavia, a principal fonte de pescado no Brasil é o extrativismo, o que tem levado a uma preocupante redução dos estoques naturais.

O extrativismo diminuiu significativamente a população natural do tambaqui (*Colossoma macropomum*) nas últimas décadas devido às ações antrópicas (IBAMA, 2007). Diante do exposto, medidas para mitigar este impacto ambiental têm sido adotadas, tais como o repovoamento de peixes e aumento da produção piscícola. Sob tais circunstâncias, são fundamentais estudos genéticos em peixes, e os marcadores moleculares têm se mostrado úteis para este propósito (Jacominto et al., 2010; Rodriguez-Rodriguez et al., 2010; Povh et al., 2011; Lopera-Barrero et al., 2015). Porém, faltam informações de avaliações genéticas de programas de repovoamento de tambaqui.

4.4 Material e Métodos

Foram coletadas 65 amostras de nadadeira caudal de dois estoques de reprodutores de tambaqui de uma piscicultura comercial do município de Pimenta Bueno, Rondônia, Região Norte do Brasil (11°41'46 0,95''S e 61°13'47.50'' W). Foram colhidas 33 amostras do estoque de reprodutores A e 32 amostras do estoque de reprodutores B.

O DNA foi extraído de amostras da nadadeira caudal, conforme o protocolo descrito por Lopera-Barrero et al. (2008). Foram amplificados os *loci* Cm1A11 (EU685307), Cm1C8 (EU685308), Cm1F4 (EU685311) e Cm1H8 (EU685315) utilizando os primers e a metodologia descritos por Santos et al. (2009). As reações foram amplificadas no termociclador Eppendorf Mastercycler Gradient.

As amostras amplificadas foram submetidas à eletroforese em gel de poliacrilamida 10%, desnaturante (6 M de uréia), por 12 horas a 15 mA. Para a visualização dos alelos foi utilizado o protocolo de Bassam et al. (1991). O tamanho dos fragmentos foi estimado por comparação com o padrão ladder 10, 50 e 100 pb (Invitrogen).

A heterozigosidade observada (H_o), a heterozigosidade esperada (H_e), o número de migrantes (Nm), o coeficiente de endogamia (F_{IS}) e o teste para equilíbrio de Hardy-Weinberg (PHW) foram analisados utilizando o programa estatístico GENEPOP 1.2. Os valores de diferenciação genética (F_{ST}) foram calculados pelo programa FSTAT 2.9.3. A distância e a similaridade genética foram calculados pelo programa POPGENE 1.31.

4.5 Resultados e Discussão

O estoque de reprodutores A e B apresentaram 14 e 10 alelos, respectivamente. O estoque de reprodutores A exibiu cinco alelos para o *locus* Cm1A11 (230, 255, 260, 270 e 276 pb), três alelos para Cm1C8 (239, 260 e 273 pb), dois alelos para Cm1F4 (211 e 245 pb) e quatro alelos para Cm1H8 (275, 290, 320 e 331 pb). Neste estoque de reprodutores, dois alelos exclusivos foram encontrados para os *loci* Cm1A11 (alelos 270 e 276 pb) e Cm1H8 (alelos 275 e 331 pb). No estoque de reprodutores B foram observados os mesmos alelos do primeiro estoque, exceto os alelos 270 e 276 pb no *locus* Cm1A11 e 275 e 331 pb no *locus* Cm1H8, o que indica menor variabilidade genética neste estoque.

O número de alelos observados nos dois estoques de reprodutores foi inferior ao obtido por Santos et al. (2009), os quais observaram de 13 a 21 alelos para os mesmos *loci* em uma amostragem de 25 indivíduos de uma população selvagem de tambaqui. Estes dados indicam que os dois estoques de reprodutores avaliados não apresentam grande variabilidade genética.

No estoque de reprodutores A, observa-se baixa frequência (frequência < 0,1) de alelos nos *loci* Cm1A11 (alelo 270 pb = 0,0667 e alelo 276 pb = 0,0667), Cm1C8 (alelo

273 pb = 0,0645), Cm1F4 (alelo 211 pb = 0,0962), Cm1H8 (alelo 331 pb = 0,0962). Por outro lado, o estoque de reprodutores B não apresentou alelos nesta condição. Além disso, apenas um dos alelos ausentes no estoque de reprodutores B não estava em baixa frequência no estoque de reprodutores A (alelo 275 pb do *locus* Cm1H8 = 0,1923).

Alelos podem ser eliminados ao longo das gerações devido a fatores como seleção (intencional ou não intencional) e número efetivo de reprodutores (Povh et al., 2011). Assim, os alelos de baixa frequência no estoque de reprodutores A podem ser eliminados nas próximas gerações dependendo do manejo reprodutivo adotado. Possivelmente, tais fatores estão atuando no dois estoques de reprodutores, tendo em vista que três dos quatro alelos exclusivos do estoque de reprodutores A são de baixa frequência.

A ausência de quatro alelos no estoque de reprodutores B pode estar relacionada ao efeito fundador na formação deste. Ainda, considerando-se que o estoque de reprodutores B não expôs nenhum alelo em baixa frequência, pode-se sugerir a hipótese de um equilíbrio na variabilidade genética dos dois estoques de reprodutores, levando-se em conta o número e a frequência dos alelos.

Os *loci* Cm1A11, Cm1C8 e Cm1H8 exibiram deficiência de heterozigotos significativa (PHW) em ambos os estoques de reprodutores (Tabela 03). Da mesma forma, a média dos *loci* em questão demonstraram o mesmo comportamento. O excesso de heterozigotos observados no *locus* Cm1F4 não foi significativo, indicando que para tal *locus* ambos os estoques estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg. A análise dos demais *loci* e a média dos *loci*, contudo, revelam que ambos os estoques de reprodutores não apresentam este equilíbrio, uma vez que a média heterozigosidade observada (H_o) foi menor do que a heterozigosidade observada (H_E). Todavia, os maiores valores de H_o indicam uma maior variabilidade genética no estoque de reprodutores A.

Tabela 3 – Heterozigose observada (HO), Heterozigose esperada (HE), Coeficiente de endogamia (FIS) e teste do equilíbrio de Hardy-Weinberg (PHW) dos loci microssatélite obtidos para dois estoques de reprodutores de tambaqui.

<i>Locus</i>	<i>H_O</i>	<i>H_E</i>	<i>F_{IS}</i>	PHW
ESTOQUE A				
Cm1A11	0,5667	0,7452	0,2267	**
Cm1C8	0,2903	0,4638	0,3637	**
Cm1F4	0,1923	0,1772	-0,1064	ns
Cm1H8	0,3846	0,6916	0,4329	**
Média	0,3585	0,5194	0,2292	**
ESTOQUE B				
Cm1A11	0,4	0,5316	0,2349	**
Cm1C8	0,2188	0,4856	0,5424	**
Cm1F4	0,3226	0,275	-0,1923	ns
Cm1H8	0,0741	0,3913	0,8071	**
Média	0,2539	0,4209	0,348	**

A alteração do equilíbrio de Hardy-Weinberg com déficit de heterozigotos sugere que pode estar ocorrendo endogamia nos dois estoques de reprodutores, sendo esta maior no estoque de reprodutores B. Dependendo do manejo reprodutivo adotado, tal situação pode ocorrer nas pisciculturas, principalmente, em decorrência de acasalamento entre peixes aparentados, pequeno N_e e efeito fundador (Rodriguez-Rodriguez et al., 2010; Lopera-Barrero et al., 2015).

A divergência genética foi de 0,1120 entre os estoques, enquanto a similaridade genética foi de 0,894. Estes resultados revelam que os estoques de reprodutores estão geneticamente muito relacionados. Tais resultados são corroborados pelo valor de F_{ST} igual a 0,05, que indicam baixa diferenciação genética, segundo Wright (1978). O Nm

igual a 3,93 indica fluxo gênico entre os dois estoques de reprodutores, o que corrobora esta afirmação.

Quando se trata do tambaqui a reprodução induzida entre indivíduos aparentados não é incomum, tendo em vista a alta prolificidade deste peixe, conforme observado por Galo et al. (2015). O aumento da endogamia pode conduzir a eliminação de combinações alélicas importantes como, por exemplo, as relacionadas à resistência a patógenos e adaptabilidade. Além disso, a endogamia pode favorecer a manifestação de genes letais ou relacionados a deformidades ou outros problemas genéticos que comprometem a viabilidade da progênie.

Em relação ao efeito fundador, este pode ser benéfico ou maléfico durante a formação de estoques de reprodutores. Quando benéfico, o efeito fundador pode definir uma boa constituição genética para um estoque de reprodutores, que pode proporcionar uma boa variabilidade genética e um baixo nível de endogamia nas gerações seguintes se o manejo reprodutivo for adequado. Ao contrário, se o efeito fundador definir uma má constituição genética inicial para um estoque de reprodutores os problemas relacionados a baixa variabilidade genética e endogamia elevada tendem a aparecer nas gerações seguintes.

4.6 Conclusão

A análise dos resultados obtidos indica que ambos os estoques de reprodutores não apresentam alta variabilidade genética. Além disso, os dois estoques de reprodutores são geneticamente muito semelhantes. A análise genética prévia dos reprodutores, marcação dos reprodutores, utilização de um grande N_e e cruzamento entre indivíduos geneticamente mais divergentes, são aconselháveis para maximizar a variabilidade genética e minimizar a endogamia na próxima geração. A introdução de novo material

genético, adicionando-se novos genótipos aos estoques de reprodutores, também poderia ser utilizada para tal propósito.

4.7 Agradecimentos

À Fundação de Apoio ao Desenvolvimento de Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT) pela bolsa de doutorado.

4.8 Referências

BASSAM, B.J.; CAETANO-ANOLLÉS, G.; GRESSHOFF, P.M. Silver staining of DNA in polyacrylamide gels. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.42, p.181-188, 1991.

GALO, J.M.; RIBEIRO, R.P.B.; STREIT JUNIOR, D.P.; ALBUQUERQUE, D.M.; FORNARI, D.C.; ROMA, C.F.C.; GUERREIRO, L.R.J. Oocyte quality of Tambaqui (*Colossoma macropomum*) during the reproductive season. **Brazilian Journal of Biology**, v.75, p.279-284, 2015.

IBAMA - INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Estatística Pesqueira do Amazonas e Pará – 2004**. IBAMA/ProVárzea, 2007. 84p.

JACOMETO, C.B.; LOPERA BARRERO, N.M.; RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, M.D.P.; GOMES, P.C.; POVH, J.A.; STREIT JUNIOR, D.P.; VARGAS, L.; RESENTE, E.K.; RIBEIRO, R.P. Variabilidade genética em tambaquis (Teleostei: Characidae) de diferentes regiões do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, p.481-487, 2010.

LOPERA-BARRERO, N.M.; POVH, J.A.; RIBEIRO, R.P.; GOMES, P.C.; JACOMETO, C.B.; LOPES, T.S. Comparación de protocolos de extracción de ADN con muestras de aleta y larva de peces: extracción modificada con sal (NaCl). **Ciencia e Investigación Agraria**, v.35, p.77-86, 2008.

LOPERA-BARRERO, N.M.; RIBEIRO, R.P.; POVH, J.A.; MENDEZ, L.V.; POVEDA-PARRA, A.R. **Produção de organismos aquáticos: uma visão geral no Brasil e no mundo**. Guaíba: Agrolivros, 2011. 320p.

LOPERA-BARRERO, N.M.; RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, M.D.P.; FORNARI, D.C.; RESENDE, E.K.; POVEDA-PARRA, A.R.; BRACCINI, G.L.; SOUZA, F.P.; FURLAN, P.J.; POVH, J.A.; RIBEIRO, R.P. Genetic variability of broodstocks of Tambaqui (Teleostei: Characidae) from the northeast region of Brazil. **Semina. Ciências Agrárias**, v.36, p. 4013-4022, 2015.

POVH, J.A.; RIBEIRO, R.P.; LOPERA-BARRERO, N.M.; JACOMETO, C.B.; VARGAS, L.; GOMES, P.C.; LOPES, T.S. Microsatellite analysis of pacu broodstocks used in the stocking program of Paranapanema River, Brazil. **Scientia Agricola**, v.68, p.308-313, 2011.

RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, M.D.P.; LOPERA-BARRERO, N.M.; RIBEIRO, R.P.; POVH, J.A.; VARGAS, L.; SIROL, R.N.; JACOMETO, C.B. Diversidad genética de piracanjuba usada en programas de repoblación con marcadores microssatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, p.56-63, 2010.

SANTOS, M.C.F.; HRBEK, T.; FARIAS, I.P. Microsatellite markers for the tambaqui (Serrasalminidae, Characiformes), na economically importante keystone species of the Amazon River floodplain. **Molecular Ecology Resources**, v.9, p.874-876, 2009.

WRIGHT, S. **Evolution and Genetics of Populations**. Chicago: University of Chicago Press, 1978. 511p.

5. AVALIAÇÃO GENÉTICA DE DUAS GERAÇÕES DE TAMBAQUI DE UM PROGRAMA DE MELHORAMENTO GENÉTICO

5.1 Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar a variabilidade genética de duas gerações de tambaqui melhorados geneticamente provenientes de uma estação de piscicultura do Mato Grosso. Foram obtidas ampliações nos dois *loci* microssatélite estudados, os quais produziram um total de 21 alelos. A geração zero apresentou 11 alelos, sendo 5 para o *locus* TB13 e 6 para o *locus* TB14, enquanto a geração um apresentou 10 alelos, 5 para o *locus* TB13 e 5 para o *locus* TB14. Foi observado um alelo exclusivo na geração zero para o *locus* TB14. Ambos os *loci* investigados exibiram deficiência de heterozigotos tanto na geração zero quanto na geração um o que sugere a possibilidade de consanguinidade entre os peixes das duas gerações estudadas. A heterozigosidade observada média na geração zero foi de 0,7764 e na geração um foi 0,75927.

Termos para indexação: *Colossoma macropomum*, conservação genética, peixe, pescado, microssatélite.

Genetic evaluation of three tambaqui fish generations of a enhancement program

5.2 Abstract – The objective of the present investigation was evaluate the genetic variability of two generations of tambaqui fish genetically improved from fishery in Mato Grosso. Were obtained 21 alleles for the two studied *loci*, TB13 and TB14. The generation zero exhibited 11 alleles while generation one exhibited 10 alleles. In the generation zero was found one exclusive allele. Both the analysed microsatellite *loci* exhibited heterozygous deficiency in both studied generations which suggests the hypothesis of inbreeding. The observed heterozygosity in generation zero was 0.7764 and in the generation one it was 0.75927.

Index terms: *Colossoma macropomum*, genetics conservation, capture fisheries, microsatellite.

5.3 Introdução

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é o segundo maior peixe de escamas da América do Sul (Santos et al., 2013) e, embora seja encontrado naturalmente no Brasil, Bolívia, Colômbia, Guiana, Peru e Venezuela, é amplamente cultivado em estações de piscicultura por toda América do sul (Jégu, 2003). Conforme Araújo-Lima & Goulding (1998), trata-se de um peixe endêmico da bacia do rio Orinoco e da bacia Amazônica, a qual apresenta 63% de sua área (6.110.000Km²) distribuída entre os estados do Acre, Amapá, Amazonas, Mato Grosso, Pará, Rondônia e Roraima (ANA, 2016).

Além de ser uma das espécies chaves para manutenção do ecossistema amazônico por se tratar de um grande dispersor de sementes de árvores e arbustos de várzea (Goulding, 1980), o tambaqui apresenta considerável importância econômica para o setor de pesca comercial e piscicultura (Calcagnotto e Toledo-Filho, 2000; Queiroz et al., 2016), sendo também fonte de subsistência para comunidades ribeirinhas (Santos et al., 2013). Este é um peixe onívoro que apresenta boas taxas de crescimento e conversão alimentar, e sua rusticidade o permite sobreviver em águas com baixa concentração de oxigênio dissolvido e elevadas temperaturas (Freitas et al., 2014).

Em decorrência do crescente interesse pelo tambaqui, embora ainda incipientes em comparação com outros organismos aquáticos, pesquisas em diversas áreas têm sido conduzidas, incluindo análises genéticas (Santos et al., 2009; Lopera-Barrero et al., 2015; Ribeiro et al., 2017), investigações fisiológicas (Almeida-Val et al., 1991; Wood et al., 1998; Inoue et al., 2011), estudos de manejo (Affonso et al., 2002; Silva et al., 2007; Gomes & Silva, 2009), efeitos da pesca (Silvano et al., 2009), parasitologia e reprodução (Araújo-Lima & Goulding, 1998; Santos et al., 2013, Galo et al., 2015, Varela Júnior et al, 2015).

O desafio da piscicultura brasileira nos últimos dez anos foi passar de uma atividade incipiente para uma cadeia estruturada (Streit Jr et al., 2015). A produção de peixes nativos brasileiros é uma das poucas atividades da produção animal que não apresenta programa de melhoramento genético efetivo. Neste sentido, em 2008 houve início do primeiro programa de melhoramento genético de organismos aquáticos nativos no Brasil, sendo o tambaqui uma das espécies escolhidas.

O monitoramento genético de grupos de organismos em aquicultura, dirigidos a programas de melhoramento ou de preservação, mostra-se essencial para se trabalhar de forma apropriada na reprodução de estoques para obtenção de peixes jovens com qualidade genética. Os marcadores moleculares são ferramentas eficazes para direcionar e avaliar os programas de melhoramento genético (Povh et al., 2008).

O monitoramento da variabilidade genética mediante marcadores moleculares tem sido cada vez mais empregado em análises em populações e estoques de peixes nativos relacionados a programas de conservação (Lopera-Barrero, 2008a; Lopera-Barrero et al., 2010; Ramos et al., 2012; Rodriguez-Rodriguez et al., 2013; Lopera-Barrero et al., 2015). Entretanto, não há estudos no Brasil fazendo uso de marcadores moleculares para se monitorar o comportamento da variabilidade genética através de gerações de peixes nativos melhorados, tendo em vista o pioneirismo do melhoramento genético. O objetivo deste trabalho foi avaliar a variabilidade genética de três gerações de tambaqui melhorados geneticamente.

5.4 Material e Métodos

Foram coletadas 56 amostras de fragmentos de nadadeira caudal (0,5 cm²) de três gerações de tambaqui de um projeto de melhoramento genético para ganho de peso na cidade de Sorriso/MT, Brasil (12° 51' 56.40" S; 55° 50' 03.30" W). Foram colhidas 28 amostras da geração zero (G0) e 28 da geração 1 (G1).

O DNA foi extraído de amostras de fragmentos da nadadeira caudal (0,5 cm²), foi utilizado o protocolo descrito por Lopera-Barrero et al. (2008). As amostras foram colocadas em microtubos de 1,5 mL, aos quais foram adicionados 550 µL de tampão de lise (50 mM de Tris-HCl, 50 mM de EDTA, 100 mM de NaCl e 1% de SDS), e 7 µL de proteinase K (200 µg/mL). As amostras foram mantidas em banho-maria a 50°C *overnight* e, posteriormente, o DNA foi purificado com 400 µL de cloreto de sódio (5M) e centrifugado por 10 minutos a 14.000 rpm, sendo em seguida precipitado com 700 µL de etanol absoluto gelado. O DNA precipitado foi, então, lavado com etanol 70%, ressuspenso em TE (10 mM de Tris e 1 mM de EDTA) e tratado com 6 µL de RNase (30 µg/mL) permanecendo em banho-maria a 37°C por 40 minutos.

O DNA foi quantificado em espectrofotômetro (Shimadzu UV 1601, USA) com absorbância de 260 nm. Para conferir a qualidade do DNA, foi realizada uma eletroforese em gel de agarose 1%, conduzida em tampão TBE 1X (500 mM de Tris-HCl, 60 mM de ácido bórico e 83 de mM EDTA) por 60 minutos a 70 volts. O gel foi visualizado sob radiação ultra violeta, depois da sua exposição com brometo de etídio (0,5 µg/ml) por 60 minutos.

O DNA foi amplificado em um volume de reação de 20 µL, no qual foi utilizado tampão 1X Tris-KCl, 2,0 mM de MgCl₂, 0,8 µM de cada primer (*Forward* e *Reverse*), 0,2 mM de cada dNTP, uma unidade de Platinun Taq DNA Polimerase e 20ng de DNA. Foram amplificados os *loci* TB13 (JN020280) e TB14 (JN020281) utilizando primers descritos por Santana et al. (2011). Inicialmente, no estágio 1, o DNA foi desnaturado a 94°C, por 1 minuto e, em seguida, no estágio 2, foram realizados 25 ciclos consecutivos, constituídos por 20 segundos iniciais, a 94°C, 20 segundos de anelamento (que variou de 50°C no *locus* TB13 a 65°C no *locus* TB14) e 30 segundos de extensão a 68°C. No estágio 3 foram realizados mais 25 ciclos com mais 20 segundos de desnaturação a 94°C, mais

20 segundos de anelamento a 53°C e mais 30 segundos de extensão a 68°C. Finalmente, o estágio 4 termina com 10 segundos de extensão final a 72°C. As reações foram amplificadas em termociclador (Eppendorf Mastercycler Gradient).

As amostras amplificadas foram submetidas à eletroforese em gel de poliacrilamida 10% (acrilamida:bisacrilamida – 29:1) desnaturante (6 M de ureia), por 12 horas, a 15 mA. Para a visualização dos alelos foi utilizada a coloração com nitrato de prata (Bassam et al., 1991). O gel foi submetido a três tipos de solução: solução de fixação (10% de etanol e 0,5% de ácido acético) por 20 minutos; a solução de impregnação (corado (6 mM) de nitrato de prata) por 10 minutos; e solução de revelação (0,75 M de NaOH e 0,22% de formol - 40%). O tamanho dos fragmentos foi estimado por comparação com o padrão ladder 10, 50 e 100 pb (Invitrogen, EUA).

A heterozigiosidade observada (*Ho*), a heterozigiosidade esperada (*He*) e o teste para equilíbrio de Hardy-Weinberg (PHW) foram analisados utilizando o programa ARLEQUIN 3.0 (Excoffier et al., 2005).

5.5 Resultados e Discussão

A G0 apresentou 11 alelos e a G1 10 alelos. A G0 exibiu 5 alelos para o *locus* TB13 (301, 299, 297, 288 e 286 pb) e 6 alelos para o *locus* TB14 (209, 205, 203, 201, 197 e 194 pb). Na G1 foram observados 5 alelos para o *locus* TB13 (301, 299, 297, 288 e 286 pb) e 5 alelos para o *locus* TB14 (194, 197, 201, 203 e 205 pb). O número de alelos observados em ambas as gerações foi inferior ao obtido por Santana et al. (2011), os quais observaram 11 alelos para o *locus* TB13 e 24 alelos para o *locus* TB14 em uma amostragem de 30 indivíduos de *C. macropomum* coletados em lagos em torno do rio Solimões. Estes dados sugerem uma baixa variabilidade genética nas gerações estudadas.

Em relação ao *locus* TB13, os mesmos 5 alelos foram detectados tanto na G0 quanto na G1 (301, 299, 297, 288 e 286 pb), enquanto o *locus* TB14 apresentou somente 1 alelo exclusivo na G0 (o alelo com 209 pb). A presença de um maior número de alelos

exclusivos indica maior variabilidade no lote ou na população e, portanto, a presença de somente um alelo exclusivo se torna insignificante no contexto. Alelos podem ser eliminados ao longo de gerações devido a fatores como seleção (intencional ou não intencional) e/ou número efetivo de reprodutores (Povh et al., 2011).

Conforme a Tabela 1, ambos os *loci* TB13 e TB14 exibiram deficiência de heterozigotos significativa (PHW) tanto na G0 quanto na G1, assim como a média dos *loci* em questão, uma vez que a heterozigosidade observada (H_o) foi sempre menor que a heterozigosidade esperada (H_e). A modificação do equilíbrio de Hardy-Weinberg com escassez de heterozigotos insinua que pode estar havendo consanguinidade em ambas as gerações estudadas. O cruzamento entre animais com algum grau de parentesco, pequeno número efetivo de reprodutores e efeito fundador podem causar esse tipo de problema dependendo do manejo reprodutivo adotado nas pisciculturas. Todavia, faz-se necessário um maior número de alelos para essa afirmação.

Tabela 4. Heterozigosidade observada (H_o), Heterozigosidade esperada (H_e) e teste para o equilíbrio de Hardy-Weinberg (PHW) dos *loci* de microssatélites usados nas duas gerações de *C. macropomum* estudadas.

Estoque	Locus	H_o	H_e	PHW
G0	TB13	0,7804	1,000	**
	TB14	0,7724	1,000	**
	Média	0,7764	1,000	**
<hr/>				
G1	TB13	0,8919	1,0000	**
	TB14	0,7166	1,0000	**
	Média	0,75927	1,0000	**

Tanto indivíduos aparentados, pequeno número efetivo de reprodutores ou efeito fundador tendem a restringir a diversidade alélica da progênie aumentando a endogamia e, conseqüentemente, favorecendo a extinção de combinações alélicas relevantes e a manifestação de genes letais ou relacionados a outros problemas genéticos que comprometem a viabilidade da progênie. Quando a presença de diferentes formas de um gene (alelos) diminui numa população, as possibilidades de combinações alélicas em potencial também decrescem. Basicamente, a homogeneidade alélica numa população restringe a possibilidade de prováveis combinações entre diferentes alelos conforme o cálculo: 2^n é igual ao número de possíveis combinações alélicas, tal que “2” é igual ao número de cromossomos homólogos e a variável “n” é igual ao número de alelos diferentes presentes no *pool* gênico.

Quando se trata do tambaqui a reprodução de indivíduos aparentados não é incomum, já que a alta prolificidade deste peixe e a necessidade de um amplo espaço para acomodação desses animais também se tornam transtornos, visto que, uma fêmea de tambaqui pode produzir entre 10 a 20% do peso vivo em ovócitos, e que cada grama de ovócito corresponde a cerca de 1.200 ovócitos em média, então, uma fêmea pode produzir 100 mil a 200 mil ovócitos para cada quilograma de seu peso (Galo et al., 2015).

5.6 Conclusão

Houve uma pequena redução na variabilidade genética da G0 para a G1, fato indicado pela média de H_o em ambas as gerações e um menor número de alelos observados na G1. Para uma análise mais confiável seria interessante a utilização de maior número de *loci* na análise, assim como um maior número de indivíduos.

5.7 Agradecimentos

À Fundação de Apoio ao Desenvolvimento de Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT) pela bolsa de doutorado.

5.8 Referências

AFFONSO, E. G.; POLEZ, V. L. P.; CORRÊA, C. F.; MAZON, A. F.; ARAÚJO, M. R. R.; MORAES, G.; RANTIN, F. T. Blood parameters and metabolites in the teleost fish *Colossoma macropomum* exposed to sulfide or hypoxia. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 133(3): 375-382, 2002.

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. Região Hidrográfica Amazônica: A maior do mundo em disponibilidade de água. Disponível em: <<http://www2.ana.gov.br/Paginas/portais/bacias/amazonica.aspx>> Acesso em: 07 Mar. 2016.

ALMEIDA-VAL, V. M. F.; SCHAWNTES, M.L.B.; VAL, A. L. LDH isozymes in Amazon fishes – II. Temperature and pH effects on LDH kinetics properties from *Mylossoma duriventris* and *Colossoma macropomum* (Serrasalminidae). **Comparative Biochemistry and Physiology**, 98(1): 79-86, 1991.

ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; GOULDING, M. (1998). Os frutos do Tambaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia. Sociedade Civil Mamirauá/CNPq/Rainforest Alliance, Brasil. 186p.

BASSAM, B.J.; CAETANO-ANOLLÉS, G.; GRESSHOFF, P.M. Silver staining of DNA in polyacrylamide gels. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 42(2): 181-188, 1991.

CALCAGNOTO D.; TOLEDO-FILHO S.A. (2000). Loss of genetic variability at the transferrin locus in five hatchery stocks of tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Genetics and Molecular Biology**, 23(1):127-130, 2000 .

EXCOFFIER. F.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. Arlequin (version 3.0): an Integrated software package for population genetics data analysis. **Evolutionary Bioinformatics**. 1: 47-50, 2005.

FREITAS R.S.; BOIJINK C.L.; MUNIZ A.W.; DAIRIKI J.; INOUE, L.A.K.A. Qualidade da água e perspectivas para o gerenciamento ambiental dos cultivos de tambaqui no município de Rio Preto da Eva, AM. **Scientia Amazonia**, 3(3): 116-126, 2014.

GALO, J. M., RIBEIRO, R. P. B., STREIT, D. P., ALBUQUERQUE, D. M., FORNARI, D. C., ROMA, C. F. C., AND GUERREIRO, L. R. J. Oocyte quality of Tambaqui (*Colossoma macropomum*) during the reproductive season. **Brazilian Journal of Biology**, 75(2): 279-284, 2015.

GOULDING, M. (1980). Fishes and the Forest. University of California Press, Los Angeles, California.

GOMES, L.C.; SILVA, C.R. Impact of Pound management on tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier), production during growth-out phase. **Aquaculture Research**, 40(7): 825-832, 2009.

INOUE, L.A.K.A.; BOIJINK, C.L; RIBEIRO, P.T; SILVA, A.M.D., AFFONSO, E.G. Avaliação de respostas metabólicas do tambaqui exposto ao eugenol em banhos anestésicos. **Acta Amazonica**, 41(2): 327-332, 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. (2016). Produção total de tambaqui (*Colossoma macropomum*). Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=3940&z=t&o=21>> Acesso em: 10 Mar. 2016.

JÉGU, M. (2003). Subfamily Serrasalminae (Pacus and piranhas). In: Reis, R.E; Kullander, S.O.; Ferraris Jr, C.J. Check list of the freshwater fishes of South and Central America. Editora da Pontifícia Universidade Católica, Porto Alegre, Brasil, p. 182-196.

LOPERA-BARRERO, N.M.; RIBEIRO, VARGAS, L.; R.P; POVH, J.A; GOMES P.C; MANGOLIN, C.A.; BOSO, K.M.O.; GUALDA; T. Caracterização genética de estoques de *Prochilodus lineatus* utilizados em programas de repovoamento: importância para a conservação da ictiofauna e do ecossistema. **Bioscience Journal**, 24(4): 86-93, 2008.

LOPERA-BARRERO, N.M.; POVH, J.A; RIBEIRO, R.P; GOMES P.C; JACOMETO C.B; LOPES, T.S. (2008). Comparación de protocolos de extracción de ADN con muestras de aleta y larva de peces: extracción modificada con sal (NaCl). **Ciencia e Investigación Agraria**, 35(1): 77-86, 2008.

LOPERA-BARRERO, N.M.; RIBEIRO, R.P.; POVH, J.A.; SIROL, R.N.; MANGOLIN, C.A. Avaliação genética de populações naturais e de estoques de um programa de repovoamento de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) utilizando marcadores microssatélites. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 62 (4): 954-963, 2010.

LOPERA-BARRERO, N. M.; RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, M. P.; RESENDE, E. K.; SOUZA, F. P.; BRACCINI, G.; FURLAN, P. J.; POVH, J. A.; POVEDA-PARRA, A. R.; FORNARI, D. C.; RIBEIRO, R. P. Variabilidade genética de tambaqui (teleostei ? characidae) da região nordeste do brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, 36(6): 4013-4022, 2015.

POVH, J. A.; LOPERA BARRERO, N. M.; RIBEIRO, R. P.; LUPCHINSKI JR, E.; GOMES, P. C.; LOPES, T. S. Monitorio genético de programas de repoblamiento de peces mediante marcadores moleculares. **Ciencia e Investigación Agraria**, 35(1): 25-35,2008.

POVH, J.A.; RIBEIRO, R.P.; LOPERA-BARRERO, N.M.; JACOMETO, C.B.; VARGAS, L.; GOMES, P.C.; LOPES, T.S. Microsatellite analysis of pacu broodstocks used in the stocking program of Paranapanema River, Brazil. **Scientia Agricola**, 68(3): 308-313, 2011.

QUEIROZ, C.A.; SOUSA, N.R.; DA SILVA, G.F.; INOUE, L.A.K.A. Impacts of stocking on the genetic diversity of *Colossoma macropomum* in central Amazon, Brazil. **Genetics and Molecular Research**, 15(2): 1-9, 2016.

RAMOS, J. V. B.; SODRÉ, L. M. K.; ORSI, M. L.; ALMEIDA, F. S. Genetic diversity of the species *Leporinus elongatus* (Teleostei: Characiformes) in the Canoas Complex – Paranapanema River. **Neotropical Ichthyology**, 10(4): 821-828, 2012.

RIBEIRO, L.B.; MORAES-NETO, A.; ARTONI, R.F.; MATOSO, D.A.; FELDBERG, E. Chromosomal Mapping of Repetitive Sequences (Rex3, Rex6, and rDNA Genes) in Hybrids Between *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) and *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Zebrafish**, 14(20): 155-160, 2017.

RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, M.P.; LOPERA-BARRERO, N.M.; SANTOS, S.C.A.; VARGAS, L.; STREIT JR, D.P.; RIBEIRO, R.P. Genetic diversity of *piaractus mesopotamicus* (characiformes: Characidae) broodstocks using in the restocking program of Tietê river, Brazil. **Bioscience Journal**, 29(2): 478-486, 2013.

SANTANA, G.X.; SANTOS, C.H.A.; SOUZA, F.S.; NASCIMENTO, P.R.M.; PAULA-SILVA, M.N.; SOUSA, A.C.B.; CAMPOS, T.; ALMEIDA-VAL, V.M.F. Isolation of novel microsatellite markers for tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier 1818), an important freshwater fish of the Amazon. **Conservation Genetics Resource**, 4(1): 197-200, 2011.

SANTOS, M.C.F.; HRBEK, T.; FARIAS, I.P. Microsatellite markers for the tambaqui (Serrasalminae, Characiformes), an economically important keystone species of the Amazon River floodplain. **Molecular Ecology Resources**, 9(3): 874-876, 2009.

SANTOS, E. F.; TAVARES-DIAS, M.; PINHEIRO, D. A.; RIGÔR NEVES, L.; MARINHO; R. G. B.; REIS DIAS, M. K. Parasitic fauna of tambaqui *Colossoma macropomum*(Characidae) farmed in cages in the State of Amapá, eastern Amazon. **Acta Amazonica**, 43(1), 2013.

SILVA, C.R.; GOMES, L.C.; BRANDÃO, F.R. Effect of feeding rate and frequency on tambaqui (*Colossoma macropomum*) growth, production and feeding costs during the first growth phase in cages. **Aquaculture**, 264(1-4): 135-139, 2007.

SILVANO, R.A.M.; RAMIRES, M.; ZUANON, J. Effects of fisheries management on fish communities in the floodplain lakes of a Brazilian Amazonian Reserve. **Ecology of Freshwater Fish**, 18(1): 156-166, 2009.

STREIT JR, D.P.; FORNARI, D.C.; POVH, J.A.; GODOY, F.M.; OLIVEIRA, C.A.L.; KAWAKAMI, E.; RIBEIRO, R.P. Germplasm banking and its role in the development of the fish genetic improvement programme in Brazil. **CryoLetters**, 36(6): 399-404, 2015.

VARELA JUNIOR, A. S.; GOULARTE, K. L.; ALVES, J. P.; PEREIRA, F. A.; SILVA, E. F.; CARDOSO, T. F.; JARDIM, R. D.; STREIT JR, D. P.; CORTINI, C. D. Methods of criopreservation of tambaqui semem, *Colossoma macropomum*. **Animal Reproduction Science**, 157(0): 71-77, 2015.

WOOD, C. M.; WILSON; R. W.; GONZALEZ, R. J.; PATRICK, M. L.; BERGMAN, H. L.; NARAHARA, A. VAL, A. L. Responses of a Amazonian Teleost, The Tambaqui (*Colossoma macropomum*), to Low pH in Extremely Soft Water. **Physiological Zoology**, 71(6): 658-670, 1998.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Brasil, embora não se destaque entre os maiores produtores mundiais de pescados, demonstra grande potencial aquícola e sua produção pesqueira tem crescido nos últimos anos juntamente com a demanda do mercado interno. Ocupando lugar de destaque na aquicultura brasileira, o tambaqui, outros peixes redondos nativos e seus híbridos estão em segundo lugar entre os organismos aquáticos mais produzidos no país, conforme apresentado anteriormente. Tal cenário, por si só, justifica a preservação dos habitats aquáticos e a necessidade de investimento em pesquisas envolvendo espécies de peixes nativas, as quais muitas não apresentam estudos a respeito de seu potencial zootécnico.

Além de ameaçar às populações selvagens e prejudicar os estoques pesqueiros, a destruição dos ambientes aquáticos também afeta a incipiente área do melhoramento genético de peixes nativos, uma vez que as populações selvagens são estoques de variabilidade genética que podem ser usados em programas de melhoramento genético destas espécies. A quantidade de indivíduos em uma população selvagem é proporcional a quantidade de variabilidade genética nela existente, logo, a diminuição do número de indivíduos das populações nativas favorece a homogeneidade alélica e a endogamia.

Nesse contexto, o monitoramento genético, para auxiliar a preservação da ictiofauna e programas de melhoramento genético, mostra-se essencial para o desenvolvimento do setor pesqueiro.