

HOZANA LEITE DANTAS

AVALIAÇÃO DA ESTRUTURA GENÉTICA DO SURUBIM, *Pseudoplatystoma
corruscans* (ACTINOPTERYGII: SILURIFORMES) COMO SUBSÍDIO PARA O
REPOVOAMENTO DO SUBMÉDIO SÃO FRANCISCO

Recife - PE
2010

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE PESCA E AQUICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E AQUICULTURA

HOZANA LEITE DANTAS

AVALIAÇÃO DA ESTRUTURA GENÉTICA DO SURUBIM, *Pseudoplatystoma
corruscans* (ACTINOPTERYGII: SILURIFORMES) COMO SUBSÍDIO PARA O
REPOVOAMENTO DO SUBMÉDIO SÃO FRANCISCO

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e
Aquicultura da Universidade Federal Rural
de Pernambuco como parte dos requisitos
para obtenção de título de Mestre em
Recursos Pesqueiros e Aquicultura

Orientadora:
Profa. Maria Raquel Moura Coimbra

Recife - PE
Fevereiro – 2010

Ficha catalográfica

D192a Dantas, Hozana Leite
Avaliação da estrutura genética do surubim,
Pseudoplatystoma corruscans (Actinopterygii: Siuriformes)
como subsídio para o repovoamento do submédio São
Francisco / Hozana Leite Dantas. -- 2010.
48 f. : il.

Orientadora: Maria Raquel Moura Coimbra.
Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e
Aquicultura) – Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Pesca e Aquicultura, Recife, 2010.
Inclui referências e anexo.

1. Repovoamento 2. População selvagem 3. Conservação
4. Variabilidade genética 5. Microssatélites I. Coimbra, Maria
Raquel Moura, orientadora II. Título

CDD 639.3

HOZANA LEITE DANTAS

AVALIAÇÃO DA ESTRUTURA GENÉTICA DO SURUBIM, *Pseudoplatystoma
corruscans* (ACTINOPTERYGII: SILURIFORMES): SUBSÍDIO PARA O
REPOVOAMENTO DO SUBMÉDIO SÃO FRANCISCO

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela Banca Examinadora formada pelos professores:

Prof. Dr. Paulo de Paula Mendes
Coordenador – PPG-RPAq

Banca Examinadora:

Prof^a
Maria Raquel Moura Coimbra
Departamento de Pesca e Aquicultura – UFRPE
(Orientadora)

Prof. Dr. Rodrigo Maggioni
Departamento de Pesca – UFC

Prof. Dr. Paulo Guilherme Vasconcelos de Oliveira
Departamento de Pesca e Aquicultura – UFRPE

Prof. Dr. Manoel Adrião Gomes Filho
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal – UFRPE

Prof. Dr. William Severi
Departamento de Pesca e Aquicultura – UFRPE
(Suplente)

Recife, 09 de Fevereiro de 2010

Aos Meus Pais, aos meus irmãos e ao meu sobrinho, obrigado pelo amor, por acreditarem nos meus sonhos e por estarem sempre ao meu lado.

Agradecimentos

Primeiro a Deus por tudo;

Aos meus pais Luiz Carlos e Quitéria pelo apoio e pela paciência que muitas vezes tiveram que ter comigo;

À minha família, especialmente meus irmãos Carlos André, Onésia e Maria Luíza e ao meu sobrinho Valter José que vejo tão pouco por causa dessa vida corrida, mas que estão sempre em meus pensamentos;

À Professora Dra. Maria Raquel Moura Coimbra, pela confiança e pelas inúmeras ajudas (mesmo de licença maternidade e férias), me auxiliando a terminar mais um trabalho;

A Marcelo, mesmo longe, mas tão perto, me confortando sempre;

Ao Professor William, a Cláudio Epaminondas e ao Senhor Miguel pela colaboração na realização das coletas;

Ao Professor Alfredo pelo incentivo e pelo livre acesso ao seu laboratório;

Aos meus amigos e colegas de laboratório que vivenciaram comigo toda essa trajetória: Suzianny, Marcus, Cláudio e a quase “lagueira” Leilane (pela PCR) e em especial à Patrícia e a Miguel, duas bases que me espelhei para poder caminhar sozinha no LAGA;

À Karine por ser meu braço direito e esquerdo inúmeras vezes, me dando coragem para continuar e não desisti a cada gel desastroso, sem ela tudo seria mais difícil.

Aos meus colegas de sala de aula pelos momentos compartilhados;

Aos meus amigos da graduação, aos meus amigos do PET, e aos meus amigos para a vida inteira: Yuri, Andresa, Raiana, Daniele, Thiago, Lucinea, e Talita.

E a todos que não mencionei, mas que contribuíram direta ou indiretamente com este trabalho,

Obrigada!

RESUMO

O rio São Francisco apresenta 2700 km de extensão, percorre cinco estados brasileiros e é conhecido como “rio da integração nacional”. Construção de hidrelétricas associadas a outros fatores comprometem os peixes nesse ambiente, principalmente aqueles que efetuam piracema. Dentre esses se destaca o *Pseudoplatystoma corruscans*, conhecido como surubim ou pintado em algumas regiões, que vêm sofrendo com as problemáticas existentes nesta bacia comprometendo seriamente seus estoques naturais, especialmente na região do Submédio São Francisco. Diante disto se faz necessário investimentos em programas de propagação artificial para a recuperação deste recurso que mantenham a diversidade genética local. O presente trabalho objetivou avaliar a estrutura genética de populações selvagens de surubim do rio São Francisco, através da utilização de marcadores moleculares de microssatélite. Amostras de três populações foram analisadas para seis diferentes marcadores de microssatélite. Os produtos de PCR foram separados por eletroforese em gel de poliacrilamida e corados com nitrato de prata. Os resultados mostraram uma ampla diversidade de alelos para todas as populações sendo encontrados 47 alelos no total. As heterozigosidades esperadas apresentaram média de 0,7498 para a população de Remanso, 0,7142 para a população de Três Marias e 0,7372 para a população de Bom Jesus da Lapa. As médias da heterozigosidade observada foram 0,7170, 0,6643 e 0,7132 para as populações de Remanso, Três Marias e Bom Jesus da Lapa respectivamente. Todas as populações apresentaram *loci* em desvio do Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Os valores médios de F_{IS} encontrados foram 0,0348 para Remanso, 0,0583 para Três Marias e 0,0160 para Bom Jesus da Lapa. O índice de fixação F_{ST} obtido foi de 0,0246, indicando um pequeno grau de diferenciação entre as populações estudadas. O universo de alelos compartilhados entre as populações estudadas associados ao baixo valor do F_{ST} indicam que se trata de uma população panmítica. Com esse resultado, reprodutores poderiam ser capturados ao longo de toda a extensão do São Francisco reduzindo o tempo de manejo em programas de repovoamento. Este trabalho caracterizou as populações selvagens quanto a sua variabilidade genética, podendo agora ser utilizado como parâmetro para a construção do estoque fundador que será utilizado em programas de repovoamento ou na validação de estoques fundadores já existentes, bem como no monitoramento das progênies desses advindos desses programas.

Palavras-chave: repovoamento, população selvagem, conservação, variabilidade genética e microssatélites.

ABSTRACT

The São Francisco River is 2700 km long, draining areas of the States of Minas Gerais, Goiás, Bahia, Pernambuco, Alagoas, and Sergipe, as well as part of the Federal District. Before the construction of Paulo Afonso Hydroelectric Power Plant, waterfalls of Paulo Afonso (north-eastern Brazil) and its respective lakes already constituted a natural obstacle to fish migration. Nowadays, the construction of hydroelectric dams between medium and submedium São Francisco River associated flooding along rivers, pollution and the introduction of exotic species can alter ecosystems and pose serious threats to native aquatic species, especially those that perform migration for reproduction. One of the most threatened fish migratory species is the Pseudoplatystoma corruscans, a catfish species, locally named surubim. The surubim is the first predator of São Francisco River and it is considered the most appreciated freshwater fish on the north-eastern Brazil. The conservation of freshwater fish species has traditionally been done through restocking programs. Genetic variability is essential to maintain the capability of restocked fish to adapt to a changing environment. Therefore, if long term persistence of species is the goal that conservation biology is intending to achieve, genetic variability is of the utmost importance to preserve. One approach that has been successfully used in uncovering cryptic population structure in freshwater is microsatellite markers. Samples from three populations were analyzed for six different microsatellite markers. PCR products were separated by agarose gel electrophoresis and stained with silver nitrate. The results showed a wide diversity of alleles for all populations, where a total of 47 alleles were found. The expected heterozygosities showed an average of 0.7498 for the population of Remanso, 0.7142 for the population of Três Marias and 0.7372 for the population of Bom Jesus da Lapa. The average observed heterozygosity were 0.7170, 0.6643 and 0.7132 for the populations of Remanso, Três Marias and Bom Jesus da Lapa respectively. All populations showed loci in deviation from Hardy-Weinberg, but locus Pcor2 was the only one who showed deviation in all populations. The average values of F_{IS} was 0.0348 in Remanso, 0.0583 in Três Marias and 0.0160 in Bom Jesus da Lapa. The fixation index F_{ST} obtained was 0.0246, indicating a small degree of differentiation between the populations studied. The universe of alleles shared among populations associated with the low value of F_{ST} indicates that this is a panmictic population. These results indicated that breeders can be São Francisco River basin, saving time in restocking programs in terms of growing fish. Hence, this study can now be used as a parameter for the construction of the founder stock to be used in restocking programs or in evaluating the genetic structure of existing stocks founders, as well as monitoring offspring from these programs.

Keywords: restocking, wild population, conservation, genetic variability and microsatellite.

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Caracterização da espécie e sua problemática	13
2.2 Repovoamento e manutenção da variabilidade genética	16
2.3 Marcadores moleculares – Microsatélites	18
3. ARTIGO CIENTÍFICO “AVALIAÇÃO DA ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES SELVAGENS DE SURUBIM, <i>Pseudoplatystoma corruscans</i> (Spix e Agassiz, 1829) COMO SUBSÍDIO PARA O REPOVOAMENTO DO SUBMÉDIO SÃO FRANCISCO, NORDESTE, BRASIL”	20
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	38
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
ANEXOS	44

LISTA DE TABELAS

ARTIGO

- Tabela 1.** Variabilidade genética das populações selvagens do *Pseudoplatystoma corruscans* para os *loci* analisados. **29**
- Tabela 2.** Tamanho dos alelos e suas frequências (entre parênteses) por *loci* analisados. **30**
- Tabela 3.** Tamanho dos alelos privados e suas frequências (entre parênteses) para os *loci* analisados. **31**

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. *Pseudoplatystoma corruscans*, conhecido como pintado em algumas regiões devido as máculas arredondadas distribuídas pelo corpo. **14**

Figura 2. Rio São Francisco, destacando-se a região do submédio São Francisco localizado entre Sobradinho (BA) e Belo Monte (AL), considerado o trecho mais crítico, correspondendo a 17% da bacia, onde relatos locais afirmam não encontrarem surubim na região. **16**

ARTIGO

Figura 1. Bacia do rio São Francisco, destacando-se os pontos de coleta em Remanso-BA (círculo), Bom Jesus da Lapa-BA (quadrado) e Três Marias-MG (triângulo), locais onde as capturas de surubim ainda são registradas. **24**

1. INTRODUÇÃO

O rio São Francisco apresenta 2700 km de extensão, desde a nascente na Serra da Canastra, em Minas Gerais, até desaguar no Oceano Atlântico, com uma bacia de 641.000 km², que inclui as áreas dos estados de Minas Gerais, Bahia, Pernambuco, Alagoas e Sergipe, sendo por este motivo chamado de “rio da integração nacional” (MINISTÉRIO DA INTEGRAÇÃO NACIONAL, 2009).

A construção das hidrelétricas de Xingó, Complexo de Paulo Afonso, Itaparica e Sobradinho, localizadas entre o médio e o submédio São Francisco, trouxe quatro novas barreiras que associadas a inundações, poluição, sobrepesca e à introdução de espécies exóticas, podem alterar ecossistemas e ameaçam as espécies aquáticas nativas, especialmente aquelas que efetuam migração reprodutiva (GODINHO et al., 1997).

Dentre essas espécies, destaca-se o surubim (*Pseudoplatystoma corruscans*), o primeiro predador do São Francisco e considerado a espécie de água doce mais apreciada do nordeste do Brasil. Godinho e Godinho (2003) indicaram que as capturas do surubim têm mostrado indicações de que se encontram próximas ao colapso e um outro estudo alerta que a construção de novas barragens no curso principal do rio São Francisco e seus tributários irão levar esta espécie à extinção nos próximos anos (GODINHO et al., 2007).

A Food and Agriculture Organization (FAO) (1995) afirma que cerca de 70% dos recursos pesqueiros mundiais estão sobreexplorados, em declínio ou se recuperando do declínio e que a preservação de espécies de peixes de água doce tem sido tradicionalmente conduzida através de programas de repovoamento.

A Estação de Piscicultura de Paulo Afonso (EPPA) desenvolve ações de repovoamento há mais de 35 anos, em atendimento à legislação e, recentemente, como condicionante de operação de seus empreendimentos. Paralelamente, o IBAMA vem efetivando, nos termos de uma Instrução Normativa, a ordenação das ações de repovoamento, transformando-as em

programas que contemplem diversos aspectos dos ecossistemas que se deseja manejar. Dentre estes está a preocupação com a manutenção da diversidade genética de cada espécie, um componente essencial que as permite adaptarem-se às adversidades do meio. Sem uma aderência adequada a princípios básicos de genética, a integração pretendida entre os animais do cativeiro e os de ambiente natural pode ter consequências adversas.

Cada variante alélica em cada locus codificante em uma população pode ser tomada como parte de um recurso genético da população. Um alelo sozinho, ou em combinação com outros alelos ou loci, pode ser responsável por conferir a seu portador uma característica valiosa, como um aumento de resistência a uma doença, uma melhor tolerância ao frio ou melhor crescimento (BEAUMONT e HOARE, 2003). Assim, se a persistência a longo prazo das espécies é o objetivo que a biologia da conservação pretende atingir, a variabilidade genética deve ser priorizada.

Através da caracterização da distribuição geográfica das frequências alélicas, a subestruturação populacional pode ser detectada, e populações locais identificadas, constituindo informações essenciais para guiar os programas de repovoamento.

Marcadores de microssatélites têm sido usados com sucesso na obtenção de parâmetros genéticos, por apresentarem todas as características desejáveis em estudos genético-populacionais, como comportamento co-dominante, serem seletivamente neutros e apresentarem alto polimorfismo (POWELL et al., 1996). Além disso, esses marcadores vêm sendo comumente usados no campo da pesca e aquicultura (CHISTIAKOV et al., 2006).

Um total de seis *loci* de microssatélite está disponível na literatura para a espécie de surubim (*P. corruscans*), fornecendo as ferramentas para a análise dos parâmetros genéticos de populações selvagens (REVADALVES et al., 2005; PEREIRA et al., 2009). A genotipagem destes marcadores em populações selvagens de surubim fornecerá dados essenciais para o trabalho de repovoamento da bacia do São Francisco, de modo a permitir

não só o aumento populacional, como também a manutenção do patrimônio genético desta espécie na bacia.

Além da importância da manutenção da variabilidade genética e conservação desta espécie, o aumento da abundância de *P. corruscans* constitui uma estratégia para o controle vertical das espécies de peixe de baixo valor comercial e de espécies exóticas. Uma dessas espécies é o tucunaré, que após sua introdução, tornou-se uma ameaça à diversidade nativa em muitas áreas do rio São Francisco, associada a diminuição da espécie predadora. A introdução de predadores pode ser catastrófica em comunidades complexas de peixe que envolvem uma especialização considerável em alimentação e reprodução (LÉVÊQUE, 1996).

Nos aspectos sociais, a recuperação deste recurso é particularmente importante em áreas rurais como uma fonte acessível e de baixo custo de alimento nutritivo, além de aumentar a renda de comunidades de pescadores, um dos mais desfavorecidos setores das comunidades que vivem nas circunvizinhanças dos grandes reservatórios ao longo do São Francisco.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Caracterização da espécie e sua problemática

O gênero *Pseudoplatystoma* compreende os maiores peixes da família Pimelodidae, da ordem dos Siluriformes, e esses podem ser encontrados nas principais bacias hidrográficas sul-americanas. Sua distribuição inclui os maiores rios das bacias hidrográficas da região biogeográfica Neotropical: o rio Paraná, Amazonas, Orinoco, São Francisco, entre outros (BURGESS, 1989).

Buitrago–Suárez e Burr (2007) abordaram que este gênero era constituído pelas espécies *Pseudoplatystoma corruscans*, *Pseudoplatystoma fasciatum* e *Pseudoplatystoma tigrinum* e o reclassificou em 8 espécies baseados na taxonomia clássica, através de identificações merísticas e morfométricas. As espécies são *Pseudoplatystoma fasciatum*, *Pseudoplatystoma tigrinum*, *Pseudoplatystoma corruscans*, *Pseudoplatystoma reticulatum*, *Pseudoplatystoma*

punctifer, *Pseudoplatystoma orinocoense* n. sp., *Pseudoplatystoma magdaleniatum* n. sp. e *Pseudoplatystoma metaense* n. sp., sendo 4 espécies encontradas no Brasil, *P. tigrinum* e *P. punctifer*, no rio Amazonas, *P. reticulatum*, no rio Paraná e *P. corruscans* nos rios Paraná e São Francisco.

O *Pseudoplatystoma corruscans* (Figura 1), conhecido no vale do São Francisco como surubim, tem corpo alongado e roliço, com o flanco e o dorso cobertos por máculas arredondadas, que lhe conferem a denominação popular de pintado em algumas regiões (BRITSKI et al., 1984). Não apresenta escamas, sendo revestido por pele espessa, com o primeiro raio das nadadeiras dorsal e peitorais precedidos por um acúleo.

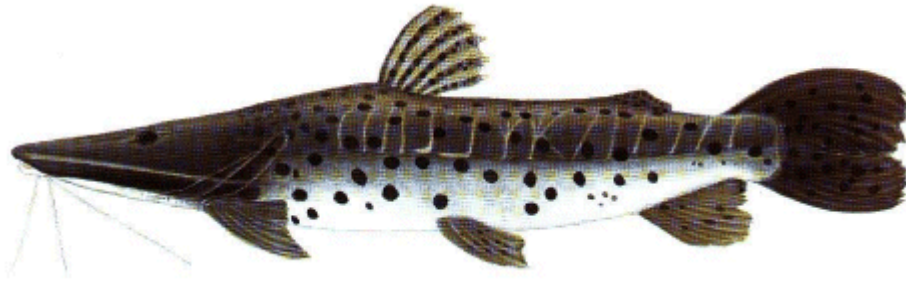


Figura 1 – *Pseudoplatystoma corruscans*, conhecido como pintado em algumas regiões devido as máculas arredondadas distribuídas pelo corpo. Fonte: <http://www.pescabrasil.com.br/especies/pintado.gif>

É um peixe de hábito alimentar estritamente piscívoro (MARQUES, 1993), podendo alcançar mais de 100 kg (FOWLER, 1951), sendo que as fêmeas crescem mais que os machos. São espécies com características migratórias, reproduzindo-se no leito do rio e apresentando um período reprodutivo relativamente curto, compreendendo os meses de chuva (novembro a janeiro), quando o rio recebe um grande aporte de água (CREPALDI et al., 2006).

No Brasil, os surubins são os peixes de água doce de maior valor comercial, considerados produtos nobres por apresentarem carne saborosa, com baixo teor de gordura e

ausência de espinhas intramusculares, o que os tornam adequados aos mais variados preparos. Essas características atendem às preferências atuais e futuras do mercado de peixe e fazem da carne do surubim um produto com grandes possibilidades de exportação (KUBITZA et al., 1998).

As cataratas de Paulo Afonso e seus lagos respectivos já constituíam um obstáculo natural à migração de peixes. A construção de hidrelétricas entre o médio e o submédio São Francisco trouxe quatro novas barreiras que impedem a migração ascendente, que são os reservatórios de Xingó, Complexo de Paulo Afonso, Itaparica e Sobradinho. Estas construções associadas a inundações, poluição, sobrepesca e à introdução de espécies exóticas podem alterar ecossistemas e ameaçam as espécies aquáticas nativas, especialmente aquelas que executam migração para reprodução (GODINHO et al., 1997).

Devido a esses fatores, o surubim é uma das espécies de peixe mais ameaçadas, com estoques próximos ao colapso (GODINHO et al., 2007). Um estudo feito em Pirapora (MG), mostrou que as capturas de surubim têm decrescido, de tal modo que em um intervalo de não mais que quinze anos foi reduzida em 75%, comprometendo não só a manutenção da espécie como também a continuidade das comunidades de pescadores (SUASSUNA, 2001).

O trecho mais crítico é o do submédio São Francisco (Figura 2), onde as capturas dessa espécie era considerável no lago de Sobradinho até o sexto ano após o enchimento do reservatório, mas caíram drasticamente durante os três anos seguintes, atingindo aproximadamente metade da quantidade inicial e continuando a diminuir com o passar dos anos, assim como em todo o restante do rio. À jusante do reservatório de Xingó, o surubim representou apenas 0,4% do pescado capturado no ano de 1997 (SATO e GODINHO, 2003). Relatos locais afirmam que até a construção da Hidrelétrica de Sobradinho (1979) capturava-se surubins na região, mas hoje esta espécie é tão rara, que é apelidada de “pé-de-cobra”.

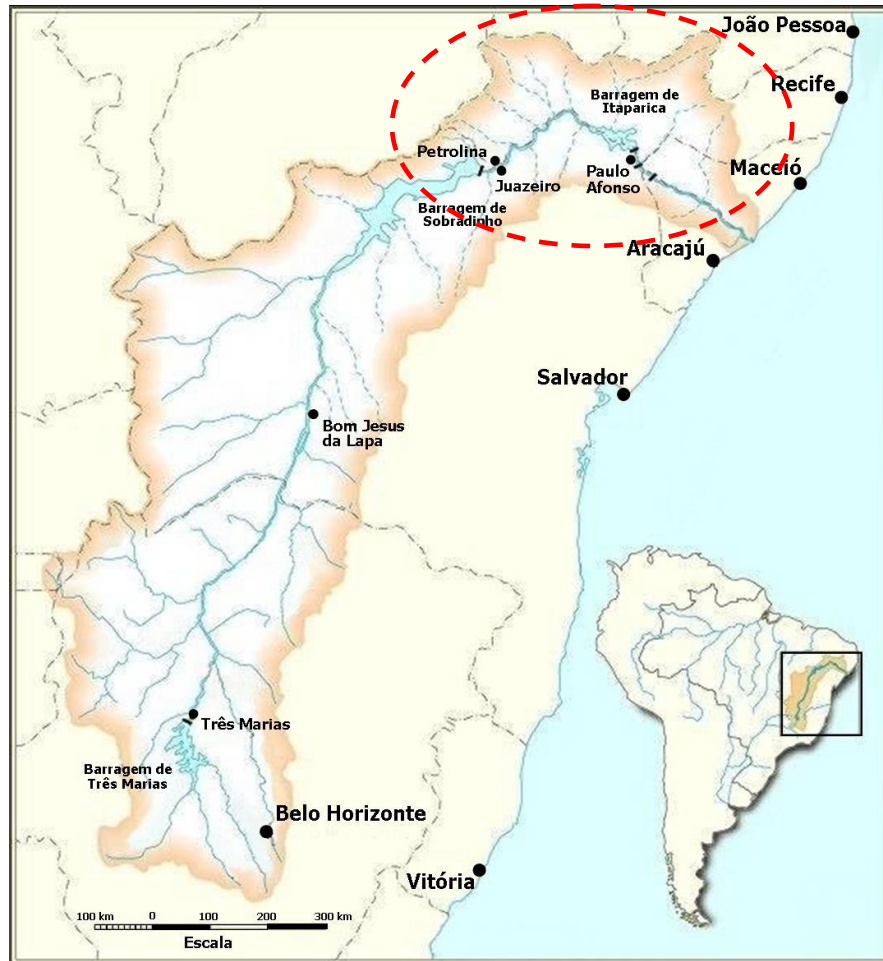


Figura 2 – Rio São Francisco, destacando-se a região do submédio São Francisco localizado entre Sobradinho (BA) e Belo Monte (AL), considerado o trecho mais crítico, correspondendo a 17% da bacia, onde relatos locais afirmam não encontrarem surubim na região.

2.2 Repovoamento e manutenção da variabilidade genética

No mundo, cerca de 70% dos recursos pesqueiros estão sobreexplorados, em declínio ou se recuperando do declínio (FAO, 1995). A preservação de espécies de peixes de água doce tem sido tradicionalmente conduzida através de programas de repovoamento, em que a conservação da variação genética é um componente essencial (AVISE, 1994).

O repovoamento é uma das ações de manejo mais praticada em todo o mundo (WELCOMME, 1988), constituindo-se na soltura deliberada de certa quantidade de peixes em um corpo de água qualquer, tais como lagos, açudes, represas e rios. Em geral podem ser classificadas em (a) introdução, quando efetuada com uma espécie de peixe não pertencente

àquela bacia receptora; (b) manutenção, quando são regulares, com a finalidade de manter uma população de peixes, que não é capaz de se reproduzir naturalmente no ambiente onde foi estocado; (c) suplementação, quando se deseja aumentar a população de determinada espécie de peixe, ou sua variabilidade genética (WHITE et al., 1995; AGOSTINHO et al., 2007).

Hallerman (2003) afirma que para manter a viabilidade e a adaptabilidade das populações é necessária a manutenção da variabilidade genética. Esta variabilidade permite que as espécies em condições naturais adaptem-se à diferentes situações (O'CONNEL e WRIGHT, 1997). Características valiosas como tolerância ao frio, melhor crescimento ou resistência a doenças podem ser conferidas por um único alelo ou em combinação com outros alelos ou *loci*. Cada variante alélica em cada *locus* codificante em uma população pode ser tomada como parte de um recurso genético da população (BEAUMONT e HOARE, 2003). Assim, se a persistência a longo prazo das espécies é o objetivo que a biologia da conservação pretende atingir, a variabilidade genética deve ser priorizada.

Acasalamentos entre indivíduos aparentados altera a variabilidade e conseqüentemente, estes cruzamentos aumentam a homoziguidade. O aumento da homoziguidade pode expor alelos deletérios e causar depressão por endogamia. Dessa forma pode haver uma diminuição da sobrevivência geral da população, bem como variação substancial no crescimento e no desempenho reprodutivo, e aumento da taxa de deformidades (KINCAID, 1983; TAVE, 1993). A retenção máxima da variabilidade genética é atingida através de cruzamentos de indivíduos selecionados geneticamente, mais do que por cruzamentos aleatórios (BALLOU e LACY, 1995).

Outro ponto em questão diz respeito ao cruzamento entre peixes oriundos de múltiplas populações, estes cruzamentos levam à perda da distinção genética de cada população individual, sua identidade populacional, ocasionando uma redução na adaptabilidade pela

ruptura de adaptações locais ou co-adaptabilidade de complexos gênicos (MILLER e KAPUSCINSKI, 2003).

A estrutura genética de uma espécie refere-se à distribuição da variabilidade e resulta de diversos fatores, como o sistema de acasalamento, fluxo gênico, níveis de endogamia e deriva gênica. Parâmetros como frequências alélicas, heterozigosidades esperada e observada, número de alelos, índices de fixação de Wright (F_{IS} , F_{IT} , F_{ST}), índices de relação, representatividade genética, tamanho efetivo populacional, entre outros são estimados para o conhecimento da estrutura genético-populacional, sendo esses parâmetros obtidos com a utilização de marcadores moleculares utilizados nesses estudos (ZUCCHI, 2002).

2.3 Marcadores moleculares - Microssatélites

Um grande avanço nas pesquisas genéticas voltadas a aquicultura foi dado com o emprego da tecnologia dos marcadores de DNA. Um marcador de DNA é tipicamente uma pequena região do DNA apresentando polimorfismo entre indivíduos (LIU, 1998).

Os marcadores permitem o estudo comparativo de genótipos e esse termo tem sido utilizado para designar fatores morfológicos, bioquímicos ou genéticos passíveis de serem identificados (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998). Eles têm sido utilizados para diversas aplicações como avaliação da variabilidade genética em cruzamentos endogâmicos, transmissão parental, caracterização de espécies e linhagens, hibridização e construção de mapas de ligação para a identificação de loci de herança quantitativa (QTLs) (LIU e CORDES, 2004; ROMANA-EGUIA et al., 2005).

Dentre esses marcadores moleculares, destacam-se os de microssatélite que possuem todas as características desejáveis a serem utilizadas em estudos de genética de populações, por apresentarem alto polimorfismo, serem co-dominantes e seletivamente neutros (POWELL et al., 1996).

Microssatélites são repetições simples de pequenas unidades no genoma, de um a seis pares de bases, chamados motivos, organizados em *tandem*. Encontra-se abundantemente nos eucariontes, distribuídas em todo o genoma, sendo estimadas em frequência de uma a cada 10 kb nos peixes (WRIGHT, 1993). Elas são encontradas dentro das regiões não codificantes, introns, e nas sequências não gênicas, e apresentam herança mendeliana simples (CURRAN, 1997). São regiões altamente polimórficas e seu alto polimorfismo é devido ao número de repetições. O polimorfismo das sequências de microssatélite é baseado nas diferenças de comprimento das sequências amplificadas, pois o número de repetições em cada microssatélite é variável (LITT e LUTY, 1989; WEBER et al., 1989).

As regiões de microssatélites são flanqueadas por regiões conservadas de DNA, o que permite a construção de *primers* a partir dessas sequências, que amplifiquem as regiões repetitivas pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) utilizando quantidades mínimas de DNA nas reações.

Além disso, as sequências de microssatélites apresentam comportamento co-dominante, onde ambos os alelos de um indivíduo heterozigoto são visualizados, sendo comumente usados no campo da pesca e aquicultura (CHISTIAKOV et al., 2006). Dentre as suas variadas aplicações, eles podem ser utilizados em estudos que abordam análises de estrutura genético-populacional (PEREZ-ENRIQUEZ e TANIGUCHI, 1999; PEREZ-ENRIQUEZ et al., 2001; BALLOUX e LUGON-MOULIN, 2002; BOUDRY et al., 2002; COIMBRA et al., 2003).

Os marcadores de microssatélites estão sendo cada vez mais utilizados em análises de estrutura populacional de vários organismos aquáticos como ostras (NACIRI et al., 1995) e peneídeos (WOLFUS et al., 1997; CRUZ et al., 2004; VALLES-JIMENEZ et al., 2005), além de estar sendo amplamente utilizado em peixes (SLETTAN et al., 1993; NIELSEN et al., 1999; SALGUEIRO et al., 2003; LIU e CORDES, 2004).

3. ARTIGO CIENTÍFICO**AVALIAÇÃO DA ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES SELVAGENS DE SURUBIM, *Pseudoplatystoma corruscans* (Spix e Agassiz, 1829) COMO SUBSÍDIO PARA O REPOVOAMENTO DO SUBMÉDIO SÃO FRANCISCO, NORDESTE, BRASIL**

Artigo a ser submetido para o Fisheries Management and Ecology.

DANTAS, H. L.¹; OLIVEIRA, K.K.C¹.; SEVERI, W.²; MAGGIONI, R.³; COIMBRA, M. R. M.^{1*}

¹ Departamento de Pesca e Aqüicultura, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil; Laboratório de Genética Aplicada – LAGA, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil

² Departamento de Pesca e Aqüicultura, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil; Laboratório de Ictiologia – LAICT, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil

³ Departamento de Pesca, Universidade Federal do Ceará, Brasil

* Autor para correspondência:

Maria Raquel Moura Coimbra, Departamento de Pesca e Aqüicultura, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n – Dois Irmãos Recife-PE, Brasil, 52171-900, Tel: 81-33206522, Fax: 81-33206515 email: raquel@depaq.ufrpe.br.

Resumo

O rio São Francisco é conhecido como “rio da integração nacional” devido ao seu curso percorrer cinco estados brasileiros. Construção de hidrelétricas associadas a outros fatores comprometem os peixes nesse ambiente, principalmente aqueles que executam migração. O *Pseudoplatystoma corruscans*, conhecido como surubim, é considerado o primeiro predador da bacia do rio São Francisco, sendo um peixe que executa migração e tendo seus estoques comprometidos devido às problemáticas existentes nesta bacia, especialmente na região do submédio São Francisco, sendo necessário investimentos em programas de propagação artificial para a recuperação de seus estoques naturais. Recomenda-se a utilização de um grande número de reprodutores em programas de repovoamento, porém entraves como mão-de-obra e manejo despertam a necessidade da criação de um estoque fundador que mantenha uma diversidade genética compatível com as das populações naturais. O presente trabalho objetivou avaliar a estrutura genética de populações selvagens de surubim do rio São Francisco, através da utilização de marcadores moleculares de microssatélite. Um total de 128 amostras de três populações foram analisadas para seis diferentes marcadores de microssatélite. Os produtos de PCR foram separados por eletroforese em gel de poliacrilamida e corados com nitrato de prata. Os resultados mostraram que apenas o *locus* Pcor28 mostrou-se monomórfico. O número médio de alelos foi de 7,8 para todas as populações e o número médio de alelos efetivos foi de 4,7 para as populações de Remanso e Bom Jesus da Lapa e 4,6 para a população de Três Marias. No total foram encontrados 47 alelos, sendo 6 alelos privados. As heterozigosidades esperadas apresentaram média de 0,7498 para a população de Remanso, 0,7142 para a população de Três Marias e 0,7372 para a população de Bom Jesus da Lapa. As médias da heterozigosidade observada foram 0,7170, 0,6643 e 0,7132 para as populações de Remanso, Três Marias e Bom Jesus da Lapa respectivamente. Os *loci* que apresentaram desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg foram Pcor5 e Pcor21 para a população de Remanso, e apenas Pcor2 para as populações de Três Marias e Bom Jesus da Lapa. Os valores médios de F_{IS} encontrados foram 0,0348, 0,0583 e 0,0160 para as populações de Remanso, Três Marias e Bom Jesus da Lapa respectivamente. O índice de fixação F_{ST} obtido foi de 0,0246, indicando um pequeno grau de diferenciação entre as populações estudadas. Uma grande diversidade alélica foi encontrada nas populações estudadas, e o universo de alelos compartilhados entre as populações associados ao baixo valor do F_{ST} indicam que se trata de uma população panmítica. Com esse resultado, surubins capturados em toda a extensão do rio São Francisco poderiam ser utilizados no repovoamento, podendo buscar indivíduos de tamanhos maiores reduzindo o tempo de manejo em programas de repovoamento. Sendo assim, este trabalho caracterizou as populações selvagens quanto a sua variabilidade genética, podendo ser utilizado como parâmetro para a construção do estoque fundador que será utilizado em programas de repovoamento ou na validação de estoques fundadores já existentes, bem como no monitoramento desses estoques a longo prazo.

1. Introdução

O rio São Francisco apresenta 2700 km de extensão e percorre cinco estados brasileiros, que são os estados de Minas Gerais, Bahia, Pernambuco, Alagoas e Sergipe, sendo por este motivo chamado de “rio da integração nacional” (Ministério da Integração Nacional 2009).

As cataratas de Paulo Afonso (nordeste brasileiro) e seus lagos respectivos já constituíam um obstáculo natural à migração de peixes e a construção de hidrelétricas localizadas entre o médio e o submédio São Francisco, trouxe quatro novas barreiras que associadas a inundações, poluição, sobrepesca e introdução de espécies exóticas, alteraram ecossistemas e ameaçam as espécies aquáticas nativas, especialmente aquelas que executam migração para reprodução (Godinho *et al.* 1997).

Pseudoplatystoma corruscans, uma espécie de bagre conhecido como surubim ou pintado, é uma das espécies de peixe mais ameaçadas da bacia do São Francisco. Ele é o primeiro predador da bacia, efetua piracema no período reprodutivo e é considerada a mais apreciada espécie de água doce do nordeste brasileiro (Marques 1993). Estudos mostram que a captura do surubim no rio São Francisco encontram-se próximas ao colapso e que a construção de novas barragens no curso principal do rio irão levar esta espécie à extinção nos próximos anos (Godinho & Godinho 2003; Godinho, Kynard & Godinho 2007).

No mundo, cerca de 70% dos recursos pesqueiros estão sobreexplorados, em declínio ou se recuperando do declínio e a preservação de espécies de peixes de água doce tem sido tradicionalmente conduzida através de programas de repovoamento (FAO, 1995).

A Estação de Piscicultura de Paulo Afonso (EPPA) desenvolve ações de repovoamento há mais de 35 anos, em atendimento à legislação e, recentemente, como condicionante de operação de seus empreendimentos. Paralelamente, o IBAMA vem efetivando, nos termos de uma Instrução Normativa, a ordenação das ações de repovoamento, transformando-as em programas que contemplem diversos aspectos dos ecossistemas que se deseja manejar. Dentre

estes está a preocupação com a manutenção da diversidade genética de cada espécie, um componente essencial que as permite adaptarem-se às adversidades do meio. Sem uma aderência adequada a princípios básicos de genética, a integração pretendida entre os animais do cativeiro e os de ambiente natural pode ter conseqüências adversas.

Cada variante alélica em cada *locus* codificante em uma população pode ser tomada como parte de um recurso genético da população. Um alelo sozinho, ou em combinação com outros alelos ou *loci*, pode ser responsável por conferir a seu portador uma característica valiosa, como um aumento de resistência a uma doença, uma melhor tolerância ao frio ou melhor crescimento (Beaumont & Hoare, 2003). Assim, se a persistência a longo prazo das espécies é o objetivo que a biologia da conservação pretende atingir, a variabilidade genética deve ser priorizada.

Um grande avanço nas pesquisas voltadas à aquicultura foi dado com o emprego da tecnologia de marcadores moleculares, destacando-se os de microssatélites, por possuírem características desejáveis como alto polimorfismo, serem co-dominantes e seletivamente neutros (Powell, Machray & Provan 1996). Eles tem sido usados com sucesso na obtenção de parâmetros genéticos, sendo amplamente utilizados em estudos que abordam análises de estrutura genético-populacional (Perez-Enriquez & Taniguchi 1999; Perez-Enriquez *et al.* 2001; Balloux & Lugon-Moulin 2002; Boudry *et al.* 2002).

A manutenção da variabilidade genética e conservação desta espécie são essenciais para os programas de repovoamento da bacia do São Francisco, bem como para as populações que vivem às margens do rio, como uma fonte acessível e de baixo custo de alimento nutritivo.

O objetivo do presente trabalho foi realizar a genotipagem das populações selvagens de surubim do rio São Francisco, com o intuito de fornecer subsídio para o desenvolvimento de programas de repovoamento baseados no conhecimentos das populações selvagens para manutenção da variabilidade genética local.

2. Material e Métodos

2.1 Coleta das amostras

Tecido retirado da nadadeira adiposa de 128 indivíduos de surubim foram coletados em três portos de desembarque (Fig. 1), em Remanso (BA) (44 amostras), Bom Jesus da Lapa (BA) (40 amostras) e Três Marias (MG) (44 amostras), e armazenados em etanol a 95%.

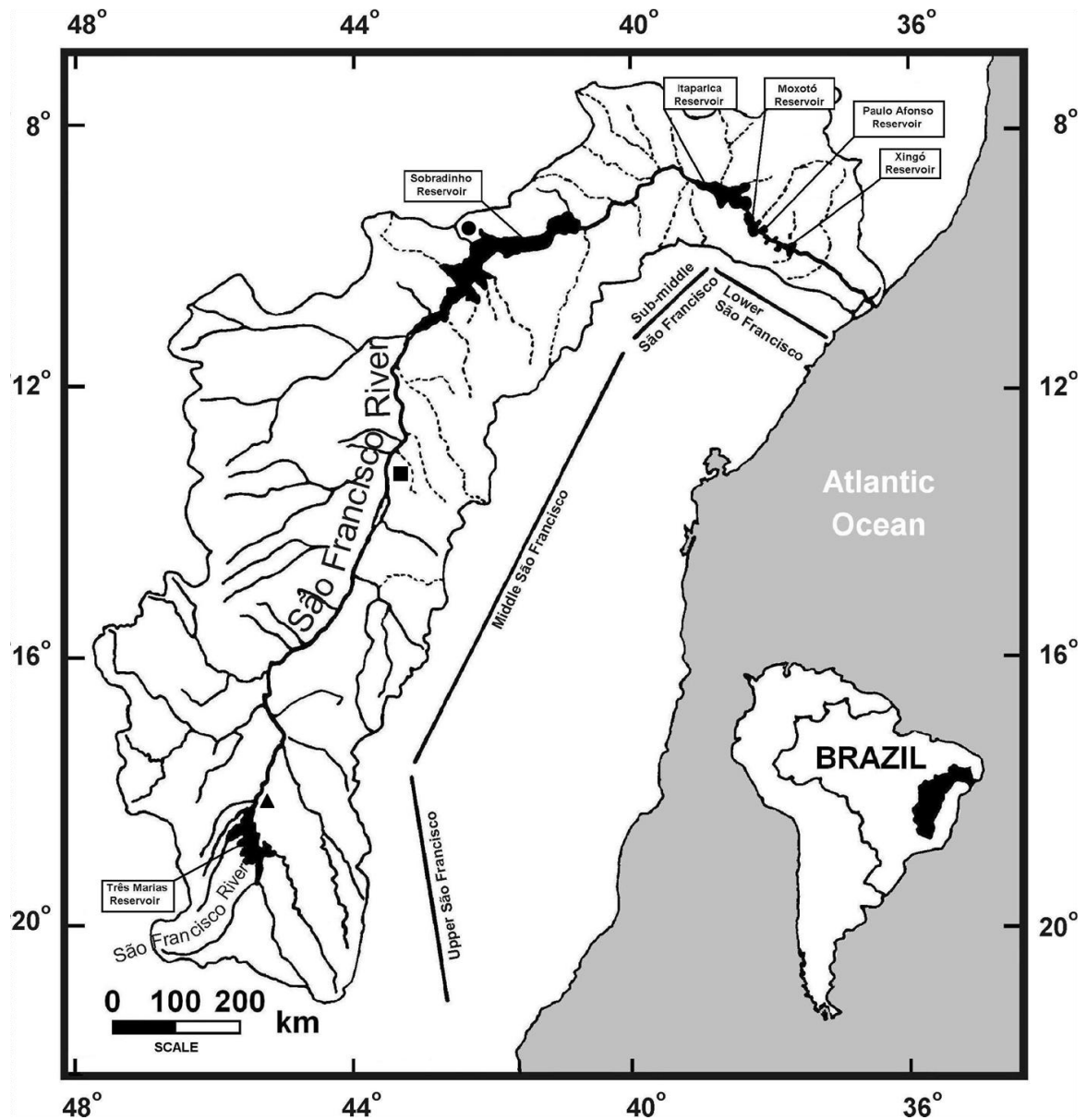


Figura 1 – Bacia do rio São Francisco, destacando-se os pontos de coleta em Remanso-BA (círculo), Bom Jesus da Lapa-BA (quadrado) e Três Marias-MG (triângulo), locais onde as capturas de surubim ainda são registradas.

2.2 Extração do DNA genômico

O DNA genômico foi extraído de acordo com Sambrook *et al.* (1989) tendo 10 mg de tecido sido digeridos em 100 mM NaCl, 20 mM Tris-HCl (pH 8,0), 100 mM EDTA, com SDS a uma concentração final de 0,05% e 100 ug/ml de Proteinase K. Após a digestão enzimática, a fase aquosa foi extraída uma vez com fenol, uma vez com fenol/clorofórmio/álcool isoamílico e uma vez com clorofórmio. O DNA foi precipitado com etanol absoluto resfriado e lavado com etanol a 70%. Em seguida, o DNA foi secado a temperatura ambiente e ressuspendido em TE (0,01 M Tris-HCl pH 7,4; 2,5 mM EDTA pH 8,0).

2.3 Amplificações dos *loci* de microssatélites por PCR

Foram utilizados seis pares de primers disponíveis na literatura para esta espécie (Revaldaves *et al.* 2005; Pereira, Foresti & Oliveira 2009). A PCR foi conduzida em uma solução com volume final de 10 ul contendo 10 pmol de cada primer, tampão de PCR 1X (50 mM de KCl, 10 mM de Tris-HCl, pH 8,3), 1,5 mM de MgCl₂, 200 uM de cada dNTP, 1U de *Taq* DNA Polimerase Platinum (Invitrogen) e 20 ng de DNA genômico. Os ciclos térmicos consistiram-se de desnaturação inicial a 95°C por 4 min, seguida de 35 ciclos de 95°C por 30 s, uma temperatura específica de anelamento de primer por 30 s, 72°C por 1 min e uma extensão final de 10 min a 72°C. As temperaturas de anelamento foram 56°C para os primers Pcor1, Pcor5 e Pcor21 e 58°C para os primers Pcor2, Pcor10 e Pcor28.

2.4 Genotipagem de microssatélites

Os produtos de PCR foram separados por eletroforese em gel de poliacrilamida a 6% . A eletroforese foi conduzida a 1500 V, 60 MA e 55 W e durou em média 2 horas. Para a visualização do DNA, foi utilizado um protocolo padrão de coloração em nitrato de prata. Os

géis foram expostos a uma solução fixadora (ácido acético a 10%), corados com nitrato de prata a 0,01% e revelados com carbonato de sódio a 3%. Foi utilizado um marcador de peso molecular de 10 bp (Invitrogen) para estimar os tamanhos dos alelos. Ao término do processo de revelação, o gel foi scaneado e suas imagens foram processadas usando o Molecular Imaging Software Version 4.0 (©1994-2005 EASTMAN KODAK COMPANY, Rochester, New York, USA), para avaliação do tamanho aproximado dos alelos.

Para a verificação dos alelos compartilhados foi feita uma comparação do universo de alelos das populações, onde os produtos de PCR das três populações para cada *locus* foram separados por eletroforese em gel de poliacrilamida a 6%.

2.5 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas através de programas computacionais utilizados em estudos genético-populacionais. Parâmetros genéticos, tais como heterozigosidade observada e esperada (H_o e H_e), frequências alélicas e genótípicas, testes para o desequilíbrio de ligação, desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) e coeficiente de endocruzamento (F_{IS}) de cada população para cada locus foram calculados usando-se o software Genepop 4.0 (Raymond & Rousset 1995). O teste para o desequilíbrio de ligação e o desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg foram corrigido pelo método de Bonferroni (Rice 1989).

O número de alelos efetivos e os alelos privados foram obtidos pelo programa GenAIEx 6.3 (Peakall & Smouse 2006). Para testar a possibilidade da ocorrência de alelos nulos, que pode ser uma das causas para deficiências no número de heterozigotos, foi utilizado o programa Micro-checker (Oosterhout *et al.* 2004). O F_{ST} , que mede o grau de diferenciação ou magnitude da variação devida a diferenças entre as populações e sua significância analisada pela variância molecular (AMOVA) foram estimados usando o software Arlequin 3.01 (Schneider, Roessli & Excoffier 2000).

O conteúdo de informação polimórfica (PIC), que indica o quanto o marcador utilizado pode ser informativo, foi calculado de acordo com Botstein *et al.* (1980).

3. Resultados

A variabilidade genética das populações selvagens de surubim para os cinco loci está descrita na Tabela 1. O *locus* Pcor28 apresentou-se monomórfico para todas as populações.

O número médio de alelos encontrados para as populações estudadas foi 7,8 para as três populações e o número médio de alelos efetivos, aqueles que são passados à geração seguinte, foram 4,7 para as populações de Remanso e Bom Jesus da Lapa e 4,6 para a população de Três Marias. O *locus* Pcor2 foi o que apresentou o maior número de alelos (14) e o Pcor1 foi aquele que apresentou o menor número de alelos (quatro) para todas as populações. Os tamanhos dos alelos para todos os *loci* está representado na Tabela 2.

Para todas as amostras foi obtido um número total de 47 alelos, sendo 39 alelos para cada população. Desses 47 alelos, 6 alelos são privados, encontrados apenas nas populações de Remanso e Três Marias (Tabela 3).

As heterozigosidades esperadas apresentaram média de 0,7498 para a população de Remanso, 0,7142 para a de Três Marias e 0,7372 para a de Bom Jesus da Lapa. As médias da heterozigosidade observada foram 0,7170, 0,6643 e 0,7132 para as populações de Remanso, Três Marias e Bom Jesus da Lapa, respectivamente.

O desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) quando corrigido por Bonferroni (Rice 1989) mostrou-se não significativo para os *loci* Pcor1, Pcor2 e Pcor10 e significativo para os *loci* Pcor5 e Pcor21 na população de Remanso ($P < 0,05$). As populações de Três Marias e Bom Jesus da Lapa apresentaram quase todos os *loci* em equilíbrio de Hardy-Weinberg à exceção do *locus* Pcor2 para ambas ($P < 0,05$) (Tabela 1).

As análises do desequilíbrio de ligação corrigidas por Bonferroni (Rice, 1989) mostraram-se não significativas para todos os pares de locos. O conteúdo de informação polimórfica (PIC) variou de 0,472 a 0,870 para a população de Remanso, de 0,406 a 0,873 para a de Três Marias e de 0,497 a 0,899 para a de Bom Jesus (Tabela1).

Os valores médios de F_{IS} encontrados para as populações de Remanso, Três Marias e Bom Jesus da Lapa foram 0,0348, 0,0583 e 0,0160, respectivamente. O índice de fixação F_{ST} obtido foi de 0,0176 entre as populações de Remanso e Três Marias, 0,0342 entre Remanso e Bom Jesus da Lapa e 0,0220 entre Três Marias e Bom Jesus da Lapa. O F_{ST} total foi de 0,0246, indicando um grau de diferenciação entre as populações de surubim do rio São Francisco. Pela análise de variância molecular (AMOVA), a variação entre as populações estudadas foi de 0,0245, a variação entre indivíduos dentro das populações foi de 0,0470 e a variação entre indivíduos foi de 0,9283.

Tabela 1. Variabilidade genética das populações selvagens do *Pseudoplatystoma corruscans* para os *loci* analisados.

População					
Remanso					
	Pcor1	Pcor2	Pcor 5	Pcor10	Pcor21
N	44	44	43	44	44
A ¹	3	14	8	8	6
A _e ²	2,1	8,4	4,6	3,7	4,5
na ³	não	sim	não	não	não
H _e ¹	0,5347	0,8921	0,7939	0,7390	0,7897
H _o ¹	0,5454	0,7045	0,7674	0,7500	0,8181
HWE ¹	ns	ns	*	ns	*
F _{IS} ¹	-0,0203	0,2122	0,0338	-0,0150	-0,0365
PIC ⁴	0,472	0,870	0,761	0,695	0,749
Bom Jesus					
	Pcor1	Pcor2	Pcor 5	Pcor10	Pcor21
N	40	39	40	40	40
A ¹	3	13	8	8	7
A _e ²	2,3	10,7	3,7	3,2	3,7
na ³	não	sim	não	não	não
H _e ¹	0,5750	0,9190	0,7446	0,7028	0,7446
H _o ¹	0,6000	0,6410	0,7250	0,7000	0,9000
HWE ¹	ns	*	ns	ns	ns
F _{IS} ¹	-0,0441	0,3053	0,0267	0,0041	-0,2119
PIC ⁴	0,497	0,899	0,693	0,650	0,691
Três Marias					
	Pcor1	Pcor2	Pcor 5	Pcor10	Pcor21
N	43	42	43	42	43
A ¹	4	12	8	8	7
A _e ²	1,8	8,6	6,3	2,9	3,3
na ³	não	sim	não	não	não
H _e ¹	0,4497	0,8952	0,8517	0,6681	0,7067
H _o ¹	0,4090	0,6428	0,8372	0,6190	0,8139
HWE ¹	ns	*	ns	ns	ns
F _{IS} ¹	0,0695	0,2844	0,0172	0,0743	-0,1538
PIC ⁴	0,406	0,873	0,821	0,628	0,641

n = número amostral; A = número de alelos; na = Presença de alelos nulos; Ho = heterozigiosidade observada; He = heterozigiosidade esperada; Fontes: ¹Genepop; ²Genalex; ³Micro-Cheker; ⁴Botstein (1980); HWE = Equilíbrio de Hardy-Weinberg, ns = não significante; * p<0,05, corrigido por Bonferroni, K=15; PIC=Conteúdo de informação polimórfica; F_{IS}=Coeficiente de endogamia.

Tabela 2. Tamanho dos alelos e suas frequências (entre parênteses) por *loci* analisados.

<i>Locus</i>																		
Pcor1																		
População	Alelos																NT	
Remanso	-	106 (0,6364)	108 (0,1932)	110 (0,1705)														3
Bom Jesus	-	106 (0,5750)	108 (0,1375)	110 (0,2875)														3
Três Marias	103 (0,0116)	106 (0,7209)	108 (0,1395)	110 (0,1279)														4
Pcor2																		
População	Alelos																NT	
Remanso	190 (0,0114)	192 (0,0114)	195 (0,0114)	-	199 (0,0114)	201 (0,1023)	204 (0,1477)	206 (0,1364)	-	210 (0,1477)	212 (0,1136)	214 (0,0909)	216 (0,0341)	220 (0,1477)	222 (0,0227)	225 (0,0114)	14	
Bom Jesus	-	-	195 (0,0513)	-	199 (0,0897)	201 (0,0897)	204 (0,0385)	206 (0,1410)	207 (0,0641)	210 (0,1026)	212 (0,0897)	214 (0,1282)	216 (0,0897)	220 (0,0513)	222 (0,0513)	225 (0,0128)	13	
Três Marias	-	-	-	197 (0,0119)	199 (0,0952)	201 (0,1071)	204 (0,0357)	206 (0,1071)	207 (0,1071)	210 (0,1786)	212 (0,1310)	214 (0,1190)	216 (0,0119)	220 (0,0833)	222 (0,0119)	-	12	
Pcor5																		
População	Alelos																NT	
Remanso	144 (0,0465)	147 (0,0465)	148 (0,0930)	150 (0,1628)	152 (0,1279)	153 (0,3837)	155 (0,0349)	157 (0,1047)										8
Bom Jesus	144 (0,0125)	147 (0,0375)	148 (0,3750)	150 (0,2875)	152 (0,0250)	153 (0,0625)	155 (0,1875)	-	159 (0,0125)									8
Três Marias	144 (0,0581)	147 (0,1163)	148 (0,1395)	150 (0,2209)	152 (0,1512)	153 (0,1977)	155 (0,1047)	-	159 (0,0116)									8
Pcor10																		
População	Alelos																NT	
Remanso	150 (0,0227)	160 (0,1136)	163 (0,2045)	171 (0,1591)	177 (0,0114)	-	181 (0,4318)	184 (0,0455)	191 (0,0114)									8
Bom Jesus	-	160 (0,1375)	163 (0,1000)	171 (0,2500)	177 (0,0125)	179 (0,0125)	181 (0,4625)	184 (0,0125)	191 (0,0125)									8
Três Marias	150 (0,0119)	160 (0,0595)	163 (0,1310)	171 (0,1667)	-	179 (0,0119)	181 (0,5357)	184 (0,0595)	191 (0,0238)									8
Pcor21																		
População	Alelos																NT	
Remanso	-	111 (0,3409)	112 (0,1477)	114 (0,0909)	117 (0,2045)	119 (0,1705)	121 (0,0455)	-										6
Bom Jesus	107 (0,0125)	111 (0,3375)	112 (0,1125)	114 (0,0125)	117 (0,3375)	119 (0,1500)	121 (0,0375)	-									7	
Três Marias	107 (0,0116)	111 (0,2326)	112 (0,0116)	114 (0,0116)	117 (0,3837)	119 (0,3140)	-	123 (0,0349)										7

NT= número total de alelos por *locus*

Tabela 3. Tamanho dos alelos privados e suas frequências (entre parênteses) para os *loci* analisados.

	Remanso	Três Marias	Bom Jesus	Total
Pcor1	-	103 (0,012)	-	1
Pcor2	190 (0,011) 192 (0,011)	197 (0,012) -	- -	3
Pcor5	157 (0,105)	-	-	1
Pcor10	-	-	-	-
Pcor21	-	123 (0,035)	-	1
Total	3	3		6

4. Discussão

Já foram realizados muitos estudos com marcadores de microssatélites para peixes de água doce como ciclídeos (WU *et al.*, 1999) e bagres (SRIPHAIROJ *et al.*, 2007; NANAKORN & MOEIKUM, 2009), sendo este o primeiro trabalho avaliando a estrutura genética de populações selvagens de *Pseudoplatystoma corruscans* no rio São Francisco.

Todos as microssatélites analisadas apresentaram polimorfismo, a exceção do Pcor28 que se apresentou monomórfico. Em um trabalho com seis populações selvagens de surubim da bacia do Paraná (Pereira *et al.* 2009) o Pcor28 apresentou polimorfismo variando de 4 a 6 alelos para as populações. Porém, em um outro trabalho realizado na bacia do Alto Paraguai com uma população selvagem dessa mesma espécie (Abreu 2008), este marcador apresentou-se monomórfico de modo semelhante ao presente estudo.

O número médio de alelos encontrados para as populações estudadas foi de 7,8 para cada uma. Em um trabalho realizado com 43 indivíduos de uma população selvagem de surubim da Bacia do Paraná o número médio de alelos encontrados foi 11,8 (Revaldaves *et al.* 2005). Em um outro trabalho, Pereira *et al.* (2009) obtiveram um número médio de 15,8 alelos no para seis populações selvagens da espécie nesta mesma bacia. Esses resultados diferem daqueles obtidos por Abreu (2008), que encontrou um número médio de 8,6 alelos

em uma população selvagem de surubim na bacia do Alto Paraguai, sendo esses valores próximos aos relatados neste trabalho.

Revaldaves *et al.* (2005) registrou valor médio da heterozigosidade esperada de 0,814 e a da observada de 0,563. Quando comparados a este trabalho, os valores para a heterozigosidade esperada encontram-se próximos, porém os valores para a observada apresentam-se inferiores comparados aos das populações desse estudo. Para ambos os trabalhos, os valores das heterozigosidades observadas foram inferiores aos das esperadas indicando um aumento no número de homozigotos.

Este deficit de heterozigotos também foi refletido no teste do desvio do equilíbrio de Hardy-Weiberg, onde os *loci* Pcor5 e Pcor21 apresentaram desvio para a população de Remanso. Nas populações de Três Marias e Bom Jesus da Lapa apenas o *locus* Pcor2 se apresentou em desequilíbrio. Esse desequilíbrio pode ser ocasionado por diversos fatores como amostragem não randômica, consanguinidade e presença de alelos nulos. Revaldaves *et al.* (2005) encontraram desvio significativo para quatro dos cinco *loci* analisados e atribuíram esse desvio a esses fatores. Alelos nulos são resultantes de mutações ocorridas nas regiões do DNA-alvo, em um ou em ambos os sítios de ligação dos *primers*, impossibilitando amplificação desse alelo. A presença de alelos nulos é muito comum em *locus* de microssatélites (Callen *et al.* 1993; O'Connell & Wright 1997).

Além das mutações ocorridas nos sítios de ligação dos *primers*, Wattier *et al.* (1998) justificaram que o aparecimento de alelos nulos poderia ser causado pela amplificação diferencial de alelos de tamanhos diferentes. Nas reações de PCR, os alelos de menor tamanho mostram-se mais eficientes na competição para a amplificação do que os de maiores tamanhos, sendo assim, apenas os alelos de menores tamanhos poderiam ser detectados nos

indivíduos heterozigotos. Outra justificativa para a presença de alelos nulos, seria a baixa qualidade do DNA ou quantidade insuficiente nas reações (Benites 2008).

Apenas para o *locus* Pcor2 foi confirmada a presença de alelos nulos, o qual apresentou desvio do Equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) em duas das três populações analisadas. Para os demais *loci* que apresentaram desvio significativo do equilíbrio de Hardy-Weinberg, esse desvio poderia ser atribuído à endogamia, porém os baixos valores do F_{IS} (Tabela 1) ressaltam que este desequilíbrio não representa um deficit significativo de heterozigotos, ou seja, a endogamia não é importante nessas populações.

A análise do desequilíbrio de ligação foram corrigidas por Bonferroni (Rice 1989) e mostraram-se não significativas para todos os pares de *locus* em todas as populações. Esses mesmo resultado foi obtido no trabalho desenvolvido por Revaldaves *et al.* (2005), que afirmaram não ter encontrado *locus* ligados em 43 indivíduos de uma população selvagem da bacia do Paraná.

Com relação ao conteúdo de informação polimórfica (PIC), que indica o quanto o marcador utilizado pode ser informativo, Botstein *et al.* (1980) classificam marcadores de PIC superiores a 0,5 como muito informativos, valores entre 0,25 e 0,5 mediamente informativos e valores inferiores a 0,25 pouco informativos. Os valores apresentados neste trabalho variaram de 0,472 a 0,870 para a população de Remanso, de 0,406 a 0,873 a população de Três Marias e de 0,497 a 0,899 para a de Bom Jesus indicando valores de mediamente a muito informativos.

O F_{ST} total foi de 0,0246 entre as populações estudadas. Valores de F_{ST} entre 0 e 0,05 indicam uma pequena diferenciação genética, valores entre 0,05 e 0,15 indicam uma moderada diferenciação, valores entre 0,15 e 0,25 indicam uma grande diferenciação e valores acima de 0,25 indicam uma diferenciação genética muito elevada (Hartl & Clark 1997). Os

valores encontrados neste trabalho mostram uma pequena diferenciação genética entre as populações deste estudo, porém a maior parte da diferença entre as populações se deve a variações intrapopulacionais. Este fato pode ser confirmado pela AMOVA, onde a variação entre as populações foi de 0,0245, a variação dentro das populações foi de 0,0470 e a variação entre indivíduos foi de 0,9283.

O baixo valor do F_{ST} total e o número de alelos e o tamanho deles descritos na Tabela 2, demonstram que as populações compartilham os mesmos alelos, em sua maioria, indicando tratar-se de uma população panmítica. Com esses resultados, surubins capturados em toda a extensão do São Francisco poderiam ser utilizados no programa de repovoamento da região do submédio São Francisco.

O município de Remanso poderia ser utilizado como local de captura dos indivíduos para o programa de repovoamento dessa região por ser o local mais próximo à região onde será feito o repovoamento, porém esta região é considerada um local de alimentação e abrigo de peixes de menores tamanhos. Dessa forma, seria indicado a utilização de indivíduos de maiores tamanhos para a redução do tempo de manejo dos indivíduos utilizados nos programas de propagação artificial, podendo esses indivíduos serem capturados na região de Três Marias que recebe um grande aporte de peixes de tamanhos maiores na época reprodutiva.

Com esses resultados, as populações selvagens de surubim no rio São Francisco foram caracterizadas podendo agora servir como parâmetro para a construção do estoque fundador que será utilizado em programas de repovoamento ou na validação de estoques já existentes.

5. Referências

ABREU, M.M.. (2008) **Estudos genéticos comparativos entre populações de *Pseudoplatystoma reticulatum* (Eigenmann & Eigenmann, 1889), (Pisces Siluriformes) provenientes dos rios Paraguai e Jauru, e uma população de *Pseudoplatystoma***

corruscans (Spix & Agassiz, 1829) (Pisces Siluriformes), proveniente do rio Paraguai. Dissertação de Mestrado, Universidade do Estado de Mato Grosso, Mato Grosso, pp. 48.

BALLOUX, F. & LUGON-MOULIN, N. (2002) The estimation of population differentiation with microsatellite markers. **Molecular Ecology**, 11, p. 155-165.

BEAUMONT, A. R. & HOARE, K. (2003) Biotechnology and genetics in fisheries and aquaculture. ed. **Blackwell Publishing**, Oxford, 158p.

BENITES, C. (2008) **Caracterização genética do pintado *Pseudoplatystoma corruscans*, (Spix & Agassiz, 1829) (Siluriformes: Pimelodidae) da Bacia Paraná-Paraguai, por marcadores moleculares do tipo microssatélites**. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, pp. 90.

BOTSTEIN D., WHITE R. P., SKOLNICK M. & DAVIS R. W. (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journals of Human Genetics**, 32, p. 314–331.

BOUDRY, B. COLLET, F. CORNETTE, V. HERVOUET & F. BONHOMME. (2002) High variance in reproductive success of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*, Thunberg) revealed by microsatellite-based parentage analysis of multifactorial crosses. **Aquaculture**, 204, p.283–296.

CALLEN, D.F.; THOMPSON, A.D.; SHEN, Y.; PHILLIPS, H.A.; RICHARDS, R.I.; MULLEY, J.C. & SUTHERLAND, G.R.. (1993) Incidence and Origin of "Null" Alleles in the (AC)_n Microsatellite Markers. **American Journals of Human Genetics**., 52, p. 922-927.

FAO (1995) Aquaculture Production Statistics 1984–93. **FAO Fish. Rep**, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

GODINHO, H. P., MIRANDA, M.T., GODINHO, A.L. & SANTOS, J.E. (1997) Pesca e biologia do surubim *Pseudoplatystoma corruscans* no rio São Francisco. In: Miranda, M. O. T. de (Org.). **Surubim. Série Estudos Pesca 19**. IBAMA. Belo Horizonte.,p.27-42.

GODINHO, A.L. & GODINHO, H.P. (2003) Brief vision on the São Francisco. In: **Waters, fishes, and fishermen of he São Francisco of Minas Gerais**. Godinho HP, Godinho AL (eds). PUC Minas, Belo Horizonte, p 15-24.

GODINHO, A.L.; KYNARD, B. & GODINHO, H.P. (2007) Migration and spawning of female surubim (*Pseudoplatystoma corruscans*, Pimelodidae) in the São Francisco river, Brazil. **Eviron Biol. Fish**, 80, 421-433.

HARTL, D.L; & CLARK, A.G. (1997) **Principles of Population Genetics**, 3rd edn. Sinauer Associates, Inc, Sunderland, MA.

MARQUES, E. E. (1993) **Biologia reprodutiva, alimentação natural e dinâmica da nutrição do pintado *Pseudoplatystoma corruscans* (Agassiz, 1829) (Osteichthyes, Pimelodidae) no alto Rio Paraná**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, pp. 104.

MINISTÉRIO DA INTEGRAÇÃO NACIONAL, 2009. BRASIL. Disponível em: <http://www.integracao.gov.br/saofrancisco/rio/numeros.asp>, Acesso em 27/01/2010.

NA-NAKORN, U. & MOEIKUM T. (2009) Genetic diversity of domesticated stocks of striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage 1878), in Thailand: Relevance to broodstock management regimes. **Aquaculture**, 297, p. 70-77.

O'CONNEL, M. & WRIGHT, J. M. (1997) Microsatellites DNA in fishes. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, 7, p.331-363.

OOSTERHOUT, C.V.; HUTCHINSON, W.F.; WILLS, D.P.M. & SHIPLEY, P.. (2004) MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. **Molecular Ecology Notes**, 4, 535-538.

PEAKALL R. & SMOUSE P. E. (2006) GenAEx 6: Genetic Analysis in Excel Population genetics software for teaching and research. **Molecular Ecology Notes**, 6, p. 288-295.

PEREIRA, L.H.G; FORESTI & F.; OLIVEIRA C. (2009) Genetic structure of the migratory catfish *Pseudoplatystoma corruscans* (Siluriformes: Pimelodidae) suggests homing behaviour. **Ecology of Freshwater Fish**, 18, p. 215-225.

PEREZ-ENRIQUEZ & R., TANIGUCHI, N. (1999) Use of microsatellites DNA as genetic tags for the assessment of a stock enhancement program of red sea bream, **Fisheries Science**, 65, p.374-379.

PEREZ-ENRIQUEZ, R., TAKEMURA, M., TABATA, K. & TANIGUCHI, N. (2001) Genetic diversity of red sea bream *Pagrus major* in Western Japan in relation to stock enhancement, **Fisheries Science**., 67, p. 374-379.

POWELL, W.; MACHRAY, G. C. & PROVAN, J. (1996) Polymorphism revealed by simple sequence repeats. **Trends of Plant Science**, 1, p. 215-222.

RAYMOND, M. & ROUSSET F. (1995) GENEPOP (Version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. **Jornal of Heredity**., 86, p. 248-249.

REVALDAVES, E., PEREIRA, L.H.G., FORESTI, F. & OLIVEIRA, C. (2005) Isolation and characterization of microsatellite loci in *Pseudoplatystoma corruscans* (Siluriformes: Pimelodidae) and cross-species amplification. **Molecular Ecology Notes** 5, p.463-465.

RICE W. R. (1989) Analyzing Tabbles of Statistical Tests. **Evolution**, 43, p. 223-225.

SAMBROOK J., FRITSCH E. F. E. & MANIATIS T. (1989) **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**, 2nd ed. Cold Spring Harbor Lab. Press, New York.

SCHNEIDER S.; ROESSLI, D. & EXCOFFIER, L. (2000) **Arlequin ver 2000: A software for population genetics data analysis**. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland.

SRIPHAIROJ K., KAMONRAT W. & NA-NAKORN U. (2007) Genetic aspect in broodstock management of the critically endanger Mekong giant catfish, *Panagasianodon gigas* in Thailand. **Aquaculture**, 264, p.36-46.

WATTIER R, ENGEL CR, SAUMITOU-LAPRADE P & VALERO M. (1998) Short allele dominance as a source of heterozygote deficiency at microsatellite loci: Experimental evidence at the dinucleotide locus Gv1CT in *Gracilaria gracilis* (Rhodophyta). **Molecular Ecology** , 7, p. 1569-1573.

WU, L., KAUFMAN, L. & FUERST, P.A. (1999) Isolation of microsatellite markers in *Astatoreochromis alluaudi* and their cross-species amplifications in other cichlids. **Molecular Ecology**, 8, p. 895–897.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este foi o primeiro trabalho avaliando a estrutura genética de populações selvagens de *Pseudoplatystoma corruscans* no rio São Francisco.

Os marcadores de microssatélite usados mostraram uma ampla diversidade de alelos para as todas as populações.

O baixo valor do F_{ST} e a indicação de que as populações compartilham os mesmos alelos em sua maioria, leva à conclusão de que os surubins que habitam o São Francisco constituem uma população panmítica.

O programa de manejo de espécies sob ameaça de extinção através do auxílio e monitoramento pela genética molecular, torna-se mais eficiente.

A análise da estrutura genética das populações selvagens do surubim dará subsídios aos programas de repovoamento na região do São Francisco, atendendo à Instrução Normativa do IBAMA, no que diz respeito à manutenção da diversidade genética local.

O repovoamento na região do submédio São Francisco beneficiará as comunidades de pescadores que vivem às margens do rio São Francisco como uma fonte acessível e de baixo custo de alimento nutritivo, além de aumentar a renda desses pescadores que estão entre os mais desfavorecidos setores que vivem a cercanias dos reservatórios.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, M.M.. **Estudos genéticos comparativos entre populações de *Pseudoplatystoma reticulatum* (Eigenmann & Eigenmann, 1889), (Pisces Siluriformes) provenientes dos rios Paraguai e Jauru, e uma população de *Pseudoplatystoma corruscans* (Spix & Agassiz, 1829) (Pisces Siluriformes), proveniente do rio Paraguai.** 2008, 48f. Dissertação de Mestrado, Universidade do Estado de Mato Grosso, Mato Grosso.

AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C.; PELICICE, F. M. **Ecologia e manejo de recursos pesqueiros em reservatórios do Brasil.** Maringá: EDUEM, Cap. 6, p. 227-381. 2007

AVISE J.C. **Molecular Markers, Natural History and Evolution.** Chapman & Hall, New York., p. 551. 1994.

BALLOU, J.; LACY, R. C. Identifying genetically important individuals for management of genetic diversity in captive populations.. In.: **Populations Management for Survival and Recovery.** Ballou, J. D., M. Gilpin, T. Foose eds. New York, NY: Columbia Univ. Press. p.76-111. 1995.

BALLOUX, F., LUGON-MOULIN, N. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. **Molecular Ecology**, 11, p. 155-165. 2002.

BEAUMONT, A. R.; HOARE, K. **Biotechnology and genetics in fisheries and aquaculture.** ed. Blackwell Publishing, Oxford, 158p. 2003.

BENITES, C. **Caracterização genética do pintado *Pseudoplatystoma corruscans*, (Spix & Agassiz, 1829) (Siluriformes: Pimelodidae) da Bacia Paraná-Paraguai, por marcadores moleculares do tipo microssatélites.** 2008, 90f. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, São Paulo.

BOTSTEIN D., WHITE R. P., SKOLNICK M. & DAVIS R. W. (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journals of Human Genetics**, 32, p. 314–331.

BOUDRY, B; COLLET, F.; CORNETTE, V.; HERVOUET; BONHOMME, F. High variance in reproductive success of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*, Thunberg) revealed by microsatellite-based parentage analysis of multifactorial crosses. **Aquaculture**, 204, p.283–296. 2002.

BRITSKI, H.A.; SATO, Y.; ROSA, A.B.S. **Manual de identificação de peixes da região de Três Marias: com chave de identificação para os peixes da bacia do São Francisco.** Codevasf. Brasília, 143p. 1984.

BUITRAGO-SUÁREZ, U. A.; BURR, B. M.. Taxonomy of the catfish genus *Pseudoplatystoma* Bleeker (Siluriformes: Pimelodidae) with recognition of eight species. **Zootaxa**, 1512, p.1–38. 2007

BURGESS, W.E. **An atlas of freshwater and marine catfishes: a preliminary survey of the Siluriformes.** Neptune City: TFH Publications, 784p. 1989.

CALLEN, D.F.; THOMPSON, A.D.; SHEN, Y.; PHILLIPS, H.A.; RICHARDS, R.I.; MULLEY, J.C.; SUTHERLAND, G.R.. Incidence and Origin of "Null" Alleles in the (AC)_n Microsatellite Markers. **American Journals of Human Genetics**, 52, p. 922-927. 1993.

CHISTIYAKOV, D. A.; HELLEMANS, B.; VOLCKAERT, F. A. M. Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. **Aquaculture**, 255, p.1-29. 2006.

COIMBRA, M.R.M, KOBAYASHI, K., KORETSUGU, S., HASEGAWA, O., OHARA, E., OZAKI, A., SAKAMOTO, T., NARUSE, K., OKAMOTO, N. A Genetic Linkage map of the Japanese Flounder, *Paralichthys olivaceus*. **Aquaculture**, 220 p.203-218. 2003.

CREPALDI, D. V.; FARIA, P. M.C.; TEIXEIRA, E. A.; RIBEIRO, L. P.; COSTA, A. A. P.; MELO, D. C.; CINTRA, A. P. R.; PRADO, S. A.; COSTA, F. A. A.; DRUMOND, M. L.; LOPES, V. E.; MORAES, V. E. Biologia reprodutiva do surubim (*Pseudoplatystoma coruscans*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, 30, p.159-167. 2006.

CRUZ, P.; MEJIA-RUIZ, C. H.; PEREZ-ENRIQUEZ, R.; IBARRA, A. M.; ANDGAFFNEY, P. M. Genetic variability assessed by microsatellite in a breeding program of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Marine Biotechnology**, 6, p.57-164. 2004.

CURRAN, J.L. Human Linkage Mapping. In: Genome Mapping: a Practical Approach. 1st IRL Press, **Oxford**, 371p.. 1997.

FAO. Aquaculture Production Statistics 1984-93. **FAO Fish. Rep.**, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 1995.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. **EMBRAPA-CENARGEN - Documento 20**. 3ª ed. Brasília. 220p.. 1998.

FOWLER, H.W. Os peixes de água doce do Brasil. **Arquivo de Zoologia**, 6, p.405-625. 1951.

GODINHO, H. P.; MIRANDA, M.T.; GODINHO, A.L.; SANTOS, J.E. Pesca e biologia do surubim *Pseudoplatystoma coruscans* no rio São Francisco. In: Miranda, M. O. T. de (Org.). **Surubim. Série Estudos Pesca 19**. IBAMA. Belo Horizonte, p.27-42. 1997.

GODINHO, A.L.; GODINHO, H.P. Brief vision on the São Francisco. In: **Waters, fishes, and fishermen of he São Francisco of Minas Gerais**. Godinho HP, Godinho AL (eds). PUC Minas, Belo Horizonte, p 15-24. 2003

GODINHO, A.L.; KYNARD, B.; GODINHO, H.P. Migration and spawning of female surubim (*Pseudoplatystoma coruscans*, Pimelodidae) in the São Francisco river, Brazil. **Environmental Biology of Fishes**, 80, 421-433. 2007.

HALLERMAN, E. Population Viability Analysis. In: **Population Genetics: Principles and Applications for Fisheries and Scientists**. E.M. Hallerman editor. American Fisheries Society, Maryland. 2003.

HARTL, D.L.; CLARK, A.G. **Principles of Population Genetics**, 3rd edn. Sinauer Associates, Inc, Sunderland, MA. 1997.

KINCAID, H. L. Inbreeding in fish populations used for aquaculture. **Aquaculture**, 33, p.215-227. 1983.

KUBITZA, F.; CAMPOS, J.L.; BRUM, J.A. Surubim: produção intensiva no Projeto Pacu Ltda. e Agropeixe Ltda. **Panorama da Aquicultura**, 49, p.25-32. 1998.

LÉVÊQUE, C. Introduction of fish species in freshwaters: a major threat to aquatic biodiversity?. In: **Biodiversity, Science and Development: Towards a New Partnership**. F. di Castri, T. Younès eds. France: Cab International. P. 446-451. 1996.

LITT, M.; LUTY, J. A. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. **American Journals of Human Genetics**. 44, p. 397 - 401. 1989.

LIU, B. H. Statistical genomics linkage, mapping and QTL analysis. **Boca Raton CRC Press**. Boca Raton. 156p.. 1998.

LIU, Z. J.; CORDES, J. F. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. **Aquaculture**, 238, p. 1-37. 2004.

MARQUES, E. E. **Biologia reprodutiva, alimentação natural e dinâmica da nutrição do pintado *Pseudoplatystoma coruscans* (Agassiz, 1829) (Osteichthyes, Pimelodidae) no alto Rio Paraná**. 1993. 104f Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

MILLER, L.M.; KAPUSCINSKI, A.R. Genetic guidelines for hatchery supplementation programs. In: **Population Genetics: Principles and Applications for Fisheries and Scientists**. E.M. Hallerman editor. American Fisheries Society, Maryland. 2003.

MINISTÉRIO DA INTEGRAÇÃO NACIONAL, 2009. BRASIL. Disponível em: <http://www.integracao.gov.br/saofrancisco/rio/numeros.asp>, Acesso em 27/01/2010.

NA-NAKORN, U.; MOEIKUM T. Genetic diversity of domesticated stocks of striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage 1878), in Thailand: Relevance to broodstock management regimes. **Aquaculture**, 297, p. 70-77. 2009.

NACIRI, Y.; VIGOUROUX, Y.; DALLAS, J.; DESMARAIS, E.; DELSERT, C.; BONHOMME, F. Identification and inheritance of (GA/TC), and (AC/GT), repeats in the european flat oyster *Ostrea edulis* CL.). **Molecular Marine Biology and Biotechnology**., 4, p. 83-89. 1995.

NIELSEN, J. L.; CROW, K. D.; FOUNTAIN, M. C. Microsatellite diversity and conservation of a relic trout population: McCloud River redband trout. **Molecular Ecology**, 8, p. 129-142. 1999.

O'CONNEL, M., WRIGHT, J. M. Microsatellites DNA in fishes. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, 7, p.331-363. 1997.

OOSTERHOUT, C.V.; HUTCHINSON, W.F.; WILLS, D.P.M.; SHIPLEY, P.. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. **Molecular Ecology Notes**, 4, 535-538. 2004.

PEAKALL R.; SMOUSE P. E. GenAlEx 6: Genetic Analysis in Excel Population genetics software for teaching and research. **Molecular Ecology Notes**, 6, p. 288-295. 2006.

PEREIRA, L.H.G; FORESTI, F.; OLIVEIRA C. Genetic structure of the migratory catfish *Pseudoplatystoma corruscans* (Siluriformes: Pimelodidae) suggests homing behaviour. **Ecology of Freshwater Fish**, 18, p. 215-225. 2009.

PEREZ-ENRIQUEZ, R.; TANIGUCHI, N. Use of microsatellites DNA as genetic tags for the assessment of a stock enhancement program of red sea bream, **Fisheries Science**, 65, p.374-379. 1999.

PEREZ-ENRIQUEZ, R.; TAKEMURA, M.; TABATA, K.; TANIGUCHI, N. Genetic diversity of red sea bream *Pagrus major* in Western Japan in relation to stock enhancement, **Fisheries Science**, 67, p. 374-379. 2001.

POWELL, W.; MACHRAY, G. C.; PROVAN, J. Polymorphism revealed by simple sequence repeats. **Trends of Plant Science**, 1, p. 215-222. 1996.

RAYMOND, M.; ROUSSET, F. GENEPOP (Version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. **Jornal of Heredity**, 86, p. 248-249. 1995.

REVALDAVES, E.; PEREIRA, L.H.G.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. Isolation and characterization of microsatellite loci in *Pseudoplatystoma corruscans* (Siluriformes: Pimelodidae) and cross-species amplification. **Molecular Ecology Notes** 5, p.463-465. 2005.

RICE W. R. Analyzing Tabbles of Statistical Tests. **Evolution**, 43, p. 223-225. 1989.

ROMANA-EGUIA, M. R. R.; IKEDA, M.; BASIAO, Z. U.; TANIGUCHI, N. Genetic changes during mass selection for growth in Nile tiapia, *Oreochromis niloticus* (L.) assessed by microsatellites. **Aquaculture Research**, 36, p.69-78. 2005.

SALGUEIRO, P.; CARVALHO, G.; COLLARES-PEREIRA, M.J.; COELHO, M.M. Microsatellite analysis of genetic population structure of the endangered cyprinid *Anaecypris hispanica* in Portugal: implications for conservation. **Biological Conservation**, 109, p. 47-56. 2003.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F. E.; MANIATIS, T. **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**, 2nd ed. Cold Spring Harbor Lab. Press, New York. 1989.

SATO, Y.; GODINHO, H.P. Migratory fishes of the São Francisco River. In: **Migratory fishes of South America**. Carolsfeld J, Harvey B, Ross C, BaerA eds. Victoria, BC, Canada: World Fisheries Trust, p.195-231. 2003.

SCHNEIDER S.; ROESSLI, D.; EXCOFFIER, L. **Arlequin ver 2000: A software for population genetics data analysis**. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland. 2000.

SLETTAN, A.; OLSAKER, I.; LIE, O. Isolation and characterization of variable (GT)_n repetitive sequences from atlantic salmon (*Salmo solar* L.). **Animal Genetic**, 24, p. 195-197. 1993.

SRIPHAIROJ K.; KAMONRAT W.; NA-NAKORN U. Genetic aspect in broodstock management of the critically endanger Mekong giant catfish, *Panagasianodon gigas* in Thailand. **Aquaculture**, 264, p.36-46. 2007.

SUASSUNA, J. **Recalque e Transposição de Águas: equívocos nos conceitos**. FUNDAÇÃO JOAQUIM NABUCO. Recife, 2001. Disponível em: <http://www.fundaj.gov.br/docs/tropico/desat/recalque.html>, Acesso em 14/12/2008.

TAVE, D. **Genetics for fish hatchery managers**. 2nd ed. New York: Van Nostrand Reinhold, 415p. 1993.

VALLES-JIMENEZ, R.; CRUZ, P.; PEREZ-ENRIQUEZ, R. Population genetic structure of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from México to Panamá: Microsatellite DNA variation. **Marine Biotechnology**, 6, p. 475-484. 2005.

WATTIER, R; ENGEL, C.R.; SAUMITOU-LAPRADE, P.; VALERO, M. Short allele dominance as a source of heterozygote deficiency at microsatellite loci: Experimental evidence at the dinucleotide locus Gv1CT in *Gracilaria gracilis* (Rhodophyta). **Molecular Ecology**, 7, p. 1569-1573. 1998.

WEBER, J. L.; MAY, P. E.. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am. J. Hum. Genet*, 44, p. 388-396. 1989.

WELCOMME, R. L. International introductions of inland aquatic species. **FAO Fisheries Technical Paper**, Rome, 294, 318 p.. 1988.

WHITE, R. J.; KARR, J. R.; NEHLSSEN, W. Better roles for fish stocking and aquatic resource management. In: **Uses and effects of cultured fishes in aquatic ecosystems**. SCHRAMM, Jr., H. L.; PIPER, R. G. eds. Bethesda, Maryland: American Fisheries Society, p. 527-547. (American Fisheries Society Symposium, 15). 1995.

WOLFUS, G. M.; GARCIA, O. K.; ALCIVAR-WARREN, A. Application of the microsatellite technique for analyzing genetic diversity in shrimp breeding programs. **Aquaculture**, 152, p. 35-47. 1997.

WRIGHT, J. M. DNA fingerprints in fishes. In: Hochachka, P. W., Mommsen, T. (Eds.), **Biochemistry and Molecular Biology of fishes**. Elsevier, Amsterdam. p.58-91. 1993.

WU, L.; KAUFMAN, L.; FUERST, P.A. Isolation of microsatellite markers in *Astatoreochromis alluaudi* and their cross-species amplifications in other cichlids. **Molecular Ecology**, 8, p. 895-897. 1999.

ZUCCHI, M.I. **Análise da estrutura genética de *Eugenia dysenterica* DC utilizando marcadores RAPD e SSR**. 2002. Tese de Doutorado, ESALQ/USP, Piracicaba/SP, Brasil.

ANEXO A - Normas para publicação no Fisheries Management and Ecology.

TopAuthor Guidelines

Three copies of each manuscript (in English) should be submitted to:

For all areas except USA:

Prof. I.G. Cowx

University of Hull International Fisheries Institute

Hull, HU6 7RX

UK

Fax: +44 (0) 1482 470129

e-mail: I.G.Cowx@hull.ac.uk

Papers from USA:

Prof. H.L. Schramm

U.S. Geological Survey

Mississippi Cooperative Fish and Wildlife Research Unit

Mail Stop 9691

Mississippi State, MS 39762

USA

e-mail: hschramm@cfr.msstate.edu

Papers are accepted on the understanding that they have not been and will not be published elsewhere. On the decision of the editors, papers will be refereed blind by authorities in the relevant field. The Editors have the final decision on publication.

It is a condition of publication that authors grant Blackwell Publishing the exclusive licence to publish all articles including abstracts. Papers will not be passed to the publisher for production unless the exclusive licence to publish has been granted. To assist authors an exclusive licence form is available from the editorial office or by [clicking here](#). Authors are themselves responsible for obtaining permission to reproduce copyright material from other sources.

To assist publication authors will be requested to submit a copy of their final manuscript on disk.

Preparation of Typescripts

Manuscripts should be typed (with a wide margin), double spaced, on one side of A4 (30 × 21 cm) paper and usually should not exceed 15 pages in length.

The title page should contain:

- the full title of the paper;
- the full names of all the authors;

- the name(s) and address(es) of the institution(s) at which the work was carried out (the present address(es) of the author(s) if different from above, should appear as a footnote);
- the name, address, e-mail address and tel./fax numbers of the author to whom all correspondence and proofs should be sent;
- a suggested running title of not more than 50 characters, including spaces;
- six key words to aid indexing.

The first page of text must provide the title of the paper and a short abstract not exceeding 150 words but must not carry the author's name or affiliation. The text should contain an Introduction, Materials and Methods, Results, and Discussion. Pages should be numbered consecutively in Arabic numerals, but tables, figure legends (including magnifications) and acknowledgements should be submitted on separate sheets. Tables and figures should be referred to consecutively in the text. Authors should retain one copy of text, tables and illustrations as the Editors cannot accept responsibility for damage to or loss of manuscripts.

Latin Names

The full Latin specific name, including the authority, with correct taxonomic disposition, should appear at least once for each species when first mentioned in the text or elsewhere thus: Atlantic salmon, *Salmo salar* L., or roach, *Rutilus rutilus* (L.), i.e. authorities in parentheses, depending on first description. For further information see American Fisheries Society Special Publication No. 20, *A List of Common and Scientific Names of Fishes from the United States and Canada*. For fishes occurring in British waters, give precedence to: Wheeler A. (1992) A list of the common and scientific names of fishes of the British Isles. *Journal of Fish Biology* **41**, Supplement A, 36 pp.

References

The reference list should be in alphabetical order and include the full title thus:

Chapman D.W. (1971) Production. In: W.E. Richer (ed.) *Methods for the Assessment of Fish Production in Freshwater*. Oxford: Blackwell Scientific Publications, pp. 99-124.

Wickens J.F. (1972) The food value of brine shrimp *Artemia salina* L., to larvae of the prawn *Palaemon serratus* Pennant. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **10**, 151-170.

Jones J., Adams D.J. & Smith F.D. (1989) Effect of turbidity on fish populations. *Atlantis Technical Report on Aquatic Pollution* No. 76. 23 pp.

References in the text should use the Harvard System and be in full on first mention, e.g. (Brown, Smith & Williams 1975), subsequently abbreviated to (Brown *et al.* 1975) and should only be cited as 'in press' if they have been accepted for publication. Manuscripts in preparation, unpublished reports and reports not readily available should not be cited but

referred to as unpublished in the text. Personal communications should be cited as such in the text, e.g. (P. Black, pers. comm.).

Units and Spelling

Spelling should conform to *The Concise Oxford Dictionary*. Units of measurement, symbols and abbreviations must be given in metric units. Where any doubt arises as to the correct abbreviations, reference should be made to *Quantities, Units and Symbols*, 2nd edn, 1975, published by the Royal Society, London (ISBN: 0 85403 0719).

Illustrations

Illustrations should be labelled with the figure number and author's name in soft pencil on the back and the top edge identified. Photographs should be glossy bromide prints of good contrast and well matched, mounted on card and with a transparent overlay for protection and labelling. Scales may be indicated on the overlay or magnifications included in the figure legends. Photographs should not exceed 200 × 124 mm. Line diagrams can be computer generated but must be produced by laser printer. Alternatively they should be drawn with black ink on tracing paper or white card or supplied as glossy prints. Figures should not contain detail that may be lost when reduced in size for printing.

Colour illustrations

It is the policy of *Fisheries Management and Ecology* for authors to pay the full cost for the reproduction of their colour artwork.

Therefore, please note that if there is colour artwork in your manuscript when it is accepted for publication, Blackwell Publishing require you to complete and return a colour work agreement form before your paper can be published. This form can be downloaded as a PDF* from the internet. The web address for the form is:

http://www.blackwellpublishing.com/pdf/SN_Sub2000_F_CoW.pdf

In the event of that an author is not able to cover the costs of reproducing colour figures in colour in the printed version of the journal, *Fisheries Management and Ecology* offers authors the opportunity to reproduced colour figures in colour for free in the online version of the article (but they will still appear in black and white in the print version). If an author wishes to take advantage of this free colour-on-the-web service, they should liaise with the Editorial Office to ensure that the appropriate documentation is completed for the Publisher.

If you are unable to access the internet, or are unable to download the form, please contact the Production Editor at the address below and they will be able to email or FAX a form to you.

Once completed, please return the form to the Production Editor at the address below.

Production Editor
Fisheries Management and Ecology

Journal Content Management
Wiley-Blackwell
Wiley Services Singapore Pte Ltd
600 North Bridge Road
#05-01 Parkview Square
Singapore 188778
email: fme@oxon.blackwellpublishing.com

Any article received by Blackwell Publishing with colour work will not be published until the form has been returned.

*To read PDF files, you must have Acrobat Reader installed on your computer. If you do not have this program, this is available as a free download from the following web address:

<http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>

Electronic Artwork

We would like to receive your artwork in electronic form. Please save vector graphics (e.g. line artwork) in Encapsulated Post-script Format (EPS), and bitmap files (e.g. half-tones) in Tagged Image File Format (TIFF). Ideally, vector graphics that have been saved in metafile (.WMF) or pict (.PCT) format should be embedded within the body of the text file. Detailed information is available on the Blackwell Publishing Homepage at: www.blackwellpublishing.com/bauthor/illustration.asp

In the full-text online edition of the journal, figure legends may be truncated in abbreviated links to the full screen version. Therefore, the first 100 characters of any legend should inform the reader of key aspects of the figure.

Proofs and Offprints

Proofs will be sent via e-mail as an Acrobat PDF (portable document format) file and should be returned to the publishers within 3 days of receipt. Alterations to the text, other than printer's corrections may be charged to the author.

Offprints: Authors will be provided with electronic offprints of their paper. Paper offprints may be ordered at prices quoted on the order form, which accompanies proofs, provided that the form is returned with the proofs. The cost is more if the order form arrives too late for the main print run. Offprints are normally dispatched within 3 weeks of publication of the issue in which the paper appears. Please contact the publishers if offprints do not arrive: however, please note that offprints are sent by surface mail, so overseas orders may take up to 6 weeks to arrive. Electronic offprints are sent to the first author at his or her first email address on the title page of the paper, unless advised otherwise; therefore please ensure that the name, address and email of the receiving author are clearly indicated on the manuscript title page if he or she is not the first author of the paper.

Management and Ecological Notes

These should differ from full papers on the basis of scope or completeness, rather than quality of research. They may report on new or modified techniques or methodology, significant new data arising from problems with narrow, well-defined limits, or important findings that warrant rapid publication before broader studies are complete. Their text should not be longer than 1500 words, including one table or figure, nor be divided up into conventional sections. When submitting Management and Ecological Notes, authors should make it clear that their work is to be treated as such.

Author Material Archive Policy

Please note that unless specifically requested, Blackwell Publishing will dispose of all hardcopy or electronic material 2 months after publication. If the return of any submitted material is required, the Editorial Office or Production Editor must be informed as soon as possible.

NEW: Online production tracking is now available for your article through Blackwell's Author Services.

Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete e-mail address is provided when submitting the manuscript. Visit www.blackwellpublishing.com/bauthor for more details on online production tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.