

LIN HUA LIU IWERSEN

DIVERSIDADE GENÉTICA EM CURIMBA *Prochilodus lineatus*
(PISCES, CHARACIFORMES) NA BACIA DO ALTO RIO
URUGUAI, BRASIL

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Aquicultura da Universidade
Federal de Santa Catarina (UFSC),
nível de Mestrado. Orientador:
Cláudio Manoel Rodrigues de
Melo

Florianópolis
2010

Catálogo na fonte pela Biblioteca Universitária
da
Universidade Federal de Santa Catarina

I96d Iwersen, Lin Hua Liu
Diversidade genética em curimba *Prochilodus lineatus*
(piscis, characiformes) na bacia do alto Rio Uruguai, Brasil
[dissertação] / Lin Hua Liu Iwersen ; orientador, Cláudio
Manoel Rodrigues de Mello. - Florianópolis, SC, 2010.
76 p.: grafs., tabs., mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-
Graduação em Aquicultura.

Inclui referências

1. Aquicultura. 2. Genética de populações - Brasil.
3. Marcador molecular. 4. *Prochilodus lineatus*. I. Mello,
Cláudio Manoel Rodrigues de. II. Universidade Federal de Santa
Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. III.
Título.

CDU 639.3

Diversidade genética em curimba *Prochilodus lineatus* (Pisces, Characiformes) na bacia do Alto Rio Uruguai, Brasil

Por

LIN HUA LIU IWERSEN

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

MESTRE EM AQUICULTURA

e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura.

Prof. Cláudio Manoel Rodrigues de Melo, Dr.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Dr. Cláudio Manoel Rodrigues de Melo – *Orientador*

Dr. Alex Pires de Oliveira Nuñez

Dr. Sergio Maia Queiroz Lima

À minha família que está sempre ao meu lado, ao meu pai que está sempre olhando por nós e à minha cara metade que me apoiou em todos os momentos neste período.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, pois em momento algum da minha vida faltou-me com sua bondade e sua graça.

À minha mãe Liu Ping Iwersen, ao meu pai Paulo Roberto Iwersen, ao meu irmão Lian Hua Liu Iwersen, a minha cunhada Anelise Talamini Iwersen, a minha sobrinha e afilhada Luisa Talamini Iwersen, ao Luiz Carlos Talamini, Lúcia Helena Fraxino Talamini por sempre acreditarem e me apoiarem nos momentos em que precisei e é claro ao meu amor Joseani Paulini Neves Simas por tornar minha vida melhor e ao meu sogro "Seu José" e sogra "Dona Ana" por confiarem a sua filha à mim.

Também desejo expressar meus agradecimentos as Instituições e pessoas que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, principalmente a Universidade Federal de Santa Catarina, através do Departamento de Aquicultura, me dando todo o suporte necessário para a realização deste trabalho e na oportunidade agradecer em especial ao Carlito Aloísio Klunk, pela disponibilidade e presteza nas horas em que precisei.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela concessão da bolsa de estudos para realização deste trabalho.

Agradeço ao Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce pela oportunidade de trabalharmos juntos e principalmente por terem despendido tempo e pessoal, estes em especial, por coletar parte das amostras utilizadas neste estudo.

Ao Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal por ter me acolhido para a realização das minhas análises e pelo carinho, parcerias e ensinamentos de todos em que ali trabalham meus mais sinceros agradecimentos.

Ao Prof. Doutor Cristiano Valentim da Silva Lazoski, por ter aceitado ser meu co-orientador, apesar de estar com seu tempo disponível reduzido, por estar me passando um pouco de seu conhecimento e experiência e por sua amizade.

Ao meu orientador, Coordenador da Pós-Graduação em Aquicultura e principalmente amigo o Prof. Doutor Claudio Manoel Rodrigues de Melo, pela oportunidade de trabalhar e aprender com ele e conviver com sua família.

E também gostaria de deixar meus agradecimentos aos parceiros, amigos e colegas de turma, por estarmos sempre juntos nas horas boas e ruins deste período.

E aos meus irmãos Daniel Addor Silva e Rodrigo Bello, pela amizade e parceria de tantos anos.

RESUMO

O Brasil é dependente dos regimes hidrológicos das Bacias Hidrográficas para gerar energia elétrica. A fragmentação do ambiente aquático, pela construção de barragens, gera alterações no meio causando problemas para a integridade do hábitat, composição e abundância de espécies, quebrando etapas essenciais do ciclo de vida de algumas espécies de peixes migradores como o *Prochilodus lineatus*, contribuindo para o declínio quantitativo e qualitativo ou isolamento de segmentos populacionais. Esta espécie tem grande importância comercial e se encontra amplamente distribuída nas bacias hidrográficas do Brasil (Solimões-Amazonas, Tocantins, São Francisco, Paraná-Paraguai e Uruguai). A bacia do alto rio Uruguai possui um grande número de barragens, podendo estar influenciando na reprodução desta espécie. Assim, este estudo teve como objetivos estimar a diversidade genética e analisar se há estruturação populacional em *P. lineatus* entre diferentes pontos nesta bacia. Foram analisados 153 exemplares desta espécie, coletados em 14 pontos amostrais de 4 sítios de coletas utilizando-se nove loci de microsatélites que apresentaram alto nível de polimorfismo. Nos resultados observou-se desvio no equilíbrio de Hardy-Weinberg para todos os pontos amostrais ($p \leq 0,05$), exceto para o ponto 12, no sítio de coleta Montante UHE Itá que não apresentou diferença significativa ($p \geq 0,05$), estando em equilíbrio de Hardy-Weinberg. O software structure, identificou uma estruturação entre os pontos amostrais analisados ($K=3$).

Palavras chaves: genética de população, microsatélite, manejo pesqueiro, marcador molecular, curimba, characiformes, Brasil

ABSTRACT

Brazil is dependent of hydrologic regimes of the watersheds to generate electric energy. The spalling of the aquatic environment creates changes in the environment, causing problems for the integrity of the habitat, abundance, and species composition, breaking essential stages of the life cycle of some migrating fish species as the *Prochilodus Lineatus*, contributing for the quantitative and qualitative decline or isolation of population segments and even leading to the extinction of the species. This species has great commercial importance and is widely distributed in the Brazilian watersheds. The upper Uruguay River has a great number of dams, being able to influence the reproduction of such species. Therefore, this study aimed to estimate the genetic diversity and to analyze the population structure of *P. Lineatus* in different places of the watershed. 153 animals were analyzed, collected in 14 sample places within 4 collection sites, using nine microsatellite loci presenting high level of polymorphism. The places presented deviance in the Hardy-Weinberg equilibrium for all the places ($p \leq 0.05$), except for place 12, in the UHE Itá mount which did not present significant difference ($p \geq 0.05$). The Bayesian analysis identified a structuration in the sample places identifying 3 populations ($K=3$). The results got in this study will assist in the adequate management and the conservation of this resource, contributing for the maintenance of the stocks of this species.

Key words: population genetics, *Prochilodus Lineatus*, molecular marker

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	13
BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO URUGUAI	14
RIOS FRAGMENTADOS E PEIXES MIGRADORES.....	15
DISTRIBUIÇÃO E CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DO CURIMBA (<i>PROCHILODUS LINEATUS</i>)	16
CONSERVAÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA DE PEIXES	16
TÉCNICAS MOLECULARES PARA ANÁLISE GENÉTICA	17
ESTUDOS REALIZADOS COM O GÊNERO PROCHILODUS	21
RESUMO	23
INTRODUÇÃO.....	24
MATERIAL E MÉTODOS.....	27
COLETA E AMOSTRAGEM.....	27
EXTRAÇÕES DE DNA	27
REAÇÃO DE “PCR” E ELETROFORESE	28
ANÁLISES DOS DADOS MOLECULARES	31
RESULTADOS.....	33
ANÁLISE INTRAPOPULACIONAL E VARIAÇÃO DOS MICROSSATÉLITES.....	33
ANÁLISE INTERPOPULACIONAL.....	34
DISCUSSÃO.....	48
ANÁLISE INTRAPOPULACIONAL E VARIAÇÃO DOS MICROSSATÉLITES.....	48
ANÁLISE INTERPOPULACIONAL.....	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO.....	69

INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil possui um dos maiores potenciais hidrológicos do planeta, com aproximadamente 20% da reserva hídrica superficial (GOLDEMBERG e LUCON, 2007; FREITAS e SOITO, 2008). Esta característica nos permite atender 90% da necessidade nacional de energia elétrica a partir de fontes hídricas, sendo assim fortemente dependente dos regimes hidrológicos das bacias hidrográficas (FREITAS e SOITO, 2008; TORRES, 2008).

Contudo, os empreendimentos hidrelétricos provocam impactos ambientais e sociais decorrentes da implantação de seus reservatórios, os quais devem ser mitigados (ANEEL, 2008; TORRES, 2008).

Dentre os impactos sociais está a inundação de áreas agricultáveis, alterações nas atividades econômicas e usos tradicionais da terra, efeitos sociais por migração, perdas de heranças históricas e culturais (SILVA, 2008). O mesmo autor relata que também existem impactos positivos, como a produção de energia elétrica, essencial em tempos modernos, aumento do potencial potável de recursos hídricos reservados, criação de possibilidades de recreação e turismo, aumento do potencial de irrigação, aumento e melhoria da navegação e transporte e potencial de produção de biomassa com a aquicultura.

Além dos impactos sociais, os reservatórios geram diversos impactos ambientais, transformando ambientes lóticos em lênticos. Esta fragmentação do ambiente aquático pode gerar alterações físicas e químicas da água, como transporte de sedimentos, integridade de habitat, composição e abundância de espécies. Além disso, essas alterações também quebram etapas essenciais do ciclo de vida de algumas espécies de peixes migradores como o Curimba (*Prochilodus lineatus*), Dourado (*Salminus brasiliensis*), Piranha (*Brycon orbignyanus*), Mandi Amarelo (*Pimelodus maculatus*), dentre outros. Estas espécies, além de serem essenciais para a biodiversidade e para o equilíbrio ecológico do ambiente onde vivem, são importantes economicamente para as comunidades ribeirinhas (GIRARD, 2002; SILVA, 2006).

Para facilitar a movimentação local destas espécies, existem hoje diferentes tipos de mecanismos de transposição para peixes, como: elevadores, eclusas e escadas. Além disso, dependendo da localização do empreendimento, a construção desses sistemas pode se tornar muito onerosa (VIANA et al., 2006). As construções indiscriminadas destes mecanismos de transposição, realizadas apenas para atender dispositivos

legais, estão diminuindo devido a comprovação de sua ineficiência (AZEVEDO, 1965; CARVALHO, 2002).

Outra opção de manutenção dos estoques de peixes é o repovoamento, cujo manejo é muito discutido na literatura, devido a falta de critérios adotados por algumas instituições e produtores de alevinos, por causa da falta de informação sobre o contexto ambiental, ou falta de conhecimento do material genético de seus plantéis, além do custo e logística para elaborar e manter um programa de repovoamento ser mais elevado.

Neste contexto, observa-se a importância do uso responsável de nossas bacias hidrográficas, pois não dependemos apenas da energia hidrelétrica, mas também do meio ambiente em equilíbrio para nossa sobrevivência.

Bacia Hidrográfica do Rio Uruguai

A bacia do rio Uruguai abrange uma área de 384.000 km², dos quais 176.000 km² situam-se em território nacional, compreendendo 46.000 km² do Estado de Santa Catarina e 130.000 km² no Estado do Rio Grande do Sul. Ela se estende entre os paralelos 27° e 34° Sul e 49° 30' e 58° 15' Oeste, sendo delimitada ao norte e nordeste pela Serra Geral, ao sul pela fronteira com a República oriental do Uruguai, a Leste pela depressão central Rio Grandense e a oeste pela Argentina (ANEEL, 2008).

O rio Uruguai nasce da confluência dos rios Canoas e Pelotas, acima do nível do mar percorrendo um total de 2.262 km desembocando no estuário da Prata, do qual fazem parte o rio Paraná e rio Paraguai. Na porção inicial ele delimita os estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, sendo que com a confluência com o rio Peperi-Guaçu, passa a fazer a divisa do Brasil com a Argentina e em seguida da Argentina com o Uruguai. No total do seu percurso, o rio Uruguai pode ser dividido por barreiras físicas em Alto, Médio e Baixo rio Uruguai (ZANIBONI-FILHO E SCHULTZ, 2003).

Na região do Alto rio Uruguai seis usinas hidrelétricas estão instaladas, sendo que atualmente somente duas estão localizadas no rio Uruguai a usina hidrelétrica (UHE) Machadinho localizada aproximadamente a 80 km da confluência dos rios Canoas e Pelotas, e a usina hidrelétrica (UHE) Itá, localizada 150 km a jusante de Machadinho (MAGRI et al., 2008) (Figura 1).

Rios Fragmentados e Peixes Migradores

O meio ambiente tem sido degradado e destruído por atividades realizadas em grande escala pelo homem, levando várias espécies e comunidades inteiras a extinção. Dentre as ameaças a diversidade biológica que resulta da atividade do homem pode ser citada: destruição, fragmentação e degradação de habitat; super exploração de espécies e a introdução de espécies exóticas (PRIMACK E RODRIGUES, 2001).

O efeito dos reservatórios na comunidade de peixes pode variar entre regiões, dependendo de características do reservatório e da própria comunidade. Pode-se citar, por exemplo, a regulação da vazão a jusante da barragem, que altera o ciclo hidrológico natural, não se observando grandes cheias e conseqüentemente reduz as áreas alagáveis que são utilizadas por alevinos de algumas espécies como locais de alimentação e abrigo, bem como, diminuindo o estímulo ambiental para a ovulação final e desova de peixes nas cheias através da redução dos níveis máximos e mínimos de água (MOULTON E SOUZA, 2006; SILVA, 2006; WEINGARTNER et al., 2008).

As espécies mais afetadas por estas barreiras físicas (Hidrelétricas) são aquelas que dependem de longas migrações para se reproduzir, pois além de alterarem características físicas e químicas dos rios, as barreiras bloqueiam ou atrasam a migração ascendente dos peixes, contribuindo para o declínio não só quantitativo (número de peixes), mas também qualitativo (diversidade genética) além de isolar populações e até mesmo levar a extinção algumas espécies que dependem de movimentos longitudinais em algumas fases de sua vida (AGOSTINHO, 1992; LARINIER, 2001; PRIMACK et al., 2001; SILVA, 2006; WEINGARTNER et al., 2008).

Portanto, devemos salientar a necessidade de ações que visem a manutenção, principalmente, das espécies migradoras, que notavelmente são as mais afetadas, buscando assegurar a conservação das populações de peixes, bem como a diversidade genética. Com isso os trabalhos de conservação genética das populações de peixes devem ser iniciados antes que ocorra redução significativa da sua variabilidade genética (WEINGARTNER et al., 2008).

Estudos de genética de populações de peixes e de outros organismos são desejáveis para que opções corretas de manejo sejam tomadas. Alguns desses estudos têm utilizado ferramentas importantes para trabalhos de conservação, onde são aplicadas técnicas de biologia molecular para auxiliar o manejo de estoques de peixes (SMALL et al.,

1998; SIVASUNDAR et al., 2001; NERAAS et al., 2001, REVALDAVES et al., 1997,2002.)

Distribuição e Características Biológicas do Curimba (*Prochilodus lineatus*)

O gênero *Prochilodus* está entre os mais amplamente distribuídos e abundantes grupos entre aqueles que vivem nos rios sul-americanos. Este gênero compreende 48 espécies nominais, porém apenas 13 são consideradas válidas (REIS et al., 2003; CASTRO E VARI, 2004; FISHBASE, 2008).

As ocorrências dessas espécies se localizam nos rios das bacias Solimões-Amazonas, Tocantins, São Francisco, Paraná-Paraguai, Paraíba do sul e Uruguai. (SIVASUNDAR et al. 2001). As espécies são reofílicas e possuem morfologicamente em comum corpo de porte médio a grande, que podem ser reconhecidas (exceto larvas) pelos lábios carnosos equipados com duas séries de pequenos dentes falciformes ou espatulares. Possuem escamas ctenóides e a nadadeira dorsal é precedida por um espinho protuberante, que pode ser afilado ou bifurcado (BRITSKI et al., 1988; CASTRO, 1990).

São animais detritívoros atuando como condutores de energia e biomassa dos níveis inferiores para os níveis superiores da cadeia alimentar aquática, que dependem da correnteza do ambiente natural fluvial. Os curimbas realizam migrações para fins reprodutivos, onde estão sincronizadas as flutuações do nível da água, e apresentam desova única, fecundação externa e ausência de cuidado parental (AGOSTINHO E JÚLIO JR., 1999; PAIVA 2002).

Este gênero tem uma grande importância para a pesca comercial de vários países da América do Sul, sendo a mais importante em termos de biomassa nos rios da Bacia do Prata (AMENGUAL E SIAZARO, 1988) e no Brasil, é um dos principais peixes pescados artesanalmente (IBAMA, 2005). Porém, apesar da grande ocorrência nas bacias brasileiras, observa-se um desgaste dos seus estoques naturais nos últimos anos, (CAROLSFELD et al., 2003).

Conservação da Diversidade Genética de Peixes

Segundo a União Internacional para Conservação Natural (da sigla em inglês IUCN), uma das três prioridades globais da conservação é a necessidade de conservar a diversidade genética, sendo que dois aspectos fundamentais estão relacionados. Primeira, a mudança

ambiental, que é um processo contínuo onde a diversidade é necessária para a evolução e adaptação das populações às mudanças, e a segunda, a perda de diversidade está intimamente ligada com a endogamia e a redução geral na reprodução e sobrevivência (FRANKHAM et al., 2008).

A fragmentação dos rios devido à construção das represas causa um forte impacto nos estoques de peixes selvagens, principalmente nas espécies migradoras, como a diminuição da diversidade genética e a separação de populações e como consequência a redução da capacidade das populações de se adaptar e evoluir de acordo com as mudanças no ambiente, que pode levar até à extinção de algumas populações (SILVA et al., 1998; BEDORE, 1999).

Os estudos de estrutura genética populacional permitem o conhecimento de taxas de endogamia, diversidade genética, diferenciação entre os espécimes, entre outras informações importantes para a elaboração de planos de manejo (PEREZ-SWEENEY et al., 2003).

Uma etapa inicial importante para o desenvolvimento do manejo e conservação “*in situ*” e de repovoamento, é o conhecimento prévio da distribuição da variabilidade genética dentro e entre populações de uma espécie, que pode ser realizada por meio de marcadores moleculares.

Para isso, leva-se em conta se uma espécie está distribuída como uma população ou como populações geneticamente diferentes, e qual o grau de interação entre elas (HILSDORF E PETRERE, 2002). Neste contexto, o conhecimento dos atuais níveis de diversidade genética e diferenciação dentro e entre populações são necessários para recomendações de manejo sustentável.

Uma das estratégias de recuperação da diversidade no ambiente é o uso de animais criados em cativeiro, para fins de melhoria, ressaltando ainda mais a necessidade de reconhecer a composição genética das populações selvagens, com objetivo de realizar programas de melhoramento (NGUYEN, 2008).

Técnicas moleculares para análise genética

As principais técnicas de biologia molecular disponíveis para detecção de variabilidade genética são: Sequenciamento de DNA, Isoenzimas, RFLP, RAPD, AFLP, minissatélites, microssatélites e outros (PARKER et al., 1998; SOLÉ-CAVA, 2001; LIU E CORDES, 2004; ROWENA et al., 2004; SPIDLE et al., 2004). Estes marcadores são classificados de acordo com a existência de dominância, sendo os co-dominantes aqueles

que são possíveis fazer a identificação de heterozigotos (CARVALHO, 2002).

A escolha do método a ser utilizado depende da taxa de mutação ao nível de divergência que se deseja estudar; tipo de material biológico disponível para o estudo; condições de obtenção destes marcadores (PARKER et al., 1998).

Muitos pesquisadores têm realizado trabalhos nessas últimas décadas utilizando marcadores moleculares em organismos aquáticos. Gusmão et al. (2005) investigando a estruturação genética de espécies de camarões brasileiros, utilizando aloenzimas para estimar níveis de variabilidade genética e a estrutura de população de *Farfantepenaeus brasiliensis*, *F. paulensis*, *Litopenaeus schimitti* e a recente espécie detectada *Farfantepenaeus* sp. na costa brasileira, encontraram uma grande diferenciação genética para *F. paulensis* entre a lagoa dos Patos (Sul) e duas populações do sudeste brasileiro. E para *Farfantepenaeus* sp. diferenças significativas foram detectadas entre a população de Recife e as de Fortaleza e Ilhéus.

Utilizando dados de aloenzimas, Peres et al. (2005) avaliaram a variabilidade genética de *Astyanax altiparanae* na Bacia do Alto Rio Paraná, onde seus resultados mostraram que as populações estudadas são geneticamente diferentes e tem um alto grau de variabilidade genética. Através deste mesmo tipo de marcador, a variação genética e estrutura de população em duas espécies de mexilhões *Mytella* spp foi avaliada (OLIVEIRA et al. 2005), detectando uma variabilidade genética muito menor do que o esperado com o tamanho da população registrada.

Almeida et al. (2003), analisou a estruturação populacional de *Pimelodus maculatus* do rio Tietê e Paraná-Panema, através de marcadores RAPD e concluiu que a população do rio Tietê esta geneticamente homogênea, enquanto a população do rio Paranapanema esta estruturado. Utilizando este mesmo marcador molecular, Lidani et al. (2006) caracterizaram a variabilidade genética de um estoque cativo de *Rhamdia quelen* por análises de PCR-RAPD, evidenciando uma alta variabilidade genética destes indivíduos cativos. Em lagos fragmentados do rio Yangtze na China, Wang e colaboradores (2007) avaliaram a diversidade genética de população do peixe *Culter erythraeus* e verificaram que houve diferença significativa entre as populações estudadas.

Marcadores microsatélites tem sido utilizados como ferramentas de vários estudos genéticos devido ao seu alto nível de polimorfismo e sua conservação entre espécies sendo considerados muito eficientes

(FITZSIMMONS et al., 1995; WALDBIESER et al., 2001; CUNNINGHAM E MEGHEN, 2001; CARVALHO, 2002; CARVALHO-COSTA, 2006; HATANAKA et al., 2006).

Na Tabela 1 está um resumo das principais características dos marcadores moleculares.

Tabela 1: Comparação dos métodos principais de estimativa da Biodiversidade molecular.

Abordagem	Principal Aplicação	Custo	Dados	Herança	Técnica	Problema
AFLP	Mapeamento genético, diversidade genética e <i>fingerprinting</i>	Médio	Rápido	Dominante	Média	Falta de homologia, dominância
Isoenzimas	<i>Fingerprinting</i> e diversidade genética	Baixo	Muito Rápido	Co-dominante	Difícil	Precisa Material fresco
Microsatélites	Mapeamento genético, diversidade genética, filogenia e <i>fingerprinting</i>	Médio	Rápido	Co-dominante	Média	Busca de Primers para PCR
Minissatélites	<i>Fingerprinting</i> , filogenia e diversidade genética	Médio	Rápido	Co-dominante	Difícil	Falta de homologia
PCR/RFLP	Mapeamento genético, diversidade genética, filogenia e <i>fingerprinting</i>	Baixo	Rápido	Dominante	Fácil	Escolha de gene
RAPD	<i>Fingerprinting</i> , mapeamento genético e diversidade genética	Baixo	Muito Rápido	Dominante	Difícil	Falta de homologia, dominância, reprodutividade
Sequenciamento	Taxonomia, interespecífica e filogenia	Alto	Baixo	Variável	Fácil	Interpretação dos resultados

P&D- esforço de pesquisa e desenvolvimento; Dados- velocidade na produção de dados; Técnica- facilidade de interpretar geneticamente os dados. Abreviações: AFLP, “amplified fragment length polymorphism”; RAPD, “random amplified polymorphic DNA”; PCR/RFLP, ‘Polymerase chain reaction/restriction fragment length polymorphism (SOLÉ-CAVA, 2001; Faleiro, 2007).

Estudos realizados com o gênero *Prochilodus*

Atravéz do método de isoenzimas, análises da variabilidade genética de subpopulações de *Prochilodus lineatus* de três localidades na Bacia do Rio Paraná apresentaram um baixo nível de diferenciação. Os valores de distância e identidade genética sugerem que, na região da planície de inundação, *P. lineatus* representa uma única unidade reprodutiva com alto fluxo gênico. Dos 18 loci identificados, apenas seis mostraram polimorfismo (REVALDAVES et al., 1997).

Em 2002, Carvalho isolou e identificou dois loci de microssatélites de *P. lineatus* sendo estes importantes para o auxílio do esclarecimento da biologia básica desta espécie no momento em questão, tendo como aplicação imediata para o uso em pisciculturas, determinação de paternidade, aplicação e monitoramento populacional e entendimento do impacto provocado pelas barragens.

Carvalho-Costa (2006) isolou e caracterizou 13 loci microssatélites, sendo que apenas sete foram polimórficos para *Prochilodus costatus*. Em 2008, este autor analisou a variação genética *P. costatus* para investigar a estrutura genética de populações em três pontos de jusante na represa de Três Marias/MG, utilizando seis loci de microssatélites. Os peixes dos três pontos apresentaram níveis de diversidade genética similar e não foi detectada diferenciação genética, sugerindo que *P. costatus* é uma única unidade reprodutiva na área de estudo.

O isolamento e caracterização de 13 novos loci microssatélites para a espécie *Prochilodus argentus* foi descrito por Barbosa et al. (2006). Adicionalmente, foram feitas, com sucesso, amplificações heterólogas em duas outras espécies, *P. costatus* e *P. lineatus*. Em 2007, Yazbeck e Kalapothakis descreveram cinco novos loci de microssatélites para *P. lineatus*. Estes loci mostraram-se informativos para análise genética de população, e manejo de peixes em reservatórios do rio Grande.

Estudo realizado em 2008 por Barbosa e colaboradores descreveu o isolamento e a caracterização de nove novos loci de microssatélites de *P. argentus*, onde amplificaram novamente nas espécies *P. costatus* e *P. lineatus*, sendo polimórficos para ambas as espécies.

Um estudo com indivíduos de *P. argentus* amostrados em dois pontos com características ambientais distintas na região jusante da represa de Três Marias no rio São Francisco, utilizando três novos loci de microssatélites homólogos e um interespecífico, foi realizado para avaliar a variação dentro e entre os dois pontos, buscando confirmar a

existência de sub estruturação populacional. Os resultados mostraram grande número de alelos exclusivos e boa variabilidade genética em uma das regiões estudadas, reforçando a co existência de diferentes unidades reprodutivas nesta área. Também foram encontradas diferenças populacionais significativas entre os dois pontos de coleta, reforçando a existência de “*pool*” gênico distinto (HATANAKA, 2006).

Um alto nível de variabilidade genética foi encontrado no alto rio Uruguai entre os indivíduos de *P. lineatus* utilizando marcador RAPD por Ramella et al. (2006)

O presente estudo teve como objetivo estimar a diversidade genética e a estruturação das populações de *Prochilodus lineatus* da bacia do Alto Rio Uruguai, bem como verificar sua variabilidade genética e de pisciculturas que em algum momento forneceram alevinos para repovoamento da bacia do rio Uruguai.

O trabalho apresentado será submetido para publicação na revista Genetics and Molecular Biology.

DIVERSIDADE GENÉTICA EM CURIMBA (*Prochilodus lineatus*) (PISCES, CHARACIFORMES) NA BACIA DO ALTO RIO URUGUAI, BRASIL

RESUMO

O Brasil é dependente dos regimes hidrológicos das Bacias Hidrográficas para gerar energia elétrica. A fragmentação do ambiente aquático, pela construção de barragens, gera alterações no meio, causando problemas para a integridade do hábitat, composição e abundância de espécies, quebrando etapas essenciais do ciclo de vida de algumas espécies de peixes migradores como o *Prochilodus lineatus*, contribuindo para o declínio quantitativo e qualitativo ou isolamento de segmentos populacionais. Esta espécie tem grande importância comercial e se encontra amplamente distribuído nas bacias hidrográficas do Brasil (Solimões-Amazonas, Tocantins, São Francisco, Paraná-Paraguai e Uruguai). A bacia do alto rio Uruguai possui um grande número de barragens, podendo estar influenciando na reprodução desta espécie. Assim, este estudo teve como objetivos estimar a diversidade genética e analisar se há estruturação populacional em *P. lineatus* entre diferentes pontos nesta bacia. Foram analisados 153 exemplares desta espécie, coletados em 14 pontos amostrais de 4 sítios de coletas utilizando-se nove loci de microssatélites que apresentaram alto nível de polimorfismo. Nos resultados observou-se desvio no equilíbrio de Hardy-Weinberg para todos os pontos amostrais ($p \leq 0,05$), exceto para o ponto 12, no sítio de coleta Montante UHE Itá. O software structure, identificou uma estruturação entre os pontos amostrais analisados ($K=3$).

Palavras chaves: genética de população, microssatélite, manejo pesqueiro, marcador molecular, curimba, characiformes, Brasil

INTRODUÇÃO

A bacia do alto rio Uruguai possui uma área de aproximadamente 384.000 km², dos quais 176.000 km² estão no território brasileiro, sendo 46.000 km² situados no Estado de Santa Catarina e 130.000 km² no Estado do Rio Grande do Sul (ANEEL, 2008). Zaniboni-Filho e colaboradores (2004), utilizando critérios morfológicos, identificam diversas espécies de peixes na bacia brasileira do alto rio Uruguai, dentre elas o *Prochilodus lineatus*.

Nesta região, na calha principal do rio Uruguai estão operando as usinas hidrelétricas de Itá (UHEI) e Machadinho (UHEM), porém existem barramentos em seus rios formadores, o Pelotas UHE Barra Grande) e o Canoas (UHE Campos Novos) e em alguns tributários como UHE Quebra Queicho no rio Chapecó.

O gênero *Prochilodus* compreende 48 espécies nominais, contudo, apenas 13 são consideradas válidas (REIS et al., 2003; CASTRO E VARI, 2004; FISHBASE, 2008). Espécies deste gênero variam de tamanho médio a grande (BRITSKI et al., 1988) sendo, peixes economicamente importantes, tanto para a pesca continental quanto para a aquicultura. Além disso, desempenham um importante papel na dinâmica dos rios da região Neotropical, devido ao seu hábito alimentar detritívoro, atuando na ciclagem de nutrientes oriundos de materiais em decomposição (BRITSKI et al., 1972; FLECKER, 1996).

Este peixe possui hábito migratório para fins reprodutivos e essas migrações estão sincronizadas com flutuações do nível da água, podendo ser realizadas de um rio para o outro culminando com a desova na coluna de água. Os ovos, mais tarde as larvas, são levados pela corrente para áreas de planície, inundadas pelo aumento do nível da água (AGOSTINHO E JÚLIO JR., 1999; PAIVA et al., 2002). O alto rio Uruguai, apresenta diferenças hidrológicas e morfométricas dos outros rios da bacia do prata, pois tem a presença de um canal encaixado, ausência de planícies, lagoas marginais e irregularidade sazonal das chuvas, sendo assim os peixes do alto rio Uruguai como o *Prochilodus lineatus*, apresentam estratégias reprodutivas diferentes dos outros rios da bacia do prata. Através de alguns estudos, a presença de ovos e larvas para *Prochilodus lineatus* neste rio, foi detectada em ambientes lóticos e mais distantes das barragens do alto rio Uruguai (REYNALTE-TATAJE et al., 2008; REYNALTE-TATAJE E ZANIBONI-FILHO, 2008).

A devastação ou fragmentação do habitat, aliada a exploração excessiva dos organismos aquáticos e terrestres é citada como uma das

principais causas das extinções contemporâneas dos organismos aquáticos (PRIMACK E RODRIGUES, 2001; ROZZI et al., 2001).

As espécies mais afetadas pelas alterações ambientais são aquelas que possuem: distribuição geográfica restrita; tamanho populacional pequeno; baixa densidade populacional; grande porte e que requerem uma área extensa para sobreviver; nichos especializados; baixa variabilidade genética e hábitos migratórios (AGOSTINHO, 1992; LARINIER, 2000; PRIMACK et al., 2001; SILVA, 2006; WEINGARTNER et al., 2008). Dentre as causas da fragmentação do habitat pode-se citar a construção de hidrelétricas as quais impedem a migração das espécies. Carvalho-Costa (2006), estudando os impactos da construção da barragem de Três Marias/MG na ictiofauna migratória, constatou que o principal impacto foi a impossibilidade de passagem dos peixes através da barragem. Sato e colaboradores (1995) em estudos histológicos das gônadas de *P. argenteus* revelaram distúrbios reprodutivos nos espécimes capturados em uma área imediatamente a jusante da barragem, quando comparados a indivíduos de regiões mais distantes

A interrupção da livre migração de peixes causada pelas barragens tem como consequência alterações da variabilidade genética e das frequências alélicas de populações migratórias (HATANAKA E GALETTI JR., 2003).

Neste contexto, Wasko e Galetti Jr. (2002) revelaram diferenciação genética de *Brycon lundii* coletados imediatamente a jusante da barragem de Três Marias em relação a espécimes coletados a 40 km a jusante da barragem. Da mesma forma, Sousa (2003) concluiu que populações de *Pseudoplatystoma corruscans* de quatro localidades a jusante a barragem de Três Marias eram geneticamente diferenciados entre si, e que os exemplares coletados próximos a barragem apresentavam menor variabilidade genética.

Estudos (HATANAKA et al., 2006; HATANAKA e GALETTI JR., 2003) com *P. argenteus* em duas regiões do rio São Francisco (no reservatório de Três Marias e a jusante da confluência dos rios Abaeté e São Francisco) sugeriram a existência de estruturação populacional entre essas duas áreas. Já Revaldaves et al. (1997) estudaram através do método de isoensimas, populações de *P. lineatus* em três localidades da bacia do alto Paraná e não encontraram diferenças significativas entre as populações, sugerindo a existência de um único *pool* gênico ao longo da área estudada. Ainda na bacia do Paraná, Sivasundar e colaboradores (2001), utilizando a região controle do mtDNA (D-loop), encontraram alta homogeneidade genética entre populações de *P. lineatus*, com

haplótipos similares ocorrendo distantes até 2.600 km. A explicação para esse alto fluxo gênico, segundo os autores, seria o hábito migratório dessa espécie.

Como visto grandes barragens podem constituir em barreiras intranponíveis na rota migratória dos peixes de piracema, reduzindo ou eliminando a sua eficiência reprodutiva (BEDORE, 1999). Essa interrupção no ciclo natural das espécies interfere diretamente no processo reprodutivo, podendo levar a extinção das espécies nativas da região (SILVA et al., 1998). Além disso, com a redução de seus estoques, grande parte da sua variabilidade genética é perdida, o que pode dificultar ou impedir sua adaptação ao ambiente caso ele sofra alterações (BEDORE, 1999).

Devido a estes fatores, uma das ferramentas utilizadas atualmente na conservação da diversidade genética dos rios é a implantação de programas de repovoamento, sendo de suma importância o monitoramento genético e biológico desses programas, já que o repovoamento pode representar riscos genéticos nas populações naturais, (WAPLES, 1999).

Na atualidade, muitos grupos tanto governamentais como não governamentais, tem realizado “repovoamento” na bacia do rio Uruguai indiscriminadamente, mas alguns destes não têm nenhum embasamento científico, potencializando riscos para o meio ambiente. Portanto, há necessidade de acompanhamento de profissionais capacitados e algumas diretrizes como, a coleta de reprodutores para a formação de plantel oriundos da região alvo, desenvolvimento de manejos genéticos de progênes, para ações específicas do manejo, incluindo a seleção de reprodutores, formação de famílias, acasalamentos e práticas de criação e liberação.

Neste cenário, a capacidade de identificar e caracterizar geneticamente estoques dessas espécies de peixes se torna essencial. Marcadores moleculares têm sido amplamente utilizados para a estimativa de variabilidade genética em populações naturais (LIU E CORDES, 2004; ROWENA et al., 2004; SPIDLE et al., 2004) e devido a seu alto nível de polimorfismo, microssatélites têm se tornado um dos marcadores mais importantes em estudos de conservação (FITZSIMMONS et al., 1995; PÉPIN et al., 1995; GOLDSTEIN E SCHLOTTERER, 1999; CHAMBERS E MACAVOY, 2000; CUNNINGHAM E MEGHEN, 2001; WALDBIESER et al., 2001; PEREZ-SWEENEY et al., 2003).

Neste contexto, o presente estudo teve com finalidade estimar a diversidade genética e a estruturação de populações de *Prochilodus*

lineatus da bacia do alto rio Uruguai e de algumas pisciculturas, que de alguma forma já realizaram repovoamento nesta bacia.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e Amostragem

As coletas foram realizadas entre os anos de 2007 e 2009, em dez pontos do Alto do Rio Uruguai (um a montante da UHE Machadinho, seis a montante da UHE Itá e três a jusante da UHE Itá) e em quatro pisciculturas da região Oeste de Santa Catarina e Oeste e Centro Oeste do Rio Grande do Sul (Figura 1). Foram coletados 5 indivíduos a montante da UHE Machadinho, 49 a montante da UHE Itá, 48 a jusante da UHE Itá e 51 indivíduos nas pisciculturas (Tabela 2).

De cada animal foi retirado um fragmento de nadadeira (de aproximadamente 1 cm²) o qual foi estocado em álcool 96%. Posteriormente, as amostras foram acondicionadas em freezer -18 °C até o momento da extração do DNA.

Extrações de DNA

O DNA total das amostras foi extraído através do protocolo CTAB 2,0% (“cationic hexadecyl trimethyl ammonium bromide”, detergente catiônico).

Na primeira fase a amostra foi cortada em um tamanho de 0,5 cm², colocada em um microtubo de 2000 µl, identificado, ao qual foi adicionado 500 µl de tampão CTAB 2,0%, 4 µl de proteinase k (10 mg/ml) e colocado em banho-maria a 60°C para digestão do tecido por 60 minutos ou até a digestão ter sido completada.

Na segunda fase foram adicionados 250 µl Fenol e 250 µl CIA (Clorofórmio – álcool isoamílico – 24:1) vertido por 10 minutos para homogeneizar, centrifugado em 14.000 RPM por 20 minutos. Após a centrifugação, o sobrenadante foi transferido para um novo microtubo, lavado novamente com 250µl de CIA vertido por mais 5 minutos, centrifugado novamente a 14.000 RPM por 15 minutos e o sobrenadante foi então retirado e transferido para um novo microtubo. Após esta lavagem, foi adicionado o dobro do volume do sobrenadante de etanol 100% para precipitar o DNA total, acondicionando “overnight” em freezer -18 °C.

Na terceira fase as amostras foram centrifugadas em 4°C, 14000 RPM, por 20 minutos, o sobrenadante foi vertido e adicionou-se de 200

a 500 µl de etanol 100%, centrifugou-se em 14000 RPM por 10 minutos, verteu-se o etanol e esperou-se o “*pellet*” secar. Ao *pellet* seco foi adicionado, de acordo com o tamanho do mesmo, de 50 a 100 µl de água ultra pura e 4 µl de RNase e deixado em banho maria a 37°C por 60 minutos, para solubilizar o “*pellet*”. Posteriormente o DNA obtido foi acondicionado em freezer -20 °C. Antes das análises, o DNA estoque foi quantificado em gel de agarose 1%, através de eletroforese como descrito por Sambrook e Russel (2001). Após a quantificação, preparou-se uma solução DNA trabalho, com concentração de 5 ng/ul.

Reação de “PCR” e eletroforese

A amplificação em cadeia da polimerase (PCR) foi realizada de acordo com as condições padrão Sambrook e Russel (2001). Neste estudo foram testados 17 Loci microssatélites dentre eles, Pcos14, Par12, Par14, Par15, Par21, Par35, Par43, Par66, Par69, Par76, Par80, Par82, Pli34, Pli43, Pli60, Pli61 e o PI01 (BARBOSA et al., 2006; YAZBECK, G.M. E KALAPOTHAKIS, 2007; BARBOSA et al., 2008; CARVALHO-COSTA et al., 2008;) sendo que apenas nove loci de microssatélites amplificaram (Tabela 3). As reações de PCR foram realizadas em microplacas de 96 poços em termociclador.

As reações mix de PCR continham um volume total de 10 µl, sendo 1,2 µl (3,6 pmol) de cada iniciador (“primer”), 1,4 µl de DNTP (200 µM) mix, 1,5 de tampão 10x (1,5x), 0,3 µl de cloreto de magnésio (1,5 mM), 0,2 µl de Taq DNA polimerase (invitrogen), 0,8 µl de DMSO, 0,4 µl de água ultra pura e 3 µl de DNA. Os ciclos de temperaturas foram precedidos por incubação de desnaturação de 5 min. a 95°C, seguidos de 60 segundos a 94°C (desnaturação), 60 segundos a X °C (temperatura de anelamento – Tabela 3) e 60 segundos a 72°C (extensão) por 35 ciclos, 20 minutos a 72°C (extensão final), quando então as amostras eram refrigeradas a 4°C.

Os alelos de microssatélites foram fracionados por tamanho em géis de poli(acrilamida não desnaturante contendo uma razão 19:1 (acrilamida:bis-acrilamida). Os géis foram preparados em tampão TBE e montados em placas de vidro com 38x32 cm. Os géis foram colocados em cubas verticais (Biorad) contendo TBE 0,5X e submetidos ao um campo elétrico de 55 wts por aproximadamente 90 minutos (dependendo do peso molecular do loco). Após a corrida os géis foram corados em nitrato de prata e em seguida, digitalizados.

O processamento das amostras e as análises moleculares foram realizados no Laboratório de Fisiologia e Desenvolvimento de Genética

Vegetal (LFDGV) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina.

Tabela 2: Sítios amostrais de *Prochilodus lineatus* e localização. Sendo P = piscicultura, JI = Jusante UHE Itá, MI= Montante UHE Itá e MM = Montante UHE Machadinho.

Sítio amostral	N amostral	Ponto	Local de coleta	Coordenadas geográficas
P	11	P1	Piscicultura 1	29°44'13.23"S 51° 5'10.54"O
	17	P2	Piscicultura 2	28°23'21.17"S 53°54'46.69"O
	10	P3	Piscicultura 3	28°14'26.57"S 53°46'14.79"O
	13	P4	Piscicultura 4	27° 4'36.68"S 53° 2'54.68"O
JI	10	J11	Jusante UHE Itá 1	27° 6'8.67"S 53°24'5.43"O
	7	J12	Jusante UHE Itá 2	27° 5'52.65"S 53° 0'59.43"O
	31	J13	Jusante UHE Itá 3	27°17'0.67"S 52°23'39.40"O
MI	14	MI1	Montante UHE Itá 1	27°17'7.64"S 52°20'24.43"O
	11	MI2	Montante UHE Itá 3	27°18'30.65"S 52° 6'3.41"O
	4	MI3	Montante UHE Itá 5	27°22'41.66"S 51°59'16.42"O
	8	MI4	Montante UHE Itá 6	27°30'10.66"S 51°54'3.42"O
	4	MI5	Montante UHE Itá 7	27°32'14.65"S 51°51'22.42"O
	8	MI6	Montante UHE Itá 4	27°31'35.65"S 51°47'4.42"O
MM	5	MM	Montante UHE Machadinho	27°36'23.39"S 51°28'3.84"O

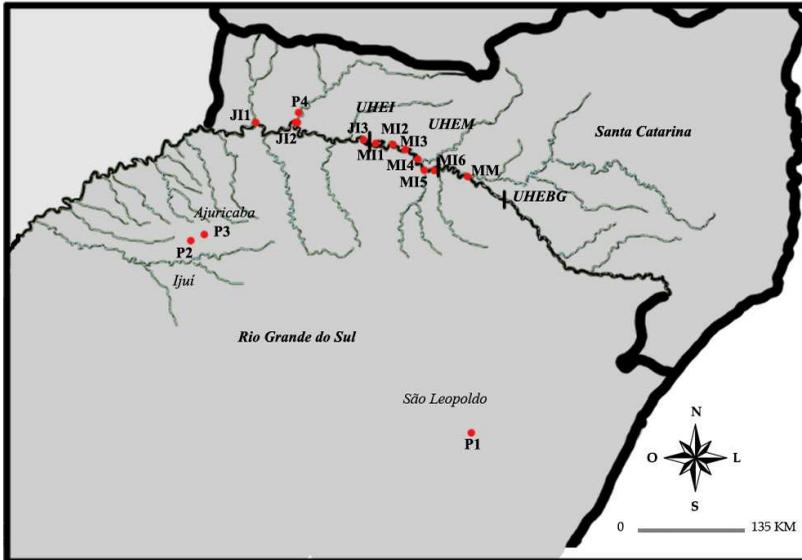


Figura 1: Mapa hidrográfico do Alto Rio Uruguai com identificação dos pontos de coleta (vermelho), sendo UHEI, usina hidrelétrica de Itá; UHEM, usina hidrelétrica de Machadinho; UHEBG, usina hidrelétrica de Barra Grande.

Análises dos dados moleculares

As amostras foram genotipadas através do programa TOTALLAB 100, versão demo. A variabilidade genética das populações de *P. lineatus* foi determinada utilizando-se os programas FSTAT v.2.9.3.2 (GOUDET, 2002), ARLEQUIN v.3.1 (EXCOFFIER et al., 2006), SAMOVA v.1.0 (DUPANLOUP et al., 2002) e STRUCTURE.2.2 (PRITCHARD et al., 2000).

A presença de alelos nulos foi verificada através do programa MICRO-CHECKER (VAN OOSTERHOUT et al., 2004). O programa “GENEPOP” (Raymond & Rousset, 1995) foi utilizado para estimar o número de migrantes por geração.

Para a construção do dendrograma utilizou-se o programa PHYLIP v.3.6 (FELSEINTEIN, 2005) e o programa TREE VIEW v.1.6.6 (PAGE, 1996). Os alelos foram analisados através do programa TOTALLAB 100. A riqueza alélica foi calculada utilizando-se do FSTAT. O número de migrantes por geração (N_m) foi calculado através de alelos privados com correção de tamanho da população através do GENEPOP (BARTON E SLATKIN, 1986).

Uma análise espacial de variância molecular (SAMOVA v.1.0; DUPANLOUP et al., 2002) foi utilizada para detectar estrutura de grupo da população. Após esta análise, os grupos sugeridos foram analisados no programa ARLEQUIN, onde, para todos os loci, a heterozigosidade esperada, heterozigosidade observada e seu valor- p foram estimados com o teste exato usando uma cadeia de Markov com 10.000 permutações (GUO E THOMSON, 1992; LEVENE, 1949). Os desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg (GUO E THOMSON 1992), número de alelos, estatísticas F, o índice de endogamia F_{IS} e a estrutura genética populacional também foram investigadas através de análise de variância molecular (AMOVA, EXCOFFIER et al., 1992) neste programa (WEIR E COCKERHAM, 1984).

A estruturação genética, a possível existência de grupos naturais de populações e a partição molecular entre e dentro dos locais, além de variações entre os indivíduos, foi calculada através da análise de variância molecular (AMOVA) e a distância genética entre e dentro dos grupos foi calculada através das estatísticas F de Wright (WEIR E COCKERHAM, 1984).

Tabela 3 – Identificação e características dos iniciadores utilizados, sendo I.- identificador, N.a.l. - número de alelos descrito na literatura, A.l. – amplitude descrita na literatura e T.a.t.- temperatura de anelamento utilizado no trabalho, T.a.l. - temperatura de anelamento descrito na literatura.

I.	Repetição	Sequência (5'-3')	N.a. l.	A. l. (pb)	T. a. t. (°C)	T. a. l. (°C)
Par12	(AAAC) ₇	F: CGAGCTGGTACCGTCACATA R: AGCATGATGCAAAGGATCTG	8	192-232	54	56
Par14	(TGTC) ₅	F: GTATTAGGGGAGAGAATTTG R: TCTCATCAGTTATCACCAAC	8	232-278	48	48
Par15	(CT) ₁₉ (GTCT) ₁₀ (GT) ₂	F: AGTTGGTTACACCTAACATC R: TCTTAATATGGGTCCACTAC	20	144-196	47	47,2
Par21	(ATGA) ₆	F: CAAAAGGATAAGTAGCTCAG R: TAGCTCTGTTTATGATGACC	8	165-193	47	47,2
Par43	(GA) ₆ (CA) ₂ (CAGA) ₄ (GA) ₂₁	F: GGCGTCTGACTCGTTACCTC R: AACCTCATTCCCTCAAGTGC	17	241-299	50	50
Par80	(CT) ₃₇	F: CTAACCTACAAACCTCATT R: CTGTA AAAAGCTCCACTTATC	17	221-279	52	51,3
Par82	(CT) ₂₇	F: CTCTAACAAGGTGAAACAAC R: TTAAACTGTAGGCACAGAC	14	177-209	52	51,3
PI01	(AATTT) ₁₀	F: TGACTGTGAACACGGTCACGC R: ACACAGTAGAACATACCTCTG	9	170-230	56	56
PIi60	(GA) ₁₃	F: GCTAGGACGGTTAGCGTCCACTG R: CGACACGTACATCATTACCTCGG	16	130-228	67,4	69

Para a construção do dendrograma, os valores da matriz de distância genética (SLATKIN, 1995) fornecidos pelo programa ARLEQUIN, foram utilizados no programa PHYLIP (FELSENSTEIN, 2005) e depois visualizado no programa TREE VIEW v.1.6.6 (PAGE, 1996).

O programa STRUCTURE foi empregado para verificar a estrutura populacional. Para a determinação do número de populações (K) existentes utilizou-se o modelo de ancestralidade (admixture), com os alelos correlacionados, que permite a resolução máxima na separação das populações com K variando de 1 a 14. Duas corridas independentes com 500.000 simulações em cadeias de Monte Carlo Markov (MCMC) e 100.000 gerações “burn in” foram usadas para cada valor de K. O número exato de populações é esperado ser o valor K máximo estimado pelo modelo log-likelihood, $\log [P(X/K)]$ (FALUSH et al., 2003). Após ter sido calculado o valor de K, foi realizado o cálculo do ΔK segundo Evanno e colaboradores (2005), para confirmar o valor de k, sendo ele o maior valor do ΔK .

RESULTADOS

Análise intrapopulacional e variação dos microssatélites

Os nove microssatélites utilizados neste estudo foram polimórficos. O menor número de alelos foi encontrado nos pontos amostrais: P4 e MI3, com dois alelos para os loci Pli60 e Par15, respectivamente (Tabela 4). O ponto amostral JI3 apresentou o maior número de alelos (24) para o loco PI01. Considerando todos os pontos amostrais, o loco PI01 mostrou-se o mais polimórfico, com 44 alelos e o loco Pli60 o menos polimórfico, com 21 alelos. Já Considerando todos os locos, o ponto amostral que apresentou o maior número médio de alelos foi a JI3, com número médio de 17,22 alelos. O menor número médio de alelos foi encontrado no ponto amostral a MI3 com média de 3,67 alelos.

A heterozigosidade esperada (H_e) variou de 0,195 a 0,958 (Par21 e Par82, respectivamente, ponto JI1) e a heterozigosidade observada (H_o) variou de 0,1 (Par21 no JI1) a 1, (PI01 nos pontos P2, JI2, MI4; Par82 nos pontos, P3, JI1, MI3; Par21 no ponto JI2). Os pontos amostrais apresentaram desvio no equilíbrio de Hardy–Weinberg (EHW) para a maioria dos loci, com exceção do ponto amostral, MI3 (Tabela 4). O índice de endogamia F_{IS} , na maioria dos loci, para todos os pontos amostrais, apresentou valores positivos indicando a existência

de déficit de heterozigotos. Verificaram-se valores negativos para o índice de endogamia F_{IS} indicando a existência de um excesso de heterozigotos (Tabela 4), para alguns loci na maioria dos pontos amostrais. Os pontos amostrais que apresentaram desvios de EHW acusaram a presença de alelos nulos, podendo ser uma das possíveis causas da deficiência de heterozigotos na população.

A maior riqueza alélica (2,00) foi encontrada nos pontos amostrais JI1, MI1, MI3 e MM nos loci Par21, Par80, Par43 e PI01, respectivamente. Considerando-se todos os locos, o ponto JI1 apresentou a maior riqueza alélica total (aproximadamente 17,24). O ponto MI3 apresentou o menor valor (aproximadamente 1,43) de riqueza alélica para o loco Par15.

Análise interpopulacional

Na Tabela 5 apresentam-se os valores de diversidade genética das comparações entre os pares de populações, F_{ST} (diagonal inferior) e R_{ST} (diagonal superior). Os menores valores significativos destes parâmetros foram 0,0441 (P1 e P2) e 0,1088 (P2 e MI6), e os maiores valores significativos foram 0,2637 (P4 e MI3) e 0,5647 (P2 e MI3), respectivamente. As significâncias positivas sugerem uma leve estruturação. Os pontos amostrais P1, P2, P3, P4 e MI5 apresentaram diferenças significativas para o parâmetro F_{ST} , em todas as comparações com os demais (Tabela 5).

O número de migrantes ou fluxo gênico histórico, calculado com base nos alelos privativos (BARTON & SLATKIN, 1986) apresentou valor igual a 2,32 quando analisados 14 pontos amostrais, e 1,79 quando analisados os 4 sítios amostrais.

Tabela 4: Frequência alélica para marcadores do tipo microssatélites em *Prochilodus lineatus* (F_{IS}). Entende-se, N = número de indivíduo; n = número de alelos; F_{IS} = índice de endogamia; H_o = heterozigosidade observada; H_e = heterozigosidade esperada; EHW = equilíbrio de Hardy-Weinberg; R = riqueza alélica; NS=não significativo; (*)= significativo ($p < 0,05$).

Sítio Amostrado	Ponto	N	Loci									
			Par12	Par14	Par15	Par21	Par43	Par80	Par82	PI01	PI60	
Pisciculturas (P)	P1	11	n	8	7	7	7	8	11	11	9	6
			F_{IS}	0,694	0,058	0,454	0,278	0,095	0,034	0,327	0,490	-0,176
			H_o	0,273	0,818	0,455	0,636	0,818	0,909	0,636	0,455	0,909
			H_e	0,861	0,866	0,814	0,870	0,900	0,939	0,931	0,870	0,779
			EHW	*	NS	*	NS	NS	NS	*	*	NS
			R	1,837	1,866	1,835	1,847	1,884	1,939	1,921	1,847	1,779
	P2	17	n	10	6	10	7	8	7	10	6	7
			F_{IS}	-0,049	0,094	0,496	0,568	0,183	0,176	0,004	-0,193	0,522
			H_o	0,941	0,706	0,412	0,353	0,706	0,706	0,882	1,000	0,412
			H_e	0,898	0,777	0,804	0,802	0,859	0,852	0,886	0,843	0,848
			EHW	NS	NS	*	*	*	NS	NS	*	*
			R	1,887	1,777	1,900	1,802	1,859	1,852	1,886	1,843	1,818
	P3	10	n	5	3	5	5	5	5	7	3	4
			F_{IS}	-0,110	-0,190	0,614	0,115	-0,165	-0,165	-0,324	-0,455	0,866
			H_o	0,900	0,800	0,300	0,600	0,900	0,900	1,000	0,800	0,100
			H_e	0,816	0,679	0,753	0,674	0,779	0,779	0,768	0,563	0,710
			EHW	NS	NS	*	NS	NS	NS	*	NS	*
			R	1,816	1,679	1,658	1,674	1,779	1,779	1,768	1,563	1,560

Tabela 4: Continuação

Sítio Amostrado	Ponto	N	Locis										
			Par12	Par14	Par15	Par21	Par43	Par80	Par82	PI01	PI60		
Pisciculturas (P)	P4	13	n	4	3	3	4	6	6	6	7	2	
			F_{IS}	0,795	0,040	0,000	-0,269	-0,134	-0,134	0,055	-0,008	0,065	
			H_o	0,154	0,615	0,692	0,923	0,923	0,923	0,769	0,769	0,461	
			H_e	0,726	0,640	0,692	0,735	0,818	0,818	0,812	0,763	0,492	
			EHW	*	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	
	R	1,681	1,640	1,529	1,735	1,818	1,818	1,812	1,763	1,492			
	JI1	10	n	11	10	9	3	8	11	14	12	7	
			F_{IS}	0,467	0,412	0,532	0,500	0,612	0,365	-0,047	0,030	0,663	
			H_o	0,500	0,500	0,400	0,100	0,300	0,600	1,000	0,900	0,300	
			H_e	0,916	0,832	0,832	0,195	0,747	0,926	0,958	0,926	0,858	
			EHW	*	*	*	NS	*	*	NS	NS	*	
	R	1,902	1,832	1,939	2,000	1,933	1,933	1,958	1,915	1,825			
	Jusante Itá (JI)	JI2	7	n	11	7	9	7	9	10	8	8	7
				F_{IS}	0,268	0,520	0,392	-0,200	0,077	0,250	0,241	-0,091	0,200
				H_o	0,714	0,429	0,571	1,000	0,857	0,714	0,714	1,000	0,714
H_e				0,956	0,857	0,912	0,846	0,923	0,934	0,923	0,923	0,879	
EHW				*	*	*	NS	NS	*	*	NS	NS	
R	1,956	1,857	1,956	1,846	1,923	1,934	1,923	1,923	1,879				
JI3	31	n	15	11	21	12	14	21	23	24	14		
		F_{IS}	0,511	0,183	0,663	0,054	0,241	0,345	0,326	0,200	0,324		
		H_o	0,452	0,613	0,323	0,839	0,710	0,613	0,645	0,742	0,581		
		H_e	0,916	0,748	0,948	0,886	0,932	0,931	0,952	0,924	0,854		
		EHW	*	*	*	NS	*	*	*	*	*		
R	1,908	1,748	1,951	1,873	1,926	1,947	1,956	1,936	1,837				

Tabela 4: Continuação

Sítio Amostrál	Ponto	N	Loci									
			Par12	Par14	Par15	Par21	Par43	Par80	Par82	PI01	PI60	
Montante Itá (MI)	MI1	4	n	5	3	4	4	3	5	4	3	4
			F_{IS}	0,455	0,333	0,700	0,368	0,667	0,400	0,000	0,294	0,429
			H_o	0,500	0,500	0,250	0,500	0,250	0,500	0,750	0,500	0,500
			H_e	0,857	0,714	0,750	0,750	0,679	0,786	0,750	0,679	0,821
			EHW	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS
			R	1,857	1,714	1,600	1,833	1,500	2,000	1,750	1,679	1,733
	MI2	11	n	7	4	6	11	6	7	7	8	9
			F_{IS}	0,227	0,000	0,506	0,212	0,527	0,362	-0,029	0,000	0,344
			H_o	0,636	0,727	0,364	0,727	0,364	0,545	0,818	0,818	0,545
			H_e	0,814	0,727	0,719	0,913	0,749	0,840	0,796	0,818	0,818
			EHW	NS	NS	*	NS	*	*	*	NS	*
			R	1,814	1,727	1,614	1,900	1,803	1,840	1,797	1,818	1,784
	MI3	4	n	4	3	2	4	3	4	5	5	3
			F_{IS}	0,368	0,700	-0,200	0,429	0,500	0,100	-0,200	0,143	0,000
			H_o	0,500	0,250	0,500	0,500	0,250	0,750	1,000	0,750	0,750
			H_e	0,750	0,750	0,429	0,821	0,464	0,821	0,857	0,857	0,750
			EHW	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
			R	1,750	1,750	1,429	1,733	2,000	1,733	1,857	1,800	1,750
	MI4	8	n	6	4	4	9	6	5	4	6	4
			F_{IS}	0,045	0,028	-0,183	0,168	0,576	0,371	0,233	-0,400	0,253
H_o			0,750	0,625	0,750	0,750	0,375	0,500	0,500	1,000	0,500	
H_e			0,783	0,642	0,642	0,892	0,850	0,775	0,642	0,733	0,658	
EHW			NS	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	
R			1,783	1,642	1,642	1,868	1,850	1,775	1,642	1,733	1,658	

Tabela 4: Continuação

Sítio Amostrai	Ponto	N		Loci								
				Par12	Par14	Par15	Par21	Par43	Par80	Par82	PI01	PI60
Montante Itá (MI)	MI5	8	n	5	3	4	4	5	4	4	4	4
			F_{IS}	0,488	0,028	0,300	-0,140	0,263	0,512	0,523	0,371	0,028
			H_o	0,375	0,625	0,500	0,875	0,625	0,375	0,375	0,500	0,625
			H_e	0,708	0,642	0,700	0,775	0,833	0,742	0,758	0,775	0,642
			EHW	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	*	NS
	R	1,626	1,642	1,545	1,775	1,791	1,644	1,758	1,733	1,642		
	MI6	14	n	11	9	6	10	13	12	10	11	8
			F_{IS}	0,231	0,333	0,637	0,356	0,326	0,385	0,128	0,136	0,106
			H_o	0,714	0,571	0,214	0,571	0,643	0,571	0,786	0,786	0,786
			H_e	0,921	0,847	0,577	0,876	0,942	0,915	0,897	0,905	0,876
EHW			*	*	*	*	*	*	*	NS	NS	
R	1,911	1,825	1,844	1,900	1,935	1,906	1,897	1,905	1,858			
Montante Machadinho (MM)	MM	5	n	5	4	4	6	6	4	7	7	5
			F_{IS}	0,529	-0,143	0,714	0,590	0,111	0,407	0,158	0,333	0,529
			H_o	0,400	0,800	0,200	0,400	0,800	0,400	0,800	0,600	0,400
			H_e	0,800	0,711	0,644	0,911	0,889	0,644	0,933	0,867	0,800
			EHW	*	NS	*	*	NS	NS	NS	NS	*
R	1,800	1,711	1,833	1,893	1,889	1,833	1,929	2,000	1,800			

Tabela 5: Valores estimados de F_{ST} (abaixo da diagonal) e R_{ST} (acima da diagonal) entre populações de *Prochilodus lineatus*.
 * Valores significativos ($P < 0,05$).

P	P1	P2	P3	P4	J11	J12	J13	MI1	MI2	MI3	MI4	MI5	MI6	MM
P1		0,0326	0,1181*	0,0239	0,2949*	0,0127	0,0365	0,2690*	0,1185	0,3346*	0,1335*	0,1041	0,0315	0,2396*
P2	0,0441*		0,0509	0,0586	0,4553*	0,0223	0,1128*	0,4805*	0,2723*	0,5647*	0,2048*	0,2554*	0,1088*	0,4279*
P3	0,1048*	0,0530*		0,1508	0,4083*	0,0994	0,1096*	0,4170*	0,2484*	0,5300*	0,2307*	0,2637*	0,1674*	0,4388*
P4	0,1448*	0,1372*	0,2007*		0,4278*	-0,0190	0,0666	0,4517*	0,2237*	0,5334*	0,1486	0,2226*	0,1123*	0,4250*
J11	0,1082*	0,1367*	0,2086*	0,2206*		0,3976*	0,2976*	0,0149	0,2158*	0,1411	0,4227*	0,2966*	0,2348*	0,3052*
J12	0,0605*	0,0727*	0,1352*	0,1689*	0,0935*		0,0507	0,4135*	0,2023	0,5011*	0,1703	0,1883*	0,1161	0,3898*
J13	0,0722*	0,0867*	0,1453*	0,1643*	0,0929*	0,0080		0,1881	0,1220*	0,2487*	0,0642	0,0170	0,1145*	0,1687
MI1	0,1197*	0,1508*	0,2283*	0,2476*	0,0648	0,1252*	0,1044*		0,1591	0,0178	0,4646*	0,1503	0,2332*	0,1752
MI2	0,1122*	0,1338*	0,2108*	0,2191*	0,1143*	0,1222*	0,1055*	0,0309		0,0992	0,2678*	0,1974*	0,2113*	0,3754*
MI3	0,1408*	0,1723*	0,2439*	0,2637*	0,1280*	0,1605*	0,1220*	0,0159	0,0063		0,5438*	0,2243	0,3672*	0,3419*
MI4	0,1330*	0,1491*	0,2339*	0,2528*	0,1814*	0,1520*	0,1294*	0,0687	0,0368	0,0486		0,2225*	0,2251*	0,4554*
MI5	0,1474*	0,1510*	0,2398*	0,2598*	0,1817*	0,0966*	0,0577*	0,1754*	0,1645*	0,1782*	0,1905*		0,1661*	0,0619
MI6	0,0704*	0,0839*	0,1680*	0,1534*	0,0506*	0,0664*	0,0776*	0,0593	0,0713*	0,1110*	0,1203*	0,1527*		0,1882*
MM	0,1019*	0,1164*	0,1954*	0,2129*	0,1091*	0,0467	0,0215	0,1436*	0,1596*	0,1766*	0,1930*	0,1058*	0,0776*	

Pelo dendograma (Figura 2) observa-se uma subdivisão entre os pontos amostrais, com maior similaridade entre os pontos a Montante UHE Machadinho (MM) e a Jusante da UHE Itá (JI), separado dos indivíduos das Pisciculturas (P) (em dois grupos) e dos indivíduos a Montante da UHE Itá (MI).

Nas Tabelas 7 a 12, estão descritos os resultados da análise hierárquica de variação molecular (AMOVA) (EXCOFFIER et al., 1992) utilizando os índices de F_{ST} e R_{ST} , a maior variabilidade foi encontrada dentro de indivíduos e entre indivíduos dentro de populações respectivamente, para todos os agrupamentos testados. Esta análise foi realizada primeiramente com todos os pontos amostrais formando um único agrupamento; em seguida foi realizada análises com todas as comparações de grupamentos possíveis (dados não apresentados) e também formando grupamentos sugeridos pelo programa SAMOVA, utilizando os dois grupamentos deste programa com a maior diferenciação ($K= 3$ e 4) (Tabela 6).

Os valores significativos encontrados em todos os casos entre as populações e entre grupos indicaram uma estruturação moderada a alta.

A maior variabilidade utilizando o índice R_{ST} entre populações (Piscicultura (P), Jusante UHE Itá (JI), Montante UHE Itá (MI) e Montante UHE Machadinho (MM)) foi de 16,26% ($F_{ST}=0,162$, $P<0,05$), quando analisada com as populações formando um grupo. Já a maior variabilidade entre grupos, quando analisada com as populações formando quatro grupos (grupo IV: MM; grupo V: P1, P2, P3 e P4 JI2 e JI3, MI2, MI4, MI5 e MI6; grupo VI: JI1; grupo VII: MI1 e MI3) foi de 29% ($F_{CT}=0,290$, $P<0,05$), resultado este não muito distante quando formando 3 grupos (Grupo I: P1, P2, P3 e P4, JI2 e JI3, MI2, MI4, MI5 e MI6 e MM; Grupo II: JI1 e MI1; Grupo III: MI3) que foi 28,92% ($F_{CT}=0,289$, $P<0,05$)(Tabela 6 e 9),

Quando utilizado o índice F_{ST} , a maior variabilidade entre populações (Grupo V: P1, P2, P3 e P4 JI2 e JI3, MI2, MI4, MI5 e MI6; Grupo VI: JI1; Grupo VII: MI1 e MI3; Grupo IV: MM) foi de 11,6% ($F_{SC}=0,118$, $P<0,05$) (Tabela 12), quando analisada formando quatro grupos e a maior variabilidade entre grupos (Grupo I: P1, P2, P3 e P4, JI2 e JI3, MI2, MI4, MI5 e MI6 e a MM; Grupo II: JI1 e MI1; Grupo III: MI3) foi 2,38% ($F_{CT} =0,023$, $P<0,05$), quando analisada formando três grupos (Tabela 10).

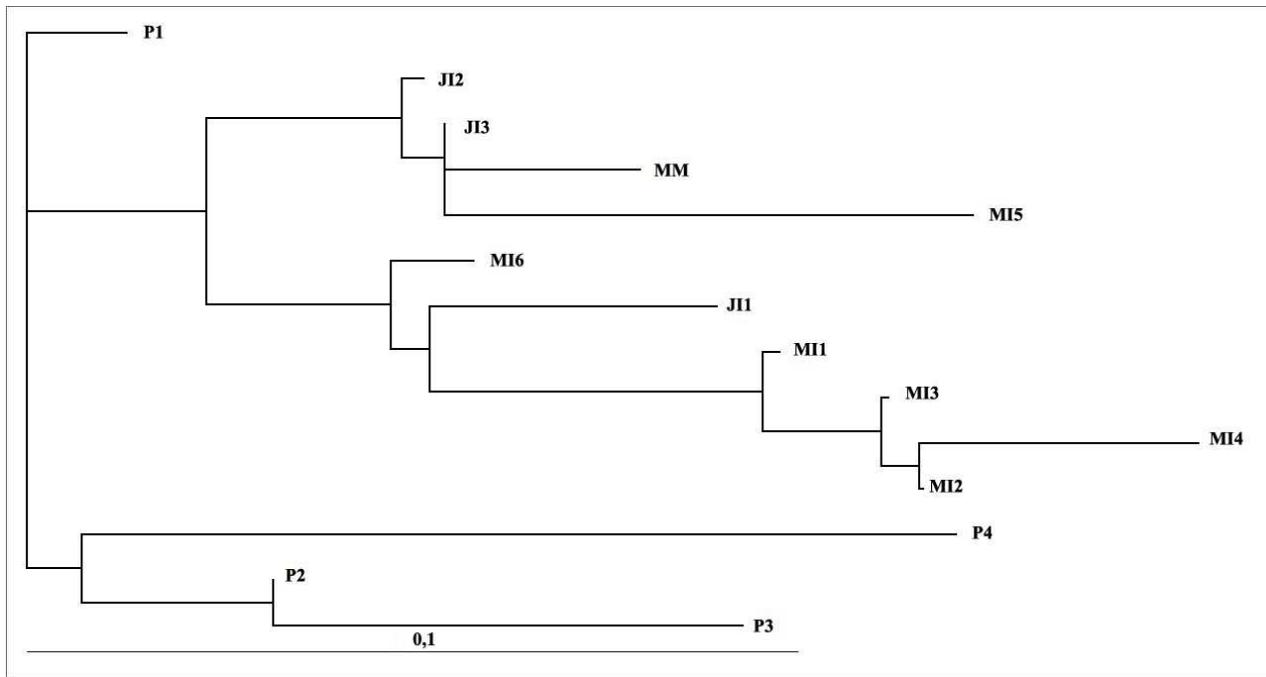


Figura 2: Dendrograma de Neighbor-Joining de Saitou e Nei (1987) utilizando a distância de Slatkin (1995) par a par, representando a relação entre as populações de Curimba (*Prochilodus lineatus*) analisadas.

Tabela 6: Resultados SAMOVA

Nº de Grupos (K)	Composição	% de Variação	F_{CT}
3	(grupo I- P1, P2, P3, P4, JI2, JI3, MI2, MI4, MI6, MI5 e MM) (grupo II- JI1 e MI1) (grupo III- MI3)	28,92*	0,289*
4	(grupo IV- MM) (grupo V- P1, P2, P3, P4, JI2, JI3, MI2, MI4, MI6 e MI5) (grupo VI- JI1) (grupo VII- MI1, e MI3)	29,00*	0,290*

^{NS} Não significativo, * Significância $P < 0,05$.

Tabela 7: Análise de AMOVA considerando todas as populações de *Prochilodus lineatus* com piscicultura em um mesmo grupo utilizando o índice R_{ST} .

Fonte de Variação	Soma dos quadrados	Componentes de Variação	Porcentagem de Variação
Entre populações	2077882,22	5101,35081va	16,25803*
Entre indivíduos dentro de populações	7160025,373	25234,89872vb	80,42374*
Dentro de indivíduos	159300,000	1041,17647	3,31823*
Total	9397207,595	31377,42600	
Índices de Fixação			
	Vb e F_{IS}		0,96038 *
	Va e F_{ST}		0,16258*
	F_{IT}		0,96682*

^{NS} Não significativo, * Significância $P < 0,05$.

Tabela 8: Análise de AMOVA considerando todas as populações de *Prochilodus lineatus* com piscicultura em um mesmo grupo utilizando o índice F_{ST} .

Fonte de Variação	Soma dos quadrados	Componentes de Variação	Porcentagem de Variação
Entre populações	190,890	0,47317va	11,25798*
Entre indivíduos dentro de populações	644,423	0,90630vb	21,56324*
Dentro de indivíduos	432,000	2,82353	67,17878*
Total	1267,314	4,20301	
Índices de Fixação			
Vb e F_{IS}		0,24299*	
Va e F_{ST}		0,11258*	
F_{IT}		0,32821*	

^{NS} Não significativo, * Significância $P < 0,05$. Baseado em 10100

Tabela 9: Análise do AMOVA considerando três grupos (Grupo I: P1, P2, P3, P4, JI2, JI3, MI2, MI4, MI6, MI5 e MM; Grupo II: JI1 e MI1; Grupo III: MI3) utilizando o índice R_{ST} .

Fonte de Variação	Soma dos quadrados	Componentes de Variação	Porcentagem de Variação
Entre grupos	904118,017	11665,62037va	28,92*
Entre populações dentro de grupos	1173766,920	3600,17118 vb	8,93*
Dentro de populações	7319325,373	25066,18278	62,15*
Total	9397210,310	40331,97434	
Índices de Fixação			
F_{ST}		0,37850*	
Vb e F_{SC}		0,12559*	
Va e F_{CT}		0,28924*	

^{NS} Não significativo, * Significância $P < 0,05$.

Tabela 10: Análise de AMOVA considerando três grupos (Grupo I: P1, P2, P3, P4, JI2, JI3, MI2, MI4, MI6, MI5 e MM; Grupo II: Ponto 5 e 11; Grupo III: Ponto 12) utilizando o índice F_{ST} .

Fonte de Variação	Soma dos quadrados	Componentes de Variação	Porcentagem de Variação
Entre grupos	27,141	0,10196va	2,38090*
Entre populações dentro de grupos	163,749	0,49390vb	11,53360*
Dentro de populações	1076,423	3,68638	86,08550*
Total	1267,314	4,28223	
Índices de Fixação			
F_{ST}			0,13915*
Vb e F_{SC}			0,11815*
Va e F_{CT}			0,02381*

^{NS} Não significativo, * Significância $P < 0,05$.

Tabela 11: Análise do AMOVA considerando quatro grupos (Grupo V: P1, P2, P3, P4, JI2, JI3, MI2, MI4, MI6 e MI5; Grupo VI: JI1; Grupo VII: MI1, e MI3; Grupo IV: MM) utilizando o índice R_{ST} .

Fonte de Variação	Soma dos quadrados	Componentes de Variação	Porcentagem de Variação
Entre grupos	1139493,042	11435,48989va	29,00*
Entre populações dentro de grupos	938391,896	2924,40487vb	7,42*
Dentro de populações	7319325,373	25066,18278	63,58*
Total	9397210,310	39426,07754	
Índices de Fixação			
F_{ST}			0,36422*
Vb e F_{SC}			0,10448*
Va e F_{CT}			0,29005*

^{NS} Não significativo, * Significância $P < 0,05$.

Tabela 12: Análise do AMOVA considerando quatro grupos (Grupo V: P1, P2, P3, P4, JI2, JI3, MI2, MI4, MI6 e MI5; Grupo VI: JI1; Grupo VII: MI1, e MI3; Grupo IV: MM) utilizando o índice F_{ST} .

Fonte de Variação	Soma dos quadrados	Componentes de Variação	Porcentagem de Variação
Entre grupos	37,841	0,07968va	1,87049*
Entre populações dentro de grupos	153,050	0,49405vb	11,59716*
Dentro de populações	1076,423	3,68638	86,53236*
Total	1267,314	4,26012	
Índices de Fixação			
F_{ST}		0,13468*	
F_{SC}		0,11818*	
F_{CT}		0,01870*	

^{NS} Não significativo, * Significância $P < 0,05$.

O gráfico de verossimilhança mostrou $K=3$ como sendo o valor mais provável de populações existentes (Figura 3). Utilizando a correção descrita por Evanno et al. (2005) obteve-se, também, $K=3$ (Figura 4) como sendo o número de populações dos dados analisados nesse trabalho. As Figuras 5 e 6 demonstram a dinâmica e a estruturação das populações.

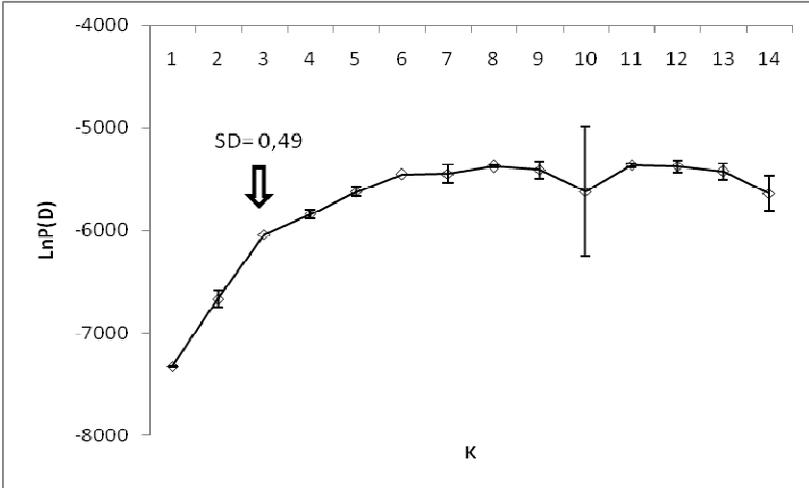


Figura 3: Verossimilhança dos diferentes números de populações testadas (K), usando 9 loci de microssatélites em população de *Prochilodus lineatus* do alto do rio Uruguai (Ln(PD) em relação ao número de populações (K) testadas). SD = Desvio-padrão.

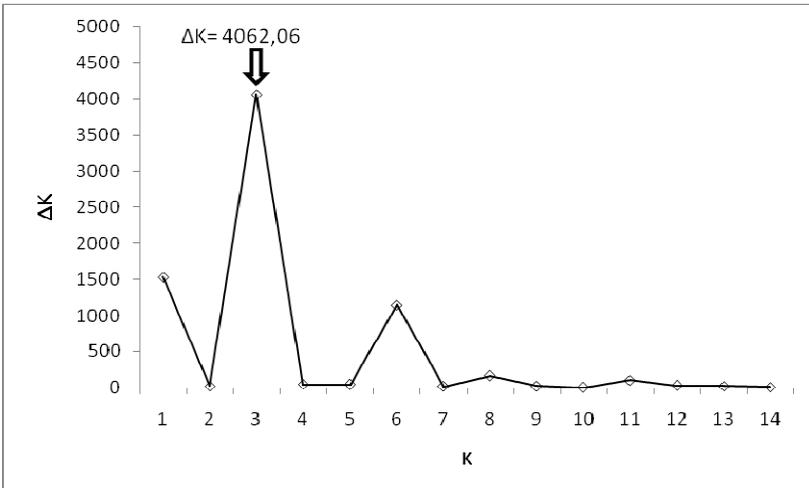


Figura 4: Determinação do número mais provável de populações (ΔK em relação ao número de populações (K) testadas).

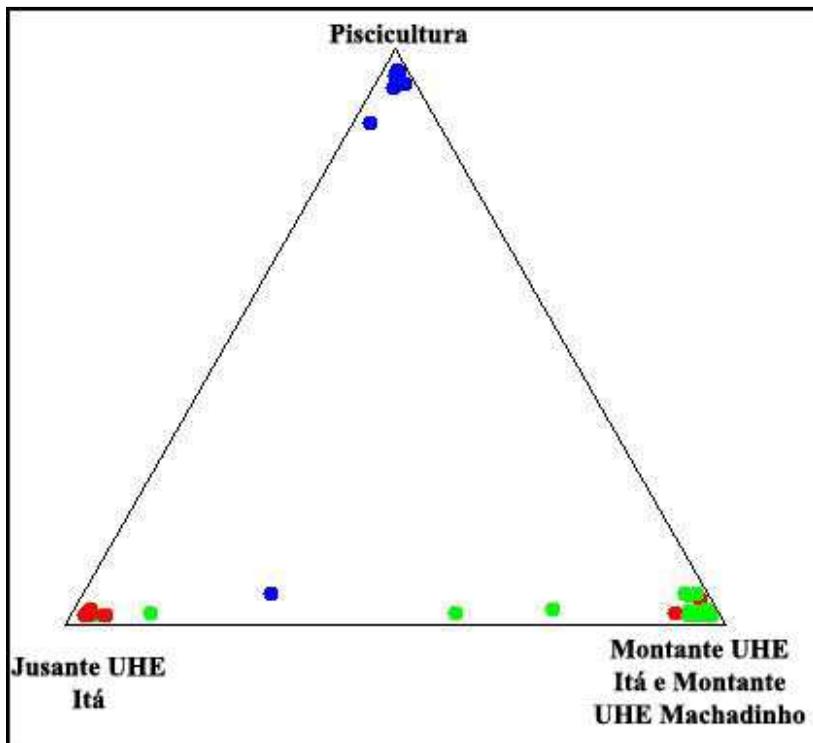


Figura 5: “Triangle plot”, demonstrando a distância e a dinâmica entre das três populações de *Prochilodus lineatus* encontradas através do software Structure.

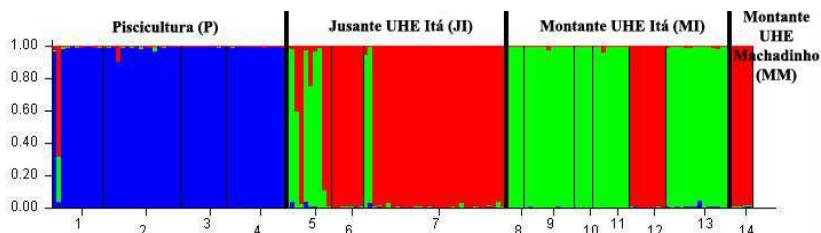


Figura 6: “Bar plot”, valores de Q (coeficiente de associação) de cada indivíduo analisado para três populações (K=3) sem informação a priori de origem dos indivíduos.

DISCUSSÃO

Análise intrapopulacional e variação dos microssatélites

Os locos microssatélites utilizados nas análises dos sítios coletados de *P. lineatus* mostraram um alto grau de polimorfismo (média de alelos/loco 31,8, quando analisados em quatro sítios amostrais), refletindo a alta variabilidade genética desta espécie já reportada por Carvalho (2002), que encontrou média de 46,5 alelos/loco. A menor média de alelos encontrada neste estudo pode ser em parte atribuída ao menor número amostral utilizado. O autor supracitado encontrou maior variabilidade genética quando comparado ao estudo de DeWoody e Avise (2000), que obtiveram média de 7,1 alelos/loco em outras espécies de peixes de água doce.

O desvio de equilíbrio EHW encontrado pode ser devido ao déficit de heterozigotos demonstrados através do índice de endogamia F_{IS} . Este déficit pode ser explicado pela presença de alelos nulos. Benites (2008) estudando a caracterização genética do pintado *Pseudoplatystoma corruscans* encontrou desvios de EHW em todas as populações analisadas através de marcadores microssatélites e verificou a presença de alelos nulos para a maioria dos casos de desvio. Suganuma (2008) estudando diversidade genética de populações de Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) verificou desvios para este parâmetro em todas as populações apresentando excesso e déficit de heterozigotos, sendo no último caso atribuído a presença de alelos nulos.

Entre as possíveis causas da presença de alelos nulos, está a ocorrência de mutação de ponto dentro do sítio de hibridação do primer, grandes eventos de inserção/deleção entre os microssatélites e o sítio de hibridação do primer, baixa qualidade do DNA ou ocorrência de mutações na repetição, que levam a grandes mudanças no tamanho do produto. Portanto, a definição de alelo nulo é qualquer alelo fracamente amplificado, mas não visível após a detecção, ou em um loco de microssatélite que não é amplificado na PCR (O'CONNELL E WRIGHT, 1997; DAKIN E AVISE, 2004).

Animais da região a jusante da UHE Itá possuem maior média de número de alelos (17,22), e maior média heterozigosidade observada (0,746). A montante da UHE Machadinho encontra-se a menor média de heterozigosidade esperada (0,722).

Yamamoto et al. (2004) relataram diversidade genética, medida por alelos e heterozigosidade, sempre menor acima das barragens do que abaixo delas. Em nosso estudo, tal fato não ocorreu. Porém deve-se

levar em conta que o número amostral da região a montante foi menor do que as outras regiões, podendo consequentemente, ser o motivo do número inferior de número de alelos e da heterozigiosidade.

As amostras de pisciculturas apresentaram variabilidade genética próxima aquelas obtidas nos pontos onde foram coletados animais selvagens, sendo inferior em heterozigiosidade, contudo similares em número de alelos. Campos (2009) analisando a variação genética entre estoques cultivados e selvagens de *Prochilodus argenteus*, encontrou efeito de gargalo na população cultivada quando comparada a população selvagem. O autor encontrou menor número de alelos na população cultivada (1 a 4 alelos/loco) quando comparado a população selvagem (10 a 31 alelos/loco) e heterozigozidades superiores na população cultivada indicando um efeito gargalo recente.

Em estudo (POVH et al., 2009) realizado para o monitoramento da variabilidade genética do Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) observaram uma manutenção da alta variabilidade genética nos peixes jovens das pisciculturas estudadas, quando comparadas com seus reprodutores, demonstrando que o manejo reprodutivo realizado nestas pisciculturas pode manter, ou até mesmo maximizar a variabilidade nos peixes jovens.

A redução ou a perda de variabilidade genética é resultado de gargalos evolutivos, cultivos inadequados ou alterações ambientais. Os resultados apresentados no presente trabalho indicam que a população de *P. lineatus* da bacia do rio Uruguai ainda não apresenta perda significativa de sua variabilidade genética, a curto prazo, devido as barragens, pois as mesmas são recentes. Este resultado corrobora com os obtidos por Silva (2006) que analisando a estrutura genética de *P. lineatus* na bacia do Rio Grande em São Paulo, concluiu que as alterações ambientais causadas pelas barragens não produziram uma diminuição da variabilidade genética do Curimba. Da mesma forma Reid et al. (2008) não verificaram efeitos de fragmentação causadas por barragens sobre a diversidade genética em populações de *Moxostoma duquesneii*. Contudo, Yamamoto et al (2004) estudando *Salvelinus leucomaenis* populações dos rios da região sul de Hokkaiko-Japão, encontrou variação entre populações jusante e montante das barragens, indicando uma perda de diversidade genética a montante das mesmas.

Análise interpopulacional

Os marcadores microssatélites utilizados no presente trabalho revelaram a existência de estruturação genética significativa na região estudada.

Os menores valores significativos obtidos pelos índices F_{ST} e R_{ST} foram 0,0441 e 0,1088, e os maiores valores significativos foram 0,264 e 0,565, respectivamente (Tabela 5). O índice F_{ST} demonstrou estruturação genética entre 14 regiões analisadas e o índice R_{ST} revelou estruturação em 11 das comparações, quando analisadas par a par. Barroso et al. (2005) relata em seu estudo com *Brycon opalinus*, a diferença genética significativas ($F_{ST} = 0,043$, $P < 0,05$) demonstrando uma baixa estruturação genética, mas sugere, que cada população é uma diferente unidade de manejo.

Segundo Frankham et al. (2008) o F_{ST} varia de 0 (sem diferenciação entre os fragmentos) a 1 (fixação de diferentes alelos nos fragmentos). Dentro desta escala, Wright (1978) cita que valores entre 0 e 0,05 indicam baixa estruturação genética; entre 0,05 e 0,15 indicam estruturação genética moderada, valores entre 0,15 e 0,25 indicam estruturação genética alta e valores acima de 0,25 indicam uma forte estruturação genética. Considerando estes parâmetros os resultados do presente estudo indicam estruturação genética variando de moderada a alta dentro dos pares de regiões analisadas (Tabela 5).

Hatanaka et al. (2006), verificaram uma leve estruturação genética para *P. argenteus* no rio São Francisco ($F_{ST} = 0,008$) revelando distintos “pools” gênicos em duas localidades. Estes resultados diferem do modelo descrito por Revaldaves et al. (1997), que propuseram a existência de uma única unidade reprodutiva para *P. lineatus* na bacia do rio Paraná.

Muito se discute, sobre qual seria a magnitude do F_{ST} que deveria refletir uma diferenciação significativa entre populações. Neste contexto, alerta-se que, para a conservação, é mais aconselhável considerar a existência de subdivisões populacionais do que tratar várias populações distintas como uma única população panmítica, podendo resultar numa perda considerável da variação genética (LAIKRE et al., 2005).

Os resultados globais da AMOVA (EXCOFFIER et al., 1992), quando considerados os agrupamentos sugeridos pelo SAMOVA (DUPANLOUP et al., 2002), apresentaram uma maior variabilidade entre grupos, obtidos pelos índices F_{ST} e R_{ST} de 2,38 % ($F_{CT} = 0,024$, considerando três grupos) e 29,00% ($F_{CT} = 0,29$, considerando quatro

grupos), respectivamente. Estes resultados estão de concordância com os obtidos pela análise Bayesiana que, como mostra as Figuras 3, 4, 5 e 6, indicou a existência de 3 populações distintas ($K=3$).

O dendrograma construído a partir dos dados de F_{ST} corrobora com a afirmação de que na Bacia do rio Uruguai existe populações selvagens distintas (2 Pisciculturas e 2 selvagens)(Figura 2). Verificou-se ainda a separação das populações selvagens das de cativeiro. Tal fato pode ser atribuído a falta de planejamento dos programas reprodutivos nas pisciculturas.

Estes resultados nos alerta que, para o repovoamento de ambientes naturais, é de suma importância o conhecimento da variabilidade genética deste, bem como a manutenção do mesmo, pois pode evitar um impacto genético nas populações estoques (locais), permitindo que as espécies se adaptem a mudanças no meio em que vivem (TOLEDO-FILLHO et al., 1992; HARTL E CLARCK, 1997; HILSDORF E PETRERE, 2002; PEREZ-SWEENEY et al., 2003). No presente estudo evidenciamos duas unidades reprodutivas independentes na Bacia do Rio Uruguai, além da diferenciação genética das pisciculturas com as populações selvagens, que de alguma maneira, já forneceram peixes para repovoamento.

Ryman et al. (1995) definem introgressão como a introdução com posterior fixação de um material genético novo em uma determinada população selvagem. Esta introgressão de material genético exógeno acontece quando as características genéticas da população cultivada são diferentes da população selvagem. Os autores citam ainda que a constituição genética da população nativa possa ser permanentemente alterada pela perda de material genético importante, onde genes ou complexos gênicos favorecidos pela seleção artificial ou domesticação podem não ser adaptados ao ambiente natural, provocando assim, erosão do “pool” gênico nativo, diminuindo ainda a capacidade reprodutiva dos peixes nativos, introduzindo doenças nas populações selvagens e o enfraquecimento ou mesmo a perda da população natural.

Alguns estudos têm demonstrado o efeito da construção de barreiras (como por exemplo, as Usinas Hidrelétricas) na diversidade genética de peixes migradores através de técnicas moleculares, como a deriva genética e o efeito gargalo (WASKO E GALETTI JR., 2002; HATANAKA E GALETTI JR., 2003; HATANAKA et al., 2006; WANG et al., 2007), devido simplesmente a barreira física, bem como através da alteração de algum fator ambiental, que influencia em algum momento o ciclo de vida dos peixes. Agostinho et al. (2002), ao caracterizarem a biodiversidade de peixes da Bacia do Rio Paraná,

relataram que após a construção do reservatório de Itaipú, algumas mudanças ocorreram na abundância de algumas espécies da bacia, como espécie *P. lineatus* que apresentou um declínio devido a falta de enchentes nas áreas de berçário.

Impactos negativos na diversidade biológica são decorrências inevitáveis devido a construção de hidrelétricas, o manejo deve ter compromissos não só com o incremento da produção pesqueira, mas também com a recomposição e manutenção da diversidade (AGOSTINHO, 1994).

No presente trabalho, apesar de ter encontrado uma estruturação na população de *P. lineatus* na bacia do rio Uruguai, acredita-se que as usinas hidrelétricas não tenham causado tal fato, devido ao pequeno tempo de implantação, uma vez que a mais antiga (UHE Itá) entrou em operação no ano 2000.

Alguns autores propõem para um cenário de estruturação populacional, que estas podem estar relacionadas com uma competição por defesa de recursos, onde animais mais fortes ocupam áreas com melhores recursos, estabelecendo território, levando os animais mais fracos a ambientes menos favoráveis (KREBS E DAVIES, 1996). Este cenário foi encontrado na bacia do rio São Francisco com populações de *Brycon lundii*, onde co-existiam diferentes “pools” gênicos em pontos separados por menos de 30 km de distância sem nenhuma barreira física (WASKO E GALETTI JR., 2002). Outra possível explicação para esta estruturação pode ser a habilidade de retornar para o ambiente onde nasce a fidelidade ao sítio reprodutivo já relatado para outras espécies de peixes migradores (YOSHIYAMA et al., 1992; DITTMAN E QUINN, 1996; WIRGIN et al., 1997; WASKO E GALETTI, 2002).

A diferenciação das populações de *Prochilodus lineatus* pode ser resultado da evolução separada das populações, bem como as semelhanças genéticas restantes podem representar um “pool” gênico de um estoque ancestral comum (WASKO E GALETTI, 2002).

A identificação de estrutura populacional é essencial para se elaborar recomendações de manejo genético, pois as populações presentes em diferentes fragmentos podem estar totalmente ou parcialmente isoladas ou ser uma única população (FRANKHAM et al., 2008). O isolamento reprodutivo se torna inevitável, através da formação dos fragmentos, podendo ocasionar diferenças adaptativas e genéticas entre as populações locais (CAMPOS et al., s/d).

A manutenção da diversidade genética é considerada como uma das três prioridades globais da conservação (MCNEELY et al., 1990), portanto a manutenção da variação intra e inter populacional, quando

esta existir, é imprescindível para minimizar a frequência de extinções locais e garantir a estabilidade da espécie devido a instabilidades ambientais, já que a diversidade genética é essencial para adaptação em um ambiente em mudança (WRIGHT, 1978; KIRPICHNIKOV, 1992; RYMAN et al., 1995; AVISE, 2000; FRANKHAM et al., 2008).

Dez localidades da bacia do rio Uruguai e quatro pisciculturas foram analisadas para caracterizar a diversidade genética do Curimba (*Prochilodus lineatus*), utilizando marcadores moleculares microssatélites, nos permitindo formular as seguintes conclusões:

- ✓ Em estudos de diversidade genética para *Prochilodus lineatus* na bacia do rio Uruguai, os marcadores moleculares microssatélites foram eficientes resultando em dados acurados sobre a estruturação genética destas populações;
- ✓ Com os dados resultantes das análises, confirmamos haver mais de uma população de *Prochilodus lineatus* na bacia do rio Uruguai;
- ✓ Apesar da estruturação genética na bacia do rio Uruguai, não está caracterizado uma deriva genética ou efeito gargalo nestes ambientes devido a fragmentação do ambiente por Usinas hidrelétricas;
- ✓ Para a formação de bancos genéticos para fins de repovoamento sugerimos as pisciculturas a formação de bancos genéticos naturais, elaboração de programas de manejo, aumento na variabilidade genética no seu estoque de reprodutores de acordo com o ambiente receptor;
- ✓ Os resultados obtidos fornecem subsídios para o estabelecimento de políticas e programas de conservação e manejo de pesca desta espécie por possuírem características específicas;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE ENERGIA ELÉTRICA (BRASIL). Atlas de energia elétrica do Brasil, 3. Ed. Brasília: Aneel, 2008.

AGOSTINHO, A.A. In: SITUAÇÃO ATUAL E PERSPECTIVAS DA ICTIOLOGIA NO BRASIL. IX ENCONTRO BRASILEIRO DE ICTIOLOGIA. Manejo de recursos pesqueiros em reservatórios. Maringá, 1992. p. 106-121.

AGOSTINHO, A.A. IN: COMASE, SEMINÁRIO SOBRE FAUNA AQUÁTICA E O SETOR ELÉTRICO BRASILEIRO – REUNIÕES TEMÁTICAS PREPARATÓRIAS – CADERNO 1 – FUNDAMENTOS. Pesquisas, monitoramento e manejo da fauna aquática em empreendimentos hidrelétricos. 1994.

AGOSTINHO, A.A.; JÚLIO JR., H.F.. Peixes da bacia alto rio Paraná. In: Lowe-Mc Connell, R.H. Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais. Edusp, São Paulo, SP, 1999. p. 374-400.

AGOSTINHO A.A.; G.L.C., FERNANDEZ; DR; SUZUKI, H.I. Efficiency of fish ladders for a neotropical ichthyofauna. River Research and Applications 18: 299-306, 2002

ALMEIDA, F. S.; SODRÉ, L.M.K.; CONTEL, E.P.B. Population structure analysis of *Pimelodus maculatus* (Pisces, Siluriformes) from the Tietê and Paranapanema Rivers (Brazil). Genetics and Molecular Biology, v. 26, n.3, p. 301-305, 2003.

AVISE, J.C.. Phylogeography: The history of formation of species. Cambridge: Harvard University Press, p.464, 2000.

AZEVEDO, P. In: Anais do II congresso latino-americano de zoologia. Do Rio Grande e sua fauna À barragem de furnas e suas conseqüências. 1965, p. 91-100.

BARBOSA, A.C.D.R.; CORRÊA, T.C.; GALZERANI, F.; GALETTI JR., P.M.; HATANAKA, T.. Thirteen polymorphic microsatellite loci in the neotropical fish *Prochilodus argenteus* (Characiformes, Prochilodontidae). Molecular Ecology Notes, v.6, p. 936-938, 2006.

BARBOSA, A.C.D.R.; GALZERANI, F.; CORRÊA, T.C.; GALETTI JR, P.; HATANAKA, T. Description of novel microsatellite loci in the neotropical fish *Prochilodus argenteus* e cross amplification in *P. costatus* and *P. lineatus*. *Genetics and Molecular Biology*, v.31(1): p. 357-360, 2008.

BARROSO, R.M.; HILSDORF, A.W.S.; MOREIRA, H.L.M.; CABELLO, P.H.; TRAUB-CSEKO, Y.M.. Genetic diversity of wild and cultured populations of *Brycon opalinus* (Cuvier, 1819) (Characiforme, Characidae, Bryconinae) using microsatellites. *Aquaculture*, 247, p.51-65, 2005.

BARTON, N. H. & SLATKIN, M.. A quasi-equilibrium theory of the distribution of rare alleles in a subdivided population. *Heredity* 56: 409-415, 1986.

BEDORE, A. G.. Características e criopreservação do sêmen de Pacuaranha, *Piracatus mesopotamicus* e de Piracanjuba, *Brycon orbignyanus*. 1999. 53f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 1999.

BENITES, C.. Caracterização genética do pintado *Pseudoplatystoma corruscans* (Spix e Agassiz, 1829) (Siluriformes: Pimelodidae da Bacia Paraná-Paraguai, por marcadores do tipo microsatélites. 2008. 88f. Tese (Doutorado em aqüicultura) – Centro de Aquicultura da UNESP - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

BRASIL. Projeto de Lei n.4630 de 1998, PL n.884, 1999, aprovada em de 18 setembro 2002 e seu apenso. Torna obrigatória a implantação, nas barragens de curso d'água para quaisquer fins, de escadas ou outros dispositivos equivalentes que possibilitem a subida de peixes até as nascentes, para desova. Câmara dos deputados, Brasília, p.42848, 2002..

BRITSKI, H.A. Peixes de água doce do Estado de São Paulo-Sistemática, PP.79-108. In: Poluição e Piscicultura. Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, Instituto de Pesca da C.P.R.N. da Secretaria da Agricultura. São Paulo, 1972.

BRITSKI, H.A.; SATO, Y.; ROSA, A.B.S.. Manual de identificação de peixes da região de Três Marias (com chave de identificação para peixes da Bacia do São Francisco). 3 ed., Minas Gerais: Ministério da Irrigação-CODEVASF, 1988,115p.

CAMPOS, R.M.; SILVA, N.S.; AQUINO-SILVA, M. R. Fragmentações de bacias hidrográficas como fator de diferenciação genética de peixes. X Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VI Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba.

CAMPOS, W.N. Análise comparativa da variação genética entre os estoques cultivado e natural de *Prochilodus argenteus*: implicações para o repovoamento de rios. 2009. 51f. Dissertação (Mestrado em genética e evolução) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009.

CAROLSFELD, J.; GODINHO, H.P.; ZANIBONI-FILHO, E.; HARVEY, B.J. Cryopreservation of sperm in Brazilian migratory fish conservation. *Journal of Fish Biology*, n 63,p. 472-489,2003.

CARVALHO, D.C. Identificação e caracterização de regiões microssatélites de *Prochilodus lineatus* (Pisces, Characiformes). 2002. 82f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia Bioquímica e Molecular) – Departamento de Farmacologia do Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2002.

CARVALHO, G.R.; HAUSER, L.. Molecular genetics and the stock concept in fisheries. In: Carvalho, G.R., Pitcher, T.J. *Molecular genetics in fisheries*. Chapman and Hall, Londres, p. 55-79, 1995.

CARVALHO-COSTA, L.F. Estudo da variação genética em *Prochilodus costatus* (Teleostei: Characiformes: Prochilodontidae) na Bacia do Rio São Francisco, região de Três Marias (MG). 2006. 73f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, São Carlos, 2006.

CARVALHO-COSTA, L. F., HATANAKA, T.; GALETTI JR, P. M. Evidence of lack of population substructuring in the brazilian freshwater

fish *Prochilodus costatus*. Genetics and Molecular Biology, v. 31, n.1(suppl), p. 377-380, 2008.

CASTRO, R.M.C. Revisão taxonômica da família *Prochilodontidae* (ostariophysis, Characiformes). 1990. 293f. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 1990.

CASTRO, R.M.C.; VARI, R.P.. Detritivores of the south american fish family *Prochilodontidae* (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes): a phylogenetic and revisionary study. Smithsonian contributions to Zoology, n.622. Washington, D.C: Smithsonian books, 2004.

CHAMBERS, G.K.; MACAVOY, E.S.. Microsatellites: Consensus and controversy. Comp Biochem Physiol, B 126:455-476, 2000.

COOMBS, J.A.; LETCHER, B.H.; NISLOW K.H. CREATE: a software to create input files from diploid genotypic data for 52 genetic software programs. Molecular Ecology Resources v 8, p.578-580, 2008.

CUNNINGHAM, E.P.; MEGHEN, C.M.. Biological identification systems: Genetic markers. Rev Sci Tech Off Int Epiz 20:2:491-499, 2001.

DAKIN, E.E.; AVISE, J.C.. Microsatellite null alleles in parentage analyses. Heredity, 93, p.504-509, 2004.

DEWOODY, J.A.; AVISE, J.C.. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animal. Journal of fish Biology. V.56, p.461-473, 2000.

DITTMAN, A. H.;T. P. QUINN. Homing in Pacific salmon: mechanisms and ecological basis. J. exp. Biol. v. 199, p. 83-91, 1996.

DUPANLOUP I, SCHNEIDER S, EXCOFFIER L. 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. Molecular Ecology., 11:2571-81.

EVANNO G, REGNAUT S, GOUDET J.. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. Molecular Ecology. 14: 2611-2620, 2005.

EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. ARLEQUIN version 3.01: an integrated software package for population genetics data analysis. Bern: University of Bern, Zoological Institute, 2006.

EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P.E.. Using allele frequencies and geographic subdivision to reconstruct gene trees within a species: molecular variance parsimony. *Genetics*, v.136, p.343–359, 1994.

EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P.E.; QUATTRO, J.M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, v.131, p.479-491, 1992.

FALUSH D, STEPHENS M, PRITCHARD JK. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164: 1567–1587, 2003.

FELSENSTEIN, J.. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6. Distributed by the author. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle, 2005.

FERREIRA, M. E.; GRATAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 3 ed. Brasília: Embrapa-Cenargen, 1998, 220 p.

FISHBASE.<http://www.fishbase.org/NomenClature/ScientificNameSearchList.php?crit1_fieldname=SYNONYMS.SynGenus&crit1_fieldtype=CHAR&crit1_operator=EQUAL&crit1_value=prochilodus&crit2_fieldname=SYNONYMS.SynSpecies&crit2_fieldtype=CHAR&crit2_operator=contains&crit2_value=&group=summary&backstep=-2>. Acesso em: 29 setembro 2008.

FITZSIMMONS, N.N.; MORITZ, C.; MOORE, S.S.. Conservation and dynamics of microsatellite loci over 300 million years of marine turtle evolution. *Molecular Biology and Evolution* 12:432-440, 1995.

FLECKER, A.S.. Ecosystem engineering by a dominant detritivore in a diverse tropical stream. *Ecology*, 77: 1845-1854, 1996.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J.D.; BRISCOE, D.A. Fundamentos de Genética da conservação. Tradução de Mercival Roberto Francisco e Izeni Pires Farias. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2008. 280 p. Título original: A Primer of Conservation Genetics.

FREITAS, J.E.P.; ARAÚJO, M.E.; SOLÉ-CAVA, A.M.. Estruturação genética das populações de duas espécies recifais do Atol das Rocas e da costa do Ceará. *Tropical Oceanography*, v.31, n. 2, p.193-201, 2003.

FREITAS, M.A.V.; SOITO, J.L.S. Energia e recursos hídricos. *Parcerias Estratégicas*, n.27, p.177-215, 2008.

GIRARD, P. Efeito cumulativo das barragens no Pantanal. Campo-Grande: Instituto Centro Vida, 2002. 28.p.

GOLDEMBERG, J.; LUCON, O. Energia e meio ambiente no Brasil. *Estudos Avançados*, v.21, n.59, p.7-20, 2007.

GOLDSTEIN, D.B.; SCHLOTTERER, C.. *Microsatellites. Evolution and Applications*. Oxford University Press, New York, 352 pp.,1999.

GOUDET, J. FSTAT: a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3.2). Lausanne: University of Lausanne, Department of Ecology & Evolution, 2002.

GUSMÃO, J.; LAZOSKI, C.; SOLÉ-CAVA, A.M. Population genetic structure of brazilian shirimp species (*Farfantepenaeus sp.*, *F.brasiliensis*, *F. paulensis* and *Litopenaeus shimitti*: Decapoda:Penaeidae). *Genetics and Molecular Biology*, v. 28, n.1, p. 165-171, 2005.

GUO, S. W. & THOMPSON, E. A.,. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* 48: 361-372, 1992.

HARTL D. L.; CLARK A. G.. *Principles of population genetics*. Sinauer Associates.Massachusetts. 3rd. ed., 1997.

HATANAKA, T.; GALETTI JR., P.M.. RAPD markers indicate the occurrence of structured populations in migratory freshwater fish species. *Genetics and Molecular Biology*, 26(1): 19-25, 2003.

HATANAKA, T.; SILVA, F.H.; GALETTI JR., P.M.. Population substructuring in a migratory freshwater fish *Prochilodus argenteus* (Characiformes, Prochilodontidae) from the São Francisco River. *Genetica*, 126: 153-159, 2005.

HEYNALTE-TATAJE, D.A.; HERMES-SILVA, S.; SILVA, M.M.C.; ABBUD, F.M.; CORREA, R.N.; ZANIBONI-FILHO, E.. In: ZANIBONI-FILHO, Evoy; NUÑER, Alex Pires de Oliveira. Reservatório de Itá: Estudos ambientais, desenvolvimento de tecnologias de cultivo e conservação da ictiofauna. Distribuição de ovos e larvas de peixes na área de influência do reservatório de Itá (Alto Rio Uruguai). Florianópolis, 2008. cap. 6, p. 127-158.

HEYNALTE-TATAJE, D.A.; ZANIBONI-FILHO, E.. In: ZANIBONI-FILHO, Evoy; NUÑER, Alex Pires de Oliveira. Reservatório de Itá: Estudos ambientais, desenvolvimento de tecnologias de cultivo e conservação da ictiofauna. Biologia e identificação de ovos e larvas de peixes do Alto Rio Uruguai. Florianópolis, 2008. cap. 9, p. 229-256.

HILSDORF, A.W.; PETRERE, M. Jr. Conservação de peixes na bacia do rio Paraíba do Sul. *Ciência Hoje* v. 30: p. 62 – 67. 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Diretoria de Fauna e Recursos Pesqueiros. Estatística da pesca 2005. Brasília, 2007. Boletim.

KIRPICHNIKOV, V.S. Adaptive nature of intrapopulation biochemical polymorphism in fish. *J. Fish Biol.* 40:1-16, 1992.

KREBS, J. R.; N. B. DAVIES,. An Introduction to Behavioural Ecology. Blackwell Scientific Publications, Oxford: 420 pp, 1996.

LAIKRE, L.; PALM, S.; RYMAN, N.. Genetic population structure of fishes: implications for coastal zone management. *Ambio*, 34, 111–119, 2005.

LARINIER, M. In: Dams and Fish Migration. Dams, ecosystem functions and environmental restoration. Roma: FAO Fisheries, 2001, n.419, p. 1-172.

LEVENE, H.. On a matching problem arising in genetics. *Annals of Mathematical Statistics* 20: 91-94, 1949

LIDANI, K.C.F.; LIMA, J.R.; TORRES, R.A.; GANBRIEL, J.E.; MADEIRA, H.M.F.; CARNEIRO, P.C.F. Genetic variability of Jundia (*Rhamdia quelen*) in captivity. *Rev. Acad., Curitiba*, v.4, n.3, p.47-53, 2006.

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

MAGRI, J.L.; SOUZA, S.L.; CABRAL, C.A.; ZANIBONI-FILHO, E.. In: ZANIBONI-FILHO, Evoy; NUÑER, Alex Pires de Oliveira. Reservatório de Itá: Estudos ambientais, desenvolvimento de tecnologias de cultivo e conservação da ictiofauna. Implantação da Primeira hidrelétrica no Alto Rio Uruguai. Florianópolis,2008. cap. 1, p. 11-20.

MARQUES, D.K.S.. Aplicação da biologia molecular em programas de conservação de recursos pesqueiros. Corumbá: Embrapa Pantanal, 22 p. 2002.

MCNEELY, J.A.; MILLER, K.R.; REID, W.V.; MITTMEIER, R.A.; WERNER, T.B.. Conserving the world's biological diversity. Switzerland: World Conservation Union, Publication services.1990.

NERAAS, L.P., SPRUEL, P. Fragmentation of riverine systems: the genetic effects of dams on bull trout (*Salvelinus confluentus*) in the Clark Fork River System. *Molecular Ecology*, v.10, p. 1153-1164, 2001.

NGUYEN, T.T.T. Population structure I the highly fragmented range of *Tor douronensis* (Cyprinidae) in Sarawak, Malaysia revealed by microsatellite DNA markers. *Freshwater Biology*, v.53, p.924-934, 2008.

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

OLIVEIRA, M.E.G.C.; RUSSO, C.A.M.; LAZOSKI, C.; VIANNA,P.R.F.G.; SOLÉ-CAVA, A.M. Genetic variation and population structure of two species of neo-tropical mud-mussels

(*Mytella spp.*). Genetics and Molecular Research, v.4, n. 2, p.197-202, 2005

PAGE, R.D.M.. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. Computer Applications in the Biosciences V.12, p.357-358, 1996.

PAIVA, M.P.; ANDRADE-TURBINO, M.F. DE; GODOY, M.P.. As represas e os peixes nativos do rio Grande. Bacia do Paraná-Brasil. Ed. Interciência, Rio de Janeiro, 2002. 78p.

PARKER, P.G.; SNOW, A.A.; SCHUG, M.D.; BOOTON, G.C.; FUREST, P.A. What molecules can tell us about populations: choosing and using a molecular marker. Ecology, v 79, n.2, p. 361-382, 1998.

PAULA, F.M. DE.. Diversidade genética de *Prochilodus lineatus* (pisces, characiformes) das escadas de transformação de peixes das usinas hidroelétricas do complexo Canoas : rio Paranapanema. 138p. Dissertação (mestrado em genética e biologia molecular)-Universidade estadual de Londrina, Londrina PR. 2006.

PÉPIN, L.; AMIGUES, Y.; LÉPINGLE, A.; BERTHIER, J.L.; BENSALID, A.; VAIMAN, D.. Sequence conservation of microsatellite between cattle (*Bos taurus*) goat (*Capra hircus*) and related species. Exemples of use in parentage testing and phylogeny analysis. Heredity 74:56-61, 1995.

PERES, M.D.; VASCONCELOS, M.S.; RENESTO, E. Genetic variability in *Astyanax altiparanae* Garutti & Britski, 2000 (Teleostei, Characidae) from the Upper Paraná River basin, Brazil. Genetics and Molecular Biology, v. 28, n.4, p. 717-724, 2005.

PEREZ-SWEENEY, B.M.; RODRIGUES, F.P.; MELNICK, D.J. In: CULLEN, L.J.; VALADARES-PADUA, C.; RUDRAN, R. (Orgs.). Metodologias moleculares utilizadas em genética da conservação. Métodos de estudos em biologia da conservação e manejo da vida silvestre. Ed. UFPR, 2003. p. 343-380.

PRIMACK, R.; ROZZI, R.; MASSARDO, F.; FEINSINGER, P.. Destrucción y degradación Del hábitat. In: Fundamentos de

conservación biológica. Perspectivas Latinoamericanas. Fondo de Cultura Económica. México, D.F., 2001.

PRIMACK, R.B.; RODRIGUES, E. Biologia da conservação. Londrina, 2001 328 p.

PRITCHARD JK, STEPHENS M, DONNELLY P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945–959, 2000

POVH, J.A.; RIBEIRO, R.P.; LOPERA-BARRERO, N.M.; GOMES, P.C.; BLANCK, D.V.; VARGAS, L.; JACOMETO, C.B.; LOPES, T.S.. Monitoramento da variabilidade genética de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, do programa de aumento de estoque do rio Paranapanema. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v86, n.5, p.1191-1195, 2009.

RAMELLA, M. S.; KROTH, M.A.; MEURER, S.; NUÑER, A. P. O., ZANIBONI-FILHO, E.; ARISI, A.C.M. Genetic variability in four fish species (*Pimelodus maculatus*, *Prochilodus lineatus*, *Salminus brasiliensis* and *Steindachneridion scripta*) from Uruguay River Basin. Brazilian archives of biology and technology, v.49, n.4, p 589-598, 2006.

RAYMOND, M; ROUSSET, M. Genepop (version 1.2): populations genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, v86, p. 248-249, 1995.

REID, S.M.; WILSON, C.C.; MANDRAK, N.E.; CARL, L.M.. Population structure and genetic diversity of black redhorse (*Moxostoma duquesnei*) in a highly fragmented watershed. *Conservation Genetics*, 9, 531–546, 2008.

REIS, R.E., KULLANDER, S.O. & FERRARIS-JR., C.J. (orgs.). Check list of the freshwater fishes of South and Central America. EDIPUCRS, Porto Alegre. 2003.

REVALDAVES, E.; RENESTO, E.; MACHADO, M.F.P.S.. Genetic variability of *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae) in the upper Paraná river. *Brazilian Journal of Genetics*, 20(3): 381-388, 1997.

REVALVES, E.; PEREIRA, L.H.G.; FERREIRA, A.T.; PEREIRA, A.C.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. In: Resumos do IX Simpósio de citogenética e genética de peixes. Obtenção de sequências microssatélites de *Prochilodus lineatus* (Chariciformes, Prochilodontidae). Maringá, 2002.

ROWENA, M.; ROMANA-EQUIA, R.; IKEDA, M.; BASIAO, Z.U.; TANIGUCHI, N. Genetic diversity in farmed Asian Nile and red hybrid tilapia stock evaluated from microsatellite and mitochondrial DNA analysis. *Aquaculture* 236:31-150, 2004.

ROZZI, R.; PRIMARCK, R.; FEINSINGER, P.; DIRZO, R.; MASSARDO, F. Qué ES La biología de La conservación? In: Fundamentos de conservación biológica. Perspectivas latino americanas. Fondo de Cultura Económica. México, D.F. 2001.

RYMAN, N.; UTTER, F.; LALKRE, L. Protection of intraspecific biodiversity of exploited fishes. *Rev. Fish. Biol. Fish.*, 5: 417-446, 1995.

SAMBROOK, J.; RUSSELL, D.W. Molecular cloning, A Laboratory manual. 3 ed. Cold spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY. 2001.

SATO, Y.; MIRANDA, M.O.T.; BAZZOLI, N.; RIZZO, E.. Impacto do reservatório de Três Marias sobre a Piracema à jusante da barragem. In: XI Encontro Brasileiro de Ictiologia, PUC-Campinas. Anais. 1995.2p.

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

SILVA, J.R. Análise da viabilidade econômica da produção dos peixes em tanques –rede no reservatório de ITAIPU. 2008.158f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) – Área de Concentração em Gerência de Produção, Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2008.

SILVA, M.O.B.; MURGAS L.D.S.; MELLO, C.B.M. et al.. Avaliação do sêmen de "Curimba" (*Pochilodus lineatus*) e "Piaparas" (*Leporinus obtusidens* e *Leporinus elongatus*) após 6, 18 e 24 horas de resfriamento

à temperatura de 4°C. In: Simpósio brasileiro de aquicultura, Recife. Resumos, Recife, 1998. 294 p.

SILVA, R.G. Análise da estrutura genética populacional do Curimatá (*Prochilodus lineatus*, Chariformes: Prochilodontidae) na região da bacia do Rio Grande, SP. 2006.100f. Dissertação (Mestrado em Ciências, na área de Biologia/Genética) – Instituto de Biocências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

SIVASUNDAR, A.; BERMINGHAM, E.; ORTI, G.. Population structure and biogeography of migratory freshwater fishes (*Prochilodus: Characiformes*) in major south american rivers. *Molecular Ecology*, 10: 407-417, 2001.

SLATKIN, M. Hitchhiking and associate overdominance at a microsatellite locus. *Molecular Biology and Evolution*, v12, p. 473-480, 1995.

SMALL, M. P.; BEACHAM, T.D.; WITHLER, R. E.; NELSON, R.J. Discriminating coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) populations within the Fraser River, British Columbia, using microsatellite DNA markers. *Molecular Ecology*, v.7, p.141-155, 1998.

SOUSA, A.B. DE. Análise de variabilidade genética do surubim do São Francisco, *Pseudoplatystoma corruscans* (Pisces, Pimelodidae): subsídios à conservação e ao cultivo da espécie. 101p. Tese (Doutorado em ciências biológicas)-Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2003.

SPIDLE, A.P.; KING, T.L.; LETCHER, B.H.. Comparison of genetic diversity in the recently founded Connecticut River Atlantic Salmon population to that of its primary donor stock Maine's Penobscot River. *Aquaculture* 236:253-265, 2004.

SUGANUMA, C.H..2008. 105f. Avaliação da Diversidade Genética de Populações de Pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887) do Pantanal Matogrossense com o Uso de Marcadores Moleculares do Tipo Microsatélites. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura da UNESP – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

TOLEDO – FILHO, S.; ALMEIDA – TOLEDO, L.F.; FORESTI, F.; GALHARDO, E.; DONOLA, E.. Conservação Genética de Peixes em Projetos de Repovoamento de Reservatórios. Cadernos de Ictiogenética I, 1992. 37p.

TORRES, M.A.Z. In: Reservatório de Itá: Estudos ambientais, desenvolvimento de tecnologias de cultivo e conservação da ictiofauna. Apresentação. Florianópolis, 2008, p. 9-10.

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

VIANA, E. M. F.; SANTOS, H. A.; MAGALHÃES, V. T. F.; MARTINEZ, C. B. Elaboração de um projeto de mecanismo para transposição de peixes utilizando canal de adução de uma PCH. In: V SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS E MÉDIAS CENTRAIS HIDRELÉTRICAS, 2006, Florianópolis., Comitê Brasileiro de Barragens. Florianópolis, Simpósio. Florianópolis: Comitê Brasileiro de Barragens, 2006. p. 1-14.

WALDBIESER, G.C.; BOSWORTH, B.G.; NONNEMAN, D.J.; WOLTERS, W.R.. A microsatellite-based genetic linkage map for channel catfish *Ictalurus punctatus*. Genetics 158:727-734, 2001.

WANG, C.; YU, X.; TONG, J. Microsatellite diversity and population genetic structure of redbfin culter (*Culter erythropterus*) in fragmented lakes of the Yangtze River. Hydrobiologia, v. 586, p. 321-329, 2007.

WAPLES, R. S.. A multispecies approach to the analysis of gene flow in marine shore fishes. Evolution 41: 385 – 400. 1987.

WAPLES. R.S.. Dispelling some myths about hatcheries. *Fisheries*, v. 24, p. 12–21, 1999.

WASKO, A.P.; GALETTI JR.,P.M.. RAPD analysis in the neotropical fish *Brycon lundii*: genetic diversity and its implications for the conservation of the species. Hydrobiologia, 473: 131-137, 2002.

WEIR, B.S.; COCKERHAM, C.C. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, v.38, p.1358-1370, 1984.

WEINGARTNER, M.; FRACALOSSO, D.M.; NUÑER, A.P.O.; ZANIBONI-FILHO, E. In: ZANIBONI-FILHO, Evoy; NUÑER, Alex Pires de Oliveira. Reservatório de Itá: Estudos ambientais, desenvolvimento de tecnologias de cultivo e conservação da ictiofauna. Conservação genética da ictiofauna da região de Itá. Florianópolis, 2008. Cap. 11, p. 307-319.

WIRGIN, I. I., J. E. STABILE; J. R. WALDMAN. Molecular analysis in the conservation of sturgeons and paddlefish. *Eviron. Biol. Fishes* 48: 385–398, 1997.

WRIGHT, S.. *Evolution and the Genetics of Populations*, Vol. 4, Variability Within and Among Natural Populations. University of Chicago Press, Chicago, Ill, 1978.

YAMAMOTO, S.; MORITA, K.; KOIZUMI, I.; MAEKAWA, K.. Genetic differentiation of whites potted charr (*Salvelinus leucomaenis*) populations after habitat fragmentation: Spatial–temporal changes in gene frequencies. *Conservation Genetics*, 5, 529–538, 2004.

YAZBECK, G.M.; KALAPOTHAKIS, E.. Isolation and characterization of microsatellite DNA in piracema fish *Prochilodus lineatus* (Characiformes). *Genetics and Molecular Research*, 6(4): 1026-1034, 2007.

YOSHIYAMA, R.M.; K. B. GAYLORD; M. T. PHILIPPART; T. R. MOORE; J.R. JORDAN; C. C. COON; L. L. SCHALK; C. J. VALPEY; I. TOSQUES. Homing behavior and site fidelity in intertidal sculpins (Pisces, Cottidae). *J. exp. mar. Biol. Ecol.* 160: 115–130,1992.

ZANIBONI FILHO, E.; SCHULZ,U.H.. Migratory fishes of the Uruguay river. In: Carolsfeld, J.; Harvey, B.; Ross, C. and Baer, A. *Migratory Fishes of South America- Biology, Fisheries and Conservation Status*. IDRC, World Fisheries Trust and World Bank. pp. 157-194, 2003.

ZANIBONI-FILHO, E.; NUÑER, A.P.O.; REYNALTE-TATAJE, D.A.; HERMES-SILVA, S.; MEURER, S. In: ZANIBONI-FILHO,

Evoy; NUÑER, Alex Pires de Oliveira. Reservatório de Itá: Estudos ambientais, desenvolvimento de tecnologias de cultivo e conservação da ictiofauna. Alterações espaciais e temporais da estrutura da comunidade de peixes em decorrência da implantação do reservatório de ita (Alto Rio Uruguai). Florianópolis, 2008.cap.2, p. 21-48.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO

AGÊNCIA NACIONAL DE ENERGIA ELÉTRICA (BRASIL). Atlas de energia elétrica do Brasil, 3. Ed. Brasília: Aneel, 2008.

AGOSTINHO, A.A. In: SITUAÇÃO ATUAL E PERSPECTIVAS DA ICTIOLOGIA NO BRASIL. IX ENCONTRO BRASILEIRO DE ICTIOLOGIA. Manejo de recursos pesqueiros em reservatórios. Maringá, 1992. p. 106-121.

AGOSTINHO, A.A.; JÚLIO JR., H.F.. Peixes da bacia alto rio Paraná. In: Lowe-Mc Connell, R.H. Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais. Edusp, São Paulo, SP, 1999. p. 374-400.

ALMEIDA, F. S.; SODRÉ, L.M.K.; CONTEL, E.P.B. Population structure analysis of *Pimelodus maculatus* (Pisces, Siluriformes) from the Tietê and Paranapanema Rivers (Brazil). Genetics and Molecular Biology, v. 26, n.3, p. 301-305, 2003.

AMENGUAL, N. A.; SIAZARO, J.C.. Diez anos de actividad em el rio Uruguay. 1978-1988.. Comisión administrativa Del rio Uruguay. Paysandú, Uruguay, Publicacion n.2, 1988.

AZEVEDO, P. In: Anais do II congresso latino-americano de zoologia. Do Rio Grande e sua fauna À barragem de furnas e suas conseqüências.1965,p. 91-100.

BARBOSA, A.C.D.R.; CORRÊA, T.C.; GALZERANI, F.; GALETTI JR., P.M.; HATANAKA, T.. Thirteen polymorphic microsatellite loci in the neotropical fish *Prochilodus argenteus* (Characiformes, Prochilodontidae). Molecular Ecology Notes, v.6, p. 936-938, 2006.

BARBOSA, A.C.D.R.; GALZERANI, F.; CORRÊA, T.C.; GALETTI JR, P.; HATANAKA, T. Description of novel microsatellite loci in the neotropical fish *Prochilodus argenteus* e cross amplification in *P. costatus* and *P.lineatus*. Genetics and Molecular Biology, v.31(1): p. 357-360, 2008.

BEDORE, A. G.. Características e criopreservação do sêmen de Pacuaranha, *Piracatus mesopotamicus* e de Piracanjuba, *Brycon*

orbignyanus.1999. 53f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG,1999.

BRITSKI, H.A.; SATO, Y.; ROSA, A.B.S.. Manual de identificação de peixes da região de Três Marias (com chave de identificação para peixes da Bacia do São Francisco). 3 ed., Minas Gerais: Ministério da Irrigação-CODEVASF, 1988,115p.

CAROLSFELD, J.; GODINHO, H.P.; ZANIBONI-FILHO, E.; HARVEY, B.J. Cryopreservation of sperm in Brazilian migratory fish conservation. *Journal of Fish Biology*, n 63,p. 472-489,2003.

CARVALHO, D.C. Identificação e caracterização de regiões microssatélites de *Prochilodus lineatus* (Pisces, Characiformes). 2002. 82f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia Bioquímica e Molecular) – Departamento de Farmacologia do Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2002.

CARVALHO-COSTA, L.F. Estudo da variação genética em *Prochilodus costatus* (Teleostei: Characiformes: Prochilodontidae) na Bacia do Rio São Francisco, região de Três Marias (MG). 2006. 73f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, São Carlos, 2006.

CASTRO, R.M.C. Revisão taxonômica da família *Prochilodontidae* (ostariophysis, Chariciformes). 1990. 293f. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 1990.

CASTRO, R.M.C.; VARI, R.P.. Detritivores of the south american fish family *Prochilodontidae* (Teleostei: Ostariophysis: Characiformes): a phylogenetic and revisionary study. *Smithsonian contributions to Zoology*, n.622. Washington, D.C: Smithsonian books, 2004.

CUNNINGHAM, E.P.; MEGHEN, C.M.. Biological identification systems: Genetic markers. *Rev Sci Tech Off Int Epiz* 20:2:491-499, 2001.

FALEIRO, F.. Marcadores moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos. Planaltina-DF: Embrapa Cerrados, 2007. 102 p.

FISHBASE.<http://www.fishbase.org/Nomenclature/ScientificNameSearchList.php?crit1_fieldname=SYNONYMS.SynGenus&crit1_fieldtype=CHAR&crit1_operator=EQUAL&crit1_value=prochilodus&crit2_fieldname=SYNONYMS.SynSpecies&crit2_fieldtype=CHAR&crit2_operator=contains&crit2_value=&group=summary&backstep=-2>. Acesso em: 29 setembro 2008.

FITZSIMMONS, N.N.; MORITZ, C.; MOORE, S.S.. Conservation and dynamics of microsatellite loci over 300 million years of marine turtle evolution. *Molecular Biology and Evolution* 12:432-440, 1995.

FLECKER, A.S.. Ecosystem engineering by a dominant detritivore in a diverse tropical stream. *Ecology*, 77: 1845-1854, 1996.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J.D.; BRISCOE, D.A. Fundamentos de Genética da conservação. Tradução de Mercival Roberto Francisco e Izeni Pires Farias. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2008. 280 p. Título original: A Primer of Conservation Genetics.

FREITAS, M.A.V.; SOITO, J.L.S. Energia e recursos hídricos. *Parcerias Estratégicas*, n.27, p.177-215, 2008.

GIRARD, P. Efeito cumulativo das barragens no Pantanal. Campo-Grande: Instituto Centro Vida, 2002. 28.p.

GOLDEMBERG, J.; LUCON, O. Energia e meio ambiente no Brasil. *Estudos Avançados*, v.21, n.59, p.7-20, 2007.

GUSMÃO, J.; LAZOSKI, C.; SOLÉ-CAVA, A.M. Population genetic structure of brazilian shrimps species (*Farfantepenaeus sp.*, *F.brasiliensis*, *F. paulensis* and *Litopenaeus shimitti*: Decapoda:Penaeidae). *Genetics and Molecular Biology*, v. 28, n.1, p. 165-171, 2005.

HATANAKA, T.; SILVA, F.H.; GALETTI JR., P.M.. Population substructuring in a migratory freshwater fish *Prochilodus argenteus* (Characiformes, Prochilodontidae) from the São Francisco River. *Genetica*, 126: 153-159, 2006.

HILSDORF, A.W.; PETRERE, M. Jr. Conservação de peixes na bacia do rio Paraíba do Sul. *Ciência Hoje* v. 30: p. 62 – 67. 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Diretoria de Fauna e Recursos Pesqueiros. Estatística da pesca 2005. Brasília, 2007. Boletim.

KIRPICHNIKOV, V.S. Adaptive nature of intrapopulational biochemical polymorphism in fish. *J. Fish Biol.* 40:1-16, 1992.

LARINIER, M. In: Dams and Fish Migration. Dams, ecosystem functions and environmental restoration. Roma: FAO Fisheries, 2001, n.419, p. 1-172.

LIDANI, K.C.F.; LIMA, J.R.; TORRES, R.A.; GANBRIEL, J.E.; MADEIRA, H.M.F.; CARNEIRO, P.C.F. Genetic variability of Jundia (*Rhamdia quelen*) in captivity. *Rev. Acad.*, Curitiba, v.4, n.3, p.47-53, 2006.

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

MAGRI, J.L.; SOUZA, S.L.; CABRAL, C.A.; ZANIBONI-FILHO, E.. In: ZANIBONI-FILHO, Evoy; NUÑER, Alex Pires de Oliveira. Reservatório de Itá: Estudos ambientais, desenvolvimento de tecnologias de cultivo e conservação da ictiofauna. Implantação da Primeira hidrelétrica no Alto Rio Uruguai. Florianópolis, 2008. cap. 1, p. 11-20.

MOULTON, T. P.; SOUZA, M. L.. In: ROCHA, C. F. D.; BERGALLO, H. G.; SLUYS, M.V.; ALVES, M. A. S.; . *Biologia de conservação: essência: Conservação com base em bacias hidrográficas.* Porto Alegre, 2006. Cap. 7, p. 1-25.

NERAAS, L.P., SPRUEL, P. Fragmentation of riverine systems: the genetic effects of dams on bull trout (*Salvelinus confluentus*) in the Clark Fork River System. *Molecular Ecology*, v.10, p. 1153-1164, 2001.

NGUYEN, T.T.T. Population structure I the highly fragmented range of *Tor douronensis* (Cyprinidae) in Sarawak, Malaysia revealed by microsatellite DNA markers. *Freshwater Biology*, v.53, p.924-934, 2008.

OLIVEIRA, M.E.G.C.; RUSSO, C.A.M.; LAZOSKI, C.; VIANNA,P.R.F.G.; SOLÉ-CAVA, A.M. Genetic variation and population structure of two species of neo-tropical mud-mussels (*Mytella spp.*). Genetics and Molecular Research, v.4, n. 2, p.197-202, 2005

PAIVA, M.P.; ANDRADE-TURBINO, M.F. DE; GODOY, M.P.. As represas e os peixes nativos do rio Grande. Bacia do Paraná-Brasil. Ed. Interciência, Rio de Janeiro, 2002. 78p.

PARKER, P.G.; SNOW, A.A.; SCHUG, M.D.; BOOTON, G.C.; FUREST,P.A. What molecules can tell us about populations: choosing and using a molecular marker. Ecology, v 79, n.2, p. 361-382, 1998.

PÉPIN, L.; AMIGUES, Y.; LÉPINGLE, A.; BERTHIER, J.L.; BENSALD, A.; VAIMAN, D.. Sequence conservation of microsatellite between cattle (*Bos taurus*) goat (*Capra hircus*) and related species. Exemples of use in parentage testing and phylogeny analysis. Heredity 74:56-61, 1995.

PERES, M.D.; VASCONCELOS, M.S.; RENESTO, E. Genetic variability in *Astyanax altiparanae* Garutti & Britski, 2000 (Teleostei, Characidae) from the Upper Paraná River basin, Brazil. Genetics and Molecular Biology, v. 28, n.4, p. 717-724, 2005.

PEREZ-SWEENEY, B.M.; RODRIGUES, F.P.; MELNICK, D.J. In: CULLEN, L.J.; VALADARES-PADUA, C.; RUDRAN, R. (Orgs.). Metodologias moleculares utilizadas em genética da conservação. Métodos de estudos em biologia da conservação e manejo da vida silvestre. Ed. UFPR, 2003. p. 343-380.

PRIMACK, R.; ROZZI, R.; MASSARDO, F.; FEINSINGER, P.. Destrucción y degradación Del hábitat. In: Fundamentos de conservación biológica. Perspectivas Latinoamericanas. Fondo de Cultura Económica. México, D.F., 2001.

PRIMACK, R.B.; RODRIGUES, E. Biologia da conservação. Londrina, 2001 328 p.

RAMELLA, M. S.; KROTH, M.A.; MEURER, S.; NUÑER, A. P. O., ZANIBONI-FILHO, E.; ARISI, A.C.M. Genetic variability in four fish

species (*Pimelodus maculatus*, *Prochilodus lineatus*, *Salminus brasiliensis* and *Steindachneridion scripta*) from Uruguay River Basin. Brazilian archives of biology and technology, v.49, n.4, p 589-598, 2006.

REIS, R.E., KULLANDER, S.O. & FERRARIS-JR., C.J. (orgs.). Check list of the freshwater fishes of South and Central America. EDIPUCRS, Porto Alegre. 2003.

REVALDAVES, E.; RENESTO, E.; MACHADO, M.F.P.S.. Genetic variability of *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae) in the upper Paraná river. Brazilian Journal of Genetics, 20(3): 381-388, 1997.

REVALDAVES, E.; PEREIRA, L.H.G.; FERREIRA, A.T.; PEREIRA, A.C.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. In: Resumos do IX Simpósio de citogenética e genética de peixes. Obtenção de sequências microssatélites de *Prochilodus lineatus* (Chariciformes, Prochilodontidae). Maringá, 2002.

ROWENA, M.; ROMANA-EQUIA, R.; IKEDA, M.; BASIAO, Z.U.; TANIGUCHI, N. Genetic diversity in farmed Asian Nile and red hybrid tilapia stock evaluated from microsatellite and mitochondrial DNA analysis. Aquaculture 236:31-150, 2004.

SILVA, J.R. Análise da viabilidade econômica da produção dos peixes em tanques –rede no reservatório de ITAIPU. 2008.158f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) – Área de Concentração em Gerência de Produção, Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2008.

SILVA, M.O.B.; MURGAS L.D.S.; MELLO, C.B.M. et al.. Avaliação do sêmen de "Curimba" (*Pochilodus lineatus*) e "Piaparas" (*Leporinus obtusidens* e *Leporinus elongatus*) após 6, 18 e 24 horas de resfriamento à temperatura de 4°C. In: Simpósio brasileiro de aquicultura, Recife. Resumos, Recife, 1998. 294 p.

SILVA, R.G. Análise da estrutura genética populacional do Curimbatá (*Prochilodus lineatus*, Chariformes: Prochilodontidae) na região da bacia do Rio Grande, SP. 2006.100f. Dissertação (Mestrado em

Ciências, na área de Biologia/Genética) – Instituto de Biocências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

SIVASUNDAR, A.; BERMINGHAM, E.; ORTI, G.. Population structure and biogeography of migratory freshwater fishes (*Prochilodus: Characiformes*) in major south american rivers. *Molecular Ecology*, 10: 407-417, 2001.

SMALL, M. P.; BEACHAM, T.D.; WITHLER, R. E.; NELSON, R.J. Discriminating coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) populations within the Fraser River, British Columbia, using microsatellite DNA markers. *Molecular Ecology*, v.7, p.141-155, 1998.

SOLÉ-CAVA, A.M.. In: MATIOLI, S. R. *Biologia molecular e evolução. Biodiversidade molecular e genética da conservação*. Ribeirão Preto: Holos, 2001. p. 1-46.

SOUSA, A.B. DE. Análise de variabilidade genética do surubim do São Francisco, *Pseudoplatystoma corruscans* (Pisces, Pimelodidae): subsídios à conservação e ao cultivo da espécie. 101p. Tese (Doutorado em ciências biológicas)-Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2003.

SPIDLE, A.P.; KING, T.L.; LETCHER, B.H.. Comparison of genetic diversity in the recently founded Connecticut River Atlantic Salmon population to that of its primary donor stock Maine's Penobscot River. *Aquaculture* 236:253-265, 2004.

TORRES, M.A.Z. In: ZANIBONI-FILHO, Evoy; NUÑER, Alex Pires de Oliveira. *Reservatório de Itá: Estudos ambientais, desenvolvimento de tecnologias de cultivo e conservação da ictiofauna*. Apresentação. Florianópolis, 2008, p. 9-10.

VIANA, E. M. F.; SANTOS, H. A.; MAGALHÃES, V. T. F.; MARTINEZ, C. B. Elaboração de um projeto de mecanismo para transposição de peixes utilizando canal de adução de uma PCH. In: V SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS E MÉDIAS CENTRAIS HIDRELÉTRICAS, 2006, Florianópolis., Comitê Brasileiro de Barragens. Florianópolis, Simpósio. Florianópolis: Comitê Brasileiro de Barragens, 2006. p. 1-14.

WALDBIESER, G.C.; BOSWORTH, B.G.; NONNEMAN, D.J.; WOLTERS, W.R.. A microsatellite-based genetic linkage map for channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Genetics* 158:727-734, 2001.

WANG, C.; YU, X.; TONG, J. Microsatellite diversity and population genetic structure of redfin culter (*Culter erythropterus*) in fragmented lakes of the Yangtze River. *Hydrobiologia*, v. 586, p. 321-329, 2007.

WEINGARTNER, M.; FRACALOSSO, D.M.; NUÑER, A.P.O.; ZANIBONI-FILHO, E. In: ZANIBONI-FILHO, Evoy; NUÑER, Alex Pires de Oliveira. Reservatório de Itá: Estudos ambientais, desenvolvimento de tecnologias de cultivo e conservação da ictiofauna. Conservação genética da ictiofauna da região de Itá. Florianópolis, 2008. Cap. 11, p. 307-319.

YAZBECK, G.M.; KALAPOTHAKIS, E.. Isolation and characterization of microsatellite DNA in piracema fish *Prochilodus lineatus* (Characiformes). *Genetics and Molecular Research*, 6(4): 1026-1034, 2007.

ZANIBONI, E.; MEURER, S.; SHIBATTA, O.A.; NUÑER, A.P.O. 2004. Catálogo ilustrado de peixes do alto rio Uruguai. Florianópolis: Ed. da UFSC: Tractebel Energia. 128p.

ZANIBONI-FILHO, E.; NUÑER, A.P.O.; REYNALTE-TATAJE, D.A.; HERMES-SILVA, S.; MEURER, S. In: ZANIBONI-FILHO, Evoy; NUÑER, Alex Pires de Oliveira. Reservatório de Itá: Estudos ambientais, desenvolvimento de tecnologias de cultivo e conservação da ictiofauna. Alterações espaciais e temporais da estrutura da comunidade de peixes em decorrência da implantação do reservatório de ita (Alto Rio Uruguai). Florianópolis, 2008, cap.2, p. 21-48.

ZANIBONI FILHO, E.; SCHULZ,U.H.. In: Carolsfeld, J.; Harvey, B.; Ross, C. and Baer, A. Migratory Fishes of South America- Biology, Fisheries and Conservation Status. Migratory fishes of the Uruguay river. IDRC, World Fisheries Trust and World Bank. pp. 157-194, 2003.