

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

VARIABILIDADE GENÉTICA DE *Pseudoplatystoma
reticulatum* DO PROGRAMA DE MELHORAMENTO
GENÉTICO

Autora: Daniele Menezes Albuquerque
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro
Co-Orientador: Prof. Dr. Carlos Antonio Lopes de Oliveira

MARINGÁ
Estado do Paraná
outubro – 2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

VARIABILIDADE GENÉTICA DE *Pseudoplatystoma
reticulatum* DO PROGRAMA DE MELHORAMENTO
GENÉTICO

Autora: Daniele Menezes Albuquerque
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro
Co-Orientador: Prof. Dr. Carlos Antonio Lopes de Oliveira

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração Produção Animal.

MARINGÁ
Estado do Paraná
outubro – 2014

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

R129g Albuquerque, Daniele Menezes
Variabilidade genética de *Pseudoplatystoma reticulatum* do Programa de Melhoramento Genético / Daniele Menezes Albuquerque. -- Maringá, 2014.
52 f. : il. algumas color.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Pereira Albuquerque.
Co-orientador: Prof. Dr. Carlos Antonio Lopes de Oliveira.
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2014.

1. Cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*). 2. Psicultura. I. Albuquerque, Ricardo Pereira, orient. II. Oliveira, Carlos Antonio Lopes de, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.

CDD 22.ed. 639.37



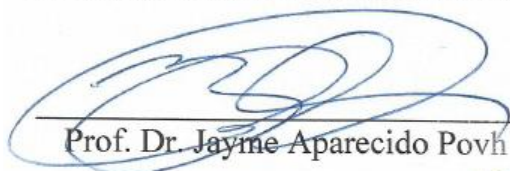
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

VARIABILIDADE GENÉTICA DE *Pseudoplatystoma reticulatum* DO PROGRAMA DE MELHORAMENTO GENÉTICO

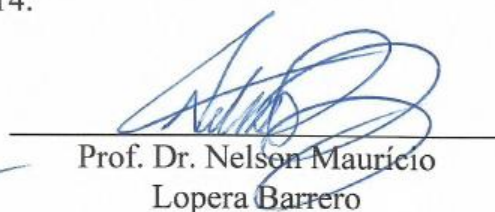
Autora: Daniele Menezes Albuquerque
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro

TITULAÇÃO: Doutora em Zootecnia - Área de Concentração Produção Animal

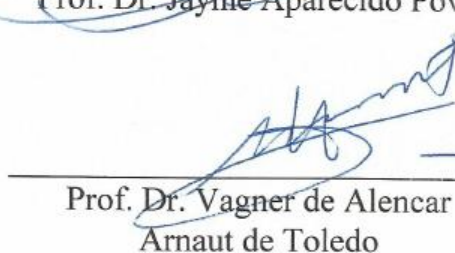
APROVADA em 24 de outubro de 2014.



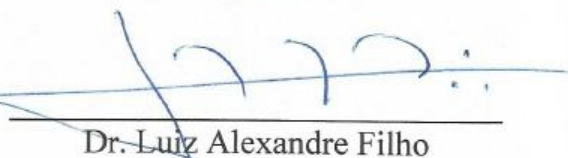
Prof. Dr. Jayme Aparecido Povh



Prof. Dr. Nelson Maurício
Lopera Barrero



Prof. Dr. Vagner de Alencar
Arnaud de Toledo



Dr. Luiz Alexandre Filho



Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro
(Orientador)

"O êxito na vida não se mede pelo que você conquistou, mas sim pelas dificuldades que superou no caminho"

Abraham Lincoln

Aos meus pais, Evânio e Luciene, que apesar da distância, sempre me apoiaram e estiveram presentes em mente e coração.

A minha irmã, Daiene, pelo incentivo, atenção, fazendo manter o equilíbrio nos momentos difíceis durante a minha jornada.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois sem Ele não teria conseguido o meu objetivo.

Ao meu pai, Evânio Ferreira Albuquerque; a minha mãe, Luciene Menezes Albuquerque, e a minha querida irmã, Daiene Menezes Albuquerque, que me deram total apoio durante toda a minha vida acadêmica, e fizeram com que eu superasse os obstáculos, sendo um pilar nos momentos mais difíceis. Meu agradecimento a minha família.

À Ana Maria Costa, por toda a paciência que teve durante esse tempo, pela angústia vivida, por todo o apoio incondicional que sempre me deu, mais uma pessoa especial da minha família, muito obrigada por ensinar a ser uma pessoa melhor.

Ao meu orientador Ricardo Pereira Ribeiro, pelos incalculáveis ensinamentos que me repassou não somente como um orientador, mas como o ser humano que é, um excelente profissional, responsável, educador, humilde, competente que não mede esforços para a educação dos seus orientandos e pelo avanço das pesquisas na sua área de atuação, o meu mais sincero muito obrigada pela valiosa orientação.

Ao meu co-orientador, Carlos Antonio Lopes de Oliveira, pela amizade, confiança e ensinamentos estatísticos durante todo o doutorado.

À prof.^a Dr.^a. Emiko Kawakami de Resende e Embrapa, pelo apoio financeiro prestado no custeio pelas viagens realizadas durante o experimento do programa de pesquisa Aquabrazil.

Aos professores da Banca de Defesa, Dr. Nelson Maurício Lopera-Barrero, Dr. Jayme Aparecido Povh, Dr. Vagner de Alencar Arnaut de Toledo, Dr. Luiz Alexandre, pelas correções, sugestões e análises da tese apresentada.

Aos meus eternos orientadores, prof. Masayoshi Ogawa e Nilton Garcia Marengoni, que me repassaram valiosos ensinamentos durante todo meu percurso acadêmico.

À Maria Del Pilar Rodriguez-Rodriguez, Márcia Matos de Abreu e Herena Naoco Chisaki Isobe, pelos ensinamentos na área de genética, pelo carinho, pela amizade que com certeza irá ser para a vida inteira, pelas risadas, companheirismo, casa dividida, horas de lazer, vocês foram a minha família durante essa jornada.

À minha amiga e também orientadora Adelaide Marina Schaedler, pela amizade, ensinamentos e carinho que permaneceram após os projetos realizados em parceria. Sem o apoio e torcida nesses anos de convivência com certeza a minha jornada teria sido mais difícil.

Ao biólogo João Carlos Barbosa da Silva, pela amizade, horas de lazer, companheirismo, pelas diversas vezes que me cedeu moradia e nas discussões filosóficas sobre pesca e aquicultura.

À minha amiga Thamís Meurer, pela ajuda durante os momentos difíceis de estadia em Maringá.

Aos meus amigos Darci Carlos Fornari e Laura Bota Tonissi, pela ajuda nos trabalhos realizados na Delicious Fish e amizade durante este tempo vivido.

Aos amigos de Peixegen - Juliana Minardi Galo, Melanie Digmayer, Danilo Streit Jr., Sheila Nogueira de Oliveira, Graciela Lucca Braccini, Aline Mayra da Silva Oliveira Zardin, Elenice Souza dos Reis Goes, Dilma Botter, Fernanda Tanamati e Pedro Castro. Que todos vocês permaneçam com essa dedicação nos projetos

desenvolvidos no Peixegen, pois vocês fazem a diferença no sucesso desse grupo de pesquisa.

Aos amigos de Pesqae, Fabiana Cavichiolo, Luiz Fernando, Taiany Saravy e demais participantes do grupo de pesquisa por todo o acolhimento nesse grupo, que me proporcionaram uma nova família acadêmica na UFGD.

Aos amigos de uma vida inteira Marina, Paulo Justino, Flávia, Marcelo, Paulo Rogério, Wanessa, Ana Paula, Patrícia, Frederico, Wictor, Santiago, Vítor, Ênio, Aline, Carla Luciana, Jones Santander, Ilson Mahl, Eduardo Sanches, Daniele Rossetto, Oscar Pacheco, Lílian, Antônio Neto, Irene e Norma Ogawa, Elaine Celestino, João Paulo Machado, Fabiano e Maria José.

À família Kappes, por me ter recebido como se fosse da família, por toda a amizade, carinho e torcida durante esses anos de convivência ao longo do percurso de mestrado e doutorado. Meu carinho por vocês é muito grande.

Aos professores Lauro Daniel Vargas, Eliane Gasparino, Ricardo Vasconcelos e demais integrantes da banca de qualificação e defesa, pelas contribuições e sugestões que enriqueceram o presente trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia e Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá por proporcionar um ensino de qualidade e infraestrutura necessária para realização do projeto.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão da bolsa de estudos.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para que todas as etapas fossem cumpridas durante o doutorado.

BIOGRAFIA

DANIELE MENEZES ALBUQUERQUE, filha de José Evânio Ferreira Albuquerque e Luciene Menezes Albuquerque, nasceu na cidade de Altamira no Estado do Pará, em 9 de agosto de 1986.

Em março de 2004, ingressou no curso de Engenharia de Pesca, pela Universidade Federal do Ceará – UFC *Campus* do Pici terminando o curso no ano de 2008.

Ingressou no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca e Recursos Pesqueiros, pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná em março de 2009, no mestrado com a linha de pesquisa Aquicultura e terminou em janeiro de 2011, sob a orientação do Prof. Ph. D. Nilton Garcia Marengoni.

Em março de 2011, ingressou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia, em nível de Doutorado, área de concentração Produção Animal – Piscicultura, na Universidade Estadual de Maringá, sob a orientação do Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro e Co-orientação do Prof. Dr. Carlos Antônio Lopes de Oliveira.

Aos 24 do mês de outubro de 2014, submeteu-se à banca examinadora para defesa de doutorado.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
RESUMO	xi
ABSTRACT	xiii
I – INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1 Produção de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i>	1
1.2 <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i>	3
1.3 Melhoramento genético de peixes no Brasil	6
1.4 Microssatélites aplicados na piscicultura	11
Referências	15
II – OBJETIVO GERAL	21
III – VARIABILIDADE GENÉTICA DE <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> DO PROGRAMA DE MELHORAMENTO GENÉTICO	22
Resumo	22
Abstract	23
Introdução	24
Material e Métodos	25
Resultados e Discussão	27
Conclusões	38
Referências	38
IV – ANEXO	42

LISTA DE TABELAS

		Página
I – INTRODUÇÃO GERAL		
Tabela 1	Aplicações de marcadores moleculares microssatélites em análises de biologia molecular em peixes neotropicais	13
III – VARIABILIDADE GENÉTICA DE <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> DO PROGRAMA DE MELHORAMENTO GENÉTICO		
Tabela 1	Descrição de <i>loci</i> utilizados na análise de marcadores moleculares microssatélites dos cacharas (<i>Pseudoplatystoma reticulatum</i>) oriundos do projeto de melhoramento genético de espécies aquícolas	28
Tabela 2	Frequência alélica dos cacharas (<i>Pseudoplatystoma reticulatum</i>) oriundos do projeto de melhoramento genético de espécies aquícolas	30
Tabela 3	Dados sumarizados de cada população de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> analisados do projeto de melhoramento genético de espécies aquícolas ...	33
Tabela 4	Análise de variância molecular (Amova) distância genética (DG) e F_{ST} , dos indivíduos oriundos das cinco populações analisadas provenientes do projeto de melhoramento de espécies aquícolas	36

LISTA DE FIGURAS

	Página
I – INTRODUÇÃO GERAL	
Figura 1 Distribuição de áreas de oito espécies de peixes neotropicais do gênero <i>Pseudoplatystoma</i> conforme ilustrado por Buitrago-Suarez & Burr (2007)	5
Figura 2 Exemplar de <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i>	6
III – VARIABILIDADE GENÉTICA DE <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> DO PROGRAMA DE MELHORAMENTO GENÉTICO	
Figura 1 Dendograma das cinco populações analisadas provenientes do projeto de melhoramento de espécies aquícolas	37

RESUMO

A produção de pescado no Brasil atingiu a 18ª posição no *ranking* mundial com 1.431.974,4 milhões de toneladas e um crescimento de 13,2% de 2010 para 2011 ocupando na América do Sul a quarta posição na produção de peixes oriundas da atividade extrativista. Atualmente, várias espécies são consideradas potenciais na aquicultura brasileira, destacando-se na região Centro-Oeste o cultivo de cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) pelo seu alto valor comercial. São animais de grande porte, piscívoros e hábitos migratórios de longa distância que fazem parte do topo da cadeia alimentar de bacias hidrográficas. Os cacharas apresentam características zootécnicas viáveis na produção animal com boa taxa de crescimento e conversão alimentar favorável, técnicas de reprodução em desenvolvimento, com adaptação em vários sistemas de cultivos, além de já possuírem uma oferta contínua de alevinos nas regiões produtoras. Por estas justificativas, esta espécie entrou para o programa de melhoramento genético de espécies aquícolas, coordenado pela Embrapa tendo como agente nucleadora a Universidade Estadual de Maringá – UEM. O programa de melhoramento genético do cachara iniciou em 2008 com a formação de 72 famílias e teve seu término em 2013 sob os moldes originais de gestão. Para monitorar a variabilidade genética destas famílias que fizeram parte do programa de melhoramento genético, foram utilizadas ferramentas moleculares como os marcadores de DNA. Os marcadores moleculares de DNA do tipo microsatélites podem auxiliar os programas de melhoramento genético na tomada de decisões na seleção e direcionar novos cruzamentos em uma mesma geração, aumentando assim, a eficiência e definição de estratégias em melhoramento genético das famílias de cachara. Diante desta problemática, o presente estudo tem por objetivo caracterizar a variabilidade genética de cinco grupos de *Pseudoplatystoma reticulatum*, usando marcadores moleculares

microssatélites pertencentes ao programa de melhoramento genético. Duzentos e onze indivíduos coletados aleatoriamente da geração F_1 oriundos de 72 famílias foram analisados num total de 62 alelos observados nos oito *loci* microssatélites polimórficos (*Pcor01*; *Pcor05*; *Pcor08*; *Pcor10*; *Ppu01*; *Ppu04*; *Ppu09*; *Ppu10*). Verificou-se uma frequência alélica média que variou entre 0,0083 (*Pcor08*/85/110/118 – MS-II) e 0,500 (*Pcor08*/83 – MS-I). A heterozigosidade observada média e o coeficiente de endogamia foram de 0,684; 0,643; 0,782; 0,728; 0,682; e 0,121; 0,168; 0,034; 0,061; 0,137, respectivamente para MT-I, MT-II, MS-I MT-III e MS-II. Observou-se desvio de equilíbrio de Hardy-Weinberg nas cinco populações na maioria dos *loci*. Considerando a diferenciação genética, conclui-se que as cinco populações analisadas são distintas entre si, que formam dois grupos compostos por três e duas subpopulações, respectivamente.

ABSTRACT

The fish production in Brazil reached the 18th position in the world rank with 1,431,974,400,000 tons and an increase of 13.2% from 2010 to 2011 in South America occupying the 4th position in the fish production from the mining activity. Currently, several species are considered potential in Brazilian aquaculture, especially in the Midwest Region the cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) production due to its high commercial value. They are large animals, fish-eating and migratory habits of long distance that are part of the top of food chain watershed. The cacharas present viable production characteristics in animal production with good growth rate and favorable feed conversion, reproductive biotechnologies in development with adaptation in various cropping systems, and already have a continuous supply of fingerlings in the producing regions. Because of these reasons, this species entered to the breeding program of aquaculture species coordinated by Embrapa having as nucleation agent the State University of Maringa - UEM. The breeding program of cachara started in 2008 with the formation of 72 families and had finished in 2013 under the original management molds. To monitor the genetic variability of these families that comprising the genetic breeding program were used molecular tools as DNA markers. The microsatellite markers can assist breeding programs in decision-making about the selection and direct new crosses in the same generation, thus increasing the efficiency and developing strategies for the genetic improvement of cachara families. Considering this problem, this study aims to characterize the genetic variability of five groups of *Pseudoplatystoma reticulatum* using microsatellite molecular markers from the genetic improvement program. Two hundred and eleven individuals from the F1 generation derived from 72 families were analyzed in a total of 62 alleles observed in the eight microsatellite *loci* polymorphic (*Pcor01*, *Pcor05*, *Pcor08*, *Pcor10*, *Ppu01*, *Ppu04*,

Ppu09, *Ppu10*). There was an average allele frequency ranging between 0.0083 (*Pcor08/85/110/118* - MS-II) and 0.500 (*Pcor08/83* - MS-I). The heterozygosity observed average and inbreeding coefficient were 0.684; 0.643; 0.782; 0.728; 0.682; and 0.121; 0.168; 0.034; 0.061; 0.137, respectively for MT-I, MT-II, MS-I, MT-III and MS-II. It was observed deviation of Hardy-Weinberg equilibrium at most *loci* in five populations. Considering genetic differentiation, it was concluded that the five populations examined are different from one another, thus forming two groups made by three and two subpopulations, respectively.

I – INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Produção de *Pseudoplatystoma reticulatum*

A produção de pescado no Brasil atingiu a 18ª posição no *ranking* mundial com 1.431.974,4 milhões de ton e um crescimento de 13,2% de 2010 para 2011 ocupando na América do Sul a quarta posição na produção de peixes oriundas da atividade extrativista (Brasil, 2013). No âmbito da aquicultura, o Brasil é o segundo maior produtor da América do Sul com uma produção de 628.704,3 ton (Brasil, 2013).

A aquicultura continental no Brasil, foi responsável em cerca de 43,91% da produção de pescado em 2011 (Brasil, 2013).

Nas regiões Centro-Oeste e Norte, onde os cultivos dos surubins são mais comuns, a produção oriunda da aquicultura atingiu 75.107,9 e 94.578,0 ton respectivamente, valor altamente representativo, tendo em vista o perfil e cultura dos habitantes dessa região em comparação ao resto dos consumidores brasileiros.

Segundo o Ibama (2007), os bagres obtiveram na última estimativa de produção pesqueira no Brasil um total de 11.168 toneladas o que representa 4,6% de toda produção pesqueira extrativista. No entanto, dados do Brasil (2013) relatam que a produção de bagres advindos da aquicultura continental atingiu o patamar de 15.872,4 ton em 2011.

Apesar da produtividade de surubins ainda não ter superado o patamar de outras espécies com mercado consumidor nacional estabelecido, estes animais possuem valor comercial elevado pela sua excelente qualidade de carne com coloração clara, boa textura para processamento para carnes mecanicamente processadas, sabor suave e presença de poucos espinhos (Inoue et al., 2009). Na indústria de beneficiamento, a carne de surubins pode ser processada na forma congelada do tipo inteiro, postas e filé.

Em relação à pesca deste animal, a cachara pelo seu porte avantajado, os pescadores tanto profissionais quanto amadores apreciam este animal na pesca esportiva e é um atrativo a mais em pesque-pague na região Centro-Oeste (Benites, 2008).

Contudo, há uma pressão negativa dos estoques pesqueiros dessa espécie em reservatórios e rios por diversos fatores, entre os quais se destacam a pesca predatória, formação de usinas hidrelétricas, fatores antrópicos, poluição dos rios por conta de venenos agrícolas, entre outros. Para amenizar problemas advindos da diminuição de estoques pesqueiros do ambiente natural da espécie, a aquicultura é uma alternativa viável, sustentável ambientalmente e economicamente para a contínua demanda na produção deste animal no Brasil. A exploração indiscriminada dos estoques pesqueiros naturais conjuntamente com a crescente demanda por alimentos de alto valor biológico tornou a aquicultura e, especificamente a piscicultura continental uma das alternativas com propensões mais viáveis para a produção de alimentos (Rocha et al., 2013).

Os cacharas apresentam características zootécnicas viáveis na produção animal, boa taxa de crescimento e conversão alimentar favorável, biotécnicas de reprodução em desenvolvimento, com adaptação em vários sistemas de cultivos, além de já possuírem uma oferta contínua de alevinos nas regiões produtoras (Crepaldi et al., 2006).

É comum encontrar em várias pisciculturas comerciais híbridos do cruzamento de *P. corruscans*, *P. reticulatum*, *P. tigrinum* com outros bagres a exemplo de *Leiarius marmoratus* e *Phractocephalus hemiliopterus*. O cruzamento de *P. reticulatum* com estes animais dão origem a animais que popularmente são denominados de “ponto e vírgula”, “cachapira” ou pintado amazônico amplamente comercializados por frigoríficos, restaurantes, pesque-pague como surubins (Benites, 2008).

Diversos produtores alegam que a produção de híbridos gera maior produção em relação a ganho em peso dos animais e possuem um comportamento mais dócil nas fases iniciais em que há maior mortalidade por canibalismo comparado aos animais puros (Ponzetto et al., 2010; Vaini et al., 2014).

Outro fator importante a ser considerado é a nutrição das espécies, animais que possibilitam maior aproveitamento de alimentos de origem vegetal em inclusão nas rações que favorecem um menor preço por kg de ração em relação à conversão alimentar, assim, espécies onívoras são espécies alvo na produção de híbridos pela menor exigência proteica e com alto valor de mercado (Mateo & Rojas, 2005).

As características reprodutivas como tamanho de ovócito que possuem uma correlação diretamente proporcional com a taxa de eclosão bem como o desenvolvimento

larval que requer maiores cuidados no momento em que se alternam alimentos vivos e substituição de dietas artificiais aumentam ainda mais a lista de justificativas acerca da produção de híbridos em diversas pisciculturas (Crepaldi et al., 2006).

O vigor híbrido ou heterose já se tornou uma prática comum de piscicultores aplicadas em diversas espécies da ordem Characiforme como no cruzamento de *Colossoma macropomum* e *Piaractus mesopotamicus* no qual conseguem aproveitar características das gerações parentais das duas espécies como alto crescimento e resistência a variações climáticas não sendo diferentemente utilizadas também na ordem Siluriformes (Hashimoto et al., 2012). A carne dos híbridos além de ser semelhante aos animais puros existe a atratividade da cadeia produtiva em relação ao custo operacional na produção que podem vender animais com alto valor comercial com maior margem de lucro (Crepaldi et al., 2006).

Em resumo, o cachara é um dos principais animais utilizados na hibridação que resultam numa produção de surubins em todas as regiões em que ele é cultivado. A necessidade de se implantar programas de melhoramento genético desta espécie possui caráter inédito e de suma importância para que se tenham animais disponíveis com variabilidade genética condizente com o intuito de reduzir a endogamia nas populações ou em grupos de animais cultivados ao máximo (Ribeiro et al., 2012). Paralelamente, estoques naturais puros desta espécie estão cada vez mais escassos, sendo necessário que os programas de melhoramento genético recorram a núcleos satélites ou pisciculturas que possuem este material genético ainda sem algum cruzamento para a formação de plantel e famílias.

No entanto, o cruzamento indiscriminado com desenvolvimento de híbridos interespecífico para obter ganhos a partir da heterose sem nenhuma informação acerca de retrocruzamento, ou seja, o cruzamento de uma geração parental com gerações posteriores continua ainda ser um gargalo na produção de surubins em todas as regiões produtoras (Hashimoto et al., 2012). Vários pesquisadores preocupam-se com o escape destes animais das pisciculturas para o meio ambiente e que venham aumentar a endogamia nas populações naturais (Hashimoto et al., 2013).

1.2 *Pseudoplatystoma reticulatum*

Pseudoplatystoma é um gênero bastante importante de Pimelodídeos da América do Sul pelo seu alto valor comercial tanto em ambientes naturais quanto em

pisciculturas comerciais. São animais de grande porte, piscívoros e hábitos migratórios de longa distância que fazem parte do topo da cadeia alimentar de bacias hidrográficas (Agostinho et al., 2007).

São representantes do gênero, três espécies de *Pseudoplatystoma* possuindo como base sua diferenciação por meio somente de coloração padrão e morfologia externa (Ludberg & Littmann, 2003), *Pseudoplatystoma corruscans* popularmente denominado de surubim ou pintado tendo sua distribuição nas bacias hidrográficas do São Francisco, Paraná-Paraguai-Uruguai, *Pseudoplatystoma fasciatum* “peixe gato listrado, bagre rayado, surubim, cachara, pintadillo” amplamente distribuído nas bacias do Amazonas, Magdalena, Orinoco, Paraná-Paraguai, Guiana, Suriname e nordeste do Brasil e, *Pseudoplatystoma tigrinum* ou “surubim tigre, caparari” distribuído nas bacias do Amazonas e Orinoco.

Foi proposto o reconhecimento de oito espécies deste gênero baseado em caracteres anatômicos, números de vértebras e distribuição geográfica das diferentes bacias hidrográficas que os animais pertencem (Buitrago-Suaréz & Burr, 2007) confirmadas posteriormente por análise de DNA mitocondrial conforme relatado por Torrico et al. (2009) e confirmado por Carvalho-Costa et al. (2011). Desta forma, dividiu-se *Pseudoplatystoma fasciatum* nas espécies *P. fasciatum* (*Strictu sensu*) restrito aos rios da Guiana e Suriname, *P. punctifer* presente nas bacias do Amazonas e nordeste do Brasil, *P. reticulatum* distribuído na bacia do Paraná-Paraguai e Amazonas Central, *P. orinocoense* restrito à bacia de Orinoco e, *P. magdalenium* situado somente na bacia do rio Magdalena na Colômbia. A espécie *P. tigrinum* originou a espécie *P. metaense* localizado somente na bacia do rio Orinoco enquanto o *P. corruscans* permaneceu sua distribuição inalterada (Carvalho-Costa et al., 2011).

Pseudoplatystoma reticulatum comumente conhecido como surubim cachara, é um bagre da bacia do Paraná-Paraguai e da região central do Amazonas e renomeado após a organização do gênero *Pseudoplatystoma* que anteriormente era denominado de *Pseudoplatystoma fasciatum* (Buitrago-Suárez, 2006). A espécie que possui coloração prata na região dorsal, esbranquiçada na região ventral, com listras espaçadas negras perpendiculares ao corpo e três barbilhões na região maxilar para auxiliar os estímulos químicos, hábitos noturnos com preferência em águas turvas (Crepaldi et al., 2006) pertence conforme Lundberg & Littman (2003) e Buitrago-Suárez & Burr (2007) ao reino Animalia, filo Chordata, classe Osteichyces, subclasse Actinopterygii, infraclasse

Teleostei, divisão Euteleostei, superordem Ostariophysii, ordem Siluriformes, família Pimelodidae.

Sua preferência alimentar é carnívora, corpo fusiforme com tamanho que pode atingir mais de 170 cm, olhos pequenos na posição dorsal, fazendo parte do topo da cadeia alimentar em diversos habitats aquáticos das mais importantes bacias hidrográficas da América do Sul (Reid, 1983).

Possui nadadeiras dorsais e peitorais com espinhos levemente serrilhados, com um único ferrão na porção distal de cada nadadeira peitoral e da dorsal as quais pode ocasionar lesões, liberando um muco chamado de ictiocrinotoxina que consiste em um material proteico e gelatinoso produzido por células elaboradas de proteínas denominadas “células-club” (Thulesius et al., 1983). Sua distribuição geográfica é exclusivamente em água doce, onde se pode observar em maior abundância nas bacias hidrográficas sul-americanas especificamente na bacia do Uruguai, Paraná/Paraguai, São Francisco e Amazonas.

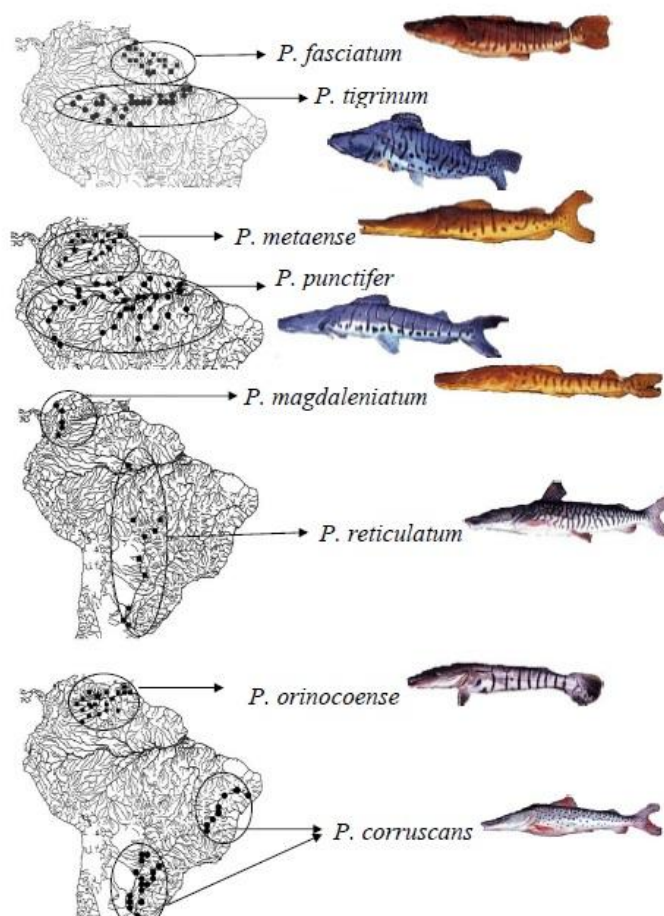


Figura 1. Distribuição de áreas de oito espécies de peixes neotropicais do gênero *Pseudoplatystoma* conforme ilustrado por Buitrago-Suarez & Burr (2007).

Pesquisas realizadas na América do Norte estão sendo desenvolvidas com o objetivo de estudar o crescimento, maturação e desova de fêmeas cultivadas na Universidade de Ohio, desde 2003, conforme relata Dabrowski et al. (2008). Ou seja, este peixe possui bastante potencial para ser explorado tanto no continente de origem como em outros países que pretendem ter mercado consumidor local para a demanda e consumo para justificar a produção desta espécie.

Por ser uma espécie com características de realizar longas migrações ao longo dos rios durante a estação reprodutiva, esta espécie em ambiente natural é altamente impactado com a mudança de ambientes lênticos para lóticos, a exemplo de construções de hidroelétricas em águas da união, pela ação antrópica, assoreamento ocasionado por carreamento dos solos oriundos do desmatamento de matas ciliares (Agostinho et al., 2007).



Figura 2. Exemplar de *Pseudoplatystoma reticulatum*. Fonte: Autor desconhecido.

1.3 Melhoramento genético de peixes no Brasil

Anualmente, a produção aquícola mundial desenvolve taxas de crescimento com perspectivas melhores que a produção pesqueira extrativista. Assim como no âmbito internacional, o Brasil também vem se destacando com produção de peixes em cativeiro pelas diversas características climáticas, dimensionalidade continental, espécies com características zootécnicas adequadas ao cultivo, entre outros fatores biológico e logísticos (Brasil, 2013). No entanto, o consumo de pescado per capita não ultrapassa os 11,17 kg habitante ao ano, abaixo do que se é recomendado pela Organização Mundial de Saúde que estabelece um consumo por habitante anualmente de 12 kg (FAO, 2013).

Embora registrando baixo consumo de pescado no mercado interno, este alimento possui alto valor de mercado sendo bastante importante na balança comercial brasileira. Mesmo com importações de espécies como salmão, bacalhau e pangásius, as

exportações de produtos nacionais como peixes, crustáceos, moluscos congelados se superaram. Tendo em vista a necessidade eminente de produção de alimentos por meio da produção aquícola brasileira, alto valor agregado do pescado, a produção continental tornou-se uma alternativa atrativa e, tem-se destacado por apresentar resultados superiores às demais cadeias agropecuárias.

Ribeiro & Legat (2008) relataram que apesar do potencial aquícola no Brasil, a tecnologia de melhoramento genético em animais aquáticos tem sido menor em comparação aos animais terrestres mesmo com uma crescente demanda de alimentos de origem animal cresça de forma exponencial. Para isso, políticas públicas são de extrema importância para o desenvolvimento assim como a organização do setor para se adequar aos desenvolvimentos tecnológicos e ambientais.

Dada esta importância a uma cadeia produtiva dentro do cenário mundial e nacional, dentro do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento foi criada a Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca da Presidência da República que posteriormente foi transformada em Ministério da Pesca e Aquicultura em 2009. Paralelamente a este contexto político, a Embrapa buscou estratégias que contribuíssem para o desenvolvimento e o crescimento da aquicultura brasileira e criou a Embrapa Pesca e Aquicultura com o objetivo de coordenar as iniciativas de pesquisa na instituição e operar como centro de referência na geração de tecnologias para aquicultura e pesca.

O Projeto “Bases Tecnológicas para o Desenvolvimento Sustentável da Aquicultura no Brasil – Aquabrazil” teve ainda início em 2008 e teve por objetivo promover um salto tecnológico na aquicultura brasileira, conforme relataram Rocha et al. 2013. Os autores também estabelecem objetivos que de forma geral buscam estabelecer e consolidar um programa nacional de reprodução seletiva para espécies aquícolas nacionais e trazer para os produtores comerciais animais de alto desempenho produtivo aliado a programas de nutrição, biossegurança, boas práticas de manejo, conservação ambiental e valor agregado do alimento. Desta forma, importantes espécies aquícolas produzidas comercialmente no Brasil a exemplo do camarão marinho (*Litopenaeus vannamei*) no nordeste brasileiro, tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em todo mercado nacional e mundial, tambaqui (*Colossoma macropomum*) e cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) no mercado regional com pretensões de expansão nacional e mundial.

Como exemplo de sucesso do programa de melhoramento genético em peixes, pode-se citar a tilápia do Nilo com a variedade GIFT (*Genetically Improved Farming Tilapia*), introduzida no Brasil em 2005 com 600 exemplares de 30 famílias oriundas da Malásia desenvolvida inicialmente pelo ICLARM (International Center for Living Aquatic Resources Management atual World Fish Center), sendo a Universidade Estadual de Maringá como agente nucleadora, marcando o início de programas de melhoramento de peixes no Brasil por meio de avanços tecnológicos neste setor de estudo (Resende et al., 2010).

Paralelamente ao programa de melhoramento da tilápia do Nilo com a variedade GIFT, que possui participação da UEM, o grupo de pesquisa Peixegen vem desenvolvendo o melhoramento genético de outras espécies de peixes nativos do Brasil, a exemplo do cachara e tambaqui. Essa rede de pesquisa possui investimentos tanto do governo federal como da iniciativa privada e, possui núcleo satélite com um conjunto de aproximadamente de 10 a 15 centros nas regiões Centro-Oeste (Sorriso – MT), Sul (Camboriú – SC) além de países como Cuba e Uruguai.

Um dos desafios na implantação do programa de melhoramento genético foi o manejo reprodutivo e a forma de acasalamento que Resende et al. (2010) explicaram que os animais do núcleo satélite devem ter o intuito de evitar ao máximo a endogamia e permitir o ganho genético nas diferentes gerações. De forma que os locais de geração e multiplicação de indivíduos geneticamente superiores a cada geração permitam a produção para os alevinocultores com um material genético de qualidade. Em virtude disto, vários núcleos satélites que servem de base para o programa foram escolhidos para o correto desenvolvimento do programa de melhoramento genético.

Visando a seleção de animais destinados à reprodução no programa de melhoramento da espécie, alguns requisitos deverão ser considerados, de modo que a estratégia de seleção sobre a resposta à seleção, ao longo das gerações, priorize o acasalamento de indivíduos geneticamente superiores com manutenção da variabilidade genética e níveis de endogamia baixos (Resende et al., 2010).

Um dos métodos empregados no melhoramento de peixes é a utilização de seleção genética em que se pretende acasalar os indivíduos geneticamente superiores para determinadas características, causando alterações nas frequências alélicas envolvidas em genes de expressão, aumentando a frequência dos alelos favoráveis ou reduzindo a participação dos alelos desfavoráveis (Resende et al., 2010).

Conforme relataram Ribeiro & Legat (2008), o programa de melhoramento genético deve ter alguns objetivos dentre os quais se pode destacar o estabelecimento e consolidação de um programa nacional de reprodução através de um método de seleção das espécies de interesse econômico, programação de estratégias de disseminação e uso de material genético superior, levando em consideração os diferentes sistemas de produção, boas práticas de manejo, nutrição, biossegurança, conservação ambiental e desenvolvimento de produtos alimentícios de alto valor agregado.

Além desses objetivos, considerações acerca do interesse no qual se tem pelo melhoramento genético de espécies aquícolas deve-se ter em mente, a exemplo do tipo de sistema de produção, escolha da espécie, variedade, acasalamento, formulação do objetivo, desenvolvimento dos critérios de seleção, desenho do sistema de avaliação genética, seleção de animais para a expansão, disseminação da população melhorada, monitoramento e comparação de programas alternativos (Ribeiro & Legat, 2008).

Complementando as informações anteriores, Hilsdorf & Órfão (2011) informaram que ao iniciar programas de melhoramento uma das preocupações que se deve salientar é na formação de plantel de reprodutores os quais devem apresentar alta variabilidade genética permanecendo nas gerações. Outras informações oriundas de marcação individual por meio de *pit tags* e caracterização genética tornam-se fundamentais para o sucesso no melhoramento, bem como o número efetivo de reprodutores por meio das biotecnologias aplicadas na criopreservação de sêmen e reprodução artificial.

No início do programa de melhoramento dos cacharas foram formadas aproximadamente 73 famílias considerando uma avaliação de seleção semelhante ao que foi realizada com a tilápia do Nilo no programa de melhoramento genético. Os animais que foram locados em núcleos satélites na região Centro-Oeste, mais especificamente nos Estados de Mato Grosso do Sul e Mato Grosso foram analisados por meio de análises biométricas em função dos valores genéticos aditivos para o crescimento considerando o ganho em peso a cada análise biométrica.

Os animais da geração parental foram constituídos tanto de pisciculturas da região Centro-Oeste quanto de populações capturadas da natureza. Técnicas de criopreservação de germoplasma no início do programa foram de primordial utilidade para que se fossem utilizadas na composição das famílias. Como os animais da natureza foram capturados de diferentes rios, a exemplo do rio Aquidauana, Miranda, Cuiabá, Cuiabazinho e Paraguai, foi necessário congelar o sêmen até a chegada desse material genético nos núcleos satélites.

Vale salientar que este trabalho com caráter inédito tanto em âmbito nacional quanto mundial, se fez um esforço adicional em relação ao número de pessoas altamente qualificadas para que a logística do projeto não fosse prejudicada. O monitoramento da variabilidade genética assim como a análise de diversidade genética do local de origem em relação aos animais para a formação dos reprodutores da população inicial foi avaliado por meio de técnicas de biologia molecular sendo de extrema e vital importância para dar início ao programa de melhoramento.

Atualmente, o núcleo de seleção do melhoramento de cacharas está localizado no Estado do Mato Grosso com aproximadamente 40 famílias da primeira geração e, com análise da segunda geração referente à safra 2013/2014. No núcleo satélite foram formadas ainda na safra 2013/2014, aproximadamente, 17 famílias que estão sendo avaliadas conforme seus dados biométricos de ganho em peso.

A diminuição do número de famílias deu-se pela complexa estrutura de formação de dados pelo ambiente. Foram observadas mortalidades em alguns períodos do ano no qual a explicação do ocorrido nesta fase encontra-se em processo de avaliação investigativa. Outros fatores relacionados à diminuição das famílias dar-se-ão pela dificuldade na determinação do sexo na primeira geração dos animais. Entretanto, estas dificuldades tanto pelo número de famílias que compõem o programa de melhoramento quanto dificuldade de determinação de sexo, entre outras adversidades referentes ao manejo serão diminuídas à medida que futuras gerações de alto valor genético são acrescentadas.

Há uma perspectiva muito grande em torno do melhoramento genético das espécies aquícolas, com o acompanhamento da formação das famílias que estão sendo desenvolvidas nos núcleos satélites. É normal no início do programa de melhoramento genético ter alguns desafios a serem superados como mortalidade, ganho em peso, direcionamento correto do programa entre outros fatores, o que não diminui em nada o caráter inédito deste programa. Comparando o tempo de formação do programa de melhoramento genético da tilápia do Nilo com a do cachara ainda é muito recente para se subestimar o quão produtivo e lucrativo este programa poderá proporcionar aos produtores. Vale salientar que a espécie-alvo cachara possui uma produtividade que em termos de região Centro-Oeste possui uma tendência crescente no mercado interno e externo. Portanto, faz-se necessária a manutenção deste estoque pesqueiro com fins de melhoramento genético para que se proporcionem avanços tecnológicos nesse setor aquícola.

1.4 Microssatélites aplicados na piscicultura

Uma ferramenta bastante utilizada que busca a manutenção da variabilidade genética, realizando seleção e novos cruzamentos em uma mesma geração, aumentando a eficiência e definição de estratégias em programas de melhoramento é a utilização de marcadores moleculares.

Esta técnica permite aos melhoristas avaliar como está a variabilidade genética entre e dentro dos grupos ou populações, derivação genética e migração onde se está aplicando o melhoramento genético sendo uma ferramenta bastante viável na tomada de decisões quanto à seleção.

Para realizar a seleção de animais, considera-se seu valor genético aditivo na maioria das características de interesse zootécnico econômico em que apresenta um padrão na transferência de genes, influenciado pelas variações na interação genótipo-ambiente. Considerando os fatores que influenciam nas características do animal, os marcadores moleculares permitem identificar o potencial genético de um animal ou grupo de animais antes da expressão do seu fenótipo (Regitano & Coutinho, 2001)

Os marcadores moleculares microssatélites são elementos repetitivos, formados por arranjos de repetições em *tandem* curtas de DNA, composto no máximo por dois a seis nucleotídeos de comprimento são marcadores bastante polimórficos dos genomas (Ferguson et al., 1995; Milach, 1998; Matioli, 2001). O termo microssatélite possui na literatura vários sinônimos, a exemplo de *Simple Tandem Repeats* – STR, *Simple Sequence Repeat* – SSR, *Simple Sequence Length Polymorphism* – SSLP e *Variable Number of Tandem Repeats* – VTNR, sendo originalmente denominado microssatélite pelos pesquisadores que o descobriram (Litt & Luty, 1989; Tautz, 1989; Weber & May, 1989).

Segundo Chambers & MacAvoy (2000), para as diferentes classes de sequências repetitivas em tandem define-se por marcadores satélites em que os segmentos são altamente repetitivos de 100 ou mais nucleotídeos formando arranjos uniformes em 10^3 - 10^7 nucleotídeos de comprimento, marcadores minissatélites que são segmentos moderadamente repetitivos de 10 a 100 nucleotídeos formando arranjos relativamente uniformes de 10^2 - 10^5 pb de comprimento e, microssatélites classificados por segmento curtos de dois a seis nucleotídeos repetidos em arranjos relativamente uniformes em até 10^2 pb de comprimento.

Pela sua versatilidade sobre as diversas aplicações em estudos voltados à variabilidade genética, essa ferramenta molecular tornou-se bastante popular pela utilização em trabalhos em segmentos cromossômicos, identificação de indivíduos e rastreamento histórico na biologia populacional (Chambers & MacAvoy, 2000).

Em relação à classificação de microssatélites quanto à presença ou ausência de interrupção na unidade repetitiva, presença de mais de um tipo de unidade repetitiva pode-se utilizar a classificação de Goldstein & Schötterer (1999) que considera microssatélites perfeitos aqueles com um único motivo de repetição, não sendo interrompidos ao longo da sequência repetida por nenhuma base que altere o padrão da repetição (ex. CACACACACACA). Microssatélites imperfeitos apresentam uma ou mais repetições que contém uma base que não se encaixam na estrutura da repetição (ex. CACACACACAGGGCACACA). Microssatélites compostos consistem de dois ou mais microssatélites adjacentes com motivos repetitivos (ex. CACACACAGATGATGATGATGAT).

Em peixes, os microssatélites predominantes foram descobertos com duas repetições de bases, geralmente pela combinação $(GT/CA)_n$ ou $(CT/CA)_n$, conforme relataram Lee & Kocher (1996) ratificado por Carleton et al. (2002). Segundo Caixeta et al. (2009), as diferentes repetições encontradas de microssatélites são repetições perfeitas, quando não apresentam nenhuma repetição; repetições imperfeitas, quando são interrompidas por bases não repetidas; repetições compostas, quando duas ou mais repetições de microssatélites são formadas por apenas uma repetição.

Comparando este marcador molecular com outros, são as mais diversificadas vantagens, dentre elas destacam-se a abundância sobre o genoma, possui natureza multialélica, necessitam de poucas quantidades de DNA para análises, fácil detecção pela reação em cadeia de polimerase – PCR com processos de genotipagem via gel, possui herança mendeliana e são expressos como alelos codominantes, além de ter um baixo custo por dado gerado (Lima, 1998; Moreira et al., 1999; Caetano, 2009).

Os marcadores microssatélites possuem ampla utilização em estudos de populações, estimativas do tamanho efetivo de uma população, variabilidade genética, bem como na identificação de híbridos e espécies, determinação genética do impacto de introdução de uma população e peixes cultivados em determinada área, estabelecimento de relações filogenéticas, identificação de populações-chave para a conservação de recursos genéticos e construção de mapas genéticos (Ferguson et al., 1995). Na área da pesca e aquicultura, os microssatélites são úteis na caracterização de material genético, seleção de

reprodutores, construção de densos mapas de ligação, mapeando importantes genes de interesse econômico, quantitativos aplicados em programas de melhoramento (Chistiakov et al., 2006).

Várias espécies de peixes neotropicais já foram estudadas com caracterização, estrutura genética dentre outras finalidades relacionadas com microssatélites, conforme verificado na Tabela 1.

Tabela 1. Aplicações de marcadores moleculares microssatélites em análises de biologia molecular em peixes neotropicais.

Espécie	Marcador molecular	Finalidade	Referência
<i>Brycon opalinus</i>	Microssatélite	Diversidade genética de estoques naturais	Barroso et al. (2005)
<i>Pseudoplatystoma corruscans</i>	Microssatélite	Desenvolvimento e caracterização de <i>primer</i>	Revadalves et al. (2005)
<i>Oreochromis niloticus</i>	Microssatélite	Caracterização genética de plantéis de piscicultura	Melo et al. (2006)
<i>Prochilodus argenteus</i>	Microssatélite	Diversidade genética de estoques naturais	Hatanaka et al. (2006)
<i>Brycon moorei sinuensis</i>	Microssatélite	Diversidade genética de estoques naturais	López (2006)
<i>Brycon hilarii</i>	Microssatélite	Desenvolvimento e caracterização de <i>primer</i>	Sanches & Galetti (2006)
<i>Oreochromis niloticus</i>	Microssatélite	Caracterização genética de plantéis de piscicultura	Moreira et al. (2007)
<i>Arapaimas gigas</i>	Microssatélite	Diversidade genética de estoques naturais	Hamoy et al. (2008)
<i>Pseudoplatystoma corruscans</i>	Microssatélite	Diversidade genética de estoques naturais	Benites et al. (2008)
<i>Prochilodus costatus</i>	Microssatélite	Estrutura genética de populações naturais	Carvalho-Costa et al. (2008)
<i>Rhamdia quelen</i>	Microssatélite	Caracterização genética de plantéis de piscicultura	Ribolli & Zaniboni-Filho (2009)
<i>Pseudoplatystoma reticulatum</i>	Microssatélite	Diversidade genética de estoques naturais	Abreu et al. (2009)
<i>Piaractus mesopotamicus</i>	Microssatélite	Estrutura genética de populações naturais	Calcagnotto & DeSalle (2009)
<i>Brycon insignis</i>	Microssatélite	Estrutura genética de populações naturais	Matsumoto & Hilsdorf (2009)
<i>Piaractus mesopotamicus</i>	Microssatélite	Monitoramento de programas de reprodução semi natural	Povh et al. (2010)
<i>Pseudoplatystoma punctifer</i>	Microssatélite	Desenvolvimento e caracterização de <i>primer</i>	Saulo-Machado et al. (2011)
<i>Oreochromis niloticus</i>	Microssatélite	Caracterização genética de peixes em programas de melhoramento	Rodriguez-Rodriguez et al. (2013)
<i>Pseudoplatystoma reticulatum</i>	Microssatélite	Desenvolvimento e caracterização de <i>primer</i>	Prado et al. (2014)

A maioria dos trabalhos que utilizaram marcadores moleculares microssatélites é realizada com o intuito de observar a diversidade genética do gênero *Pseudoplatystoma* em ambientes naturais, sendo observados raros trabalhos que caracterizam animais de

piscicultura em programas de melhoramento genético. Abreu et al. (2009), analisando duas populações naturais de *Pseudoplatystoma reticulatum*, verificaram a importância destes marcadores na capacidade de identificar e definir populações biológicas com primordial objetivo de conservação e gestão genéticas de recursos naturais.

Benites (2008), estudando populações naturais de *Pseudoplatystoma corruscans* nas bacias do Alto Paraguai, Alto e Baixo Paraná comprovou que esta ferramenta molecular é capaz de caracterizar a variabilidade genética proporcionando assim, subsídios para programas de manejo, conservação e utilização deste recurso pesqueiro.

Por meio de marcadores moleculares também é possível identificar populações de híbridos de *P. corruscans* e *P. reticulatum*. Estes cruzamentos interespecíficos têm por objetivo a produção em larga escala comercial com desempenho zootécnico diferenciado de duas espécies com características semelhantes às duas espécies onde foram gerados.

Prado et al. (2012), utilizando marcadores moleculares nucleares e mitocondriais (PCR-Multiplex e PCR-RFLP) para avaliar a frequência de híbridos em populações selvagens de *P. corruscans* e *P. reticulatum* nos rios Paraguai-Paraná, observaram que há híbridos nesta bacia geográfica e o escape desses animais pode ser possivelmente originado de populações em cativeiros. Contudo, as observações destes autores sugerem e exaltam a importância de trabalhos acerca da conservação genética de estoques de populações naturais para fins de preservação destas espécies.

Características de interesse na piscicultura como crescimento acelerado, resistência a doenças, adaptabilidade em diferentes regiões com oscilações térmicas, salinidade da água, características morfológicas mais atraentes podem trazer benefícios em termos de valor agregado aos híbridos.

Apesar dos vários benefícios dos híbridos, atualmente não se tem nenhuma estatística concreta da produção e monitoramento num eventual escape para meio ambiente, adicionalmente, o mercado consumidor por não saber diferenciar uma espécie pura de um cruzamento acaba adquirindo animais com um valor não condizente com o custo final de produção. Paralelamente, muitos produtores desconhecem as bases biológicas sobre as espécies parentais e utilizam o cruzamento indiscriminado sem a menor preocupação acerca da variabilidade genética destas populações.

Diante desta problemática, o presente estudo tem por objetivo caracterizar a variabilidade genética usando marcadores moleculares microssatélites de *Pseudoplatystoma reticulatum* pertencentes ao programa de melhoramento genético.

Referências

- ABREU, M.M.; PEREIRA, L.H.; VILA, V.B.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. Genetic variability of two populations of *Pseudoplatystoma reticulatum* from the Upper Paraguai River Basin. **Genetic and Molecular Biology**, v.32, p.868-873, 2009.
- AGOSTINHO, A.A.; GOMES, L.C.; PELICICE, F.M. **Ecologia e manejo de recursos pesqueiros em reservatórios do Brasil**. Maringá: EDUEM, 2007. 501p.
- BARROSO, R.M.; HILSDORF, A.W.S.; MOREIRA, H.L.M.; CABELLO, P.H.; TRAUBCSEKO, Y. Genetic diversity of wild and cultured populations of *Brycon opalinus* (Cuvier, 1819) (Characiforme, Characidae, Bryconia) using microsatellites. **Aquaculture**, v.247, p.51-65, 2005.
- BENITES, C. **Caracterização genética do pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* (Siluriformes: Pimelodidae) da Bacia hidrográfica Paraná-Paraguai, por marcadores moleculares tipo microsatélite**. 2008. 90p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Consumo de pescado no Brasil aumenta 23,7% em dois anos**. 2013. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/index.php/imprensa/noticias/2226-consumo-de-pescado-no-brasil-aumenta-237-em-dois-anos>>. Acesso em: 18 ago. 2014.
- BUITRAGO-SUÁREZ, U.A. Anatomía comparada y evolución de las especies de *Pseudoplatystoma* Bleeker 1862 (Siluriformes: Pimelodidae). **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y naturales**, v.30, p.117-145, 2006.
- BUITRAGO-SUÁREZ, U.A.; BURR, B.M. Taxonomy of the catfish genus *Pseudoplatystoma* Bleeker (Siluriformes: Pimelodidae) with recognition of eight species. **Zootaxa**, v. 1512, p.1-38, 2007.
- CAETANO, A.R. Marcadores SNP: conceitos básicos, aplicações no manejo e no melhoramento animal e perspectivas para o futuro. **Revista brasileira de zootecnia**, v.38, p.64-71, 2009.

- CAIXETA, E.T.; OLIVEIRA, A.C.B.; BRITO, G.G.; SAKIYAMA, N.S. Tipos de marcadores moleculares. In: BORÉM, A.; CAIXETA, E.T. (Eds.). **Marcadores moleculares**. Viçosa, MG: UFV, 2009. p.9-78.
- CALCAGNOTTO, D.; DeSALLE, R. Population genetic structuring in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) across the Paraná-Paraguay basin: evidence from microsatellites. **Neotropical Ichthyology**, v.7, p.607-616, 2009.
- CARLETON, K.L.; STREELMAN, J.T.; LEE, B-Y.; GRARNHART, N.; KIDD, M.; KOCKER, T.D. Rapid isolation of CA microsatellites from the Tilapia genome. **Animal Genetics**, v.33, p.140-144, 2002.
- CARVALHO-COSTA, L.F.; HATANAKA, T.; GALETTI, JR., P.M. Evidence of lack of population substructuring in the Brazilian freshwater fish *Prochilodus costatus*. **Genetic and Molecular Biology**, v.31, p.377-380, 2008.
- CARVALHO-COSTA, L.F.; PIORSKI, N.M.; WILLIS, S.C.; GALETTI JR., P.M.; ORTÍ, G. Molecular systematics of the neotropical shovelnose catfish genus *Pseudoplatystoma* Bleeker 1862 based on nuclear and mtDNA markers. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.59, p.177-194, 2011.
- CHAMBERS, G.K.; MACAVOY, E.S. Microsatellites: consensus and controversy. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part B**, v.126, p.455-476, 2000.
- CHISTIYAKOV, D. A.; HELLEMANS, B.; VOLCKAERT, F.A.M. Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. **Aquaculture**, v. 255, p.1-29, 2006.
- CREPALDI, D.V.; FARIA, P.M.C.; TEIXEIRA, E.A.; RIBEIRO, L.; COSTA, A.A.; MELO, D.C.; CINTRA, A.P.R.; PRADO, S.A.; COSTA, F.A.A.; DRUMOND, M.L.; LOPES, V.E.; MORAES, V.E. O surubim na aquacultura do Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.30, p.150-158, 2006.
- DABROWSKI, K.; ARSLAN, M.; RINCHARD, J.; PALACIOS, M.E. Growth, Maturation, Induced Spawning, and Production of the First Generation of South American Catfish, *Pseudoplatystoma* sp., in North America. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.39, p.174-183, 2008.
- FERGUNSON, A.; TAGGART, J.B.; PRODHOL, A.; MCMEEL, O.; THOMPSON, C.; STONE, C.; MCGINNITY, P.; HYNES, R.A. The application of molecular markers to the study and conversation of fish population with special reference to Salmo. **Journal of Fish Biology**, v.47, p.103-126, 1995.
- FAO. Food and Agriculture Organization. **Food outlook**: biannual report on global food markets. Rome: FAO, 2013. 134p.
- FAO. Food and Agriculture Organization. **The state of world fisheries and aquaculture 2012**. Rome: FAO, 2012. 209p.

GOLDSTEIN, D.B.; SCHLÖTTERER, C. **Microsatellites**: evolution and applications. New York: Oxford University Press, 1999. 352p.

HAMOY, I.G.; SANTOS, E.J.M.; SANTOS, S.E.B. Rapid and inexpensive analysis of genetic variability in *Arapaima gigas* by PCR multiplex panel of eight microsatellites. **Genetics and Molecular Research**, v.7, p.29-32, 2008.

HASHIMOTO, D.T.; PRADO, F.D.; SENHORINI, J.A.; FORESTI, F.; PORTO-FORESTI, F. Detection of post-F1 fish hybrids in broodstock using molecular markers: approaches for genetic management in aquaculture. **Aquaculture Research**, v.44, p.876-884, 2013.

HASHIMOTO, D.T.; SENHORINI, J.A.; FORESTI, F.; PORTO-FORESTI, F. Interspecific fish hybrids in Brazil: management of genetic resources for sustainable use. **Reviews in Aquaculture**, v.4, p.108-118, 2012.

HATANAKA, T.; HENRIQUE-SILVA, F.; GALETI JR., P.M. Population substructuring in a migratory freshwater fish *Prochilodus argentus* (Characiformes, Prochilodontidae) from the São Francisco River. **Genetic**, v.126, p.153-159, 2006.

HILSDORF, A.W.; ORFÃO, L.H. Aspectos gerais do melhoramento genético em peixes no Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.317-324, 2011.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Estatística da pesca no Brasil**: grandes regiões e unidades da federação. Brasília, DF: Ibama, 2007. 174 p.

INOUE, L.A.K.A.; HISANO, H.; ISHIKAWA, M.M.; ROTTA, M.A.; SENHORINI, J.A. **Princípios básicos para a produção de alevinos de surubins (Pintado e Cachara)**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental; Corumbá: Embrapa Pantanal, 2009. 26p.

LEE, W.J.; KOCHER, T.D. Microsatellite DNA markers for genetic mapping in *Oreochromis niloticus*. **Journal of Fish Biology**, v.49, p.169-171, 1996.

LIMA, R.M.G. **Polimorfismos de microssatélites em DNA de equinos e seu uso na determinação de parentesco em animais da raça mangalarga machador**. 1998. 91p. Tese (Doutorado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

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

LÓPEZ, L. Genetic variability and population structure of dorada (*Brycon moorei sinuensis* Dahl) in the Sinú River, Córdoba, Colombia. **Lakes & Reservoirs: Research & Management**, v.11, p.1-7, 2006.

- LUNDBERG, J.G.; LITTMANN, M.W. Pimelodidae (Long-whiskery catfishes). In: REIS, R.E.; KULLANDER, S.O.; FERRARIS, C.J. (Eds.). **Checklist of the Freshwater Fishes of South and Central America**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2003. p.432-446.
- MATEO, F.J.; LOPEZ ROJAS, H. Comparación alométrica entre los híbridos Yanque pintado (*Pseudoplatystoma fasciatum* x *Leiarius marmoratus*) y Chorrosco (*Pseudoplatystoma fasciatum* x *Pimelodus blochi*) (Siluriformes: Pimelodidae). **Revista de La Facultad de Ciencias Veterinarias**, v.46, n.2, 2005.
- MATIOLI, S.R. **Biologia molecular e evolução**. Ribeirão Preto: Holos, 2001. 202p.
- MATSUMOTO, C.K.; HILSDORF, A.W.S. Microsatellite variation and population genetic structure of a neotropical endangered Bryconinae species *Brycon insignis* Steindachner, 1877: implications for its conservation and sustainable management. **Neotropical Ichthyology**, v.7, p.395-402, 2009.
- MELO, D.C.; OLIVEIRA, D.A.A.; RIBEIRO, L.P.; TEIXEIRA, C.S.; SOUZA, A.B. COELHO, E.G.A.; CREPALDI, D.V.; TEIXEIRA, E.A. Caracterização genética de seis plantéis comerciais de tilápia (*Oreochromis niloticus*) utilizando marcadores moleculares microssatélites. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, p.87-83, 2006.
- MILACH, S.C.K. Marcadores de DNA. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v.5, p.14-17, 1998.
- MOREIRA, A.A.; HISDORF, A.W.S.; SILVA, J.V.; SOUZA, V.R. Variabilidade genética de duas variedades de tilápia nilótica por meio de marcadores microssatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, p.521-526, 2007.
- PONZETTO, J.M.; PORTO-FORESTI, F.; SENHORINI, J.A.; ROCHA, R.C.G.A.; POLAZ, C.N.M. Reprodução induzida de híbridos de siluriformes em cativeiro: potencialidades e ameaças na conservação de espécies nativas. In: MAÚBA: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNSP, 22., 2010, Marília. **Anais...** Marília: Universidade Estadual Paulista, 2010. 1 CD-ROM.
- POVH, J.A.; RIBEIRO, R.P.; SIROL, R.N.; STREIT Jr., D.P.; MOREIRA, H.L.M.; SIEWERDT, F.; LOPERA-BARRERO, N.M.; MANGOLIN, C.A.; VARGAS, L. Microsatellite analysis of the parental contribution of *Piaractus mesopotamicus* to the production of offspring in the semi-natural system of reproduction. **Brazilian archives of biology and technology**, v.53, p.389-396, 2010.
- PRADO, F.D.; HASHIMOTO, D.T.; SENHORINI, J.A.; FORESTI, F.; PORTO-FORESTI, F. Detection of hybrids and genetic introgression in wild stocks of two catfish species (Siluriformes: Pimelodidae): The impact of hatcheries in Brazil. **Fisheries Research**, v.125-126, p.300-305, 2012.

- PRADO, F.D.; PARDO, B.G.; GUERRA-VARELA, J.; SENHORINI, J.A.; MARTÍNEZ, P.; FORESTI, F.; PORTO-FORESTI, F. Development and characterization of 16 microsatellites for the Neotropical catfish *Pseudoplatystoma reticulatum* and cross species analysis. **Conservation Genetic Resources**, v.6, p.679-681, 2014.
- REGITANO, L.C.A.; COUTINHO, L.L. **Biologia molecular aplicada à produção animal**. Brasília, DF: EMBRAPA, 2001. 213p.
- REID, S. La biologia de los bagres rayados *Pseudoplatystoma fasciatum* y *P.tigrinus* en la cuenca del Rio Apure, Venezuela. **Revista Unellez Ciencia y Tecnología**, v.1, p.13-41, 1983.
- RESENDE, E.K.; OLIVEIRA, C.A.L.; LEGAT, A.P.; RIBEIRO, R.P. Melhoramento animal no Brasil: uma visão crítica espécies aquáticas. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO ANIMAL, 8., 2010., Maringá. **Anais...** Maringá: UEM, 2010. 1 CD-ROM.
- REVALDAVES, E.; PEREIRA, L.H.G.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. Isolation and characterization of microsatellite loci in *Pseudoplatystoma corruscans* (Siluriformes, Pimelodidae) and cross-species amplification. **Molecular Ecology Notes**, v.5, p.463-465, 2005.
- RIBEIRO, R.P.; OLIVEIRA, C.A.L.; RESENDE, E.K.; VARGAS, L.; ALEXANDRE FILHO, L.; LEGAT, A.P. Tilápias do Nilo têm programa de melhoramento genético em curso. **Visão Agrícola (USP / ESALQ)**, v.11, p.61-64, 2012.
- RIBEIRO, R.P.; LEGAT, A.P. **Delineamento de programas de melhoramento genético de espécies aquícolas no Brasil**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2008. 25p.
- RIBOLLI, J.; ZANIBONI-FILHO, E. Individual contributions to pooled-milt fertilizations of silver catfish *Rhamdia quelen*. **Neotropical Ichthyology**, v.7, p.629-634, 2009.
- ROCHA, C.M.C.; RESENDE, E.K.; ROUTLEDGE, E.A.B.; LUNDSTEDT, L.M. Avanços na pesquisa e no desenvolvimento da aquicultura brasileira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, p.iv-vi, 2013.
- RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, M.P.; LOPERA-BARRERO, N.M.; VARGAS, L.; ALBUQUERQUE, D.M.; GOES, E.S.R.; PRADO, O.P.P.; RIBEIRO, R.P. Caracterização genética de gerações de tilápia Gift por meio de marcadores moleculares microssatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, p.1385-1393, 2013.
- SANCHES, A.; GALETTI, P.M. Microsatellites *loci* isolated in the freshwater fish *Brycon hilarii*. **Molecular Ecology Notes**, v.6, p.1045-1046, 2006.
- SAULO-MACHADO, A.C.; FORMIGA, K.M.; ORTIZ, M.F.; SOUSA, A.C.B.; ALVES-GOMES, J.A.; BATISTA, J.S. Polymorphic microsatellite DNA markers for the Amazonian catfish *Pseudoplatystoma punctifer* (Siluriformes: Pimelodidae). **Conservation Genetic Resources**, v.3, p.307-310, 2011.

TAUTZ, D. Hypervariability of simple sequences as a general source of polymorphic DNA markers. **Nucleic Acids Reserach**, v. 17, p.6463-6471, 1989.

THULESIUS, O.; AL-HASSAN, J.M.; CRIDDLE, R.S.; THOMSOM, M. Vascular responses elicited by venom of the Arabian catfish (*Arius thalassinus*). **General Pharmacolgy**, v. 14, p.129-132, 1983.

TORRICO, J.P.; HUBERT, N.; DESMARAIS, E.; DUPONCHELLE, F.; RODRIGUEZ, J.N.; MONTOYA-BURGOS, J.I.; DAVILA, C.G.; CARVAJAL-VALLEJOS, F.M.; GRAJALES, A.A.; BONHOMME, F.; RENNO, J.F. Molecular phylogeny of the genus *Pseudoplatystoma* (Bleeker, 1862): biogeographic and evolutionary implications. **Molecular Phylogenetics Evolution**, v.51, p.588-594, 2009.

VAINI, J.O.; GRISOLIA, A.B.; PRADO, F.D.; PORTO-FORESTI, F. Genetic identification of interspecific hybrid of Neotropical catfish species (*Pseudoplatystoma corruscans* vs *Pseudoplatystoma reticulatum*) in rivers of Mato Grosso do Sul State, Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v.12, p.635-641, 2014.

WEBER, J.L.; MAY, P.E. Abundant class of human DNA polymorphisms wich can be typed using the polymerase chain reaction. **The American Journal of Human Genetics**, v. 44, p.388-396, 1989.

II – OBJETIVO GERAL

O presente estudo teve por objetivo caracterizar a variabilidade genética de *Pseudoplatystoma reticulatum*, usando marcadores moleculares microssatélites de animais pertencentes ao programa de melhoramento de espécies aquícolas.

III – Variabilidade genética de *Pseudoplatystoma reticulatum* do Programa de Melhoramento Genético

Resumo – Objetivou-se caracterizar a variabilidade genética de cinco grupos de *Pseudoplatystoma reticulatum* do projeto de melhoramento de espécies aquícolas por meio de marcadores moleculares microssatélites. foram analisados 211 indivíduos da geração F₁ oriundos de 72 famílias do programa de melhoramento. Foram observados 62 alelos em oito *loci* microssatélites polimórficos (*Pcor01*, *Pcor05*, *Pcor08*, *Pcor10*, *Ppu01*, *Ppu04*, *Ppu09*, *Ppu10*). Verificou-se frequência alélica média que variou entre 0,0083 (*Pcor08*/85/110/118 – MS-II) e 0,500 (*Pcor08*/83 – MS-I). A heterozigosidade observada média e o coeficiente de endogamia foram de 0,684; 0,643; 0,782; 0,728; 0,682; e 0,121; 0,168; 0,034; 0,061; 0,137, respectivamente para MT-I, MT-II, MS-I, MT-III e MS-II. Observou-se desvio de equilíbrio de Hardy-Weinberg nas cinco populações na maioria dos *loci*. Considerando a diferenciação genética, conclui-se que os cinco grupos analisados são distintos entre si, formando dois grupos compostos por três e duas subpopulações, respectivamente.

Termos para indexação: cachara, coeficiente de endogamia, frequência alélica, genética, SSR.

Genetic variability of *Pseudoplatystoma reticulatum* of breeding program

Abstract – This study aimed to characterize the genetic variability in five populations of *Pseudoplatystoma reticulatum* from breeding program of aquaculture species by microsatellite molecular markers. It was analyzed two hundred and eleven individuals from the F₁ generation derived from 72 families. In a total of 62 alleles were observed in eight microsatellite *loci* polymorphic (*Pcor01*, *Pcor05*, *Pcor08*, *Pcor10*, *Ppu01*, *Ppu04*, *Ppu09*, *Ppu10*). There was an average allele frequency ranging between 0.0083 (*Pcor08/85/110/118* - MS-II) and 0.500 (*Pcor08/83* – MS-I). The average observed heterozygosity and inbreeding coefficient were 0.684; 0.643; 0.782; 0.728; 0.682; and 0.121; 0.168; 0.034; 0.061; 0.137 respectively for MT-I, MT-II, MS-I, MT-III and MS-II. It was observed a deviation from Hardy-Weinberg equilibrium in five populations at most *loci*. Considering genetic differentiation, it was concluded that the five populations examined are different from one another, thus forming two groups made by three and two subpopulations, respectively.

Index terms: allele frequency, cachara, genetic, inbreeding coefficient, SSR.

Introdução

Pseudoplatystoma reticulatum comumente conhecido como surubim cachara, é um bagre da bacia do Paraná-Paraguai e da região central do Amazonas, possui barbilhões na região maxilar para auxiliar os estímulos químicos, hábitos noturnos com preferência em águas turvas (Crepaldi et al., 2006).

Sua preferência alimentar é carnívora fazendo parte do topo da cadeia alimentar em diversos habitats aquáticos das mais importantes bacias hidrográficas da América do Sul (Reid, 1983). Segundo o Ibama (2007), os bagres obtiveram na última estimativa de produção pesqueira no Brasil um total de 11.168 toneladas o que representa 4,6% de toda produção pesqueira extrativista. São peixes com valor comercial elevado pela sua excelente qualidade de carne que possui coloração clara, sabor suave e presença de poucos espinhos e, muito apreciados na pesca esportiva (Inoue et al., 2009).

Os cacharas apresentam características zootécnicas viáveis na produção animal, desempenho produtivo com conversão alimentar favorável, biotécnicas de reprodução adaptadas ao cultivo, produzido em vários sistemas de cultivos, além de já possuírem uma oferta contínua de alevinos nas regiões produtoras. Com potencial nativo aquícola para ser uma espécie competitiva com outros peixes, o cachara entrou para o programa de melhoramento de espécies aquícolas.

Com o início do Programa Aquabrazil “Bases tecnológicas para o desenvolvimento sustentável da aquicultura do Brasil”, coordenado pela Embrapa em 2005 e, terminado em 2013 sob os moldes originais de gestão, a Universidade Estadual de Maringá - UEM funcionou como entidade nucleadora para o cachara por meio de um programa de pesquisa da Embrapa que tem por objetivo desenvolver o melhoramento genético de peixes nativos. Essa rede de pesquisa que possuiu investimentos tanto do governo federal como da iniciativa privada, possui núcleos nas regiões Centro-Oeste (Sorriso – MT) e Sul (Camboriú – SC) e alguns países como Cuba e Uruguai que entraram como parceiros em meados de 2007 e 2009.

Como exemplo de sucesso do programa de melhoramento genético em peixes no Brasil, pode-se citar a tilápia do Nilo, variedade GIFT, introduzida no Brasil em 2005 com 30 famílias em que a UEM, em parceria com a Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca - SEAP, atual Ministério da Pesca, teve papel fundamental nos avanços tecnológicos neste setor de estudo. Atualmente, o programa de melhoramento desta

espécie encontra-se em sua quinta geração e, entre a primeira até a quarta geração, foi obtido um retorno na taxa de crescimento em torno de 28% (Resende et al., 2010).

Uma ferramenta bastante utilizada que busca a manutenção da variabilidade genética, realizando seleção e novos cruzamentos em uma mesma geração, aumentando assim a eficiência e definição de estratégias em programas de melhoramento é a utilização de marcadores moleculares. Os marcadores microssatélites possuem ampla utilização em estudos de populações, estimativas do tamanho efetivo de uma população, variabilidade genética, bem como na identificação de híbridos e espécies, determinação genética do impacto de introdução de uma população e peixes cultivados em determinada área, estabelecimento de relações filogenéticas, identificação de populações-chave para a conservação de recursos genéticos e construção de mapas genéticos (Cristiakov et al., 2006).

Diante desta problemática, o presente estudo tem por objetivo caracterizar a variabilidade genética usando marcadores moleculares microssatélites de *Pseudoplatystoma reticulatum* que participaram do programa de pesquisa em rede denominada “Bases tecnológicas para o desenvolvimento sustentável da aquicultura no Brasil – Aquabrasil”.

Material e Métodos

Para compor o projeto de melhoramento genético de espécies aquícolas, casais silvestres de *Pseudoplatystoma reticulatum* foram obtidos durante os anos de 2008, 2009, 2010 e 2011 e, mantidos nas estações núcleos de três propriedades dos Estados do Mato Grosso e duas do Mato Grosso do Sul, com o objetivo de formar aproximadamente 72 famílias por meio de desovas induzidas artificialmente.

Os reprodutores foram mantidos separadamente em viveiros escavados para evitar o descontrole da seleção destas famílias formadas. Em todos os indivíduos foram implantados microchips (*Passive Integrated Transponders – PIT tag*) podendo-se obter informações de peso, sobrevivência, conversão alimentar além da possibilidade de acasalar as amostras de forma aleatória ao invés de um acasalamento de amostras selecionadas o que resultaria em uma subestimação da variância genética da população.

Os animais selecionados foram alojados em uma propriedade vinculada ao projeto de pesquisa Aquabrasil, localizada no município de Sorriso – MT no distrito de Primavera do Norte.

Foram coletadas amostras de 211 animais que vieram originalmente de famílias das propriedades denominadas Mato Grosso I (MT-I), Mato Grosso II (MT-II), Mato Grosso III (MT-III), Mato Grosso do Sul I (MS-I) e Mato Grosso do Sul II (MS-II), totalizando cinco populações a serem analisadas. Amostras de nadadeira caudal de aproximadamente 0,5 cm², colocadas em microtubos de 1,5 mL contendo álcool etílico absoluto para posterior extração e amplificação de DNA e, transportadas até o Laboratório de Biologia Molecular da UEM.

Foi utilizada a metodologia descrita por Lopera-Barrero et al. (2008) para extração de DNA. As nadadeiras foram conservadas em microtubos contendo etanol a 98%. Posteriormente, foram adicionados 550 µL de tampão lise (50 mM Tris-HCl, 50 mM EDTA, 100 mM NaCl, 1% SDS) e 7 µL de proteinase K (200 µg mL⁻¹). Em seguida, as amostras foram incubadas em banho-maria a 50°C por 12 h. O DNA foi precipitado com 600 µL de solução de NaCl (5M) e centrifugado por 10 min a 12.000 rpm. O sobrenadante com DNA foi transferido para novos microtubos, precipitados com 700 µL de álcool etílico absoluto e incubado por 1 h a -20°C. Depois de centrifugado, o DNA foi lavado com 700 µL de álcool etílico 70%, ressuspendido em tampão TE – 10 mM Tris pH 8,0 e 1 mM EDTA (80 µL para a nadadeira), sequencialmente tratado com 7 µL de RNase (30 µg mL⁻¹) em banho-maria a 37°C por 1 h e estocado em freezer a -20°C.

A quantificação do DNA foi realizada no espectrofotômetro Shimadzu UV 1601-E.U. (amplitude de onda 260 nm) e, as amostras foram diluídas para concentração de 10 ng/µL. A integridade do DNA foi verificada em eletroforese horizontal usando gel de agarose 1% a 70 V durante 120 min. A captura da imagem foi obtida por meio do sistema fotográfico L-PIX (LOCCUS biotecnologia).

Foram realizadas testes de diferentes temperaturas de anelamento do DNA para os *primers* (*Loci Ppu01, Ppu02, Ppu04, Ppu09, Ppu10, Ppu13, Ppu15, Pcor01, Pcor05, Pcor08, Pcor10*) descritos por Revaldaves et al. (2005) e Saulo-Machado et al. (2011).

O DNA foi amplificado para um volume total de reação de 11 µL, utilizando 8,1 µL de Platinum® PCR SuperMix (Life Technologies, Invitrogen, Carlsbad, Calif., USA), 0,9 µM de solução contendo os *primers* forward e reverse e, 20 µL de DNA alvo.

O PCR foi realizado nas seguintes condições: 2 min de desnaturação a 95°C, 30 ciclos de 2 min a 95°C, 30 s com temperaturas específicas de anelamento para cada *primer* (Tabela 1), 30 s a 72°C e uma extensão final a 72°C por 10 min.

Posteriormente, as amostras de DNA foram submetidas em gel de policrilamida a 10% (acrilamida:bisacrilamida – 29:1) e ureia 6 M, submetidas em solução tampão

TBE 1X (90 mM Tris-Borato, 2mM EDTA) a 180 V (250 mA) entre 5 a 12 h, dependendo do tamanho de fragmento do alelo do *primer* em questão.

A visualização dos alelos microssatélites foi realizada com o gel corado com nitrato de prata seguindo a metodologia adaptada por Bassam et al. (1991). O gel foi submetido a solução de fixação (10% etanol, 0,5% ácido acético) por 15 min, seguidamente por solução de nitrato de prata 6mM por 30 min e, posteriormente, feita uma prévia lavagem com água destilada por 30 segundos. O gel foi submetido na solução reveladora com 0,75 M NaOH 0,22% e formol 40%. Foram capturadas imagens dos géis revelados por meio de câmera digital DSC HX200 SONY. O tamanho dos alelos foi calculado usando o marcador de peso molecular 100 pb e 50 pb (DNA ladder - Invitrogen®).

O número de alelos, heterozigosidade observada (H_o) e esperada (H_e), índice de Shannon, teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) foram calculados utilizando o software computacional PopGene 1.31 (Yeh et al., 1999). A frequência alélica e o coeficiente de endogamia (F_{IS}) para cada *loci* será calculado com o programa GenePop 1.2 (Raymond & Rousset, 1995). O desequilíbrio de ligação, diferenciação genética e análise de variância molecular - Amova foram determinado por meio do programa Arlequin 3.1 (Excoffier et al., 2005) pelo método da cadeia de Markov. Para evidenciar a presença de alelos nulos foi utilizado o programa Micro-checker 2.2.3 (Van Oosterhout et al., 2004).

Resultados e Discussão

Num total de 11 *primers* utilizados no experimento, três não amplificaram ou foram monomórficos nas cinco populações estudadas, conforme se observa na Tabela 1. Os *locus* microssatélites utilizados nas análises do experimento possuem um alto grau de polimorfismo, condizentes com outros trabalhos publicados com este mesmo marcador (DeWoody & Avise, 2000; Benites, 2008; Abreu et al., 2009).

Diferentemente do que foi observado por Saulo-Machado et al. (2011) que estudando a isolamento e caracterização polimórfica de marcadores moleculares microssatélite em seis pimelodídeos da Bacia Amazônica, verificaram a amplificação dos *primers* *Ppu02*, *Ppu13* e *Ppu15* para *Pseudoplatystoma reticulatum* sendo encontrado num total de cinco, quatro e quatro alelos, respectivamente. Possivelmente, a diferença desse trabalho com o dos autores citados deve-se a diferenciação das diferentes populações, tendo em vista, a captura de animais de bacias distintas.

Tabela 1. Descrição de *loci* utilizados na análise de marcadores moleculares microssatélites dos cacharas (*Pseudoplatystoma reticulatum*) oriundos do projeto de melhoramento genético de espécies aquícolas.

Locus	Sequência 5' - 3'	Ta (°C)	GenBank	Repetição	Tamanho (pb)
<i>Ppu01</i> - F	CAGCATCAGCGGAAAAGTTG	58	HQ317844	(AG) ₉ aa(AG) ₁₃ aa(AG) ₆	95-120
<i>Ppu01</i> - R	CAGTGGCGCATTCTGTAATC				
<i>Ppu02</i> - F	CAGAACCAGATCCAACGTCA	NA	HQ317845	(GT) ₁₄	-
<i>Ppu02</i> - R	CTCCCTAGACTTCCCATTTC				
<i>Ppu04</i> - F	GGTCTGATATGGAGGTCGTGA	50	HQ317847	(AG) ₁₅	155-255
<i>Ppu04</i> - R	CGGTGTCTCTGGGCTATTTT				
<i>Ppu09</i> - F	CAGTGAGCCATACCTTCAGAG	59	HQ317852	(CTAT) ₆	180-266
<i>Ppu09</i> - R	TGGATGGACAGATAGACAGG				
<i>Ppu10</i> - F	GTTACCATGACCACTCGTTGC	60	HQ317853	(CA) ₂₀	94-160
<i>Ppu10</i> - R	AGTATTCTTGTGCGTAGCCCC				
<i>Ppu13</i> - F	ATCAATTCCCAGCCGGAG	NA	HQ317856	(TG) ₁₃	-
<i>Ppu13</i> - R	TCTCAGGGGCCATTCTCA				
<i>Ppu15</i> - F	GGCCAAAGTAACAGGCCA	NA	HQ317858	(AG) ₁₂	-
<i>Ppu15</i> - R	GAGCGCCCAAGGTTTAC				
<i>Pcor01</i> - F	AAACCCAGGATAACCAAGTC	56	AY737063	(TC) ₉ GC(TC) ₉	125-160
<i>Pcor01</i> - R	CAGCGTGCTACTAACACAAAC				
<i>Pcor05</i> - F	GCATAAGATTACACAGAGATTC	56	AY737067	(TC) ₈ CC(TC) ₁₅	85-110
<i>Pcor05</i> - R	CTTGGTGGGGAAACAGGC				
<i>Pcor08</i> - F	ACACCATACGCACACACTCG	56	AY737070	(AC) ₁₂	83-118
<i>Pcor08</i> - R	TGAGGTCGGGTGATAAAGGTC				
<i>Pcor10</i> - F	TTTAAGACAGCACAGCCTGTGGGG	58	AY737072	(GTCG) ₁₅ (GT) ₉ CC	50-70
<i>Pcor10</i> - R	AAGACAGCGCCATAGAGTTCTGCC				

TA: Temperatura de anelamento; NA: Não amplificado

O tamanho de pares de bases dos alelos encontrados para os *primers* *Ppu01*, *Ppu04*, *Ppu09* e *Ppu10* variaram respectivamente entre 95-120, 155-255, 180-226, 94 e 160, diferentemente no qual foi observado por Saulo-Machado et al (2011) que para esses mesmos *primers* verificaram 197-221, 279-305, 238-270, 211-247 pares de bases. Abreu et al. (2009), estudando duas populações selvagens de *Pseudoplatystoma reticulatum*, verificaram a amplificação dos *loci* *Pcor01*, *Pcor05*, *Pcor08* e *Pcor10* com número de alelos observados variando entre dois e dez, respectivamente para *Pcor10* e *Pcor05* diferentemente aos alelos observados no presente trabalho que se verificou a presença de, no mínimo, quatro e, no máximo, 11 alelos para estes mesmos *primers*.

Pode-se visualizar na Tabela 2, que foram observados 62 alelos nas cinco populações analisadas, variando entre 4,20 alelos para o *primer* *Ppu01* e 9,00 para o *primer* *Ppu09*. Essa diferenciação dos indivíduos pode ser atribuída à seleção do programa de melhoramento genético, podendo resultar numa pressão na deriva genética nas espécies, que por sua vez, é consequência oriunda da padronização das populações dos grupos do melhoramento, como corroborado por Rodriguez-Rodriguez et al. (2013) que, caracterizando a variabilidade genética em três gerações de tilápia GIFT com uso de marcadores moleculares microssatélites, explicaram que presença de alelos nulos com baixa frequência pode ser resultante da pressão exercida pela seleção de programas de melhoramento genético.

Na população MT-I foi observada baixa frequência alélica nos *primers* *Pcor05* com 85 pb; *Pcor08* em 87, 97, 109 e 118 pb; *Ppu04* com 155, 175, 195, 215 e 235 pb; *Ppu09* em 170, 220, 250 e 260 pb e, *Ppu10* em 120 e 150 pb.

Observam-se que a população MT-II apresentou baixa frequência alélica somente no *loci* *Ppu09* e *Ppu10*, sendo observado no fragmento 110 pb numa frequência mínima de 0,02. A frequência alélica na população MS-I variou entre 0,0179 e 0,500, respectivamente para *Ppu09*/266 e *Pcor08* no fragmento 83.

Na população MT-III foi observada baixa frequência em *Pcor01*/110/150/85 e 90, *Pcor05*/110; *Pcor08*/85/87/90/92/106/109/118; *Pcor10*/62/70; *Ppu01*/95/155; *Ppu04*/120/155/160/205/215/255; *Ppu09*/170/260; *Ppu10*/94/110/120/140 e 160.

Houve alteração em todos os *loci* em relação ao alelo de maior frequência em todas as populações, onde se pode observar mais de dois alelos alterados por *loci* (Tabela 2).

Tabela 2. Frequência alélica dos cacharas (*Pseudoplatystoma reticulatum*) oriundos do projeto de melhoramento genético de espécies aquícolas.

<i>Loci</i>	<i>Alelos</i>	<i>MT-I</i>	<i>MT-II</i>	<i>MS-I</i>	<i>MT-III</i>	<i>MS-II</i>
<i>Pcor01</i>	110	0,1250	0,0926	-	0,0484	0,0643
	125	0,1562	0,3519*	0,4583*	0,2742	0,3929*
	140	0,3750	0,2778	0,2917	0,4355*	0,3786
	150	0,1562	0,2037	0,1667	0,0968	0,1357
	160	0,1875*	0,0741	0,0833	0,1452	0,0286
<i>Pcor05</i>	80	-	-	0,0417	-	0,0156
	85	0,0667	-	0,1250	0,0603	0,0781
	90	0,1333	0,0476	0,2083	0,0862	0,2188
	95	0,2333	0,2619	0,3333*	0,1638	0,2891*
	100	0,3333*	0,4524*	0,1042	0,4052*	0,1484
	105	0,1333	0,1190	0,1458	0,2241	0,1875
	110	0,1000	0,1190	0,0417	0,0603	0,0625
<i>Pcor08</i>	83	0,2000	0,2857*	0,5000*	0,1667	0,1750*
	85	0,1333	0,0714	-	0,0526	0,0083
	87	0,0667	0,0714	0,1190	0,0877	0,1083
	90	0,1000	0,0238	0,0714	0,0439	0,1417
	92	0,1000	0,2619	0,0952	0,0877	0,1333
	94	0,2667*	0,1190	0,0952	0,1930*	0,1417
	97	0,0667	0,0952	0,0476	0,1579	0,1000
	106	-	-	0,0238	0,0789	0,1250
	109	0,0333	0,0238	0,0476	0,0439	0,0500
	110	-	0,0238	-	-	0,0083
	118	0,0333	0,0238	-	0,0877	0,0083
<i>Pcor10</i>	40	-	-	-	-	0,0238
	50	0,4286*	0,3500*	0,1667	0,3667*	0,2143
	55	0,3571	0,2500	0,4444*	0,3000	0,2857
	60	0,1429	0,3000	0,2778	0,2667	0,3452*
	62	-	-	-	0,0167	-
	70	0,0714	0,1000	0,1111	0,0500	0,131
<i>Ppu01</i>	95	0,1250	0,1250	0,2759	0,0678	0,1549
	105	0,4062*	0,2292	0,3621*	0,2966	0,2958*
	115	0,2188	0,2292	0,2069	0,2542	0,2817
	120	0,2500	0,4167*	0,1552	0,3729*	0,2676
	155	-	-	-	0,0085	-
<i>Ppu04</i>	120	-	-	-	0,0125	-
	153	-	-	-	-	0,0094
	155	0,0714	0,1333	0,0476	0,0125	0,0377
	160	0,1429	0,1333	0,1667	0,05	0,1321
	165	0,2143	0,1000	0,2857*	0,1375	0,1887*
	175	0,0714	0,2333*	0,1190	0,2375	0,1038
	180	0,2857*	0,2000	0,0714	0,2750*	0,0849
	195	0,0714	0,2000	0,0476	0,1875	0,1604
	201	-	-	-	-	0,0094
	205	-	-	0,1190	0,0500	0,1321
	215	0,0714	-	0,0714	0,025	0,0943
	235	0,0714	-	0,0476	-	0,0472
	255	-	-	-	0,0125	-
	295	-	-	0,0238	-	-
<i>Ppu09</i>	170	0,0385	0,0227	-	0,0300	-
	180	0,1154	0,0682	0,0357	0,1100	0,0345
	190	0,1538	0,1591	0,2321	0,1400	0,2500
	210	0,1923*	0,2500	0,1071	0,2300*	0,1379
	220	0,0769	0,0909	0,2500*	0,1200	0,1293
	230	0,1923*	0,2500*	0,1607	0,1800	0,3017*
	240	0,1154	0,0909	0,1071	0,1200	0,0862
	250	0,0385	-	-	-	-
	260	0,0769	0,0682	0,0893	0,0700	0,0603
	266	-	-	0,0179	-	-

<i>Ppu10</i>	94	-	-	0,0741	0,0164	-
	98	0,2667	0,1800	0,1667	0,1557	0,2059
	100	0,3000*	0,2600*	0,1667	0,2951*	0,2574*
	110	-	0,0200	-	0,0328	0,0515
	120	0,0667	0,1400	0,0556	0,082	0,0441
	130	0,1333	0,1000	0,1852*	0,1066	0,1397
	140	0,1667	0,2200	0,1852*	0,0902	0,1618
	150	0,0667	0,0800	0,0926	0,1721	0,1029
	160	-	-	0,0741	0,0492	0,0368

*Valores com maior frequência.

Foram verificadas baixa frequência alélica nos *loci Pcor01* para a população MT-II com 0,0926 e 0,0741, respectivamente para o tamanho 110 e 160 pb; MS-I com 0,0833 com tamanho de 160; MT-III com 0,0484 e 0,0968 para 110 e 150 e MS-II com 0,0643 e 0,0286 para 110 e 160 pb.

Analisando os dados constantes na Tabela 3, observa-se que houve presença de alelos nulos no *loci Pcor05* em todas as populações, *Pcor10* em MT-II, MT-III e MS-II, *Ppu04* nas populações MT-III e MS-II e *Ppu10* observada somente em MT-III.

Foram verificados alelos nulos em *Pcor05* em todas as populações, *Pcor10* nas populações MT-II, MT-III e MS-II, *Ppu04* em MT-III e MS-II e *Ppu10* para MT-III. A ocorrência de alelos nulos é decorrente principalmente pela falta de sequência para o anelamento do *primer* que pode ser em função de mutações pontuais (Dakin & Avise, 2004) e, conforme relataram Kordicheva et al. (2010), é um fenômeno muito comum em análises de marcadores moleculares microssatélites a presença de alelos nulos consequentes de erros de genotipagem.

Num total de 16 amostras analisadas da população MT-I, foram observados apenas alelos nulos no *loci Pcor05*. A heterozigosidade observada variou entre 0,267 para *Pcor08* e 1,00 para o *loci Ppu04*, no qual se obteve uma média total de 0,684 (Tabela 3). Verifica-se que houve diferença significativa no Equilíbrio de Hardy-Weinberg nessa população apenas em *Pcor05* e *Pcor10* em que os valores de F_{IS} de 0,6601 e 0,354, respectivamente, revelaram uma deficiência de heterozigotos. Os resultados positivos de F_{IS} podem indicar uma possível deficiência de heterozigotos, que por sua vez, atribuem-se ao programa de melhoramento genético. Como as famílias que compõem as populações de *Pseudoplatystoma reticulatum* do programa de melhoramento foram oriundas de aproximadamente 72 famílias, formadas a partir de cinco regiões distintas da região Centro-Oeste, possivelmente essa quantidade de famílias nesta geração interferiu nos parâmetro de variabilidade genética. No entanto, vale salientar que, mesmo em estoques naturais selvagens, a variabilidade genética de *Pseudoplatystoma reticulatum* pode ser interferida

por atributos diversos como barreiras geográficas, diferentes estruturas populacionais, como referenciado por Abreu et al. (2009) que, estudando duas populações de *Pseudoplatystoma reticulatum* na bacia do Paraguai, sustentaram esta hipótese.

Considerando os valores obtidos de variabilidade genética do estudo em questão, o método de seleção no qual se empregou neste projeto baseado em acasalamentos hierárquicos, pedigree, herdabilidade dos animais e seleção e cruzamento de animais baseados nos valores genéticos das famílias do programa (Ribeiro & Legat, 2008) foram suficiente para a manutenção e continuidade do programa de melhoramento genético de espécies aquícolas. Contudo, a endogamia em estoques em cativeiro é normalmente esperado e previamente controlado se inicialmente selecionam-se animais de forma correta para formação de reprodutores (Lopera-Barrero et al., 2013) para que esta problemática não prejudique desde o início os programas de melhoramento (Hiltsdorf & Orfão, 2011), caso contrário irá favorecer o efeito gargalo de garrafa e o tamanho efetivo da população, conforme salientado também por Melo et al. (2006), Moreira et al. (2007), Lopera-Barrero et al. (2010) e Lind et al. (2012).

Em animais da população MT-II, observou-se uma heteroziguidade observada com média de 0,643 em que houve uma diferença significativa ($P < 0,01$) no equilíbrio de Hardy-Weinberg nos *loci Pcor05* e *Pcor10* sendo verificado somente deficiência de heterozigotos nesses *loci* com um F_{IS} médio para todos os *loci* de 0,168.

Analisando a população oriunda da propriedade MS-I, verifica-se num total de 30 amostras, um número de alelos médios de 6,625 que variou entre quatro e dez alelos (Tabela 3). Verificou-se que não há presença de alelos nulos em na maioria dos *loci* analisados. Houve diferença significativa no equilíbrio de Hardy-Weinberg somente nos *loci Pcor01*, *Pcor05* e *Ppu10*, em que se obteve excesso de heterozigotos para *Pcor01* com valor de -0,057.

A média de heterozigotos observados foi de 0,735 com variações mínimas de 0,444 e máxima de 0,964 respectivamente para *Pcor10* e *Ppu09*. Benites (2008) caracterizou geneticamente populações naturais de *P. corruscans* advindos da bacia Paraná-Paraguai por meio de marcadores microssatélites e observou valores de heteroziguidade com média de 0,506 e heteroziguidade esperada de 0,689; nota-se, portanto, que mesmo em populações naturais são encontrados valores de heteroziguidade menor comparativamente aos apresentados no presente trabalho que foram de 0,694 e 0,793, respectivamente para H_o e H_e (Tabela 3).

Tabela 3. Dados sumarizados nas cinco populações analisadas de *Pseudoplatystoma reticulatum* analisados do projeto de melhoramento genético de espécies aquícolas.

Amostras	Loci								Média
	<i>Pcor01</i>	<i>Pcor05</i>	<i>Pcor08</i>	<i>Pcor10</i>	<i>Ppu01</i>	<i>Ppu04</i>	<i>Ppu09</i>	<i>Ppu10</i>	
MT-I (n = 16)									
NA	5	6	9	4	4	8	9	6	6,375
NE	4,163	4,639	6,25	2,97	3,436	5,765	7,192	4,639	4,882
Alelos nulos	Não	sim	não	não	Não	não	não	não	-
Ho	0,813	0,267	0,667	0,429	0,875	1	0,692	0,733	0,684
He	0,784	0,812	0,869	0,714	0,732	0,890	0,895	0,812	0,813
F_{IS}	-0,069	0,660	0,206	0,354	-0,234	-0,210	0,196	0,065	0,121
P-HW	0,051 ^{ns}	0,000023 ^{**}	0,000407 ^{**}	0,019493 [*]	0,401203 ^{ns}	0,951809 ^{ns}	0,270853 ^{ns}	0,390935 ^{ns}	-
MT-II (n = 27)									
NA	5	5	10	4	4	6	8	7	6,125
NE	3,898	3,291	5,378	3,5088	3,3982	5,5556	5,6608	5,4113	4,513
Alelos nulos	Não	sim	não	sim	não	não	não	não	-
Ho	0,704	0,429	0,714	0,3	0,708	0,667	0,864	0,76	0,643
He	0,758	0,713	0,834	0,753	0,721	0,849	0,843	0,832	0,788
F_{IS}	0,054	0,384	0,123	0,580	-0,004	0,187	-0,049	0,068	0,168
P-HW	0,885 ^{ns}	0,000001 ^{**}	0,309555 ^{ns}	0,000134 ^{**}	0,407978 ^{ns}	0,298444 ^{ns}	0,411022 ^{ns}	0,201722 ^{ns}	-
MS-I (n = 30)									
NA	4	7	8	4	4	10	8	8	6,625
NE	3,032	4,8608	3,4186	3,1765	3,6486	6,438	5,7226	6,8131	4,639
Alelos nulos	Não	sim	não	não	não	não	não	não	-
Ho	0,708	0,542	0,857	0,444	0,862	0,762	0,96	0,741	0,735
He	0,684	0,811	0,725	0,726	0,739	0,865	0,840	0,869	0,782
F_{IS}	-0,057	0,318	-0,212	0,351	-0,188	0,098	-0,169	0,132	0,034
P-HW	0,006 ^{**}	0,000001 ^{**}	0,11079 ^{ns}	0,227193 ^{ns}	0,495035 ^{ns}	0,125692 ^{ns}	0,282289 ^{ns}	0,00356 ^{**}	-
MT-III (n = 65)									
NA	5	6	10	5	5	10	8	9	7,250
NE	3,36	3,9071	7,9438	3,352	3,3747	5,2033	6,5963	5,8506	4,948
Alelos nulos	Não	sim	não	sim	não	sim	não	sim	-
Ho	0,871	0,586	0,860	0,5	0,780	0,675	0,86	0,689	0,728
He	0,708	0,751	0,882	0,714	0,710	0,818	0,857	0,836	0,784
F_{IS}	-0,24	0,212	0,017	0,287	-0,108	0,164	-0,014	0,170	0,061
P-HW	0,076 ^{ns}	0,030022 [*]	0,002041 ^{**}	0,048464 [*]	0,766764 ^{ns}	0,000001 ^{**}	0,091697 ^{ns}	0,000001 ^{**}	-

MS-II (n = 73)									
NA	5	7	11	5	4	11	7	8	7,250
NE	3,115	5,0289	7,7754	3,7814	3,8103	7,8794	4,9617	5,8532	5,276
Alelos nulos	Não	sim	não	sim	não	sim	não	não	-
Ho	0,7	0,438	0,817	0,333	0,817	0,755	0,845	0,75	0,682
He	0,684	0,808	0,879	0,744	0,743	0,881	0,805	0,835	0,797
F_{IS}	-0,031	0,454	0,063	0,547	-0,108	0,136	-0,058	0,096	0,137
P-HW	0,629 ^{ns}	0,000001**	0,0725 ^{ns}	0,000001**	0,266533 ^{ns}	0,001155**	0,006881**	0,002272**	-

ns: Não significativo; *: Significativo (P<0,05); **: Significativo (P<0,01); N: Número de indivíduos analisados; NA: Número de alelos; NE: Número efetivo de alelos; Ho: Heterozigiosidade observada; He: Heterozigiosidade esperada; F_{IS} : Coeficiente de endogamia; P-HW: Teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg.

A população da propriedade MT-III, num total de 65 amostras, foram observadas diferenças significativas ($P < 0,05$) nos *loci* *Pcor05*, *Pcor08*, *Pcor10*, *Ppu04* e *Ppu10*, sendo observada também uma deficiência de heterozigosidade revelada pelos valores de F_{IS} positivos que variaram entre o mínimo de 0,017 e o máximo de 0,287.

Num total médio de 7,25 alelos analisados na população MS-II, foi evidenciada uma deficiência de alelos com valores de 0,4539, 0,5468, 0,1356 e 0,0955, respectivamente, para *loci* *Pcor05*, *Pcor10*, *Ppu04* e *Ppu10*.

Pode-se atribuir a diversos fatores o desvio do equilíbrio de Hardy Weinberg (EHW) nas cinco populações do referente experimento, dentre os quais se destacam a deficiência de heterozigotos por consequência da interação de diversos fatores, a exemplo o alto número de alelos por *locus*, presença de alelos nulos, endogamia e, efeito Wahlund (Romana-Eguia et al., 2005; Povh et al., 2011; Rodriguez-Rodriguez et al., 2013).

A partir dos resultados observados na Tabela 4, no qual se definiram dez grupos analisados no modelo de delineamento contra todos por meio de Análise de Variância Molecular – Amova, pode-se verificar no grupo constituído pelas cinco populações que houve maior variabilidade dentro das populações com valores de variação de porcentagem de 98,53% ($F_{ST} = 0,0147$) do que em entre as populações em que se obteve 1,47 % com significância de $P < 0,000001$.

A diferenciação genética em peixes é comumente evidenciada, porém com baixos valores de F_{ST} , possivelmente pela grande abundância destes estoques em ambientes naturais que geralmente possuem alta cosmopolitalidade e que *a priori* não possuem barreiras ao fluxo gênico, conforme salientado por Benites (2008) e justificado por diversos autores (Hatanaka et al., 2006; Barbosa et al., 2008; Carvalho-Costa et al., 2008).

Em todas as combinações dos grupos analisados verificou-se também maior variabilidade genética dentro dos grupos do que entre os grupos, em que a variação de porcentagem nos valores foi acima de 96,02% (Tabela 4). Estes resultados podem ser corroborados também a partir dos valores de distância genética (Tabela 4) e comprovados pelo dendograma das populações (Figura 1). Foi evidenciada uma distância genética mínima de 0,0235 no grupo II (MT-I x MS-I) e máxima de 0,1936 no grupo VIII (MS-I x MT-III).

Tabela 4. Análise de variância molecular (Amova) distância genética (DG) e F_{ST} , dos indivíduos oriundos das cinco populações analisadas, provenientes do projeto de melhoramento de espécies aquícolas.

Fonte de variação	Grau de liberdade	Soma dos quadrados	Componente de variância	Porcentagem de variação	F_{ST}	DG
Todas as populações						
Entre populações	4	24,883	0,04727	1,46992*		
Dentro das populações	417	1056,739	3,16858	98,53008	0,0147	
Total	421	1081,623	3,21585	100		
Grupo I: MT-I x MT-II						
Entre populações	1	0,642	0,00642	1,65		
Dentro das populações	84	32,230	0,38369	98,35	0,01646	0,0437
Total	85	32,872	0,39012	100		
Grupo II: MT-I x MS-I						
Entre populações	1	0,339	-0,00032	-0,09		
Dentro das populações	90	31,6994	0,35215	100,09	-0,0009	0,1315
Total	91	32,033	0,35183	100		
Grupo III: MT-I x MT-III						
Entre populações	1	0,299	-0,00071	-0,21		
Dentro das populações	160	53,695	0,33559	100,21	-0,0021	0,0235
Total	161	53,994	0,33488	100		
Grupo IV: MT-I x MS-II						
Entre populações	1	1,240	0,01064	1,54		
Dentro das populações	176	120,007	0,68186	98,46	0,01536	0,0819
Total	177	121,247	0,69250	100		
Grupo V: MT-II x MS-I						
Entre populações	1	7,211	0,09037	2,79352*		
Dentro das populações	112	267,773	3,14456	97,20648	0,02794	0,1575
Total	113	274,984	3,23493	100		
Grupo VI: MT-II x MT-III						
Entre populações	1	0,833	0,00648	1,88*		
Dentro das populações	182	61,613	0,33853	98,12	0,01879	0,0359
Total	183	62,446	0,34501	100		
Grupo VII: MT-II x MS-II						
Entre populações	1	0,659	-0,00008	-0,01		
Dentro das populações	198	131,636	0,66483	100,01	-0,0001	0,0866
Total	199	132,295	0,66475	100		
Grupo VIII: MS-I x MT-III						
Entre populações	1	11,604	0,12989	3,97451*		
Dentro das populações	188	465,505	3,13819	96,02549	0,03975	0,1936
Total	189	477,505	3,26808	100		
Grupo IX: MS-I x MS-II						
Entre populações	1	0,743	0,00462	1,31		
Dentro das populações	204	71,282	0,34942	98,69	0,01306	0,061
Total	205	72,024	0,35404	100		
Grupo X: MT-III x MS-II						
Entre populações	1	1,031	0,00519	1,6*		
Dentro das populações	274	87,114	0,31793	98,4	0,01605	0,0917
Total	275	88,145	0,32312	100		

F_{ST} : Índice de fixação; Amova: Análise de Variância Molecular; *: Significativo ($P < 0,05$)

Os resultados obtidos de identidade e distância genética, baseado no cálculo de Nei (1973), inferem-se que há forte evidência da existência de grupos de populações, dentro dos quais as populações são geneticamente mais relacionadas. Assim, visualiza-

se uma subdivisão dos animais em grupos das populações MT-I e MT-III, uma subdivisão somente com o grupo MT-II e, uma subdivisão com os grupos MS-I e MS-II. A identidade genética para os grupos da subdivisão MT-I/MT-III foi de 0,9768 com uma distância genética pequena de 0,0235. Paralelamente, os grupos genéticos da subdivisão MS-I/MS-II possuem uma identidade genética de 0,9408 e moderada distância genética de 0,0610. A maior divergência observada em todas as populações foi observada entre os animais oriundos da população MT-III e MS-I de 0,1936.

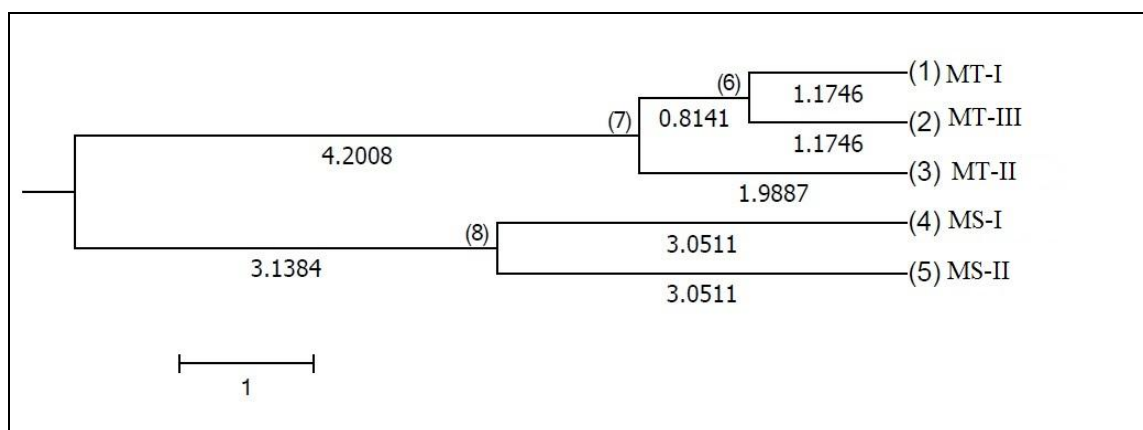


Figura 1. Dendrograma das cinco populações analisadas provenientes do projeto de melhoramento de espécies aquícolas.

É de suma importância a caracterização e manutenção da variabilidade genética entre as populações nas quais estão inseridas no programa de melhoramento genético. Animais que compõem a geração parental destas cinco populações foram capturados de diferentes sub-bacias do rio Paraguai e realizadas análises genéticas previamente para assegurar a variabilidade e divergência genética necessárias para dar-se-á o início do programa de melhoramento genético de *Pseudoplatystoma reticulatum*. Comprovando assim, pelos resultados obtidos por meio da diferenciação e distância genética das cinco populações, nos quais estão subdivididas em dois principais grupos, compostos por dois e três subpopulações (Figura 1).

Estes resultados darão suporte e servem de indicativos para estratégias de seleção de animais do programa de melhoramento genético. Para conservar o número de famílias ao longo das gerações e manter a variabilidade genética, evitando assim a endogamia, estes dados servem de subsídio na realização de cruzamentos entre famílias do mesmo subgrupo (MT-I, II e II) e (MS-I e II) ou mesmo, nos cruzamentos entre os dois subgrupos, conforme descritos na Figura 1.

Os animais inseridos no mesmo grupo genético devem ser considerados para composição de uma base genética restrita e, na análise de seleção para que futuros cruzamentos entre animais aparentados possam manter a variabilidade genética, gerando incremento das características de interesse zootécnico para as próximas gerações de animais geneticamente superiores, conforme enfatizado por diversos trabalhos (Romana-Eguia et al., 2005; Machado-Schiaffino et al., 2007; Horreo et al., 2008; Ponzoni et al., 2010; Briñez et al., 2011; Ponzoni et al., 2011).

A partir dos dados obtidos, podem-se realizar seleções direcionadas para a conservação da variabilidade genética de *Pseudoplatystoma reticulatum* das famílias dos grupos genéticos do programa de melhoramento genético, tendo como possível estratégia o acasalamento entre indivíduos dos dois subgrupos ou entre as populações analisadas.

Finalmente, considera-se que os marcadores moleculares microssatélites podem atuar na tomada de decisões em monitoramento da variabilidade genética das populações em programas de melhoramento genético, auxiliando a manutenção de níveis baixos de endogamia, considera-se uma ferramenta de biologia molecular viável na aquicultura.

Conclusões

As cinco populações estudadas são distintas entre si, e formam dois grupos genéticos compostos por três e duas subpopulações respectivamente.

Referências

ABREU, M.M.; PEREIRA, L.H.; VILA, V.B.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. Genetic variability of two populations of *Pseudoplatystoma reticulatum* from the Upper Paraguai River Basin. **Genetic and Molecular Biology**, v.32, p.868-873, 2009.

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

BASSAM, B.J.; CAETANO-ANOLLÉS, G.; GRESSHOFF, P.M. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, v.196, p.80-83, 1991.

- BENITES, C. **Caracterização genética do pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* (Siluriformes: Pimelodidade) da Bacia hidrográfica Paraná-Paraguai, por marcadores moleculares tipo microssatélite.** 2008. 90p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- BRIÑEZ, R.B.; CARABALLO, O.X.; SALAZAR, V.M. Genetic diversity of six populations of red hybrid tilapia, using microsatellites genetic markers. **Revista MVZ Córdoba**, v.16, p.2491-2498, 2011.
- CARVALHO-COSTA, L.F.; HATANAKA, T.; GALLETI JR., P.M. Evidence of lack of population substructuring in the Brazilian freshwater fish *Prochilodus costatus*. **Genetics and Molecular Biology**, v.31, p.377-380, 2008.
- CREPALDI, D.V.; FARIA, P.M.C.; TEIXEIRA, E.A.; RIBEIRO, L.; COSTA, A.A.; MELO, D.C.; CINTRA, A.P.R.; PRADO, S.A.; COSTA, F.A.A.; DRUMOND, M.L.; LOPES, V.E.; MORAES, V.E. O surubim na aquicultura do Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.30, p.150-158, 2006.
- CRISTIAKOV, D.A.; HELLEMANS, B.; VOLCKAERT, F.A.M. Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. **Aquaculture**, v.255, p.1-29, 2006.
- DAKIN, E.E.; AVISE, J.C. Microsatellite null alleles in parentage analysis. **Hereditary**, v.93, p.504-509, 2004.
- DEWOODY, J.A.; AVISE, J.C. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. **Journal of Fish Biology**, v.56, p.461-473, 2000.
- EXCOFFIER, L.G.; SCHNEIDER, S. Arlequin version. 3.0 an integrated softwarpackage for population genetics data analysis. **Evolutionary Bioinformatics Online**, v.1, p. 47-50, 2005.
- HATANAKA, T.; HENRIQUE-SILVA, F.; GALETTI JR., P.M. Population substructuring in a migratory freshwater fish *Prochilodus argentus* (Characiformes, Prochilodontidae) from the São Francisco River. **Genetica**, v.126, p.153-159, 2006.
- HILSDORF, A.W.S.; ORFÃO, L.H. Aspectos gerais do melhoramento genético em peixes no Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.317-324, 2011.
- HORREO, J.L.; MACHADO-SCHIAFFINO, G.; GRIFFITHS, A.; BRIGHT, D.; STEVENS, J.; GARCIA-VARQUEZ, E. Identification of differential broodstock contribution affecting genetic variability in hatchery stocks of Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**, v.280, p.89-93, 2008.
- IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Estatística da pesca no Brasil: grandes regiões e unidades da federação.** Brasília, DF: Ibama, 2007. 174 p.

INOUE, L.A.K.A.; HISANO, H.; ISHIKAWA, M.M.; ROTTA, M.A.; SENHORINI, J.A. **Princípios básicos para a produção de alevinos de surubins (Pintado e Cachara)**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental; Corumbá: Embrapa Pantanal, 2009. 26p.

KORDICHEVA, S.Y.; RUBTSOVA, G.A.; SHITOVA, M.A.; SHAIKHAEV, G.O.; AFANASIEV, K.I.; ZHIVOTOVSKY, L.A. A search for null alleles at the microsatellite locus of chum salmon (*Oncorhynchus keta* Walbaum). **Russian Journal of Genetics**, v.46, p.1019-1022, 2010.

LIND, C.E.; PONZONI, R.W.; NGUYEN, N.H.; KHAW, H.L. Selective breeding in fish and conservation of genetic resources for aquaculture. **Reproduction in Domestic Animals**, v.47, p.255-263, 2012.

LOPERA-BARRERO, N.M.; POVH, J.A.; FORNARI, D.C.; RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, M.P.; SANTOS, S.C.A.; RIBEIRO, R.P. Genetic diversity of *Prochilodus lineatus* stocks using in the stocking program of Tietê River, Brazil. **Revista MVZ Córdoba**, v.18, n.13, p.3759-3766, 2013.

LOPERA-BARRERO, N.M.; POVH, J.A.; RIBEIRO, R.P.; GOMES, P.C.; JACOMETO, C.B.; LOPES, T.S. Comparación de protocolos de extracción de ADN com muestras de aleta y larva de peces: extracción modificada con sal (NaCl). **Ciencia e Investigación Agraria**, v.35, n.1, p.15-24, 2008.

LOPERA-BARRERO, N.M.; RIBEIRO, R.P.; VARGAS, L.; POVH, J.A.; LOPES, T.S.; OLIVEIRA, S.N.; GOMES, P.C. Diversidad genética de *Piaractus mesopotamicus* utilizado em programas de repoblación. **Archivos de Zootecnia**, v.59, p.51-62, 2010.

MACHADO-SCHIAFFINO, G.; DOPICO, E.; GACIA-VAZQUEZ, E. Genetic variation losses in Atlantic salmon stocks created for supportive breeding. **Aquaculture**, v.624, p.59-65, 2007.

MELO, D.C.; OLIVEIRA, D.A.A.; RIBEIRO, L.P.; TEIXEIRA, C.S.; SOUZA, A.B. COELHO, E.G.A.; CREPALDI, D.V.; TEIXEIRA, E.A. Caracterização genética de seis plantéis comerciais de tilápia (*Oreochromis niloticus*) utilizando marcadores moleculares microssatélites. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, p.87-83, 2006.

MOREIRA, A.A.; HISDORF, A.W.S.; SILVA, J.V.; SOUZA, V.R. Variabilidade genética de duas variedades de tilápia nilótica por meio de marcadores microssatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, p.521-526, 2007.

NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proceedings of the National Academy of Science**, v.70, p.3321-3323, 1973.

PONZONI, R.W.; NGUYEN, N.H.; KHAW, H.L.; HAMZAH, A.; BAKAR, K.R.A.; YEE, H.Y. Genetic improvement of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) with special reference to the work conducted by the WorldFish Center with the GIFT strain. **Aquaculture**, v.3, p.27-41, 2011.

POVH, J.A.; RIBEIRO, R.P.; SIROL, R.N.; STREIT JR., D.P.; MOREIRA, H.L.M.; SIEWERDT, F.; LOPERA-BARRERO, N.M.; MANGOLIN, C.A.; VARGAS, L. Microsatellite analysis of the parental contribution of *Piaractus mesopotamicus* to the production of offspring in the semi-natural system of reproduction. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.53, p.389-396, 2010.

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

REID, S. La biología de los bagres rayados *Pseudoplatystoma fasciatum* y *P.tigrinus* en la cuenca del Rio Apure, Venezuela. **Revista UNELLEZ de Ciencia y Tecnología**, v.1, p.13-41, 1983.

RESENDE, E.K.; OLIVEIRA, C.A.L.; LEGAT, A.P.; RIBEIRO, R.P. Melhoramento animal no Brasil: uma visão crítica espécies aquáticas. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO ANIMAL, 8., 2010., Maringá. **Anais...** Maringá: UEM, 2010. 1 CD-ROM.

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

RIBEIRO, R.P.; LEGAT, A.P. **Delineamento de programas de melhoramento genético de espécies aquícolas no Brasil**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2008. 25p.

RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, M.P.; LOPERA-BARRERO, N.M.; VARGAS, L.; ALBUQUERQUE, D.M.; GOES, E.S.R.; PRADO, O.P.P.; RIBEIRO, R.P. Caracterização genética de gerações de tilápia Gift por meio de marcadores moleculares microssatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, p.1385-1393, 2013.

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

SAULO-MACHADO, A.C.; FORMIGA, K.M.; ORTIZ, M.F.; SOUSA, A.C.B.; ALVES-GOMES, J.A.; BATISTA, J.S. Polymorphic microsatellite DNA markers for the Amazonian catfish *Pseudoplatystoma punctifer* (Siluriformes: Pimelodidae). **Conservation Genetic Resources**, v.3, p.307-310, 2011.

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.

YEH, F.C.; BOYLE, T.Y.Z.; XIYAN, J.M. **PopGene Version 131**: Microsoft Window-based freeware for population genetic analysis. Alberta: University of Alberta and Center for International Forestry Research, 1999. 29p.

IV – ANEXO

ANEXO A – Normas da Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira



Submissões

- » Submissões Online
- » Diretrizes para Autores
- » Política de Privacidade

Submissões Online

Já possui um login/senha de acesso à revista Pesquisa Agropecuária Brasileira?

Acesso

Não tem login/senha?

Acesse a página de cadastro

O cadastro no sistema e posterior acesso, por meio de login e senha, são obrigatórios para a submissão de trabalhos, bem como para acompanhar o processo editorial em curso.

Diretrizes para Autores

Escopo e política editorial

A revista Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB) é uma publicação mensal da Embrapa, que edita e publica trabalhos técnico-científicos originais, em português, espanhol ou inglês, resultantes de pesquisas de interesse agropecuário. A principal forma de contribuição é o Artigo, mas a PAB também publica Notas Científicas e Revisões a convite do Editor. Análise dos artigos A C omissão Editorial faz a análise dos trabalhos antes de submetê-los à assessoria científica. Nessa análise, consideram-se aspectos como escopo, apresentação do artigo segundo as normas da revista, formulação do objetivo de forma clara, clareza da redação, fundamentação teórica, atualização da revisão da literatura, coerência e precisão da metodologia, resultados com contribuição significativa, discussão dos fatos observados em relação aos descritos na literatura, qualidade das tabelas e figuras, originalidade e consistência das conclusões. Após a aplicação desses critérios, se o número de trabalhos aprovados ultrapassa a capacidade mensal de publicação, é aplicado o critério da relevância relativa, pelo qual são aprovados os trabalhos cuja contribuição para o avanço do conhecimento científico é considerada mais significativa. Esse critério é aplicado somente aos trabalhos que atendem aos requisitos de qualidade para publicação na revista, mas que, em razão do elevado número, não podem ser todos aprovados para publicação.

Os trabalhos rejeitados são devolvidos aos autores e os demais são submetidos à análise de assessores científicos, especialistas da área técnica do artigo.

Forma e preparação de manuscritos

Os trabalhos enviados à PAB devem ser inéditos (não terem dados – tabelas e figuras – publicadas parcial ou integralmente em nenhum outro veículo de divulgação técnico-científica, como boletins institucionais, anais de eventos, comunicados técnicos, notas

científicas etc.) e não podem ter sido encaminhados simultaneamente a outro periódico científico ou técnico. Dados publicados na forma de resumos, com mais de 250 palavras, não devem ser incluídos no trabalho. - São considerados, para publicação, os seguintes tipos de trabalho: Artigos Científicos, Notas Científicas e Artigos de Revisão, este último a convite do Editor.

- Os trabalhos publicados na PAB são agrupados em áreas técnicas, cujas principais são: Entomologia, Fisiologia Vegetal, Fitopatologia, Fitotecnia, Fruticultura, Genética, Microbiologia, Nutrição Mineral, Solos e Zootecnia.

- O texto deve ser digitado no editor de texto Microsoft Word, em espaço duplo, fonte Times New Roman, corpo 12, folha formato A4, com margens de 2,5 cm e com páginas e linhas numeradas. Informações necessárias na submissão on-line de trabalhos

No passo 1 da submissão (Início), em “comentários ao editor”, informar a relevância e o aspecto inédito do trabalho.

No passo 2 da submissão (Transferência do manuscrito), carregar o trabalho completo em arquivo Microsoft Word.

No passo 3 da submissão (Inclusão de metadados), em “resumo da biografia” de cada autor, informar o link do sistema de currículos lattes (ex.: <http://lattes.cnpq.br/0577680271652459>). Clicar em “incluir autor” para inserir todos os coautores do trabalho, na ordem de autoria.

Ainda no passo 3, copiar e colar o título, resumo e termos para indexação (key words) do trabalho nos respectivos campos do sistema.

No passo 4 da submissão (Transferência de documentos suplementares), carregar, no sistema online da revista PAB, um arquivo Word com todas as cartas (mensagens) de concordância dos

coautores coladas conforme as explicações abaixo:

- Colar um e-mail no arquivo word de cada coautor de concordância com o seguinte conteúdo: “Eu, ..., concordo com o conteúdo do trabalho intitulado “.....” e com a submissão para a publicação na revista PAB.

Como fazer:

15/5/2014

Submissões <http://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/about/submissions#authorGuidelines> 2/6 Peça ao coautor que lhe envie um e-mail de concordância, encaminhe-o para o seu próprio e-mail (assim gerará os dados da mensagem original: assunto, data, de e para), marque todo o email e copie e depois cole no arquivo word. Assim, teremos todas as cartas de concordâncias dos coautores num mesmo arquivo.

Organização do Artigo Científico

A ordenação do artigo deve ser feita da seguinte forma:

- Artigos em português - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumo, Termos para indexação, título em inglês, Abstract, Index terms, Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusões, Agradecimentos, Referências, tabelas e figuras.

- Artigos em inglês - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Abstract, Index terms, título em português, Resumo, Termos para indexação, Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, Conclusions, Acknowledgements, References, tables, figures.

- Artigos em espanhol - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumen, Términos para indexación; título em inglês, Abstract, Index terms, Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión, Conclusiones, Agradecimientos, Referencias, cuadros e figuras.

- O título, o resumo e os termos para indexação devem ser vertidos fielmente para o inglês, no caso de artigos redigidos em português e espanhol, e para o português, no caso de artigos redigidos em inglês.
- O artigo científico deve ter, no máximo, 20 páginas, incluindo-se as ilustrações (tabelas e figuras), que devem ser limitadas a seis, sempre que possível.

Título

- Deve representar o conteúdo e o objetivo do trabalho e ter no máximo 15 palavras, incluindo-se os artigos, as preposições e as conjunções.
- Deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.
- Deve ser iniciado com palavras chaves e não com palavras como “efeito” ou “influência”.
- Não deve conter nome científico, exceto de espécies pouco conhecidas; neste caso, apresentar somente o nome binário.
- Não deve conter subtítulo, abreviações, fórmulas e símbolos.
- As palavras do título devem facilitar a recuperação do artigo por índices desenvolvidos por bases de dados que catalogam a literatura.

Nomes dos autores

- Grafar os nomes dos autores com letra inicial maiúscula, por extenso, separados por vírgula; os dois últimos são separados pela conjunção “e”, “y” ou “and”, no caso de artigo em português, espanhol ou em inglês, respectivamente.
- O último sobrenome de cada autor deve ser seguido de um número em algarismo arábico, em forma de expoente, entre parênteses, correspondente à chamada de endereço do autor.

Endereço dos autores

- São apresentados abaixo dos nomes dos autores, o nome e o endereço postal completos da instituição e o endereço eletrônico dos autores, indicados pelo número em algarismo arábico, entre parênteses, em forma de expoente.
- Devem ser agrupados pelo endereço da instituição.
- Os endereços eletrônicos de autores da mesma instituição devem ser separados por vírgula.

Resumo

- O termo Resumo deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda, e separado do texto por travessão.
- Deve conter, no máximo, 200 palavras, incluindo números, preposições, conjunções e artigos.
- Deve ser elaborado em frases curtas e conter o objetivo, o material e os métodos, os resultados e a conclusão.
- Não deve conter citações bibliográficas nem abreviaturas.
- O final do texto deve conter a principal conclusão, com o verbo no presente do indicativo.

Termos para indexação

- A expressão Termos para indexação, seguida de dois-pontos, deve ser grafada em letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Os termos devem ser separados por vírgula e iniciados com letra minúscula.

- Devem ser no mínimo três e no máximo seis, considerando-se que um termo pode possuir duas ou mais palavras.
- Não devem conter palavras que componham o título.
- Devem conter o nome científico (só o nome binário) da espécie estudada.
- Devem, preferencialmente, ser termos contidos no AGROVOC : Multilingual Agricultural Thesaurus ou no Índice de Assuntos da base SciELO .

Introdução

- A palavra Introdução deve ser centralizada e grafada com letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.
- Deve apresentar a justificativa para a realização do trabalho, situar a importância do problema científico a ser solucionado e estabelecer sua relação com outros trabalhos publicados sobre o assunto.
- O último parágrafo deve expressar o objetivo de forma coerente com o descrito no início do Resumo.

Material e Métodos

15/5/2014 Submissões

<http://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/about/submissions#authorGuidelines> 3/6

- A expressão Material e Métodos deve ser centralizada e grafada em negrito; os termos Material e Métodos devem ser grafados com letras minúsculas, exceto as letras iniciais.
- Deve ser organizado, de preferência, em ordem cronológica.
- Deve apresentar a descrição do local, a data e o delineamento do experimento, e indicar os tratamentos, o número de repetições e o tamanho da unidade experimental.
- Deve conter a descrição detalhada dos tratamentos e variáveis.
- Deve-se evitar o uso de abreviações ou as siglas.
- Os materiais e os métodos devem ser descritos de modo que outro pesquisador possa repetir o experimento.
- Devem ser evitados detalhes supérfluos e extensas descrições de técnicas de uso corrente.
- Deve conter informação sobre os métodos estatísticos e as transformações de dados.
- Deve-se evitar o uso de subtítulos; quando indispensáveis, grafá-los em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda da página.

Resultados e Discussão

- A expressão Resultados e Discussão deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Todos os dados apresentados em tabelas ou figuras devem ser discutidos.
- As tabelas e figuras são citadas seqüencialmente.
- Os dados das tabelas e figuras não devem ser repetidos no texto, mas discutidos em relação aos apresentados por outros autores.
- Evitar o uso de nomes de variáveis e tratamentos abreviados.
- Dados não apresentados não podem ser discutidos.
- Não deve conter afirmações que não possam ser sustentadas pelos dados obtidos no próprio trabalho ou por outros trabalhos citados.
- As chamadas às tabelas ou às figuras devem ser feitas no final da primeira oração do texto em questão; se as demais sentenças do parágrafo referirem-se à mesma tabela ou figura, não é necessária nova chamada.
- Não apresentar os mesmos dados em tabelas e em figuras.

- As novas descobertas devem ser confrontadas com o conhecimento anteriormente obtido.

Conclusões

- O termo Conclusões deve ser centralizado e grafado em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Devem ser apresentadas em frases curtas, sem comentários adicionais, com o verbo no presente do indicativo.
- Devem ser elaboradas com base no objetivo do trabalho.
- Não podem consistir no resumo dos resultados.
- Devem apresentar as novas descobertas da pesquisa.
- Devem ser numeradas e no máximo cinco.

Agradecimentos

- A palavra Agradecimentos deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Devem ser breves e diretos, iniciando-se com “Ao, Aos, À ou Às” (pessoas ou instituições).
- Devem conter o motivo do agradecimento.

Referências

- A palavra *Referências* deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Devem ser de fontes atuais e de periódicos: pelo menos 70% das referências devem ser dos últimos 10 anos e 70% de artigos de periódicos.
- Devem ser normalizadas de acordo com a NBR 6023 da ABNT, com as adaptações descritas a seguir.
- Devem ser apresentadas em ordem alfabética dos nomes dos autores, separados por ponto-evírgula, sem numeração.
- Devem apresentar os nomes de todos os autores da obra.
- Devem conter os títulos das obras ou dos periódicos grafados em negrito.
- Devem conter somente a obra consultada, no caso de citação de citação.
- Todas as referências devem registrar uma data de publicação, mesmo que aproximada.
- Devem ser trinta, no máximo.

Exemplos:

- Artigos de Anais de Eventos (aceitos apenas trabalhos completos)

AHRENS, S. A fauna silvestre e o manejo sustentável de ecossistemas florestais. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERIC ANO SOBRE MANEJO FLORESTAL, 3., 2004, Santa Maria. Anais.Santa Maria: UFSM, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, 2004. p.153-162.

- Artigos de periódicos

SANTOS, M.A. dos; NIC OLÁS, M.F.; HUNGRIA, M. Identificação de QTL associados à simbiose entre *Bradyrhizobium japonicum*, *B. elkanii* e soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.41, p.67-75, 2006.

- Capítulos de livros

AZEVEDO, D.M.P. de; NÓBREGA, L.B. da; LIMA, E.F.; BATISTA, F.A.S.; BELTRÃO, N.E. de M. Manejo cultural. In: AZEVEDO, D.M.P.; LIMA, E.F. (Ed.). O agronegócio da mamona no Brasil. Campina Grande: Embrapa Algodão; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p.121-160.

- Livros

OTSUBO, A.A.; LORENZI, J.O. Cultivo da mandioca na Região Centro-Sul do Brasil. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 116p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Sistemas de produção, 6).

- Teses

HAMADA, E. Desenvolvimento fenológico do trigo (cultivar IAC 24 - Tucuruí), comportamento espectral e utilização de imagens NOAA-AVHRR. 2000. 152p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

- Fontes eletrônicas

EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE. Avaliação dos impactos econômicos, sociais e ambientais da pesquisa da Embrapa Agropecuária Oeste: relatório do ano de 2003. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2004. 97p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 66). Disponível em: .Acesso em: 18 abr. 2006.

Citações

Não são aceitas citações de resumos, comunicação pessoal, documentos no prelo ou qualquer outra fonte, cujos dados não tenham sido publicados. - A autocitação deve ser evitada. - Devem ser normalizadas de acordo com a NBR 10520 da ABNT, com as adaptações descritas a seguir.

- Redação das citações dentro de parênteses

- Citação com um autor: sobrenome grafado com a primeira letra maiúscula, seguido de vírgula e ano de publicação.

- Citação com dois autores: sobrenomes grafados com a primeira letra maiúscula, separados pelo "e" comercial (&), seguidos de vírgula e ano de publicação.

- Citação com mais de dois autores: sobrenome do primeiro autor grafado com a primeira letra maiúscula, seguido da expressão et al., em fonte normal, vírgula e ano de publicação.

- Citação de mais de uma obra: deve obedecer à ordem cronológica e em seguida à ordem alfabética dos autores.

- Citação de mais de uma obra dos mesmos autores: os nomes destes não devem ser repetidos; colocar os anos de publicação separados por vírgula.

- Citação de citação: sobrenome do autor e ano de publicação do documento original, seguido da expressão “citado por” e da citação da obra consultada.

- Deve ser evitada a citação de citação, pois há risco de erro de interpretação; no caso de uso de citação de citação, somente a obra consultada deve constar da lista de referências.

Redação das citações fora de parênteses

- Citações com os nomes dos autores incluídos na sentença: seguem as orientações anteriores, com os anos de publicação entre parênteses; são separadas por vírgula.

Fórmulas, expressões e equações matemáticas

- Devem ser iniciadas à margem esquerda da página e apresentar tamanho padronizado da fonte Times New Roman.

- Não devem apresentar letras em itálico ou negrito, à exceção de símbolos escritos convencionalmente em itálico.

Tabelas

- As tabelas devem ser numeradas seqüencialmente, com algarismo arábico, e apresentadas em folhas separadas, no final do texto, após as referências.

- Devem ser auto-explicativas.

- Seus elementos essenciais são: título, cabeçalho, corpo (colunas e linhas) e coluna indicadora dos tratamentos ou das variáveis.
- Os elementos complementares são: notas-de-rodapé e fontes bibliográficas.
- O título, com ponto no final, deve ser precedido da palavra Tabela, em negrito; deve ser claro, conciso e completo; deve incluir o nome (vulgar ou científico) da espécie e das variáveis dependentes.
- No cabeçalho, os nomes das variáveis que representam o conteúdo de cada coluna devem ser grafados por extenso; se isso não for possível, explicar o significado das abreviaturas no título ou nas notas-de-rodapé.
- Todas as unidades de medida devem ser apresentadas segundo o Sistema Internacional de Unidades.
- Nas colunas de dados, os valores numéricos devem ser alinhados pelo último algarismo.
- Nenhuma célula (cruzamento de linha com coluna) deve ficar vazia no corpo da tabela; dados não apresentados devem ser representados por hífen, com uma nota-de-rodapé explicativa.
- Na comparação de médias de tratamentos são utilizadas, no corpo da tabela, na coluna ou na linha, à direita do dado, letras minúsculas ou maiúsculas, com a indicação em nota-de-rodapé do teste utilizado e a probabilidade.
- Devem ser usados fios horizontais para separar o cabeçalho do título, e do corpo; usá-los ainda na base da tabela, para separar o conteúdo dos elementos complementares. Fios horizontais adicionais podem ser usados dentro do cabeçalho e do corpo; não usar fios verticais.
- As tabelas devem ser editadas em arquivo Word, usando os recursos do menu Tabela; não fazer espaçamento utilizando a barra de espaço do teclado, mas o recurso recuo do menu Formatar Parágrafo.

- Notas de rodapé das tabelas

- Notas de fonte: indicam a origem dos dados que constam da tabela; as fontes devem constar nas referências.
- Notas de chamada: são informações de caráter específico sobre partes da tabela, para conceituar dados. São indicadas em algarismo arábico, na forma de expoente, entre parênteses, à direita da palavra ou do número, no título, no cabeçalho, no corpo ou na coluna indicadora. São apresentadas de forma contínua, sem mudança de linha, separadas por ponto.
- Para indicação de significância estatística, são utilizadas, no corpo da tabela, na forma de expoente, à direita do dado, as chamadas ns (não-significativo); * e ** (significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente).

Figuras

- São consideradas figuras: gráficos, desenhos, mapas e fotografias usados para ilustrar o texto.
- Só devem acompanhar o texto quando forem absolutamente necessárias à documentação dos fatos descritos.
- O título da figura, sem negrito, deve ser precedido da palavra Figura, do número em algarismo arábico, e do ponto, em negrito.
- Devem ser auto-explicativas.
- A legenda (chave das convenções adotadas) deve ser incluída no corpo da figura, no título, ou entre a figura e o título.

- Nos gráficos, as designações das variáveis dos eixos X e Y devem ter iniciais maiúsculas, e devem ser seguidas das unidades entre parênteses.
- Figuras não-originais devem conter, após o título, a fonte de onde foram extraídas; as fontes devem ser referenciadas.
- O crédito para o autor de fotografias é obrigatório, como também é obrigatório o crédito para o autor de desenhos e gráficos que tenham exigido ação criativa em sua elaboração. - As unidades, a fonte (Times New Roman) e o corpo das letras em todas as figuras devem ser padronizados.
- Os pontos das curvas devem ser representados por marcadores contrastantes, como: círculo, quadrado, triângulo ou losango (cheios ou vazios).
- Os números que representam as grandezas e respectivas marcas devem ficar fora do quadrante.
- As curvas devem ser identificadas na própria figura, evitando o excesso de informações que comprometa o entendimento do gráfico.
- Devem ser elaboradas de forma a apresentar qualidade necessária à boa reprodução gráfica e medir 8,5 ou 17,5 cm de largura.
- Devem ser gravadas nos programas Word, Excel ou Corel Draw, para possibilitar a edição em possíveis correções.
- Usar fios com, no mínimo, 3/4 ponto de espessura.
- No caso de gráfico de barras e colunas, usar escala de cinza (exemplo: 0, 25, 50, 75 e 100%, para cinco variáveis).
- Não usar negrito nas figuras.
- As figuras na forma de fotografias devem ter resolução de, no mínimo, 300 dpi e ser gravadas em arquivos extensão TIF, separados do arquivo do texto.
- Evitar usar cores nas figuras; as fotografias, porém, podem ser coloridas.

Notas Científicas

- Notas científicas são breves comunicações, cuja publicação imediata é justificada, por se tratar de fato inédito de importância, mas com volume insuficiente para constituir um artigo científico completo.

Apresentação de Notas Científicas

- A ordenação da Nota Científica deve ser feita da seguinte forma: título, autoria (com as chamadas para endereço dos autores), Resumo, Termos para indexação, título em inglês, Abstract, Index terms, texto propriamente dito (incluindo introdução, material e métodos, resultados e discussão, e conclusão, sem divisão), Referências, tabelas e figuras.
- As normas de apresentação da Nota Científica são as mesmas do Artigo Científico, exceto nos seguintes casos:
- Resumo com 100 palavras, no máximo.
- Deve ter apenas oito páginas, incluindo-se tabelas e figuras.
- Deve apresentar, no máximo, 15 referências e duas ilustrações (tabelas e figuras).

Outras informações

- Não há cobrança de taxa de publicação.
- Os manuscritos aprovados para publicação são revisados por no mínimo dois especialistas.
- O editor e a assessoria científica reservam-se o direito de solicitar modificações nos artigos e de decidir sobre a sua publicação.

- São de exclusiva responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos.

- Os trabalhos aceitos não podem ser reproduzidos, mesmo parcialmente, sem o consentimento expresso do editor da PAB.

Contatos com a secretaria da revista podem ser feitos por telefone: (61)3448-4231 e 3273-9616, fax: (61)3340-5483, via e-mail: pab@sct.embrapa.br ou pelos correios:

Embrapa Informação Tecnológica Pesquisa Agropecuária Brasileira – PAB

Caixa Postal 040315 CEP 70770 901 Brasília, DF

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da

submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. O manuscrito deve ser inédito e não pode ter sido submetido, simultaneamente, a outro

periódico, e seus dados (tabelas e figuras) não podem ter sido publicados parcial ou totalmente em outros meio de publicação técnicos ou científicos (boletins institucionais, anais de eventos, comunicados técnicos, notas científicas, etc.).

2. O texto deve ser submetido no formato do Microsoft Word, em espaço duplo, escrito na fonte Times New Roman 12, tamanho de papel A4, com páginas e linhas numeradas; e o arquivo não deve ultrapassar o tamanho de 20 MB.

3. O artigo deve ter, no máximo, 20 páginas e tem que estar organizado na seguinte ordem: Título; nome completo dos autores, seguido de endereço institucional e eletrônico; Resumo; Termos para indexação; Title, Abstract; Index terms; Introdução; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusões; Agradecimentos; Referências; tabelas e figuras.

4. Os padrões de texto e de referências bibliográficas devem ser apresentados de acordo com as orientações, para a apresentação de manuscritos, estabelecidas nas Diretrizes aos autores, as quais se encontram na página web da revista PAB.

5. Mensagens de concordância dos coautores com o conteúdo do manuscrito e sua submissão à revista devem ser compiladas pelo autor correspondente em um arquivo do Microsoft Word e carregadas no sistema como um documento suplementar, no quarto passo do processo de submissão.

6. Diante do grande número de trabalhos recebidos para publicação (média de 110 por mês), solicitamos sua concordância com os seguintes procedimentos adotados pela revista PAB: Os trabalhos são analisados pela Comissão Editorial, antes de serem submetidos à assessoria científica. Nessa análise, consideram-se os seguintes aspectos, entre outros: escopo, apresentação do artigo segundo as normas da revista; formulação do objetivo de forma clara; clareza da redação; fundamentação teórica; atualização da revisão da literatura; coerência e precisão da metodologia; discussão dos fatos observados em relação aos descritos na literatura; resultados com contribuição significativa; qualidade das tabelas e figuras; e, finalmente, originalidade e consistência das conclusões. Após a aplicação desses critérios, caso o número de trabalhos aprovados ultrapasse a capacidade de publicação mensal, é aplicado o critério da relevância relativa. Segundo esse critério, os trabalhos com contribuição mais significativa para o avanço do conhecimento científico são aprovados. Esse critério é aplicado apenas aos trabalhos que atendam aos requisitos de qualidade, mas que, por excederem a capacidade de publicação mensal da revista, não podem ser todos aprovados. Por esse mesmo motivo, informamos que não aceitamos pedido de reconsideração.

Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.

Embrapa Informação Tecnológica

Parque Estação Biológica - PqEB - Av. W3 Norte (final) Caixa Postal 040315 - Brasília, DF - Brasil - 70770-901 Fone: +55 (61) 3448-4231 / 3448-4162 - Fax: (61) 3272-4168