

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

DIVERSIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES
NATURAIS DE *Brycon falcatus* (MULLER E TROSCHER,
1844) NAS BACIAS DOS RIOS ARAGUAIA
E GUAPORÉ, MATO GROSSO, BRASIL

Autora: Márcia Matos de Abreu
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro

MARINGÁ
Estado do Paraná
julho – 2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

DIVERSIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES
NATURAIS DE *Brycon falcatus* (MULLER E TROSCHER,
1844) NAS BACIAS DOS RIOS ARAGUAIA
E GUAPORÉ, MATO GROSSO, BRASIL

Autora: Márcia Matos de Abreu
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro

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
julho – 2014

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

A162e	<p>Abreu, Márcia Matos de Diversidade genética de populações naturais de <i>Brycon falcatus</i> (Muller e Troschel, 1844) nas bacias dos Rios Araguaia e Guaporé, Mato Grosso, Brasil / Márcia Matos de Abreu. - Maringá, 2014. 32 f. : il. color.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro. Tese (doutorado)- Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2014.</p> <p>1. Genética - peixes. 2. Peixes - Rios Araguaia e Guaporé, Rio - Bacia - Brasil. 3. Peixes - Variedades genéticas 4. Peixes - Estruturação genética. I. Ribeiro, Ricardo Pereira, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.</p>
CDD 21. ed. 639.309817	



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**DIVERSIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES
NATURAIS DE *Brycon falcatus* (MULLER E TROSCHEL,
1844) NAS BACIAS DOS RIOS ARAGUAIA
E GUAPORÉ, MATO GROSSO, BRASIL**

Autora: Márcia Matos de Abreu
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro

TITULAÇÃO: Doutora em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

APROVADA em 29 de julho de 2014.

Prof. Dr. Lauro Daniel
Vargas Mendez

Prof. Dr. Carlos Antonio
Lopes de Oliveira

Prof. Dr. Jayme Aparecido Povh

Dr. Luiz Alexandre Filho

Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro
(Orientador)

“Sim, todo amor é sagrado
E o fruto do trabalho
É mais que sagrado, meu amor.”

Milton Nascimento (Amor de Índio)

DEDICO...

A minha família, cujo apoio, carinho e incentivo
possibilitaram a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Quero expressar meus sinceros agradecimentos as instituições e pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho. Minha eterna gratidão;

a Universidade Estadual de Maringá (UEM) e ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia (PPZ);

a Universidade do Estado de Mato Grosso (Unemat) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso (Fapemat);

ao prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro, pela orientação e pela confiança em meu trabalho. Muito obrigada, professor.

ao prof. Dr Nelson Mauricio Loprera-Barrero, pela grande contribuição dada e que foi extremamente importante para a realização desta pesquisa. Muito obrigada, Nelson;

aos pescadores profissional e amador de Barra do Garças e Vila Bela da Santíssima Trindade, pelo material cedido para a pesquisa;

a Maria Olinda, e todos da sua casa, obrigada por me receber quando precisei de abrigo durante as coletas de Nova Xavantina;

aos amigos, Sandra, Nando, Rubão, pela atenção, carinho nas coletas de Barra do Garças;

a Neide e Cabral, obrigada por me receber, quando precisei de abrigo durante as coletas de Barra do Garças;

a Carla e Marcelo Balão, pela atenção, carinho, por me receber quando precisei de abrigo durante as coletas do Guaporé;

a técnica do laboratório PeixeGen, Dilma, por todo auxílio no laboratório e pelo convívio carinhoso desses anos;

a Elenice, por não ter desistido de amplificar a população do rio Verde. Valeu!

a Pilar, pelas ajudas na amplificação, análise dos géis e viagens a Londrina;

a Herena, meus sinceros agradecimentos por toda ajuda, conversas, conselhos, e por ouvir os desabafos nos momentos difíceis;

aos novos amigos que fiz nesse período em Maringá, Aline e Daniele.

BIOGRAFIA

MÁRCIA MATOS DE ABREU, filha de Eva Matos de Abreu e Raimundo Nonato de Abreu Sobrinho, nasceu na cidade de Rondonópolis, Mato Grosso, em 26 de dezembro de 1964, é solteira.

Em outubro de 1987, ingressou no Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas oferecido pela Universidade Federal de Mato Grosso - UFMT, no campus universitário de Cuiabá, e foi graduada em abril de 1992, obtendo o título de Licenciada em Ciências Biológicas.

Em agosto de 1993, iniciou sua atividade profissional como docente interina da Universidade do Estado de Mato Grosso - Unemat, atuando nesta junto ao curso de Licenciatura em Ciências Biológicas.

Em maio de 1996, tomou posse do cargo de professor da educação superior, na área de Biologia Geral, Universidade do Estado de Mato Grosso – Unemat.

Em agosto de 2008, conclui o curso de Mestrado em Ciências Ambientais, na área de concentração em “Meio Ambiente e Sustentabilidade” ofertado pela Unemat, com sede em Cáceres.

Em agosto de 2010, por meio do convênio de parceria firmado com a Unemat e o Programa de Pós-graduação em Zootecnia (PPZ-UEM), ingressou no curso de Doutorado em Zootecnia da UEM, na área de concentração em Produção Animal, sob orientação do Dr. Ricardo Pereira Ribeiro.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
RESUMO	xi
ABSTRACT	xiii
I – INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1 Bacia Tocantins-Araguaia e Guaporé	2
1.2 Subfamília Bryconinae	4
1.3 <i>Brycon falcatus</i>	5
1.4 Uso de marcadores moleculares	6
Referências	9
II– OBJETIVOS GERAIS	13
III –DIVERSIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES NATURAIS DE <i>Brycon falcatus</i> (MULLER E TROSCHER, 1844) NA BACIA DO RIO ARAGUAIA E DA BACIA DO RIO GUAPORÉ, MATO GROSSO, BRASIL	14
Resumo	14
Abstract	15
Introdução	16
Material e métodos	17
Resultados	20
<i>Análises intrapopulacionais e variação dos microssatélites</i>	20
<i>Análises interpopulacionais</i>	24

Discussão	25
<i>Análises interpopulacionais</i>	26
Agradecimentos	28
Referências	28
IV – CONSIDERAÇÕES FINAIS	32

LISTA DE TABELAS

	Página
III – DIVERSIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES NATURAIS DE <i>Brycon falcatus</i> (MULLER E TROSCHER, 1844) NA BACIA DO RIO ARAGUAIA E DA BACIA DO RIO GUAPORÉ, MATO GROSSO, BRASIL	
Tabela 1	18
Amostras de <i>Brycon falcatus</i> coletadas na bacia do rio Araguaia e bacia do rio Guaporé, entre junho a agosto de 2012. Número de indivíduos analisados (N)	
Tabela 2	21
Caracterização dos locos estudados e frequência de alelos em <i>Brycon falcatus</i>	
Tabela 3	23
Análise intrapopulacional de frequência de alelos por marcador do tipo microssatélites em <i>Brycon falcatus</i>	
Tabela 4	24
Análise Amova considerando todos os grupos de <i>Brycon falcatus</i> em um mesmo grupo utilizando o índice F_{ST} , entre populações (EP) e dentro as populações (DP)	
Tabela 5	25
Resumo das estatísticas utilizadas nas combinações das populações de <i>Brycon falcatus</i>	

LISTA DE FIGURAS

	Página
I – INTRODUÇÃO GERAL	
Figura 1 Exemplar de <i>Brycon falcatus</i> , oriundo das bacias do Araguaia (A) e Guaporé (B)	6
III – DIVERSIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES NATURAIS DE <i>Brycon falcatus</i> (MULLER E TROSCHER, 1844) NA BACIA DO RIO ARAGUAIA E DA BACIA DO RIO GUAPORÉ, MATO GROSSO, BRASIL	
Figura 1 Mapa da bacia do rio Araguaia, localização dos pontos de coleta	17
Figura 2 Mapa da bacia do rio Guaporé, localização dos pontos de coleta	18
Figura 3 Dendrograma de UPGMA, utilizando a distância de Nei, 1978, representando a relação entre as populações de <i>Brycon falcatus</i> analisadas)	25

RESUMO

O conhecimento da variabilidade genética é um pré-requisito importante tanto para uso de estudo sustentável como em programas de cruzamento visando o melhoramento de organismos vegetal e animal para fins de produção. O estudo da variabilidade de populações tem sido possível pelo desenvolvimento de vários marcadores moleculares. Entre esses marcadores tem-se utilizado os microssatélites, usado para acessar a variabilidade genética das populações por ter alto grau de polimorfismo. Os peixes de água doce constituem o maior grupo dos vertebrados das espécies classificadas. Apesar da diversidade de peixes, ainda pouco se conhece sobre as características biológicas, ecológicas e genéticas de grande parte das espécies com possibilidades de uso na produção animal. Os peixes do gênero *Brycon* estão entre os mais importantes na pesca amadora e profissional e algumas espécies têm potencial zootécnico. *Brycon falcatus*, uma espécie de médio porte, é encontrada nas bacias dos rios Amazonas e Tocantins, principalmente em córregos tributários de águas claras. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a estrutura e os níveis de diversidade genética de populações naturais de *Brycon falcatus*. Foram coletadas três populações pertencentes a rios tributários da bacia do rio Araguaia e duas populações pertencentes a rios da bacia do Guaporé. Foram retirados pequenos fragmentos da nadadeira caudal de cada indivíduo. Os locos foram amplificados por PCR e submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida a 10%. O gel foi corado com nitrato de prata e foto documentado. O tamanho dos fragmentos foi estimado por comparação com marcador Ladder de 50 pb. Os tamanhos dos alelos obtidos foram organizados para a montagem das matrizes de dados que foram submetidas aos programas computacionais para verificar a variabilidade genética nas populações. Os parâmetros que permitiram a determinação da diversidade genética intra e interpopulacional foram o número de alelos por loco, riqueza alélica, heterozigosidade

observada e esperada, equilíbrio de Hardy Weinberg, índices F_{ST} , análise de variância molecular (Amove), índice de fixação, desequilíbrio de ligação e o número de migrantes. Um dendrograma foi gerado a partir da matriz de distância baseada nos valores de distância de Nei, 1978. Os locos foram polimórficos (média 10,4). O valor de F_{ST} foi 0,32 e Amove 67,49% mostraram-se altamente significativo ($P < 0,05$). As populações bem definidas foram identificadas, indicando que há estruturação das populações na área estudada.

Palavras-chave: Estruturação genética, microssatélites, variabilidade

ABSTRACT

The knowledge of the genetic variability is an important prerequisite for sustainable study as well as for crossbreeding studies that intend to improve plant and animal organisms for production. The study of the population variability has been possible by the development of many molecular markers, one of which is the microsatellite, which has been used to access the genetic variability of the population for having a high level of polymorphism. Freshwater fish form the biggest group of vertebrates of the classified species. Despite the fish diversity, still there is lower knowledge about the biological, ecological and genetic characteristics of much of the species with possibilities to use in animal production. *Brycon* genus fish are some of the most important in amateur and professional fishing, and some of the species have farm production potential. *Brycon falcatus* is a medium sized species and is found in the basin of Amazon and Tocantins Rivers, especially in tributary clear water streams. This paper has the objective of evaluating the structure and the levels of genetic diversity of the natural population of the *Brycon falcatus*. There have been collected three populations from the tributary rivers of Araguaia River and two populations from the Guaporé Basin Rivers. Tiny fragments were removed from the fin of each individual. These areas were amplified with PCR and subjected to electrophoresis in 10% polyacrylamide gel. The gel was dyed in silver nitrate and was then photographed. The size of the fragments was estimated, by comparison with the Ladder marker, of 50 pb (Invitrogen). The obtained allele sizes were organized for the assembly of matrices of data that were submitted to computer programs for verification of genetic varieties within the populations. The parameters that allowed for the determination of the intra- and inter-population genetic diversity were: Number of alleles per area, allelic richness, observed and expected heterozygotes, Hardy Weinberg equilibrium, F_{ST} indexes, molecular variation analyses (Amova),

fixation indexes, linkage disequilibrium and number of migrants. The dendrogram was generated from the matrix of distance based in the Nei values of distance, 1978. *Loci* were polymorphic (average 10.4). The F_{ST} value was about 0.32 and Amova was 67.49% indicating to be highly significant ($P < 0.05$). The well-defined populations were identified, indicating that there is populations structure in the study area.

Keywords: Genetic structuring, microsatellites, variability

I – INTRODUÇÃO GERAL

Os peixes constituem o maior grupo dos vertebrados, com mais de 31.000 espécies classificadas, sendo que cerca da metade dessas espécies é de água doce. (Eschmeyer *et al.* 2010).

Apesar da diversidade de espécies de peixes, ainda pouco se conhece sobre as características biológicas, ecológicas e genéticas de grande parte das espécies com possibilidades de uso na produção animal. Na aquicultura, a formação de estoques de matrizes para a reprodução, por exemplo, ainda depende de populações naturais; portanto, o desenvolvimento de planos de manejo dessas populações é essencial para a manutenção da variabilidade genética dentro e entre populações selvagens, é necessária para a conservação das espécies (Lopera-Barerro 2007).

Vários têm sido os fatores identificados como causadores do declínio da diversidade de peixes nos ecossistemas aquáticos do planeta, que vão desde a deterioração dos ambientes aquáticos por poluição, assoreamento e barramento de rios, pesca predatória e até a introdução de espécies exóticas (Agostinho *et al.* 2005). A perda da biodiversidade em ambientes aquáticos está entre os mais sérios problemas enfrentados pelos países ao redor do mundo (Moyle & Leidy 1992), que comprometem o funcionamento dos ecossistemas, sendo a sua conservação vital para os setores econômicos que utilizam os recursos aquáticos (Ehrlich & Ehrlich 1992).

O estudo da variabilidade genética populacional e específica tem sido possível pelo desenvolvimento de vários marcadores moleculares. Os microssatélites são marcadores considerados adequados aos estudos de variabilidade genética, pois apresentam alto grau de polimorfismo e, atualmente, são muito utilizados nos estudos de genética de populações (Henriques *et al.* 2007).

Os peixes do gênero *Brycon*, importantes na pesca amadora e profissional de água doce da América do Sul, são reofílicos, habitam rios de águas limpas e de alta oxigenação, onívoros, atingem até cerca de 8 kg e várias espécies deste gênero vem sendo criadas em cativeiro (Lima 2003).

Na implantação de uma piscicultura ou de programas de repovoamento é importante verificar a variabilidade genética dos estoques e a estrutura genética das populações naturais, a fim de selecionar aqueles indivíduos que efetivamente possam contribuir na formação destes estoques (Lopera-Barrero 2007).

1.1 Bacia Tocantins-Araguaia e Guaporé

O Estado de Mato Grosso possui em seu território as principais nascentes de três grandes regiões hidrográficas brasileiras: Amazônica (592.382 km²), Paraguai (363.447 km²) e Araguaia-Tocantins (132.238 km²), sendo essa a maior bacia localizada inteiramente em território brasileiro e seus principais rios são o Tocantins e o Araguaia (SEMA 2010).

O rio Araguaia, um dos sistemas fluviais de grande importância da América do Sul, percorre dois importantes biomas: a Floresta Amazônica, na porção norte/noroeste (35% da área total), e o Cerrado (65%); nasce na serra do Caiapó no paralelo 18°, na divisa do Estado de Goiás com o Estado de Mato Grosso a uma altitude de 850 m e percorre uma extensão de 2.115 km, forma a ilha do Bananal e vai confluir com o rio Tocantins na divisa dos Estados de Tocantins com o do Pará; é formada pelo rio Araguaia e afluentes, como os rios Forquilha, Cristalino, Piabas e das Garças. A região drenada por esta sub-bacia abriga áreas de ocupação antiga e consolidada, cujas origens estão vinculadas à exploração de diamantes. Atualmente, as atividades econômicas predominantes são a pecuária e o cultivo de soja (SEMA 2010).

A bacia Tocantins-Araguaia apresenta grande quantidade de lagos, principalmente lagos de meandros e a constituição de uma planície aluvial formada por um mosaico de unidades morfossedimentares, que mantém um complexo de ambientes aquáticos lênticos e lóticos.

As regiões do médio e do baixo Araguaia constituem áreas de grande biodiversidade de animais aquáticos e apresentam alta riqueza de espécies de peixes (Centofante & Melo 2012; Melo *et al.* 2005). No curso médio do rio Araguaia, em quatro lagos, praias e vegetação aquática flutuante do Parque Estadual do Cantão em

quatro períodos hidrológicos, Ferreira *et al.* (2011) constataram 271 espécies de peixes, dessas, 52,4% da ordem *Characiforme*, caracterizando o local como de alta produtividade biológica e de ambiente em bom estado de conservação.

A bacia hidrográfica do rio das Mortes, localizada na região Leste do Estado de Mato Grosso, tem sua nascente na serra São Lourenço, município de Campo Verde (MT) e deságua no rio Araguaia, nas proximidades da ilha do Bananal, 7 km a montante de São Félix do Araguaia (MT), depois de percorrer uma extensão de 1.070 km. O rio das Mortes é o maior afluente da margem esquerda do rio Araguaia e um dos principais cursos d'água do Estado de Mato Grosso, sendo que o baixo rio das Mortes conecta-se ao rio Araguaia, pela sua margem esquerda, por meio de cerca de 40 km de planície inundada, durante o período de cheia. Os principais afluentes à margem direita são os rios Paredão e Pindaíba, e à margem esquerda, os rios Suspiro, Areões e Zinho. O território compreendido pela bacia insere-se totalmente no Estado de Mato Grosso, com uma área total de 61.662,20 km², que corresponde a 6,8% da área total do Estado (Rossete & Pinto 2010). O clima da região é tropical de savana, com estação seca no outono e inverno (abril a setembro) e chuvosa na primavera e verão (outubro a março) (SEMA 2010). A estimativa populacional nos municípios pertencentes à sub-bacia do rio das Mortes é de 219.458 habitantes (IBGE 2013).

Melo *et al.* (2007) caracterizaram a comunidade de peixes em seis locais da porção inferior do rio das Mortes, em períodos sazonais distintos, que apresentou alto valor de diversidade, resultante de uma riqueza e uniformidade elevadas, encontrando a família *Characidae* como o de maior abundância, com 44,88% dos indivíduos coletados.

A bacia hidrográfica do Guaporé ocupa uma área de 43.961 km², somente no trecho brasileiro e, desta área, 15% encontram-se em unidades de conservação e em terras indígenas; já na margem boliviana do rio Guaporé, a partir da confluência com o rio Verde, boa parte das terras encontra-se protegida pelo Parque Nacional Noel Kempf Mercado, uma vasta reserva de 1,6 milhões de hectares. Em 2003, no lado brasileiro do rio Guaporé, foi construída a barragem na usina hidroelétrica - UHE Guaporé, que formou um lago de 4 km² de extensão, localizada a 100 km da nascente (Brasil das Águas 2007).

O rio Guaporé pertence ao sistema fluvial da bacia Amazônica, nasce na serra dos Parecis, a uma altitude de 630 m, no Estado de Mato Grosso, percorre aproximadamente 1.470 km até sua foz, a altitude de 131 m, no rio Mamoré. O rio

Guaporé e seus tributários, de águas de cor negra e sem poluição, estão sujeitos a inundações periódicas, pela presença em suas margens, pouco perturbadas, de muito lagos, conhecidos localmente como “baías”, que se conectam aos rios durante a cheia, formando imensas áreas alagadas nas planícies ao redor (Fachín-Terán & Vogt 2004).

1.2 Subfamília Bryconinae

A família Characidae representa a maior e mais complexa família da ordem Characiforme e engloba a maior parte de peixes de água doce do Brasil (Britski *et al.* 1999).

A subfamília Bryconinae inclui 40 espécies válidas, constituindo um grupo de ampla distribuição geográfica, do sul do México até a Argentina, ocorrendo espécies tanto transandina nos rios do Peru, Colômbia e do Equador, quanto cisandina, encontradas nos rios das bacias da América do Sul, bem como em drenagem costeira do Atlântico e Caribe (Lima 2003).

O gênero *Brycon* constitui um grupo de peixes migratórios (Howse 1992), inicialmente descritos por Muller e Troschel (1844), foi caracterizado com base na morfologia dentária, principalmente na presença de três séries de dentes no pré-maxilar. As espécies de *Brycon* são peixes de médio a grande porte, nos quais o comprimento médio total varia de 15 a 70 cm em exemplares adultos. Habitam rios e ambientes aquáticos associados a lagos marginais e as planícies de inundação, estes peixes vivem principalmente em planícies florestadas, organizados geralmente em pequenos cardumes, são onívoros, alimentando-se de frutos, sementes e pequenos vertebrados (Lima 2003).

Os peixes do gênero *Brycon* estão entre os mais importantes na pesca amadora e profissional de água doce da América do Sul. Como um reflexo de sua popularidade, as espécies do gênero *Brycon* recebem diversos nomes populares ao longo de sua distribuição: “matrinchã”, “jatuarana”, “piabanha”, “piraputanga”, “piracanjuba” e “vermelha” no Brasil, “sábalo” no Peru e Equador, “palambra” ou “bócon” na Venezuela, “yamu” na Colômbia, “pirapitá” ou “salmón-criollo” na Argentina, Paraguai e Uruguai (Lima 2001).

Algumas espécies do gênero *Brycon* são endêmicas em bacias hidrográficas brasileiras, tais como o *Brycon. amazonicus* (Spix & Agassiz 1829), na bacia

Amazônica; o *Brycon orbignyianus* (Valenciennes 1850), nas bacias do Paraná e Uruguai; o *Brycon lundii* (Reinhardt 1874), no rio São Francisco; o *Brycon hilarii* (Valenciennes 1850), na bacia do rio Paraguai; o *Brycon insignis* (Steindachner 1877), na bacia do rio Paraíba do Sul (Antunes *et al.* 2010) e, finalmente, o *Brycon goulding* (Lima 2004) na bacia do Araguaia-Tocantins.

Na piscicultura, o gênero *Brycon* destaca-se pela presença de algumas espécies com elevado potencial zootécnico como o matrinxã (*B. amazonicus*), a piracanjuba (*B. orbignyianus*) a piabanha (*B. insignis*) e a piraputanga (*B. hilarii*). Uma produção de espécies endêmicas do gênero *Brycon*, em cada região do país, otimiza o desempenho zootécnico das espécies cultivadas, já que cada uma das espécies evoluiu e se adaptou fenotípica e genotipicamente à sua bacia de origem, principalmente em relação aos fatores climáticos (Zaniboni-Filho *et al.* 2006).

Estudos mostram que algumas espécies têm importância como biocontroladores e como biodispersores, tal como a espécie *B. guatemalensis*, identificada como um agente biológico no controle de *Aedes aegypti*, mosquito transmissor da dengue (Martínez-Ibarra *et al.* 2002), e também considerada um dispersor de sementes de *Ficus insipida* (Horn 2011; Banack *et al.* 2002).

Muitas espécies do gênero *Brycon* encontram-se na Lista de Espécies Aquáticas Ameaçadas de Extinção, entre esses o *B. devillei* (Castelnau 1855) e o *B. insignis* (Steindachner 1877), ambos conhecidos como piabanha; o *B. nattereri* (Günther 1864), vulgarmente conhecido por pirapitinga; o *B. opalinus* (Cuvier 1819), denominado também pirapitinga ou pirapitinga-do-sul; o *B. orbignyianus* (Valenciennes 1850), denominado piracanjuba, picaranjuva ou bracanjuba e o *B. vermelha*, conhecido como vermelha (IBAMA 2003)

1.3 *Brycon falcatus*

A espécie *Brycon falcatus* (Fig. 1), segundo Lima (2004), apresenta várias listras estreitas longitudinais e listras retas ao longo do corpo, nadadeiras peitorais e pélvicas claras, distinta mancha em forma de V no pedúnculo caudal e nadadeira caudal. Apresenta entre 66 a 82 escamas na linha lateral. É uma espécie de médio porte, atingindo 30 cm, aproximadamente. Esta espécie é encontrada nas bacias dos rios Amazonas e Tocantins, principalmente em córregos tributários de águas claras.



Fig. 1 Exemplar de *Brycon falcatus*, oriundo das bacias do Araguaia (A) e Guaporé (B).

Esta espécie é conhecida pelo nome regional de “voadeira” na bacia dos rios Araguaia e Mortes e “matrinchã” na bacia do rio Guaporé, fazendo parte da alimentação dos pescadores e ribeirinhos.

1.4 Uso de marcadores moleculares

A variabilidade genética permite que uma espécie tenha capacidade de adaptação às constantes mudanças ambientais e a sua organização infere sobre a estruturação genética da população, oportunizando propostas de planos de manejo de conservação e de reintroduções, além de fornecer subsídios aos programas de controle de localidades degradadas (Hartl & Clark 2010).

Tanto para o conhecimento de sistemas naturais como no desenvolvimento de programas de cruzamento em organismos vegetais e animais, estudos sobre a variabilidade genética têm se tornado um pré-requisito. O desenvolvimento de vários marcadores moleculares permite a verificação da variabilidade genética populacional e específica de forma cada vez mais rotineira, inclusive na aquicultura, em que o uso destas técnicas tem aumentado (Henriques *et al.* 2007).

Em meados da década de 1980, com o advento da tecnologia do DNA recombinante e o desenvolvimento da técnica da Reação em Cadeia da Polimerase – PCR, um método “*in vitro*” para a amplificação de fragmento de DNA, possibilitaram o desenvolvimento de técnicas mais eficientes para a caracterização de populações, por meio da detecção do polimorfismo genético.

Marcador molecular pode ser considerado todo e qualquer fenótipo molecular originado de um gene expresso (por ex., isoenzimas) ou um segmento específico de

DNA (regiões expressas ou não). Os marcadores moleculares apresentam vantagens sobre os marcadores morfológicos, pois podem ser analisados em qualquer estágio de vida do organismo e, atualmente, existe ampla gama de marcadores moleculares com duas classes, os dominantes e os codominantes.

Diversas técnicas de biologia molecular estão hoje disponíveis para a detecção da variabilidade genética ao nível de sequências de DNA, ou seja, para a detecção de polimorfismos genéticos, usados tanto nos estoques em cativeiro como em populações naturais. Entre os marcadores moleculares, o RAPD (Polimorfismos de DNA Amplificados ao Acaso) tem sido utilizado em estudos de genética populacional de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887 (Povh *et al.* 2009) e (Rodríguez-Rodríguez *et al.* 2013), *Colossoma macropomum* Cuvier 1818 (Jacometo *et al.* 2010); *Brycon orbignyanus* Eigenmann & Norris 1900 (Lopera-Barrero *et al.* 2010) e (Panarari-Antunes *et al.* 2011), *Oreochromis niloticus* (Lupchinski JR *et al.* 2011; Oliveira *et al.* 2011), *Salminus brasiliensis* Cuvier 1816 (Gomes *et al.* 2011).

Os locos microssatélites, também conhecidos como SSR (Simple Sequence Repeats) ou STR (Short Tandem Repeats), consistem em sequencias curtas de DNA com um a seis nucleotídeos de comprimento repetidos em tandem e dispersas pelo genoma nuclear de organismos procaríotos e eucariotos (Litt & Luty 1989). Estes marcadores têm sido considerados marcadores adequados em estudo de variabilidade genética por serem abundantes, apresentarem alto grau de polimorfismo, serem marcadores codominantes e por poderem ser analisados via PCR em que quantidades pequenas de DNA são necessárias (Wright & Bentzen 1995).

A grande aplicabilidade dos microssatélites pode ser evidenciada pela quantidade de artigos disponíveis na literatura para vários grupos (Etemad *et al.* 2012 - Arroz; Silva *et al.* 2012 - Copaiba; Kroupin *et al.* 2013 - Trigo). Os trabalhos sobre peixes, que utilizam microssatélites, abrangem estudos em variabilidade genética, estrutura de populações com inferências sobre conservação e manejo de espécies, estudos de padrões de migração, efeitos de fragmentação de ambientes, sistemas reprodutivos e relações filogenéticas entre taxas relacionadas (Abreu *et al.* 2009 – *Pseudoplatystomareticulatum*; Calcagnotto & DeSalle 2009 - *Piaractus mesopotamicus*; Matsumoto & Hilsdorf 2009; Pereira *et al.* 2009 - *Pseudoplatystoma corruscans*; Lopera-Barrero *et al.* 2010 - *Piaractus mesopotamicus*; Povh *et al.* 2011 - *Piaractus mesopotamicus*; Petersen *et al.* 2012 - tilápias).

Lopera-Barrero *et al.* (2014) utilizaram marcadores microssatélites para avaliar a diversidade genética e a paternidade da progênie obtidos pelo sistema reprodutivo de extrusão e seminatural de *Brycon orbignyanus*. Os resultados mostraram que existe uma adequada variabilidade genética intrapopulacional, e sugere que o sistema de reprodução seminatural é indicado para reprodução de *B. orbignyanus* em ambientes controlados e em programas de repovoamento.

Sanches & Galetti (2012) utilizou sete locos microssatélites para identificar a composição genética e analisar a diferenciação genética entre cardume reprodutivo e amostras de populações de *Brycon hilarii* de diferentes locais do rio Miranda. As análises mostraram que a variação genética é semelhante entre as populações estudadas e os microssatélites utilizados mostraram diferenças genéticas entre o cardume reprodutivo e as populações amostradas.

Rodriguez-Rodriguez *et al.* (2010) utilizaram cinco locos microssatélites para verificar a diversidade genética de um lote de *Brycon orbignyanus* usados em programa de repovoamento e constataram que houve a preservação da variabilidade genética entre os genitores e a progênie. Lopera-Barrero *et al.* (2010) utilizaram marcadores microssatélites para estimar a diversidade genética e a contribuição reprodutiva da progênie de *Brycon orbignyanus* obtidos pelo sistema reprodutivo seminatural utilizados em programa de repovoamento, cujo sistema se mostrou eficaz na conservação da variabilidade genética.

Referências

- Abreu MM, Pereira LHG, Vila VB *et al.* (2009) Genetic variability of two populations of *Pseudoplatystoma reticulatum* from the Upper Paraguay River Basin. *Genetics and Molecular Biology*, **4**, 868-873.
- Agostinho AA, Thomaz SM, Gomes LC (2005) Conservação da biodiversidade em águas continentais do Brasil. *Megadiversidade*, **1**, 170-78.
- Antunes RSP, Gomes VN, Prioli SMAP *et al.* (2010) Molecular characterization and phylogenetic relationships among species of the genus *Brycon* (Characiformes: Characidae) from four hydrographic basins in Brazil. *Genetics and Molecular Research*, **9**, 674-684.
- Banack SA, Horn MH, Gawlicka A (2002) Disperser vs. establishment limited distribution of a riparian fig tree (*Ficus insipida*) in a Costa Rica tropical rain forest. *Biotropica*, **34**, 232-243.
- Britski HA, Silimon KZS, Lopes BS (1999) Peixes do Pantanal: manual de identificação. Brasília: Embrapa-SPI; Corumbá: *Embrapa – CPAP*. 184p.
- Calcagnotto D, DeSalle R (2009) Population genetic structuring in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) across the Paraná-Paraguay basin: evidence from microsatellites. *Neotropical Ichthyology*, **7**, 607-616.
- Centofante E, Melo CE (2012) Estrutura e composição da ictiofauna em um lago isolado na planície do médio rio Araguaia, Mato Grosso – Brasil. *Revista Biotemas*, **25**, 173-186.
- Ehrlich P, Ehrlich A (1992) The value of biodiversity. *Ambio*, **21**, 219-226.
- Eschmeyer WN, Fricke R, Fong JD *et al.* (2010) Marine fish diversity: history of knowledge and discovery (Pisces). *Zootaxa*, **2525**, 19-50.
- Etemad A, Maziah M, Daud SK (2012) Determination of genetic relatedness among selected rice (*Oryza sativa*, L.) cultivars using microsatellite markers. *African Journal of Biotechnology*, **11**, 7158-7165.

- Fachín-Terán A, Vogt RC (2004) Estrutura populacional, tamanho e razão sexual de *Podocnemis unifilis* (Testudines, Podocnemididae) no rio Guaporé (RO), norte do Brasil. *Phyllomedusa*, **3**, 29-42.
- Ferreira E, Zuanon J, Santos G *et al.* (2011) The fish fauna of the Parque Estadual do Cantão, Araguaia River, State of Tocantins, Brazil. *Biota Neotrop*, **11**, 277-284.
- Gomes PC, Ribeiro RP, Sirol RN *et al.* (2011) Diversidade genética de dourado utilizado em programas de repovoamento. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, **46**, 167-173.
- Hartl D, Clark AG (2010) *Princípios de Genética de Populações*. Artmed, São Paulo. 542p.
- Henriques JM, Sirol RN, Foresti F *et al.* (2007) Validação de *primers* de microssatélite para uso em estudos populacionais de curimatá, *prochilodus lineatus* (Teleostei, Characiformes, Prochilodontidae). *Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil*.
- Horn M, Correa BB, Parolin P (2011) Seed dispersal by fishes in tropical and temperate fresh waters: the growing evidence. *Acta Oecologica*, **37**, 1-17.
- Howse G (1992) Review of the genus *Brycon* (Teleostei: Characoidei). *Bulletin of the British Museum Natural History and Zoology*, **4**, 1-47.
- IBGE (2013) *Instituto de Geografia e Estatística*. Cidades – Mato Grosso. Available at www.ibge.gov.br/cidades/link.php?uf=mt.
- Jacometo CB, Lopera-Barrero NM, Rodriguez-Rodriguez MP *et al.* (2010) Variabilidade genética em tambaquis (Teleostei: Characidae) de diferentes regiões do Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, **45**, 481-487.
- Kroupin PY, Mikhail G, Divashuk MG, Fesenko IA *et al.* (2013) Evaluating wheat microsatellite markers for the use in genetic analysis of *Thinopyrum aspyrum*, and *Pseudoroegneria* species. *Dataset Papers in Biology*, **3**, 1-3.
- Lima FCT (2001) *Revisão taxonômica do gênero Brycon Muller e Troschel, 1844, dos rios da América do Sul Cisandina (Pisces, Ostariophysi, Characiformes, Characidae)* [dissertação mestrado em Biociências, Universidade Estadual de Maringá.
- Lima FCT (2003) Subfamily Bryconinae (Characins, tetras). In Reis RE, Kullander SO, Ferraris *et al.* Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America. Porto Alegre: Edipucrs, 174-181.
- Lima FCT (2004) *Brycon gouldingi*, a new species from the rio Tocantins drainage, Brazil (Ostariophysi: Characiformes: Characidae), with a key to the species in the basin. *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, **15**, 279-287.

- Litt MJ, Luty A (1989) A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *The American Journal of Human Genetics*, **44**, 397-401.
- Lopera-Barrero NM (2007) *Diversidade genética de Brycon orbignyanus em sistema reprodutivo seminatural* [tese doutorado em Zootecnia] Universidade Estadual de Maringá.
- Lopera-Barrero NM, Alvarez CAR, Rodriguez-Rodriguez MDP *et al.* (2014) Diversidade genética e paternidade de progênes de *Brycon orbignyanus* obtidas por diferentes sistemas reprodutivos. *Semina: Ciências Agrárias*, **35**, 541-554.
- Lopera-Barrero NM, Vargas L, Sirol RN *et al.* (2010) Caracterização genética de *Brycon orbignyanus* utilizando o sistema seminatural. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, **62**, 184-191.
- Lupchinski JR E, Vargas L, Lopera-Barrero NM *et al.* (2011) Caracterización genética de três líneas de tilapia Del Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Archivos de Zootecnia*, **60**, 20-31.
- Martínez-Ibarra JÁ, Guillén YG, Arredondo-Jiménez JI *et al.* (2002) Indigenous fish species for the control of *Aedes aegypti* in water storage tanks in southern Mexico. *Biocontrol*, **47**, 481-486.
- Matsumoto CK, Hilsdorf AWS (2009) 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*, **7**, 395-402.
- Melo CE, Lima JD, Melo TL, Pinto-Silva V (2005) *Peixes do Rio das Mortes: identificação e ecologia das espécies mais comuns*. Central de Textos e Editora Unemat, Cuiabá. 147p.
- Melo TL, Tejerina-Garro FL, Melo CE (2007) Diversidade biológica da comunidade de peixes no baixo Rio das Mortes, Mato Grosso, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, Curitiba, **24**, 657-665.
- Moyle PB, Leidy RA (1992) Loss of biodiversity in aquatic ecosystems: evidence from fish faunas. In Fielder PL, Jain SK. (eds.) *Conservation Biology: The Theory and Practice of Nature Conservation, Preservation, and Management*, Chapman and Hall, New York, 127-169.
- Oliveira SN, Ribeiro RP, Lopera-Barrero NM *et al.* (2011) Análise genética de três gerações de tilápias do Nilo (Linhagem GIFT) utilizando marcador RAPD. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, **33**, 207-212.
- Panarari-Antunes RS, Prioli AJ, Prioli SMAP *et al.* (2011) Genetic variability of *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1850) (Characiformes:Characidae) in cultivated and natural populations of the Upper Paraná River, and Implications for the Conservation of the Species. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, **5**, 839-848.

- Pereira LHG, Foresti F, Oliveira C *et al.* (2009) Genetic structure of the migratory catfish *Pseudoplatystoma corruscans* (Siluriformes: Pimelodidae) suggests homing behaviour. *Ecology of Freshwater Fish*, **18**, 215-225.
- Petersen RL, Garcia JE, Mello G *et al.* (2012) Análise da diversidade genética de tilápias cultivadas no estado de Santa Catarina (Brasil) utilizando marcadores microssatélites. *Bol. Inst. Pesca, São Paulo*, **38**, 313-321.
- Povh JA, Ribeiro RP, Lopera-Barrero NM *et al.* (2011) Microsatellite analysis of pacu broodstocks used in the stocking program of paranapanema river, Brazil. *Scientia Agricola*, **68**, 308-313.
- Povh JA, Ribeiro RP, Lopera-Barrero NM *et al.* (2009) Monitoramento da variabilidade genética de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, do programa de aumento de estoque do rio Paranapanema. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, **61**, 1191-1195.
- Rodriguez-Rodriguez MDP, Lopera-Barrero NM, Ribeiro RP *et al.* (2010) Genetic diversity of piracanjuba used in stock enhancement programs with microsatellite markers. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, **45**, 56-63.
- Rodriguez-Rodriguez MDP, Lopera-Barrero NM, Santos AS *et al.* (2013) Genetic Diversity of *Piaractus mesopotamicus* (Characiformes: Characidae) Oodstocks Using in the Restocking Program of Tietê River, Brazil. *Bioscience Journal*. **29**, 478-486.
- Rossete NA, Pinto CET (2010) O uso de geotecnologias no mapeamento de áreas úmidas na Bacia Hidrográfica do Rio das Mortes, Mato Grosso - Brasil. 3º *Simpósio de Geotecnologias no Pantanal*.
- Sanches A, Galetti JR PM (2012) Population genetic structure revealed by a school of the freshwater migratory fish, *Brycon hilarii*. *Latin American Journal of Aquatic Research*, **40**, 408-417.
- SEMA (2010) Secretaria de Estado de Meio Ambiente - *Relatório de Monitoramento da Qualidade da Água da Região Hidrográfica Tocantins-Araguaia – 2007 a 2009*.
- Silva ES, Mathias CS, Lima MCF *et al.* (2012) Análise físico-química do óleo-resina e variabilidade genética. *Pesquisa agropecuária brasileira*, **47**, 1621-1628.
- Wright JM, Bentzen P (1995) Microsatellites: Genetic Markers for the Future. In *Molecular genetics in fisheries* (eds). Carvalho GR, Pitcher TJ). Chapman & Hall. TJ Cornwall: *Press (Padstow)*, Great Britain.
- Zaniboni Filho E, Reynalte-Tataje D, Weingartner M (2006) Potencialidad del género *Brycon* em la piscicultura brasileña. *Revista Colombiana de Ciências Pecuária*, **19**, 233-240.

II – OBJETIVOS GERAIS

Considerando a relevância biológica, a importância econômica das espécies do gênero *Brycon* e a escassez de estudos sobre a genética de populações da espécie *Brycon falcatus*, o presente trabalho tem como objetivo: utilizar marcadores moleculares do tipo microssatélite para avaliar a diversidade genética dentro e entre populações naturais de *B. falcatus* oriundos da bacia do rio Araguaia e da bacia do rio Guaporé, a fim de se obter dados que sirvam de subsídios para o desenvolvimento de políticas de manejo e conservação e uso comercial em piscicultura de *B. falcatus*.

III - Diversidade genética de populações naturais de *Brycon falcatus* (Muller e Troschel, 1844) nas bacias dos rios Araguaia e Guaporé, Mato Grosso, Brasil

Resumo

Os peixes do gênero *Brycon* estão entre os mais importantes na pesca amadora e profissional, algumas espécies têm potencial zootécnico. *Brycon falcatus* é uma espécie de médio porte são encontrada nas bacias do rio Amazonas e Tocantins principalmente em córregos tributários de águas claras. Neste trabalho, foram analisados locos microssatélites para acessar a variabilidade genética em cinco amostras de *B. falcatus* das bacias do rio Araguaia e Guaporé, Mato Grosso, Brasil. Os locos foram polimórficos (média 10,4). O valor de F_{ST} foi 0,32 e Amova 67,49% mostraram-se significativos ($P < 0,05$). As populações bem definidas foram identificadas, indicando que há estruturação das populações na área estudada. Estes dados fornecem informações sobre estrutura genética da espécie.

Palavras-chave: Estrutura populacional, microssatélite

Genetic diversity of natural populations of *Brycon falcatus* (Troschel and Muller, 1844) (Characidae) in the River Basin of Araguaia and Guapore in Mato Grosso, Brazil

Abstract

Fishes of the *Brycon* genus are among the most important between the amateur and professional fishery, some species have farm production potential. *Brycon falcatus* is medium sized and they are found in Amazon and Tocantins basins, mainly in the clear water affluent streams. In this work, were analyzed six microsatellite *loci* to access genetic variability in three samples of *B. falcatus* of the Araguaia and Guaporé River Basin in Mato Grosso, Brazil. *Loci* were polymorphic (average 10.4). The F_{ST} value was about 0.32 and Amova was 67.49% indicating to be significant ($P < 0.05$). The well-defined populations were identified, indicating that there is populations' structure in the study area. Those data can provide information about the genetic structure of the species.

Keywords: population structure, microsatellite

Introdução

O gênero *Brycon* constitui um grupo de peixes migratórios (Howse 1982). Este gênero foi inicialmente descrito por Muller e Troschel (1844), caracterizada com base na morfologia dentária, principalmente na presença de três séries de dentes no pré-maxilar. As espécies de *Brycon* são peixes que apresentam porte médio a grande porte, com exemplares adultos que variam de 15 a 70 cm de comprimento total. Habitam rios e ambientes aquáticos associados, como lagos marginais e planícies de inundação, principalmente em planícies florestadas, vivem geralmente em pequenos cardumes, são onívoros, alimentando-se de frutos, sementes e de pequenos vertebrados.

Os peixes do gênero *Brycon* estão entre os mais importantes na pesca amadora e profissional de água doce da América do Sul e várias espécies estão sendo criadas em cativeiro (Lima 2003) e, segundo Zaniboni-Filho *et al.* (2006), algumas espécies do gênero *Brycon* têm elevado potencial zootécnico como matrinxã (*B. amazonicus* Spix & Agassiz 1829), piracanjuba (*B. orbignyanus* Valenciennes 1850), piabanha (*B. insignis* Steindachner 1877) e piraputanga (*B. hilarii* Valenciennes 1850) e ressaltaram que as espécies são encontradas nas principais bacias hidrográficas do Brasil. Assim, cada região pode cultivar a espécie endêmica, evitando a translocação de peixes exóticos, fator que pode pôr em risco a biodiversidade de cada local.

A espécie *Brycon falcatus* caracteriza-se como uma espécie de porte médio e o comprimento total atinge 30 cm, aproximadamente, e pode ser encontrada nas Bacias dos rios Amazonas e Tocantins, principalmente em córregos tributários de águas claras (Lima 2004). É conhecida pelo nome regional de “voadeira” na bacia do rio Araguaia e bacia do rio das Mortes, fazendo parte da alimentação de pescadores e da população ribeirinha. Na bacia do Guaporé, a espécie é popularmente conhecida como matrinxã ou piabanha, peixe explorado comercialmente e capturado para subsistência de comunidades ribeirinhas, além de atrair praticantes da pesca esportiva (Rubio *et al.* 2011).

Os polimorfismos de microssatélites de DNA são ferramentas valiosas na genética animal, não apenas na identificação individual e determinação de relações familiares, mas também como fonte de marcadores genéticos informativos que podem ser associados a características quantitativas e serem empregados em programas de melhoramento animal (Melo *et al.* 2008). O marcador microssatélites têm sido amplamente utilizados no estudo genético de populações de peixes nativos e de

estoques, porque esses marcadores têm um padrão de herança codominante, grau de polimorfismo e facilidade de análise por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) (Matsumoto & Hilsdorf 2009; Pereira *et al.* 2009; Melo *et al.* 2013; Lopera-Barrero *et al.* 2014).

No presente trabalho, procedeu-se o estudo de cinco populações naturais de *Brycon falcatus* coletados na bacia do rio Araguaia e bacia do rio Guaporé, utilizando microssatélites a fim de analisar a distribuição da diversidade genética dentro e entre as populações amostradas.

Material e métodos

Foi coletado um total de 403 amostras de fragmentos de nadadeira caudal de *Brycon falcatus* de espécimes inteiros oriundos de pesca amadora, no período de julho a agosto de 2012, às margens do rio Araguaia (ARA), ribeirão Antártico (ANT), córrego ponte de Pedra (PON) (Fig. 1), rio Guaporé (GUA) e rio Verde (VER) (Fig. 2, Tabela 1) na bacia do rio Araguaia e na bacia do rio Guaporé.

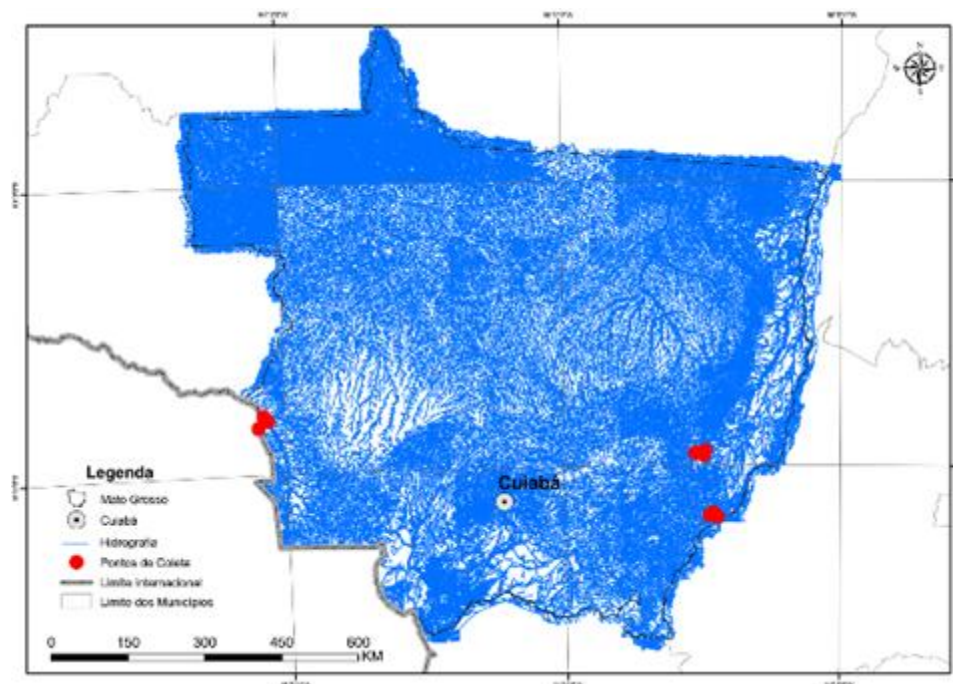


Fig. 1 Mapa da bacia do rio Araguaia, localização dos pontos de coleta.

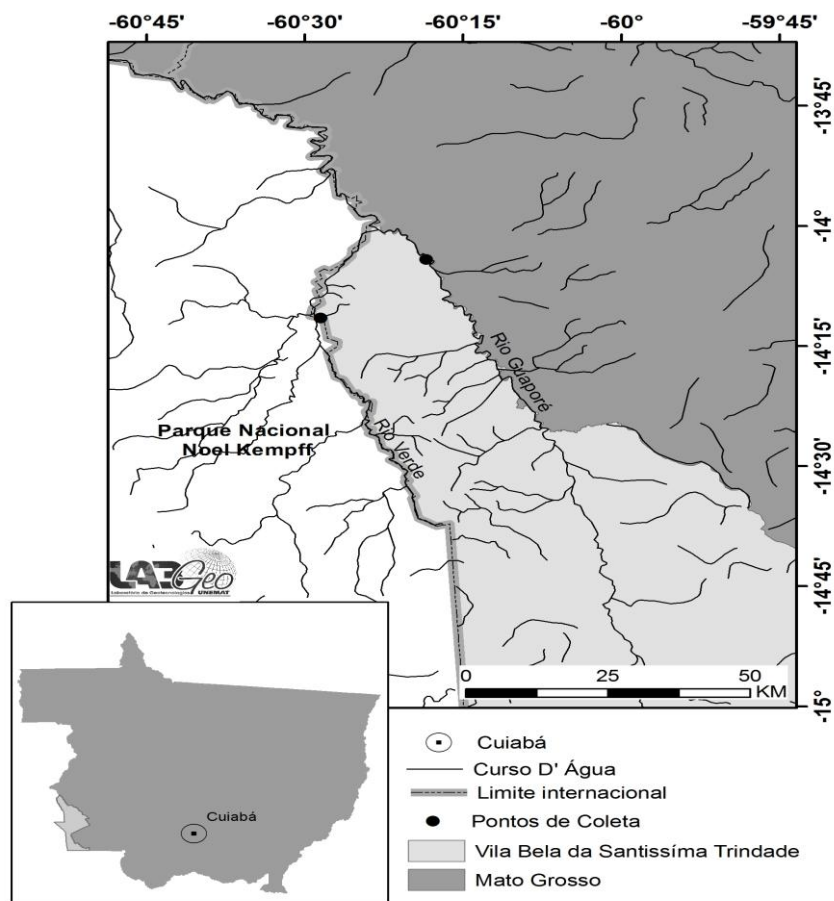


Fig. 2 Mapa da bacia do rio Guaporé, localização dos pontos de coleta.

Tabela 1 Amostras de *Brycon falcatus* coletados na bacia do rio Araguaia e bacia do rio Guaporé coletadas entre junho a agosto de 2012. Número de indivíduos analisados (N)

População	Bacia hidrográfica	RIO	Coordenadas geográficas	N
ARA	Araguaia	Araguaia	15°53'21.52"S, 52°14'47.79"O	100
ANT	Araguaia	Antártico	14°44'55.99"S, 52°26'38.61"O	53
PON	Araguaia	P. Pedra	14°4'22.53"S, 52°36'4.33"O	49
GUA	Guaporé	Guaporé	14°4'17.02"S, 60°18'19.33"O	75
VER	Guaporé	Verde	14°28'55.32"S, 60°28'55.48"O	126
Total				403

Para extração de DNA, foi utilizado o protocolo de extração com NaCl, descrito por Lopera-Barrero *et al.* (2008). O DNA foi quantificado em espectrofotômetro com absorvância de 260 nm. As amostras foram diluídas para uma concentração de 10 ng/μL. Para conferir a qualidade do DNA, foi realizada eletroforese em gel de agarose 1%, conduzida em tampão TBE 1X (500 mM de Tris-HCl, 60 mM de ácido bórico e 83 mM de EDTA) por 1 h a 70 volts. O gel foi visualizado sob radiação UV, após ter sido incubado em solução de brometo de etídio (0,5 μg/mL) por 30 min. Posteriormente, a

imagem foi capturada utilizando o programa Kodak EDAS (Kodak 1D Image Analysis 3.5).

Para este estudo foram avaliados 16 pares de “*primers*” de microsátélites heterólogos, sendo nove descritos por Barroso *et al.* (2003) para *Brycon opalinus* e sete descritos por Sanches & Galetti JR (2006) para *Brycon hilarii*.

As reações em cadeia de polimerase (PCR) foram realizadas para a amplificação do DNA com os seguintes reagentes: DNA (10 ng/ μ L), Tampão (10X), $MgCl_2$ (50 mM), *primer Forward* (10 μ M), *primer Reverse* (10 μ M); dNTP (8 mM); *Taq* polimerase (5 U/ μ L, INVITROGEN), água ultrapura, volume final de 13 μ L.

Inicialmente, o DNA foi desnaturado a 94°C por 4 min e, em seguida, foram realizados 30 ciclos, cada um consistindo de 1 min de desnaturação a 94°C, 45 segundos de anelamento, em temperatura variável para cada *primer*, 1 min de extensão a 72°C e extensão final a 72°C por 10 min. As amostras amplificadas foram submetidas a eletroforese em gel de poliacrilamida 10% (acrilamida: bisacrilamida – 29:1) desnaturante (6M de ureia), e conduzidas em tampão TBE 0,5X (90 mM de Tris-Borato e 2 mM de EDTA) a 180 V e 250 mA por 6 h. Para a visualização dos alelos microssatélite, foi utilizada a coloração com nitrato de prata pelo método descrito por Bassam *et al.* (1991). O gel foi submetido a uma solução de fixação (10% de etanol e 0,5% de ácido acético) por 20 min, corado (6 mM de nitrato de prata) por 10 min e, posteriormente, visualizado (0,75 M de NaOH e 0,22% de formol a 40%) e fotografado com câmera digital Olympus.

O tamanho dos alelos foi calculado pelo programa Kodak EDAS-290, utilizando DNA *ladder* (Invitrogen) de 10, 50 e 100 pb. O tipo e o tamanho dos alelos observados nas populações de *Brycon falcatus*, com os “*loci*” microssatélites, foram organizados em matriz de dados que foram submetidos aos programas computacionais que calcularam os parâmetros que permitiram a determinação da diversidade genética intra e interpopulacional.

O número de alelos, a heterozigose observada (H_o) e esperada (H_e), o teste do equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE), o número de migrantes (N_m) e o índice de fixação (F_{IS}) de Wright (1978) foram calculados para cada “*loci*” usando o programa GENEPOP 4.0.6 (Rousset 2008). No teste HWE, a deficiência ou excesso de heterozigotos para os “*loci*” foi baseado no teste exato de Fisher e calculados pelo método de cadeia de Markov (Markov chain length: 100,000; dememorizations: 10,000). A frequência alélica, a distância (GD) e a identidade genética (GI) foram

calculadas utilizando o programa POPGENE 1.31 (Yeh *et al.* 1999). A riqueza alélica foi calculada usando FSTAT 2.9.3.2 (Goudet 2002). A presença de alelos nulos foi verificada por meio do programa Micro-Checker 2.2.3 (Van Oosterhout *et al.* 2004). Os valores de diferenciação genética F_{ST} (Weir & Cockerham 1984), o desequilíbrio de ligação e a análise de variância molecular – Amova foram estimados pelo programa Arlequin 3.1 (Excoffier *et al.* 2005).

Os índices de fixação F_{ST} (Weir & Cockerham 1984) foram calculados por meio do *infinite allele model* - IAM (Kimura & Crow 1964) para verificar a diferenciação populacional. Como método de diferenciação dos valores de F_{ST} foi utilizada a definição de Wright (1978), em que valores entre 0,00 a 0,05; 0,051 a 0,15; 0,151 a 0,25 e >0,25 indicam pequena, moderada, alta e elevada diferenciação genética, respectivamente.

Um dendrograma foi gerado com base na distância genética de Nei (Nei 1978) os quais foram agrupados pelo método UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean) utilizando o programa MEGA version 5.0 software (Tamura *et al.* 2011).

Resultados

Análises intrapopulacionais e variação dos microssatélites

Dos 16 pares de “*primers*”, dez não amplificaram ou foram monomórficos, mostrando pouca especificidade, e não foram utilizados no presente estudo, sendo que seis pares “*primers*” amplificaram nas populações da bacia do Araguaia e desses quatro nas populações da bacia do Guaporé.

Nessas duas últimas análises, organizaram-se seis grupos de populações definidas por: grupo I – todas as populações de *Brycon falcatus*; grupo II – com três populações de (Araguaia, Antártico e Ponte de Pedra); grupo III – populações de Antártico e de Ponte de Pedra; grupo IV – populações de Antártico e de Araguaia; grupo V – populações de Araguaia e de Ponte de Pedra; grupo VI – populações do Guaporé e do Verde.

A caracterização dos locos e a frequência de alelos em *B. falcatus* nas populações da bacia do Araguaia mostrou que o número de alelos por *locus* variou de dois (BoM 13) a sete (BoM 2), os tamanhos dos alelos encontrados na análise variou de 48 pb (BoM 5) a 180 pb (Bh 8), observaram-se 40 alelos privados nas três populações,

ou seja, alelos encontrados em apenas uma população, sendo nove alelos na população do Antártico, 17 na população do Araguaia e 14 na população Ponte de Pedra. Nas populações da Bacia do Guaporé o número de alelos por loco variou de três (BoM 5) a seis (Bh8, BoM 2 e 5), os tamanhos dos alelos variaram de 98 pb (BoM5) a 212 pb (Bh8), 35 alelos foram detectados e deste, 31 são privativos apresentando frequências variando de 0,007 a 0,533 (Tabela 2).

Tabela 2 Caracterização dos locos estudados e frequência de alelos em *Brycon falcatus*

Locos	Alelo (PB)	ANT	ARA	PON	GUA	VER
BC48-6	130	---	---	---	---	0.112*
A = 12	128	0.321	0.069	0.250	---	---
	125	---	---	---	---	0.220*
	122	---	0.005*	---	---	---
	120	---	0.314	0.396	---	---
	118	0.142*	---	---	0.207*	---
	115	---	0.098*	---	---	0.196*
	112	---	---	0.063	---	---
	110	0.538	0.515	0.292	0.007	0.472
	108	---	---	---	0.236*	---
	100	---	---	---	0.529*	---
	98	---	---	---	0.021*	---
Bh8	212	---	---	---	0.007*	---
A = 15	210	---	---	---	---	0.067*
	205	---	---	---	0.053*	---
	200	---	---	---	0.347*	---
	198	---	---	---	---	0.413*
	195	---	---	---	0.533*	---
	190	---	---	---	0.033	0.488
	188	0.037	0.049	0.020	---	---
	185	---	---	---	0.027*	---
	182	0.250*	---	---	---	---
	180	---	0.233	0.235	---	0.032*
	178	0.713*	---	---	---	---
	175	---	0.422	0.745	---	---
	166	---	0.010*	---	---	---
	165	---	0.286*	---	---	---
BoM 2	170	---	---	0.120*	---	---
A = 23	162	---	---	---	0.042*	---
	160	---	---	0.174*	---	---
	158	---	---	---	0.092	0.040
	152	---	---	---	0.141*	---
	150	---	---	---	---	0.143*
	148	---	---	---	---	0.175*
	144	---	---	0.391*	---	0.139*
	142	---	---	---	0.338	0.139
	140	---	---	0.065*	---	---
	138	---	---	---	0.387*	---
	136	---	---	---	---	0.365*
	134	---	---	0.109*	---	---
	132	---	---	0.141*	---	---
	90	---	0.083*	---	---	---
	87	---	0.146*	---	---	---
	83	---	0.112*	---	---	---
	82	0.047*	---	---	---	---
	80	0.132	0.165	---	---	---
	76	0.509	0.311	---	---	---
	72	0.160*	---	---	---	---
	70	0.151	0.126	---	---	---
	68	---	0.058*	---	---	---

Locos	Alelo (PB)	ANT	ARA	PON	GUA	VER
BoM 5	118	---	---	---	---	0.052*
A = 18	114	---	---	---	---	0.187*
	112	---	---	---	0.014*	---
	108	---	---	-----	0.239*	---
	106	---	---	---	0.043*	---
	105	---	---	0.064*	---	0.762*
	104	---	---	---	0.087*	---
	102	---	---	---	0.210*	---
	100	---	---	0.074*	0.406*	---
	94	---	---	0.234*	---	---
	88	---	---	0.330*	---	---
	84	---	---	0.202*	---	---
	80	---	---	0.096*	---	---
	60	0.019*	---	---	---	---
	56	---	0.559*	---	---	---
	54	0.574*	---	---	---	---
	52	---	0.168*	---	---	---
	48	0.407	0.272	---	---	---
BoM 13	152	0.208*	---	---	---	---
A = 7	150	0.792*	---	---	---	---
	88	---	0.350*	---	---	---
	82	---	---	0.021*	---	---
	80	---	0.087*	---	---	---
	76	---	0.558	0.979	---	---
	70	---	0.005*	---	---	---
Bh 13	88	---	0.201*	---	---	---
A = 7	86	---	0.289*	---	---	---
	85	0.461	---	0.480	---	---
	84	---	0.358*	---	---	---
	82	0.304	---	0.173	---	---
	80	---	0.152*	---	---	---
	78	0.235	---	0.347	---	---

S: Tamanho do alelo, A: Número de alelos, *: Alelos privados

A análise intrapopulacional de frequência de alelos por marcador microssatélites (H_0 , H_e , riqueza alélica, F_{is}) em *B. falcatus* é apresentada na Tabela 3. A bacia do Araguaia mostrou que as heterozigosidades observadas (H_o) e esperadas (H_e) e a riqueza alélica nas populações tiveram uma variação respectivamente, de 0,00 (BoM 13) a 0,67(BoM2) e de 2,000 a 5,000 na população do Antártico; de 0,15(BoM 13) a 0,82(BoM2) e de 3,000 a 7 na do rio Araguaia e de 0,04 (BoM 13) a 0,78(Bom5) e de 1,999 a 6,000 na população de Ponte de Pedra, constatando-se, portanto, maior riqueza alélica na população do rio Araguaia, com o valor de 6,999 (BoM2) e a menor riqueza na população de Ponte de Pedra, que apresentou o valor de 2 (BoM13).

As populações da bacia do Araguaia apresentaram significativos desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg para a maioria dos “loci”. A população do Araguaia teve todos os valores de F_{is} positivo, uma indicação de déficit de heterozigotos. As populações do Antártico e da Ponte de Pedra apresentaram dois valores negativos de F_{is} indicando um excesso de heterozigotos.

Nas populações da bacia do Guaporé as heterozigosidades observada (Ho) e esperada (He) e a riqueza alélica nas populações tiveram uma variação, respectivamente, de 0,3768 (BoM 5) a 0,7296 (BoM 5) e de 4986 (BoM 2) na população do Guaporé; de 0,1746 (BoM 5) a 0,7788 (BoM2) e de 6000 (BoM 5) na população do rio Verde. As duas localidades apresentaram desvios significativos do equilíbrio de Hardy-Weinberg para todos os “loci”. As populações amostradas tiveram todos os valores de F_{is} positivo, uma indicação de déficit de heterozigotos.

Tabela 3 Análise intrapopulacional de frequência de alelos por marcador do tipo microssatélites em *Brycon falcatus*

Locos	ANT	ARA	PON	GUA	VER
BC48-6					
N_A/N_p	03/1	05/1	4/0	05/4	04/3
Ho	0.4151	0.2451	0.2917	0.4480	0.5520
He	0.5935	0.6254	0.6991	0.6261	0.6806
Fis	0.303	0.609	0.585	0.294	0.190
HWE(r)	* (+)	* (+)	* (+)	*	*
A_R	3.000	4.451	4.000	4986	4000
Bh 8					
N_A/N_p	03/1	5/0	3/0	05/4	04/3
Ho	0.5185	0.3786	0.4286	0.5333	0.4048
He	0.4318	0.6862	0.3936	0.5946	0.5882
Fis	-0.203	0.449	-0.090	0.104	0.313
HWE(r)	0.403703(-) ns	* (+)	0.801665(-) ns	*	*
A_R	3.000	4.693	2.997	5920	3998
BoM 2					
N_A/N_p	05/2	07/4	06/6	05/2	06/4
Ho	0.6038	0.7379	0.6304	0.4085	0.5000
He	0.6787	0.8204	0.7747	0.7107	0.7788
Fis	0.111	0.101	0.188	0.427	0.359
HWE(r)	* (-)	* (+)	* (+)	*	*
A_R	5.000	6.999	6.000	5000	6000
BoM 5					
N_A/N_p	03/2	03/2	06/5	06/6	03/3
Ho	0.6296	0.2079	0.4468	0.3768	0.1746
He	0.5088	0.5875	0.7852	0.7296	0.3836
Fis	-0.240	0.647	0.434	0.485	0.546
HWE(r)	0.086297(-)ns	* (+)	* (+)	*	*
A_R	2.979	3.000	6.000	6000	3000
BoM 13					
N_A/N_p	02/2	04/2	02/1		
Ho	0.0000	0.1553	0.0417		
He	0.3333	0.5613	0.0412		
Fis	1.000	0.724	-0.011		
HWE(r)	* (+)	* (+)	0.917411(-)ns		
A_R	2.000	3.447	1.999		
Bh 13					
N_A/N_p	3/0	04/4	3/0		
Ho	0.3529	0.4706	0.4694		
He	0.6463	0.7284	0.6259		
Fis	0.456	0.355	0.252		
HWE(r)	* (+)	* (+)	* (+)		
A_R	3.000	4.000	3.000		

N_A , Número de alelos por locos; N_p = número de alelos privados; Ho, heterozigosidade observada; He, heterozigosidade esperada; Fis, índice de endogamia; HWE, equilíbrio de Hardy – Weinberg NS: Não significativo, * Significativo $P < 0.05$; r, alelos nulos; A_R riqueza alélica.

Análises interpopulacionais

A análise de variância molecular – Amova - caracteriza os grupos naturais bem como a distribuição da variação entre populações, entre grupos de populações e dentro das populações. Os resultados a seguir mostram a Amova para os seis grupos definidos para o estudo (Tabela 4). A Amova considerando todas as populações em um único grupo revelou que a maior parte da variabilidade se encontra dentro das populações ($F_{ST} = 67.49\%$), a porcentagem de variação entre as populações apresentou valores de ($F_{ST} = 32.51\%$). Nas populações do grupo II, a maior parte da variabilidade ocorre dentro das populações ($F_{ST} = 69.82\%$) do que entre as populações, que apresentou valores de $F_{ST} = 30.18\%$. O mesmo fato ocorre nas populações como grupo III, grupo IV, o grupo V, grupo IV que mostraram, novamente, que a maior parte da variabilidade encontra-se dentro das populações, com valores de F_{ST} de 69.05%, 68.42%, 77.36% e 64,64%), respectivamente. A variabilidade encontrada entre as populações dentro dos grupos apresentou F_{ST} de 30,95%, 31.58%, 22.64%, 35,35% para os grupos II, III, IV e V, respectivamente. Os valores de F_{ST} são altamente significativos $p < 0,05$ (1023 permutações), demonstrando que há estrutura genética nas populações estudadas, ou seja, estes dados mostram grande diferenciação entre as subpopulações estudadas.

Tabela 4 Análise Amova considerando todos os grupos de *Brycon falcatus* em um mesmo grupo utilizando o índice F_{ST} , entre populações (EP) e dentro as populações (DP)

Fonte de variação	Grau de liberdade	Soma dos quadrados	Componentes de variação	Porcentagem de variação	F_{ST}
Grupo I: Todas as populações					
Entre populações	4	377.366	0.59112	32.51	0.325
Dentro das populações	809	992.879	1.22729	67.49	
Total	813	1370.246	1.81842		
Grupo II: Araguaia, Antártico e Ponte de Pedra.					
Entre populações	2	199.032	0.75965	30.18	0.302
Dentro das populações	409	718.715	1.75725	69.82	
Total	411	917.748	2.51690		
Grupo III: Antártico/ Ponte de Pedra					
Entre populações	1	68.452	0.65199	30.95	0.309
Dentro das populações	204	296.796	1.45488	69.05	
Total	205	365.248	2.10687		
Grupo IV: Antártico/ Araguaia					
Entre populações	1	120.633	0.83846	31.58	0.316
Dentro das populações	312	566.705	1.81636	68.42	
Total	313	687.338			
Grupo V: Araguaia/Ponte de Pedra					
Entre populações	1	73.658	0.54068	22.64	0.226
Dentro das populações	302	557.937	1.84747	77.36	
Total	303				
Grupo VI: Guaporé/Verde					
Entre populações	1	125.163	0.65914	35.36	0,354
Dentro das populações	400	482.081	1.20520	64.64	
Total	401	607.244			

F_{ST} Índice de fixação; Amova: análise de variância molecular.

Os valores de F_{ST} confirmam a estruturação das populações de *Brycon falcatus* na bacia do Araguaia e na bacia do Guaporé, como evidenciado pelo dendrograma (Fig. 3).

Existe fluxo gênico para todos os locos das populações que foi estimado em $N_m = 10,4$ migrantes por geração de acordo com Nei (1978) (Tabela 5), outra evidência de diferenciação entre os grupos amostrais, tendo a população do Guaporé como a mais distante em relação às demais.

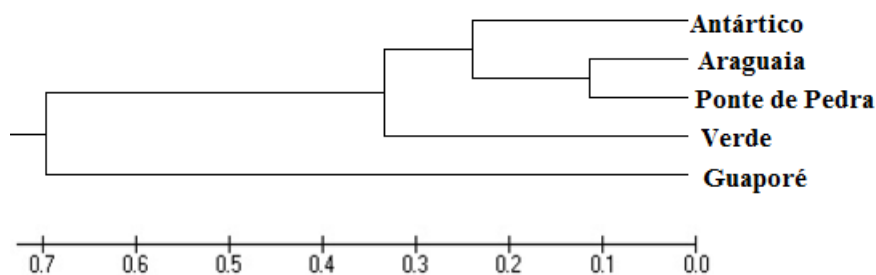


Fig. 3 Dendrograma de UPGMA, utilizando a distância de Nei, 1978, representando a relação entre as populações analisadas de *Brycon falcatus*

Tabela 5 Resumo das estatísticas utilizadas nas combinações das populações de *Brycon falcatus*

	Todas	Ara/Ant/Pon	Ant/Pon	Ant/Ara	Ara/Pon	Gua/Ver
Fst	0,32	0,30	0,30	0,31	0,22	0,35
Wright	Elevada	Elevada	Elevada	Elevada	Alta	Elevada
ID/DG			0,2137/1,5	0,2570/1,3	0,518/0,6	0,048/3,03
Nm	0,10		0,08	0,064	0,11	0,07

F_{ST} , coeficiente de ancestralidade; Wright, diferenciação genética de Wright (1978); ID, identidade genética; DG, distância genética; Nm, número de migrantes.

Discussão

Os locos microssatélites utilizados nas análises das populações naturais de *B. falcatus* mostraram polimorfismo, com valor médio de alelos de 13,6 consistente com o valor em outras espécies de peixes, usando “primers” heterólogos como observado em *Pseudoplatystoma reticulatum* (Abreu *et al.* 2009).

Valores de F_{IS} positivo indicam que a heterozigosidade observada é menor que a heterozigosidade esperada, fato observado em 77% dos valores estimados de F_{IS} das três populações da bacia do Araguaia, em 100% dos valores estimados de F_{IS} das duas populações da bacia do Guaporé, resultados observados em outras espécies de peixe e para *Pseudoplatystoma reticulatum* (Abreu *et al.* 2009) e para *Pseudoplatystoma corruscans* (Pereira *et al.* 2009).

Foi observado desvio significativo do equilíbrio de Hardy Weinberg nos “loci” dentro das amostragens estudadas, que pode ter ocorrido por diversos fatores, entre os quais se cita o déficit de heterozigotos demonstrados por meio do índice de endogamia F_{IS} . As principais causas responsáveis por deficiência de heterozigotos, em uma determinada população, estão o elevado número de alelos por loco, a existência de alelos nulos, o efeito Wahlund, acasalamento preferencial e a endogamia (Pereira *et al.* 2009).

A estimativa da presença de alelos nulos mostrou-se positivos em vários “loci”. Os “loci”. BC58-6 e Bh 13 apresentaram alelos nulos nas três populações da bacia do Araguaia e outros apresentaram em uma ou duas populações, como o Bh8 (Araguaia), BoM 2 (Araguaia e Ponte de Pedra), BoM 5 (Araguaia e Ponte de Pedra) e BoM 13 (Antártico e Araguaia). A presença destes alelos nulos para a maioria dos casos em que houve o desvio do equilíbrio de Hardy Weinberg (87,5%) nas populações da bacia do Guaporé, pode ter contribuído para déficit de heterozigotos.

Alelo nulo pode ser definido como qualquer alelo em um loco de microsatélite que não é amplificado na PCR ou pode ser fracamente amplificado, mas não é visível após a detecção (O'Connell & Wright 1997). Segundo Callen *et al.* (2003), a existência de alelos nulos parece ser comum em locos microsatélites, pois qualquer mutação dentro da sequência do DNA complementar aos “primers” pode inibir ou impedir sua ligação, resultando na falta ou redução completa da amplificação dessa sequência. A presença de alelos nulos mostra resultados com implemento de indivíduos homozigotos, resultando em perda de informações.

As estimativas da presença de alelos nulos se mostraram positivas para os casos em que houve desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg, sendo este evento a melhor explicação para o desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Análises interpopulacionais

Os resultados obtidos por meio da análise de Amova revelaram a ocorrência de diferenciação significativa entre as populações de *B. falcatus* e de elevada estruturação genética, cujo valor de variação molecular entre as populações foi de 32,51% (F_{ST}). Existe estruturação genética para as populações analisadas com alta variabilidade genética dentro das populações (67,49%). Outros estudos também tiveram resultados similares a este, que relataram diferentes espécies de peixes migradores que mostram a existência de divergências genéticas entre populações dentro de um mesmo sistema

hidrográfico, *Piaractus mesopotamicus* (Calcagnotto & DeSalles 2009), *Brycon orthotaenia* (Sanches *et al.* 2012).

O fluxo gênico para todos os locos e para todas as populações foi estimado em $Nm = 10$ por geração, indicando que existem alguns alelos que ocorrem no genoma de todas as populações amostradas. Outros estudos também tiveram resultados similares a este, que relataram em diferentes espécies de peixes migradores, a existência de divergências genéticas entre populações dentro de um mesmo sistema hidrográfico, em *Pseudoplatystoma corruscans* (Pereira *et al.* 2009), e *Brycon hilarii* (Sanches & Galetti JR 2012). Em peixes migradores, o fluxo gênico é possível mesmo entre populações distantes geograficamente. Nei (1987) sugeriu que valores acima de um migrante por geração indicam que o fluxo gênico constitui um fator positivo contra a diferenciação genética entre populações. A existência de alelos privativos coloca em evidência que o fluxo gênico é pouco ou ausente e frequentemente presente em populações estruturadas. Assim, esses dados reforçam a existência de estruturação firme nas populações de *B. falcatus* analisados.

Uma das mais importantes características das bacias hidrográficas em que as amostras foram coletadas é a grande quantidade de lagos, principalmente lagos de meandros, que tornam a região do médio e baixo Araguaia, uma área de grande biodiversidade de animais aquáticos, principalmente de peixes (Centofante & Melo 2012), o complexo mosaico de unidades morfossedimentares da bacia do rio Araguaia contribui para que a planície aluvial desse sistema seja um local de grande riqueza de espécies (Melo *et al.* 2005), favorecendo a ocorrência da variabilidade encontrada entre as populações da bacia do Araguaia. As características sazonais da bacia do Guaporé possibilitam a formação de planície de inundação, pela presença em suas margens, pouco perturbadas, de muitos lagos que se conectam aos rios durante a cheia (Fachín-Terán & Vogt 2004), que abrigam uma grande diversidade de peixe, favorecendo a alta diversidade encontrada nas populações.

Locais com impactos antrópicos, com pouca mata ciliar em áreas de várzeas e lagos marginais destruídos ou com barragens que impedem a ocorrência de fluxo gênico, têm apresentado resultados de diversidades genéticas baixas ou inexistentes. Sanches *et al.* (2012), analisaram populações naturais de *B. orthotaenia* e *Prochilodus argenteus*, utilizando “*primers*” heterólogos, Lopera-Barrero *et al.* (2010), analisaram populações naturais e de estoque de *Piaractus mesopotamicus*, utilizando “*primers* específicos”, Sanches (2007), analisou com marcador molecular populações selvagem

de *B. hilarii* e encontraram baixos valores ou nenhuma diferença significativa entre as populações amostradas.

A diferenciação genética significativa entre amostras de *B. falcatus* indica que os peixes deste sistema não formam uma única população panmítica.

Para que possa existir mais do que uma população dentro de um sistema contínuo de águas, os peixes que aí habitam devem se organizar em unidades reprodutivas geneticamente diferenciadas, de forma a manter sua integridade genética. As bacias hidrográficas em que as amostras foram coletadas apresenta características sazonais que possibilitam a formação de planície de inundação, lagos de meandros, que abrigam uma grande diversidade de peixe (Melo *et al.* 2005; Fachín-Terán & Vogt 2004), favorecendo a alta diversidade encontrada nesse trabalho.

Os fatores envolvidos na manutenção da integridade genética dessas unidades populacionais ainda não foram estudados. A existência dessas subdivisões populacionais pode ser gerada pela adaptação a diferentes condições ambientais, fatores regionais específicos podem contribuir para que as populações não tenham o mesmo período de desova, a distância geográfica entre cada subpopulação ou até por comportamentos específicos de cada grupo. No entanto, existem poucas informações a respeito da biologia de *B. falcatus*.

Considerando a importância ecológica e na alimentação das comunidades ribeirinhas das duas bacias, os resultados apresentados constituem um elemento particularmente importante para a gestão e conservação da espécie *B. falcatus*, colocando em evidência a importância da preservação de cada população.

Agradecimentos

O apoio financeiro para este estudo foi fornecido pela UEM/PPZ, Fapemat e Unemat.

Referências

Abreu MM, Pereira LHG, Vila VB. *et al.* (2009) Genetic variability of two populations of *Pseudoplatystoma reticulatum* from the Upper Paraguay River Basin. *Genetics and Molecular Biology*, **4**, 868-873.

- Barroso RM, Hilsdorf AWS, Moreira HLM *et al.* (2003) Identification and characterization of microsatellite loci in *Brycon opalinus* (Cuvier, 1819) (Characiforme, Characidae, Bryconinae). *Molecular Ecology Notes*, **3**, 297-298.
- Bassam BJ, Caetano-Anollés G, Gresshoff PM (1991) Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, **196**, 80-83.
- Calcagnotto D, DeSalle R (2009) Population genetic structuring in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) across the Paraná-Paraguay basin: evidence from microsatellites. *Neotropical Ichthyology*, **7**, 607-616.
- Callen DF, Thompson AD, Shen Y, Sutherland JR *et al.* (2003) Incidence and origin of null alleles in the (AC)_n microsatellite markers. *American Journals of Human Genetics*, **52**, 922-927.
- Centofante E, Melo CE (2012) Estrutura e composição da ictiofauna em um lago isolado na planície do médio rio Araguaia, Mato Grosso – Brasil. *Revista Biotemas*, **25**, 173-186.
- Excoffier L, Laval G, Schneider S (2005) Arlequin Ver. 3.1: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, **1**, 47-50.
- Fachín-Terán A, Vogt RC (2004) Estrutura populacional, tamanho e razão sexual de *Podocnemis unifilis* (Testudines, Podocnemididae) no rio Guaporé (RO), norte do Brasil. *Phyllomedusa*, **3**, 29-42.
- Goudet, J (2002) FSTAT: a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3.2) Available from <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>.
- Howse G (1992) Review of the genus *Brycon* (Teleostei: Characoidei). *Bulletin of the British Museum Natural History and Zoology*, **4**, 1-47.
- Kimura M, Crow JF (1964) The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics* **49**, 725-738.
- Lima FCT (2004) *Brycon gouldingi*, a new species from the rio Tocantins drainage, Brazil (Ostariophysi: Characiformes: Characidae), with a key to the species in the basin. *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, **15**, 279-287.
- Lima FCT (2003) Subfamily Bryconinae (Characins, tetras) In Reis RE, Kullander SO, Ferraris JR CJ (ed.) *Check List of the freshwater fishes of South and Central America*. Edipucrs, Porto Alegre. 174-181p.
- Lopera Barrero NM, Alvarez CAR, Rodriguez-Rodriguez MDP *et al.* (2014) Diversidade genética e paternidade de progênes de *Brycon orbignyanus* obtidas por diferentes sistemas reprodutivos. *Semina: Ciências Agrárias*, **35**, 541-554.

- Lopera-Barrero NM, Povh JA, Ribeiro RP *et al.* (2008) Comparación de protocolos de extracción de ADN con muestras de aleta y larva de peces: extracción modificada con cloruro de sodio. *Ciência e Investigação Agrária*, **35**, 77-86.
- Lopera-Barrero NM, Ribeiro RP, Povh JA *et al.* (2010) Avaliação genética de populações naturais e de estoques de um programa de repovoamento de pacu utilizando marcadores microssatélites. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, **62**, 954-963.
- Matsumoto CK, Hilsdorf AWS (2009) 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*, **7**, 395-402.
- Melo BF, Sato Y, Foresti F (2013) The roles of marginal lagoons in the maintenance of genetic diversity in the Brazilian migratory fishes *Prochilodus argenteus* and *P. costatus*. *Neotropical Ichthyology*, **11**, 625-636.
- Melo CE, Lima JD, Melo TL, Pinto-Silva V (2005) *Peixes do Rio das Mortes: identificação e ecologia das espécies mais comuns*. Central de Textos e Editora Unemat, Cuiabá. 147p.
- Melo DC, Oliveira DAA, Seerig, AA, Carvalho DC (2008) Aplicações práticas de marcadores microssatélites na caracterização genética e identificações de plantéis de tilápias. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, **32**, 214.
- Nei M (1987) Molecular evolutionary genetics. *Columbia University Press*, New York. 512p.
- O'Connell M, Wright M (1997) Microsatellite DNA in fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, **7**, 331-363.
- Pereira LHG, Foresti F, Oliveira C (2009) Genetic structure of the migratory catfish *Pseudoplatystoma corruscans* (Siluriformes: Pimelodidae) suggests homing behaviour. *Ecology of Freshwater Fish*, **18**, 215-225.
- Rousset F (2008) Genepop'007: a complete reimplementation of the Genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*, **8**, 103-106.
- Rubio TC, Pötter C, Navarros MSP (2011) Parâmetros biológicos e tamanho mínimo de captura do *Brycon falcatus* (Peixes: Characidae) na Bacia do rio Guaporé Mato Grosso, Brasil. Aguas del Iténez o Guaporé Recursos hidrobiológicos de un patrimonio binacional (Bolivia y Brasil). *Editorial Inia*, **2**, 175-182.
- Sanches A, Galetti JR PM (2006) Microsatellites loci isolated in the freshwater fish *Brycon hilarii*. *Molecular Ecology Notes*, **6**, 1045-1046.
- Sanches A, Galetti JR PM (2007) Genetic evidence of population substructuring in the neotropical freshwater fish *Brycon hilarii*. *Brazilian Journal of Biology*, **67**, 889 - 895.

- Sanches. A, Galetti JR PM (2012) Population genetic structure revealed by a school of the freshwater migratory fish, *Brycon hilarii*. *Latin American Journal of Aquatic Research*, **40**, 408-417.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N *et al.* (2011) MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, **28**, 2731-2739.
- Van Oosterhout C, Hutchinson WF, Wills DPM *et al.* (2004) Micro-Checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, **4**, 535-538.
- Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, **38**, 1358-1370.
- Wright S (1978) *Evolution and Genetics of Populations*. University of Chicago Press, Chicago. 511p.
- Yeh FC, Boyle TYZ, Xiyang JM (1999) *PopGene Version 1.31*: Microsoft Window-based freeware for population genetic analysis. University of Alberta and Center for International Forestry Research, Alberta. 29p.
- Zaniboni Filho E, Reynalte-Tataje D, Weingartner M (2006) Potencialidad del género *Brycon* en La piscicultura brasileña. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuária*, **19**, 233-240.

IV – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os marcadores genéticos moleculares do tipo microssatélite mostraram-se eficientes no estudo da variabilidade genética em populações naturais de *Brycon falcatus*, das bacias dos rios Araguaia e Guaporé.

A diversidade genética significativa entre amostras de *B. falcatus* indica que os peixes destes sistemas não formam uma única população panmítica, nas bacias estudadas.