

**RENATA DA SILVA FARIAS**

**AVALIAÇÃO DO PERFIL GENÉTICO DOS REPRODUTORES DE PACAMÃ  
(*Lophiosilurus alexandri* STEINDACHNER, 1876) DESTINADOS  
AO REPOVOAMENTO DO SÃO FRANCISCO**

**Recife  
Fevereiro, 2019**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E  
AQUICULTURA**

**AVALIAÇÃO DO PERFIL GENÉTICO DOS REPRODUTORES DE  
PACAMÃ (*Lophiosilurus alexandri* STEINDACHNER, 1876) DESTINADOS  
AO REPOVOAMENTO DO SÃO FRANCISCO**

**Renata da Silva Farias**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco como exigência para obtenção do título de mestre.

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Raquel Moura Coimbra**  
Orientadora

**Recife**  
**Fevereiro, 2019**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

F224a Farias, Renata da Silva  
Avaliação do perfil genético dos reprodutores de pacamã  
(*Lophiosilurus alexandri* Steindachner, 1876) destinados ao  
repopoamento do São Francisco / Renata da Silva Farias. – 2019.  
56 f. : il.

Orientador: Maria Raquel Moura Coimbra.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de  
Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e  
Aquicultura, Recife, BR-PE, 2019.  
Inclui referências e apêndice(s).

1. Bagre (Peixe) - São Francisco, Rio, Vale 2. Genética animal  
3. Marcadores genéticos 4. Genética molecular 5. Biodiversidade -  
Conservação I. Coimbra, Maria Raquel Moura, orient. II. Título

CDD 639.3

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E**  
**AQUICULTURA**

**AVALIAÇÃO DO PERFIL GENÉTICO DOS REPRODUTORES DE PACAMÃ**  
**(*Lophiosilurus alexandri* STEINDACHNER, 1876) DESTINADOS**  
**AO REPOVOAMENTO DO SÃO FRANCISCO**

**Renata da Silva Farias**

Dissertação julgada adequada para obtenção do título de mestre em Recursos Pesqueiros e Aquicultura. Defendida e aprovada em 25/02/2019 pela seguinte Banca Examinadora:

---

**Profa. Dra. Maria Raquel Moura Coimbra - Orientadora**  
Departamento de Pesca e Aquicultura  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

**Prof. Dr. Daniel Cardoso de Carvalho - Membro Externo**  
Instituto de Ciências Biológicas e Saúde da PUC Minas  
Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais

---

**Dr. Alfredo Olivera Gálvez - Membro Interno**  
Departamento de Pesca e Aquicultura  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

## **Dedicatória**

*Dedico este trabalho a minha família.*

## **Agradecimentos**

A Deus por sempre me fortalecer diante dos obstáculos da vida.

Ao programa de Recursos Pesqueiros e Aquicultura, pela oportunidade de realizar o mestrado e estrutura de apoio à pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado concedida.

À Fundação grupo O Boticário de conservação pelo apoio financeiro do projeto.

À Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba (Codevasf) e a Companhia Hidrelétrica do São Francisco (Chesf), pelo apoio e colaboração ao projeto.

À Profa. Dra. Maria Raquel Moura Coimbra pela oportunidade, orientação, amizade e confiança a mim dispensadas.

Aos meus pais, Ercílio e Gicele, meus irmãos Larissa, Fernanda, Matheus e Samuel, pelo incentivo e apoio incondicional. Vocês são meu porto seguro. Amo vocês!

Aos amigos do Laboratório de Genética Aplicada, Larissa, Genison, Bruno, Wilka e Gabriel, pela parceria diária e os bons momentos vividos.

À Elizabeth, Marcele, Jéssika, Barbara e Clarissa, por me acolherem de forma tão especial, além dos bons momentos de descontração durante esse período.

À Dra. Elizabete Cristina pela amizade e por todos os ensinamentos compartilhados.

Aos meus amigos de república, Eduarda, Arturene, Alejandro e Tiago, pelos churrascos, conversas sobre o futuro e laços de amizade.

Aos meus amigos que mesmo com a distância sempre se fizeram presentes, Camilinha, Luiza, Ana Karla, Geraldo, Nathan, Thiago, Rafaela e Águida. Muito obrigada pelo apoio e torcida!

A banca examinadora, professores Alfredo Olivera Gálvez e Daniel Cardoso de Carvalho, pelas valiosas contribuições ao meu trabalho.

A todos que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho, meu muito obrigada!

## Resumo

O rio São Francisco abriga cerca de 160 espécies de peixes, das quais cerca de 10% estão ameaçadas de extinção. Dentre essas, uma das mais críticas é o bagre endêmico, pacamã (*Lophiosilurus alexandri*), que foi incluído em 2015 no PAN São Francisco. Programas de repovoamento vêm sendo desenvolvidos para diversas espécies nos últimos 30 anos por agências públicas e privadas. Entretanto, estes são conduzidos sem critérios genéticos, o que pode comprometer a diversidade e o potencial evolutivo das populações repovoadas. Diante da importância ecológica e potencial econômico do *L. alexandri*, o presente trabalho visou avaliar a situação das Estações de Piscicultura que repovoam o pacamã ao longo do São Francisco com relação aos selvagens. Foram coletadas amostras de tecido da nadadeira caudal de 55 reprodutores, marcados com Pit Tags, provenientes de três estações de piscicultura responsáveis pelo repovoamento desta espécie no submédio e baixo São Francisco (Bebedouro, Paulo Afonso e Itiúba). Também foram amostrados 54 animais selvagens, sendo 30 coletados no submédio São Francisco, entre o reservatório de Sobradinho (BA) e o de Itaparica (PE) e 24 na região de Três Marias (MG) no alto São Francisco. Dentre 52 marcadores microssatélites testados, apenas sete foram validados com um número reduzido de alelos, de dois a oito. Paralelamente, a região controle (D-loop) do DNA mitocondrial foi sequenciada e 36 haplótipos foram detectados, revelando uma perda importante da diversidade nas amostras de cativeiro em relação aos selvagens, possivelmente atrelada ao manejo empregado sem renovação de reprodutores. Tanto as microssatélites como o D-loop foram capazes de separar as amostragens em dois grupos, selvagens e cativeiro. No entanto, entre as estações, a rede de haplótipos do D-loop e a diferenciação genética ( $\Phi_{ST}$ ) mostraram uma maior semelhança entre Bebedouro e Paulo Afonso, enquanto as diferenças genéticas obtidas com as microssatélites ( $F_{ST}$  e  $R_{ST}$ ) revelaram uma semelhança maior entre Itiúba e Paulo Afonso. A diferença encontrada entre as estações de piscicultura e os animais selvagens indicam a urgente necessidade de renovação dos plantéis, bem como a inserção de novas estratégias, a fim de manter a diversidade genética semelhante à população natural.

**Palavras-chave:** Caracterização genética; pacamã; marcadores moleculares; genética da conservação.

## Abstract

The São Francisco River basin is home to about 160 species of fish, around 10% of which are threatened with extinction. Among these, one of the most critical is the endemic catfish pacamã (*Lophiosilurus alexandri*), which was included in 2015 in the PAN São Francisco. Restocking programs have been developed for several species in the last 30 years by public and private agencies. However, these are conducted without genetic criteria, which may compromise the diversity and evolutionary potential of restocked populations. Due to the ecological importance and economic potential of *L. alexandri*, the present work aimed to evaluate the situation of the fisheries stations responsible for the restocking programs of pacamã along the São Francisco river in relation to the wild. Tissue samples were collected from the caudal fin of 55 breeders, tagged with Pit Tags, from three fisheries stations responsible for restocking this specie in the lower and submiddle São Francisco (Bebedouro, Paulo Afonso and Itiúba). Also, fifty-four samples from wild animals, 30 of which were collected in the submiddle São Francisco between the Sobradinho (BA) and Itaparica (PE) reservoirs and 24 samples from the upper São Francisco, in the Três Marias (MG). Out of the 52 microsatellite markers tested, only seven were validated with a reduced number of alleles (from two to eight). At the same time, the control region (D-loop) of the mitochondrial DNA was sequenced for all samples and 36 haplotypes were detected, revealing a significant loss of diversity in the captive samples compared to the wild, possibly linked to the management used without renewal of breeders. Both the microsatellites and the D-loop were able to separate the samplings into two groups, wild and captive. However, among the stations, the D-loop haplotype network showed a greater similarity between Bebedouro and Paulo Afonso, while the genetic differences obtained with the microsatellites ( $F_{ST}$  and  $R_{ST}$ ) revealed a similarity between Itiúba and Paulo Afonso. The difference found between captive and wild animals indicates the urgent need for renewal of the broodstocks, as well as the insertion of new strategies, to maintain genetic diversity similar to the natural population.

**Key words:** genetic characterization; pacamã; molecular markers; conservation genetics.



## Lista de Figuras

Página

- Figura 1. Valor de K estimado através do log-verossimilhança dos dados de exemplares de *L. alexandri* oriundos três Estações de Piscicultura e de dois trechos do São Francisco (alto e submédio). Eixo Y para os valores de delta (K) e eixo X para os diferentes valores de K testados.....24
- Figura 2. Atribuições dos genótipos de *L. alexandri* amostrados em três Estações de Piscicultura e dois trechos do São Francisco (alto e submédio). Cada barra vertical representa um indivíduo diferente e a cor do comprimento é proporcional ao grupo inferido.....24
- Figura 3. Rede de haplótipos baseada no método de Median-Joining para exemplares do *L. alexandri* amostrados em três Estações de Piscicultura (Paulo Afonso, Itiúba e Bebedouro) e dois trechos do São Francisco (alto e submédio). Os diferentes círculos coloridos correspondem aos grupos amostrados, os tamanhos são proporcionais às frequências dos haplótipos e os números em vermelho representam a quantidade de mutações entre os haplótipos.....26

**Lista de Tabelas**

Página

Tabela 1. Características dos sete microssatélites polimórficos e sequências de primers utilizados....21

Tabela 2. Diversidade genética para sete microssatélites estimados para o *L. alexandri* amostrado em três Estações de Piscicultura e dois trechos do São Francisco (alto e submédio).....22

Tabela 3. Valores de  $F_{ST}$  par a par (diagonal abaixo) e  $R_{ST}$  par a par (diagonal acima) estimados para o *L. alexandri* amostrado em três Estações de Piscicultura e dois trechos do São Francisco (alto e submédio).....23

Tabela 4. Diversidade haplotípica e nucleotídica estimados para o *L. alexandri* amostrado em três Estações de Piscicultura e dois trechos do São Francisco (alto e submédio).....25

Tabela 5. Diferenciação genética  $\Phi_{ST}$  par a par estimada para o *L. alexandri* amostrado em três Estações de Piscicultura e dois trechos do São Francisco (alto e submédio).....25

## Sumário

Dedicatória .....	3
Agradecimentos.....	4
Resumo.....	5
Abstract .....	6
Lista de Figuras .....	7
Lista de Tabelas.....	8
1- Introdução .....	10
2- Artigo Científico .....	15
3- Considerações Finais .....	44
4- Referências.....	45
Apêndices.....	50

## 1- Introdução

O rio São Francisco é um dos principais corpos d'água do país, com uma área de 640 mil km<sup>2</sup> e extensão em torno de 2700 km, ocupando 8% do território nacional (KÖHLER, 2003; TENÓRIO, 2003). Possui sua nascente no Parque Nacional da Serra da Canastra em Minas Gerais e no sentido sul-norte, percorre os estados da Bahia, Pernambuco, Alagoas e Sergipe (GODINHO e GODINHO, 2003). Devido a sua grande extensão é subdividido em quatro regiões, associado ao relevo da calha do rio, nomeadas como alto, médio, submédio e baixo São Francisco (DANTAS et al., 2013). Em toda a sua extensão o rio abrange três biomas: cerrado, caatinga e mata atlântica (GODINHO e GODINHO, 2003).

Toda essa diversidade também é vista na abundância de peixes, que contabiliza cerca de 160 espécies em toda a bacia do São Francisco (SATO e GODINHO, 1999; ALVES e POMPEU, 2001). Entretanto, diversas ações antrópicas contribuíram para que boa parte dessas espécies se encontrem sob ameaça de extinção. Dentre esses danos ambientais destacam-se a sobrepesca, degradação de mata ciliar, assoreamento, transposição, uso insustentável da água para irrigação e, principalmente, os impactos ambientais causados pela instalação de usinas hidrelétricas, que promovem o aumento da profundidade da coluna e o barramento do rio, desta forma impedindo a migração dos peixes que realizam piracema para reproduzir (MANETA et al, 2009; ICMBIO, 2018). Por possuírem um maior número de usinas hidrelétricas, oito de um total de nove dispostas ao longo de todo o São Francisco, as regiões do submédio e baixo são as mais afetadas (LIMA, 2016).

Visando amenizar os impactos gerados pelas hidrelétricas à ictiofauna das bacias hidrográficas brasileiras, medidas mitigadoras foram criadas. No Código de Pesca, o decreto-lei nº 794/1938 define em seu Artigo 68 que “as represas dos rios, ribeirões ou córregos devem ter como complemento obrigatório obras que permitam a conservação da fauna fluvial, seja facilitando a passagem dos peixes, seja instalando Estações de Piscicultura”. Como não há mecanismos de transposição de peixes nas nove hidrelétricas do São Francisco, foram estabelecidas diversas Estações de Piscicultura ao longo da bacia hidrográfica, as quais são responsáveis pelo repovoamento de espécies nativas na região. É o caso da Estação de Piscicultura da Companhia Hidrelétrica do São Francisco (Chesf) em Paulo Afonso (EPPA) e de mais cinco Estações de Piscicultura da Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e Parnaíba (Codevasf), que desenvolvem ações de repovoamento há mais de 20 anos (DANTAS, 2010; LOPES et al., 2013).

Mais recentemente, como forma de atenuar os danos causados e restaurar a ictiofauna autóctone, foi desenvolvido pelo Instituto Chico Mendes (ICMBio) o Plano de Ação Nacional para Conservação das Espécies Ameaçadas de Extinção da Fauna Aquática da Bacia do Rio São Francisco (PAN São Francisco) (DOU, Maio 2015). O plano tem duração de 5 anos e visa aprimorar o

conhecimento sobre as espécies ameaçadas e mitigar as atividades impactantes, promovendo a conservação e a recuperação da fauna aquática da bacia do rio São Francisco (ICMBIO, 2015).

Oito espécies de peixes ameaçados de extinção são contempladas pelo PAN São Francisco, as quais são classificadas nas categorias CR (Criticamente em Perigo), EN (Em Perigo) e VU (Vulnerável): *Bagropsis reinhardti* (LÜTKEN, 1874) (VU); *Brycon nattereri* (GÜNTHER, 1864) (VU); *Conorhynchus conirostris* (VALENCIENNES, 1840) (EN); *Kolpotocheirodon theloura* (MALABARBA E WEITZMAN, 2000) (VU); *Lophiosilurus alexandri* (STEINDACHNER, 1876) (VU); *Pareiorhaphis mutuca* (OLIVEIRA e OYAKAWA, 1999) (EN); *Pamphorichthys pertapeh* (FIGUEIREDO, 2008) (CR) e *Trichomycterus novalimensis* (BARBOSA e COSTA, 2010) (EN) (ICMBIO, 2015).

Dentre essas espécies, destaca-se o *Lophiosilurus alexandri* (Steindachner, 1876), popularmente conhecido como niquim ou pacamã. Trata-se de um bagre endêmico da bacia do rio São Francisco, pertencente a ordem Siluriformes e família Pseudopimelodidae (BUCKUP et al., 2007; CARVALHO et al., 2016). *L. alexandri* é uma espécie bentônica, sedentária, carnívora e de hábito noturno e que apresenta cuidado parental com a prole realizado pelos machos (SATO et al., 2003; SANTOS e LUZ, 2009). O pacamã apresenta um grande potencial econômico para a aquicultura, pois possui uma carne firme, avermelhada, com alto rendimento de filé e livre de espinhos intramusculares, além de ser bastante apreciado como peixe ornamental (TENÓRIO et al., 2003; LUZ e SANTOS, 2008). Por conseguinte, pesquisas estão sendo realizadas para aumentar o conhecimento sobre a espécie (SANTOS et al., 2016; MELILLO FILHO et al., 2016; CARVALHO et al., 2016; BECKER et al., 2017; MATTIOLI et al., 2017; NAVARRO et al., 2017; MELLO et al., 2019; RIBEIRO et al., 2019) de forma, principalmente, a se obter um pacote tecnológico para a utilização na aquicultura e também aplicá-lo em ações voltadas para a conservação da espécie.

Devido ao seu hábito bentônico e preferência por ambientes lênticos, em regiões de fundo arenoso ou pedregoso onde formam ninhos no período reprodutivo, a espécie tem sido extremamente afetada pelas grandes profundidades geradas pelos barramentos ao longo do rio, pois as profundidades podem atingir até 100 m, como é o caso do reservatório de Xingó, no baixo São Francisco (TENÓRIO, 2003). Desta forma, o pacamã que já foi uma das espécies mais representativas do São Francisco, sofreu uma drástica redução na sua abundância nas regiões do submédio e baixo São Francisco e por isso vem sendo inserida em programas de repovoamento, como é o caso da Chesf que trabalha com o repovoamento da espécie desde 1995 (TENÓRIO, 2003).

O repovoamento é uma estratégia de conservação da biodiversidade que consiste em restabelecer populações naturais a partir da liberação de formas jovens, obtidos através da reprodução de exemplares selvagens em cativeiro (LOPERA-BARRERO et al., 2007). Apesar de ser uma prática bastante comum, o repovoamento pode aumentar o impacto ambiental e, em muitos casos, ser

ineficiente (POVH et al., 2008). Uma dificuldade dos programas de repovoamento é dispor, por muitas vezes, de um plantel com indivíduos em número suficiente para evitar a consanguinidade. Inevitavelmente, um baixo número de reprodutores sem renovação de plantel resulta no uso de reprodutores aparentados que acabam por acasalar entre si. Sem nenhum monitoramento genético sobre eles, há uma perda na variabilidade genética e um aumento da consanguinidade (MOREIRA et al., 2007; POVH et al., 2009; RIBEIRO et al., 2016). Esta redução pode levar ao comprometimento do potencial adaptativo da espécie, ocasionando a diminuição da resistência a doenças, redução da fertilidade e um menor crescimento (TANIGUCHI, 2003; RODRIGUEZ-RODRIGUEZ et al., 2010; LOPERA-BARRERO et al., 2015). Logo, maximizar a diversidade genética do plantel de reprodutores torna-se um fator crucial para o sucesso de um programa de repovoamento (COIMBRA et al., 2017).

O conhecimento da diversidade genética de uma espécie e como ela se distribui dentro e entre as populações é essencial para fornecer os parâmetros necessários para entender os aspectos evolutivos, e para o desenvolvimento de ações de manejo e programas de repovoamento, como parte integrante na formação, manutenção e uso correto dos reprodutores (LOPERA-BARRERO, 2009; MUNEEER et al., 2011; ALLENDORF et al. 2012). Estudos têm revelado que a formação de plantéis de reprodutores com baixa variabilidade genética pode causar dificuldades relacionadas a capacidade de adaptação e sobrevivência das proles (LOPERA-BARRERO et al., 2010; RODRIGUEZ-RODRIGUEZ et al., 2010; LOPERA-BARRERO et al., 2015), além de afetar o potencial genético da espécie (MOREIRA et al., 2007).

A diversidade genética pode ser avaliada por diversos tipos de marcadores moleculares. Esses marcadores podem ser descritos como um fenótipo molecular qualquer, que pode corresponder a um gene, expresso ou não, ou até mesmo a um determinado segmento de DNA, onde sua sequência de nucleotídeos pode ou não ser conhecida (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1995; ROJAS, 2008). Os marcadores são bastante empregados na caracterização de estoques para repovoamento e de populações naturais (FERREIRA et al., 2015; RIBEIRO, 2016).

Entre os inúmeros marcadores moleculares utilizados, destacam-se as regiões de microssatélites no DNA nuclear e algumas do DNA mitocondrial. Os microssatélites, também conhecidos como Sequências Simples Repetidas (SSR), são marcadores de tamanho relativamente pequeno de até seis nucleotídeos, repetidos lado a lado, seletivamente neutros, com níveis elevados de alelos polimórficos, além de serem facilmente amplificados via PCR (CHISTIYAKOV et al., 2006). Neste método, as regiões contendo SSR são amplificadas individualmente através de PCR utilizando-se um par de primers específicos complementares às sequências que flanqueiam a microssatélite (CHISTIYAKOV et al., 2006).

A região controle ou D-loop do DNA mitocondrial (mtDNA), possui herança uniparental haploide e ausência de recombinação genética (AVISE, 2004), assim é capaz de fornecer informações complementares aos encontrados no genoma nuclear. Em peixes, o D-loop pode ser de quatro a cinco vezes mais variável do que outras regiões do mtDNA em vertebrados (HORAI e HAYASAKA, 1990), tornando possível estimar a variabilidade e estruturação genética entre indivíduos de uma população através de unidades finais, chamadas de haplótipos, que correspondem a um conjunto de bases identificadas no segmento de DNA. Na aquicultura, essas técnicas têm sido bastante utilizadas para caracterização de estoques genéticos, seleção de reprodutores, aplicação em programas de repovoamento assistido e para estudos de genética de populações (DANTAS et al., 2013; FERREIRA et al., 2015; COIMBRA et al., 2017).

Diante da importância ecológica e potencial econômico do *L. alexandri*, o presente projeto visa avaliar se os plantéis de reprodutores das Estações de Piscicultura que desenvolvem programas de repovoamento do pacamã ao longo do São Francisco em relação a diversidade genética da população selvagem.

## **1.2- Objetivos do trabalho**

### **Objetivo Geral**

Estimar a diversidade genética dos plantéis de reprodutores de pacamã (*Lophiosilurus alexandri*) utilizados para o repovoamento do rio São Francisco, pertencentes às unidades da Codevasf (Estações de Piscicultura de Bebedouro, Betume e Itiúba) e da Chesf (Estação de Piscicultura de Paulo Afonso).

### **Objetivos Específicos**

- Estimar a diversidade haplotípica da região controle do mtDNA nos reprodutores de cada uma das unidades de repovoamento do submédio e baixo São Francisco, utilizando mtDNA (D-loop);
- Validar microssatélites nos lotes de reprodutores das unidades de repovoamento do submédio e baixo São Francisco;
- Estimar a diversidade e estruturação genética das estações com base nos microssatélites.



## 2- Artigo Científico

### **AVALIAÇÃO DO PERFIL GENÉTICO DOS REPRODUTORES DE PACAMÃ (*Lophiosilurus alexandri* STEINDACHNER, 1876) DESTINADOS AO REPOVOAMENTO DO SÃO FRANCISCO**

#### **RESUMO**

O pacamã (*Lophiosilurus alexandri*) é um bagre endêmico da bacia do Rio São Francisco, bastante apreciado pelas comunidades ribeirinhas, mas se encontra em estado vulnerável. Várias Estações de Piscicultura trabalham com o repovoamento do pacamã há quase três décadas, ao longo de todo o São Francisco. O presente trabalho objetivou avaliar a diversidade genética de três plantéis de reprodutores de pacamã utilizados em programas de repovoamento no submédio e baixo São Francisco com relação a uma amostragem de indivíduos selvagens. De um total de 52 marcadores microsatélites, sete foram polimórficos com um número médio de alelos variando de 2,29 a 3,14. Adicionalmente, a região controle (D-loop) do DNA mitocondrial também foi sequenciada e 36 haplótipos, detectados. Uma perda de pelo menos 50% da diversidade haplotípica foi encontrada entre as estações quando comparada aos selvagens, entretanto, as microsatélites não foram capazes de evidenciá-la, devido ao baixo número de alelos presentes em todas as amostras. Quanto à estruturação genética, uma diferença significativa foi encontrada entre os animais selvagens e os de cativeiro, como também entre as estações, tanto pela rede de haplótipos como pelo coeficiente de diferenciação ( $F_{ST}$  e  $R_{ST}$ ). Essa estruturação entre cativeiro e selvagem está atrelada ao manejo empregado nas estações, que são aqui discutidos. A baixa diversidade genética encontrada nas microsatélites pode estar relacionada ao pequeno número de repetições, ou ainda ao comportamento da espécie que apresenta cuidado parental e deslocamentos pequenos que limitam o fluxo gênico. Esses resultados ressaltam a necessidade urgente de reformulação desses programas.

**Palavras-chave:** Diversidade genética; espécie ameaçada; microsatélites; D-loop; programas de repovoamento.

#### **ABSTRACT**

Pacamã (*Lophiosilurus alexandri*) is an endemic threatened catfish species of the São Francisco River basin, which is very appreciated by the riverside communities because of meat quality. Several fisheries stations have worked with the restocking of the pacamã for almost three decades throughout the São Francisco river. The present work aimed to evaluate the genetic diversity of three broodstocks of pacamã used in restocking programs in sub-middle and lower São Francisco river in relation to a sample of wild individuals. Out of 52 microsatellite markers, seven were polymorphic with an average number of alleles ranging from 2.29 to 3.14. In addition, the control region (D-loop) of the mitochondrial DNA was also sequenced and 30 haplotypes were detected. A loss of at least 50% of the haplotype diversity was found among the fisheries stations when compared to the wild conspecifics, however, the microsatellites were not able to evidence it, perhaps due to the low number of alleles present in all the samples. Regarding the genetic structuring, a significant difference was found between wild and captive animals and between stations, both by the haplotype network and by the genetic differentiation coefficient ( $F_{ST}$  and  $R_{ST}$ ). The genetic differences found between captive broodstock and wild individuals is probably associated to the management used in the stations, which

are discussed. The low genetic diversity found in the microsatellites may be related to the small number of repetitions, or to the behavior of the species that presents parental care and short displacements, limiting the gene flow. These results highlight the urgent need to reformulate these programs.

**Key words: Genetic diversity; threatened species; microsatellite; D-loop; restocking programs.**

## INTRODUÇÃO

O Brasil tem uma das maiores diversidades de peixes de águas continentais e um dos seus corpos d'água mais importantes é a bacia do rio São Francisco, que ocupa 8% do território nacional (KOHLENER, 2003; TENÓRIO, 2003) e, abriga pouco mais de 160 espécies de peixes (SATO e GODINHO, 1999; ALVES e POMPEU, 2001). Entretanto, fatores como a sobrepesca, degradação de mata ciliar, assoreamento, transposição, uso insustentável da água para irrigação e, principalmente, os impactos ambientais causados pela instalação de usinas hidrelétricas, que promovem o aumento da profundidade da coluna e o barramento do rio, tem impactado a ictiofauna local e cerca de 10% dessas espécies se encontram sob ameaça de extinção (MANETA et al, 2009; ICMBIO, 2018).

Dentre as espécies ameaçadas, encontra-se o pacamã *Lophiosilurus alexandri* (Steindachner, 1876), um bagre endêmico da bacia do rio São Francisco, pertencente a ordem Siluriformes e família Pseudopimelodidae (CARVALHO et al., 2016). *L. alexandri* é uma espécie sedentária, carnívora, de hábito noturno e que apresenta cuidado parental com a prole realizado pelo macho (SATO et al., 2003; SANTOS e LUZ, 2009). Devido ao seu hábito bentônico e preferência por ambientes lênticos, a espécie tem sido extremamente afetada pelas grandes profundidades geradas pelos barramentos ao longo do rio (TENÓRIO, 2003). Desta forma, o pacamã que já foi uma das espécies mais representativas do São Francisco, sofreu uma drástica redução na sua abundância nas regiões do submédio e baixo São Francisco e vem sendo inserida em programas de repovoamento (TENÓRIO, 2003).

Apesar de ser uma prática bastante comum, o repovoamento pode aumentar o impacto ambiental, e em muitos casos ser ineficiente, se a seleção dos reprodutores utilizados causar a diminuição da variabilidade genética das gerações seguintes (POVH et al., 2008). Esta redução pode levar ao comprometimento do potencial adaptativo da espécie, ocasionando a perda de resistência a doenças, diminuição de fertilidade e menor crescimento (TANIGUCHI, 2003; RODRIGUEZ-RODRIGUEZ et al., 2010; LOPERA-BARRERO et al., 2015), dessa forma diminuindo as chances

de sobrevivência desses animais quando são liberados em ambiente natural. Assim, o monitoramento genético dos plantéis de reprodutores, das proles repovoadas e das populações naturais é fundamental para assegurar a viabilidade dos programas de repovoamento de peixes e para evitar efeitos adversos na ictiofauna (LOPERA-BARRERO et al., 2006; SIROL e BRITTO, 2006; POVH et al., 2008).

Para espécies vulneráveis ou ameaçadas de extinção, aumentar ou manter o tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ) e, assim, manter os níveis de diversidade genética é considerado criticamente importante (SCHULTZ et al., 2009). Isso porque populações com baixos níveis de diversidade genética podem ser menos resistentes a estressores ambientais, como patógenos (HAWLEY et al., 2005) e mudanças climáticas (ALLENDORF et al., 2012). Uma estratégia sugerida para evitar a perda de variação genética é adicionar indivíduos de outras localidades, quando não houver estruturação genética (TALLMON et al., 2004). Assim, o manejo de espécies ameaçadas requer informações sobre a diversidade genética dentro das populações e os níveis de divergência genética entre as populações (HUGHES et al., 2005).

Os marcadores moleculares são ferramentas importantes para o monitoramento genético (POVH et al., 2008; RIBEIRO et al., 2009), sendo as microssatélites e a região controle (D-loop), SNP bastante utilizados para esse propósito (DANTAS et al., 2013; LOPERA-BARRERO et al., 2014; FERREIA et al., 2015; COIMBRA et al., 2017; SICCHA-RAMIREZ et al., 2018).

Diante da vulnerabilidade do *L. alexandri*, o presente trabalho objetivou avaliar a variabilidade genética de três plantéis de reprodutores de pacamã utilizados em programas de repovoamento no submédio e baixo São Francisco.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### *Amostragem e coleta de material biológico*

Foram coletadas amostras de tecido da nadadeira caudal de um total de 55 pacamãs (*Lophiosilurus alexandri*) dos plantéis de reprodutores de três Estações de Piscicultura do submédio e baixo São Francisco, sendo 20 pacamãs da Estação de Piscicultura da Chesf (Companhia Hidrelétrica do São Francisco) em Paulo Afonso (BA) (-9.39343, -38.20837), 23 reprodutores da Codevasf (Companhia de Desenvolvimento dos Vales São Francisco e do Parnaíba) em Bebedouro (PE) (-9.11424, -40.31181) e 12 pacamãs das Estações da Codevasf em Itiúba (AL) (-10.21052, -36.83433) e Betume (SE) (-10.35038, -36.67414), as quais compartilham o mesmo plantel de reprodutores. Os animais de Paulo Afonso e Bebedouro foram marcados com Passive Integrated Transponder (PIT) tags. Foram utilizadas amostras de 30 animais selvagens coletados em 2015 na região do submédio São Francisco, entre os reservatórios de Sobradinho (BA) (-9.73404, -41.72082) e Itaparica (PE) (-9.14388, -38.31333) e que foram conservadas a -80°C. Além disso, foram

analisadas 24 amostras de pacamãs selvagens provenientes do alto São Francisco (Três Marias, MG) que foram coletadas e cedidas pelo Laboratório de Genética da Conservação da PUC/Minas. Após as coletas, todas as amostras foram conservadas em etanol 95% e armazenadas no Laboratório de Genética Aplicada da Universidade Federal Rural de Pernambuco (LAGA-UFRPE), Recife, Brasil.

### *Extração do DNA*

As amostras de tecido foram digeridas por duas horas a 50° C e 37° C por doze horas em solução tampão (100mM de NaCl, 20 mM de Tris-HCl pH 7,5 e 100mM de EDTA), com uma concentração de 0,05% de Dodecil sulfato de sódio (SDS) e 100 µg/mL de proteinase K. Posteriormente, a fase aquosa foi extraída uma vez com fenol, uma vez com fenol/clorofórmio/álcool isoamílico e uma vez com clorofórmio. O DNA foi precipitado com etanol absoluto e lavado com etanol 70% seguido de centrifugação a 14000 rpm. Posteriormente foi ressuscitado em Tris-HCl/EDTA (TE) (10 mM Tris-HCl pH 8,0, EDTA 1 mM pH 8,0). As amostras de DNA foram quantificadas por fluorímetro (Quantus - Promega) e tiveram sua qualidade e integridade avaliadas por meio de eletroforese em gel de agarose a 0,8%.

### *Microssatélites*

Um conjunto de 178 loci de microssatélites potencialmente amplificáveis (PALs) foram descritos para o *Lophiosilurus alexandri* pelo Laboratório de Genética da Conservação da PUC/Minas. Desse conjunto, 52 loci foram, inicialmente, avaliados com as amostras dos pacamãs selvagens e apenas os loci que apresentaram polimorfismo foram, posteriormente, analisados nos animais do cativeiro. Os loci foram nomeados com a abreviação do nome da espécie “Lalex” seguida de um número. Os motivos de repetição testados foram variados, sendo 42 loci dinucleotídicos com oito repetições, oito loci com motivos trinucleotídicas e seis repetições e dois loci com cinco repetições tetranucleotídicas (Apêndice 1). Os primers forward receberam a inserção da cauda M13 (5'-TGTAACGACGGCCAGT-3') na extremidade 5'. As amplificações seguiram o protocolo de Schuelke (2000) modificado, com um volume final de 10 µl, sendo 50 ng de DNA, 10 mM de Tris-HCl pH 8,4, 50 mM de KCl, 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 2 µM do primer forward, 8 µM do primer reverse, 8 µM do fluorocromo (FAM, NED, PET ou VIC), 200 µM de cada dNTP e 1U de *Taq* DNA polimerase. As reações foram incubadas no termociclador e submetidas as seguintes condições de amplificação: 94° C por 5 minutos, seguidos de 30 ciclos de 94° C por 30 segundos, 56° C por 45 segundos e 72° C por 45 segundos, acompanhados de mais oito ciclos de 94° C por 30 segundos, 53° C por 45 segundos e 72° C por 45 segundos, acrescido de extensão final a 72° C por 10 minutos.

Os produtos de PCR foram separados por eletroforese capilar no ABI 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) utilizando o GeneScan 600 LIZ v2.0 (Applied Biosystems) como marcador de peso molecular.

#### *Região controle (D-loop)*

A região controle do mtDNA foi amplificada com o protocolo e os primers descritos por PEREIRA (2015) modificado, nomeados como D-loop LAlex F (5' ATGTTTCCTTGCGTGATTTG-3') e D-loop LAlex R (TGCAACTTGGCCTGGTTTAG) que foi modificado para "D-loop LAlex R1" (3'TCGAACTTGGCCTGGTTTAG-5'). A reação teve um volume final de 10  $\mu$ l, contendo 50 ng de DNA, 1x PCR Buffer; 2,5  $\mu$ M de cada primer, 200  $\mu$ M de cada dNTP e 1U de *Taq* DNA polimerase, 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub>. As reações foram incubadas a 94° C por 3 minutos, seguidos de 35 ciclos (94°C por 1 minuto, 61°C por 1 minuto e 72°C por 90 segundos), e extensão final de 7 minutos a 72°C.

Os produtos das reações foram purificados com EXOI/SAP (New England Biolabs) e submetidos a uma amplificação com um volume final de 10  $\mu$ l, contendo 10 ng do produto do DNA amplificado, 0,5  $\mu$ l de BigDye terminator v3.1, 1,75  $\mu$ l de tampão 5X, 10  $\mu$ M do primer forward. A amplificação seguiu as seguintes condições: desnaturação inicial por 2 minutos a 94°C, seguidos de 40 ciclos 94° C por 10 segundos, 55°C por 10 segundos e 4 minutos a 60°C.

Os amplicons foram purificados por meio de precipitação com NaOAC 3M pH 5,8, EDTA 125 mM pH 8 e etanol absoluto. As amostras foram sequenciadas utilizando o sequenciador automático ABI 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

#### *Análise dos dados genéticos*

##### *Microssatélites*

Análises estatísticas foram feitas para cada um dos locais de amostragem. Para os dados de microssatélite, utilizou-se o Software GENEPOP v4.0 (RAYMOND e ROUSSET, 1995), para obter o número de alelos ( $N_a$ ), heterozigosidades observadas ( $H_o$ ) e esperadas ( $H_e$ ), desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE), desequilíbrio de ligação, frequência alélica, e coeficiente de endogamia ( $F_{IS}$ ). O método da cadeia de Markov foi aplicado para estimar a probabilidade de desvio significativo de HWE, utilizando os seguintes parâmetros: número de dememorização = 1000, número de lotes = 100 e número de iterações por lote = 1000. A significância do desvio de HWE foi corrigida usando Bonferroni (RICE, 1989). O conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) foi calculado com o programa CERVUS v3.0.7 (KALINOWSKI et al., 2007).

A identificação de alelos nulos ( $A_n$ ) foi feita com o Micro-checker v2.2.3 (OOSTERHOUT et al., 2006). A diferenciação genética ( $F_{ST}$  e  $R_{ST}$ ) entre populações e sua significância por análise de variância molecular (AMOVA), foram estimadas usando Arlequin v3.01 (EXCOFFIER et al., 2005). A estrutura genética da população foi investigada com uma abordagem bayesiana no STRUCTURE v2.3.4, sob o modelo de mistura, o qual assume que os indivíduos podem possuir diferentes ancestrais, com contribuições genóticas de diferentes populações (PRITCHARD et al., 2000). Utilizou-se um período de burn-in de 10.000 interações, Markov Chain Monte Carlo (MCMC) com 100.000 réplicas e quatro repetições para cada valor hipotético de  $k$  ( $k = 1-10$ ).

O software STRUCTURE coloca os indivíduos em  $K$  subgrupos que possuem frequências aleatórias distintas sem informações prévias da população. O programa Structure Harvester v0.6.7 (EARL e VON, 2012) foi utilizado para coordenar os resultados e inferir o número mais provável de  $K$  (número de clusters – grupos genéticos), que é estimado através do log-verossimilhança dos dados ( $\ln(P(X/K))$ ) (FALUSH et al., 2003) e o melhor  $\Delta K$  foi baseado na taxa de mudança na probabilidade log dos dados (EVANNO et al., 2005).

#### *Região controle (D-loop)*

Os dados de sequenciamento do D-loop foram alinhados utilizando o método clustalW do MEGA v.7 (KUMAR et al., 2016), usando como referência a sequência KJ494387 do GenBank. Também com o MEGA v.7, foi obtido um dendrograma utilizando o método de associação média (UPGMA), no qual os grupos são ligados pela média de similaridade entre seus elementos. Para a construção desse dendrograma de similaridade, uma sequência do GenBank do *Ictalurus punctatus* (EF139164) foi adicionada ao alinhamento, para comprovar que todos os animais analisados eram *Lophiosilurus alexandri*. A fim de analisar a diversidade nucleotídica e haplotípica, número de haplótipos, distribuição de indivíduos por haplótipo e diferenças nucleotídicas dentro e entre populações, foi utilizado o DnaSP v6.10.04 (ROZAS et al., 2017). No programa Arlequin v3.5.22 (EXCOFFIER et al., 2005) foram realizadas a análise de variância molecular (AMOVA), total de sítios polimórficos e frequência por grupos, além do  $\Phi_{ST}$ , que é análogo a  $F_{ST}$  de Wright (1978), que indica a diferenciação genética entre populações (SLATKIN, 1993). O software Network v4.6.1.1 (BANDELT e DRESS, 1992) foi usado para a construção de uma rede de haplótipos das sequências da região controle baseado no método Median-Joining (BANDELT et al., 1999).

## RESULTADOS

### *Microsatélites*

Dos 52 loci microsatélites analisados, sete apresentaram polimorfismo, 41 foram monomórficos e 4 não amplificaram. Todos com motivos dinucleotídicos e oito repetições. O número de alelos, nos testes iniciais com os animais selvagens, variou de 2 (Lalex5 e Lalex19) a 6 (Lalex30) (Tabela 1). Os valores de conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) variaram de 0,202 a 0,675 (média: 0,461) (Tabela 1). Segundo Botstein et al. 1980, valores de PIC maiores que 0,5 indicam marcadores altamente informativos, valores entre 0,25 e 0,5 são razoavelmente informativos, e valores menores que 0,25 indicam marcadores ligeiramente informativos. Dos sete loci validados nas amostragens de pacamã selvagens do submédio e alto São Francisco, quatro se mostraram altamente informativos (Lalex1, Lalex9, Lalex15 e Lalex30), dois foram razoavelmente informativos (Lalex19 e Lalex25), e um se mostrou ligeiramente informativo (Lalex5). Valores semelhantes de PIC foram encontrados quando se incluiu os animais do cativeiro na análise, variando de 0,117 a 0,645 (média: 0,464). Quatros loci se mostraram altamente informativos (Lalex1, Lalex9, Lalex25 e Lalex30) dois foram razoavelmente informativos (Lalex15 e Lalex19), e apenas um se mostrou ligeiramente informativo (Lalex5), com valor de PIC igual a 0,117.

Tabela 1. Características dos sete microsatélites polimórficos e as sequências de primers utilizados.

Locus	Sequências dos primers (5' - 3')	Motivo de repetição	Varição do tamanho do alelo (pb)	$N_a$	PIC	Ta °C
Lalex1	F: GGACGTCATACCTTCTCTGTCC R: CTGAACACACTCAGAGGAAAGC	(AT)8	119 - 125	3	0,506	60
Lalex5	F: CCGTAACAGGCTCGGTTTT R: AGAGACAGGTCTGGGGAACA	(CT)8	135 - 139	2	0,202	60
Lalex9	F: CTATTACGGCTGTTTCCTTGG R: CTCATCTTGAGGAAACGTTGG	(CT)8	132 - 146	5	0,675	60
Lalex15	F: CACTTCATGGTCTGGCTTTG R: CACTGAAAGCACTATTGACAGCA	(AC)8	146 - 164	5	0,604	60
Lalex19	F: GAAATGAAACAGGCCAGGAA R: TGTAGAAGAGTAGACCACGAACTGA	(TC)8	194 - 200	2	0,293	60
Lalex25	F: AGACATGTTGCTGCCCTCCA R: CTATAGAAACAGAAGCGCTAA	(TG)8	184 - 286	4	0,279	60
Lalex30	F: CACCGATTGCTGAACTGAAGG R: ATGCAGAAAATCGCAAACA	(CG)8	177 - 203	6	0,668	60

$N_a$  número de alelos; PIC - conteúdo de informação de polimorfismo; Ta °C temperatura de anelamento dos primers.

A variabilidade genética para os sete loci microsatélites em cada uma das cinco amostragens estão apresentados na Tabela 2. Um total de 34 alelos foram encontrados, com um número de alelos

variando entre dois e oito e o número médio de alelos por amostragem entre 2,29 e 3,14. Um total de 12 alelos foram considerados privados, dos quais seis foram exclusivos da amostragem dos Selvagens do alto SF, dois dos Selvagens do submédio SF, dois da Estação de Bebedouro e um na Estação de Paulo Afonso e de Itiúba. Alelos nulos foram encontrados nos Lalex25 e Lalex30 apenas para os animais Selvagens do alto SF. Nenhum desequilíbrio de ligação foi observado entre os sete loci avaliados.

A média das heterozigosidades observadas ( $H_o$ ) e esperadas ( $H_e$ ) variaram entre 0,321 e 0,548 e entre 0,346 e 0,464, respectivamente. Os desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) foram significativos depois da correção de Bonferroni para o Lalex1 (Bebedouro e Selvagens do submédio SF), Lalex9 (Selvagens do alto SF), Lalex25 (Selvagens do alto SF) e Lalex30 (Bebedouro), mas nenhum dos loci desviou sistematicamente do HWE. Entre as 35 estimativas (7 loci x 5 grupos) de desvio, apenas cinco foram significantes.

Quanto à consanguinidade ( $F_{IS}$ ), 16/35 estimativas mostram-se positivas (Tabela 2), com valores médios entre -0,156 e 0,235.

Tabela 2. Diversidade genética para sete microssatélites estimados para o *L. alexandri* amostrado em três Estações de Piscicultura e dois trechos do São Francisco (alto e submédio).

Grupos	Lalex1	Lalex5	Lalex9	Lalex15	Lalex19	Lalex25	Lalex30	Médias
<b>Bebedouro</b>								
N	23	23	23	23	23	23	23	23
$N_a$	3	1	2	1	2	3	5	2,43
$A_n$	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	-
$H_e$	0,598	0	0,322	0	0,476	0,544	0,653	0,370
$H_o$	0,913	0	0,391	0	0,391	0,565	0,609	0,410
$F_{IS}$	-0,545	1	-0,222	1	0,182	-0,040	0,070	0,206
HWE	*	ns	ns	ns	ns	ns	*	-
<b>Paulo Afonso</b>								
N	19	20	20	20	20	20	20	19,9
$N_a$	3	2	5	1	2	4	2	2,71
$A_n$	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	-
$H_e$	0,679	0,050	0,660	0	0,262	0,664	0,549	0,409
$H_o$	0,684	0,050	0,550	0	0,300	0,550	0,300	0,348
$F_{IS}$	-0,009	0,000	0,171	1	-0,152	0,176	0,460	0,235
HWE	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-
<b>Itiúba</b>								
N	12	12	12	12	12	12	12	12
$N_a$	3	2	2	2	2	3	2	2,29
$A_n$	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	-
$H_e$	0,627	0,083	0,344	0,228	0,228	0,685	0,228	0,346
$H_o$	0,917	0,083	0,250	0,250	0,250	0,417	0,083	0,321
$F_{IS}$	-0,494	0,000	0,283	-0,100	-0,100	0,402	0,645	0,091



HWE	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	
<b>Selvagens - submédio SF</b>								
N	19	21	21	21	21	21	21	20,7
$N_a$	3	2	3	2	2	2	4	2,57
$A_n$	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	-
$H_e$	0,605	0,251	0,361	0,136	0,438	0,251	0,696	0,391
$H_o$	0,947	0,286	0,286	0,143	0,238	0,286	0,619	0,401
$F_{IS}$	-0,592	-0,143	0,213	-0,053	0,462	-0,143	0,113	-0,020
HWE	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-
<b>Selvagens - alto SF</b>								
N	17	21	21	21	20	21	20	20,1
$N_a$	3	2	3	3	2	4	5	3,14
$A_n$	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	Sim	-
$H_e$	0,599	0,215	0,553	0,535	0,262	0,336	0,747	0,464
$H_o$	0,941	0,238	0,952	0,810	0,300	0,095	0,500	0,548
$F_{IS}$	-0,600	-0,111	-0,754	-0,532	-0,152	0,721	0,337	-0,156
HWE	ns	ns	*	ns	ns	*	ns	-

N número de indivíduos,  $N_a$  número de alelos,  $A_n$  alelos nulos,  $H_e$  heterozigosidade esperada,  $H_o$  heterozigosidade observada;  $F_{IS}$ , coeficiente de endogamia, HWE desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg, *ns* não significativo, \*  $p < 0,05$ , ajustado pela correção de Bonferroni,  $K = 35$ .

A diferenciação genética  $F_{ST}$  total entre as Estações de Piscicultura foi de 0,15 e as estimativas par a par entre elas variaram de 0,05 e 0,24 ( $p < 0,05$ ). O  $R_{ST}$  total foi de 0,31 com as estimativas par a par variando de 0,02 a 0,67 (Tabela 3). Os resultados da AMOVA (apenas para as Estações) mostraram que a maior parte da variação (82,45%) encontrada pode ser explicada por diferenças dentro das Estações e não entre elas (15,06%) ( $p < 0,01$ ).

Tabela 3. Valores de  $F_{ST}$  par a par (diagonal abaixo) e  $R_{ST}$  par a par (diagonal acima) estimados para o *L. alexandri* amostrado em três Estações de Piscicultura e dois trechos do São Francisco (alto e submédio) .

	Bebedouro	Paulo Afonso	Itiúba	Selvagens - submédio SF	Selvagens - alto SF
Bebedouro	-	0,323	0,594	0,197	0,022
Paulo Afonso	0,199*	-	0,034	0,423	0,185
Itiúba	0,240*	0,058*	-	0,675	0,401
Selvagens - submédio SF	0,407*	0,353*	0,388*	-	0,100
Selvagens - alto SF	0,380*	0,230*	0,324*	0,344*	-

\* nível de significância  $p < 0,05$ .

Na análise bayesiana, o maior valor de probabilidade encontrado foi  $K = 2$ , sugerindo a presença de dois grupos genéticos (Figura 1). Todos os grupos sugeridos estão presentes nas cinco amostragens, entretanto em proporções distintas. O grupo 1 (vermelho), foi predominante entre os animais selvagens, com 96,7% nos selvagens do submédio e 96,8% nos selvagens do alto SF. No

cativeiro o grupo 2 (verde) foi mais expressivo, com 97% na Estação de Bebedouro, 89,1% em Paulo Afonso e 92,2% em Itiúba (Figura 2).

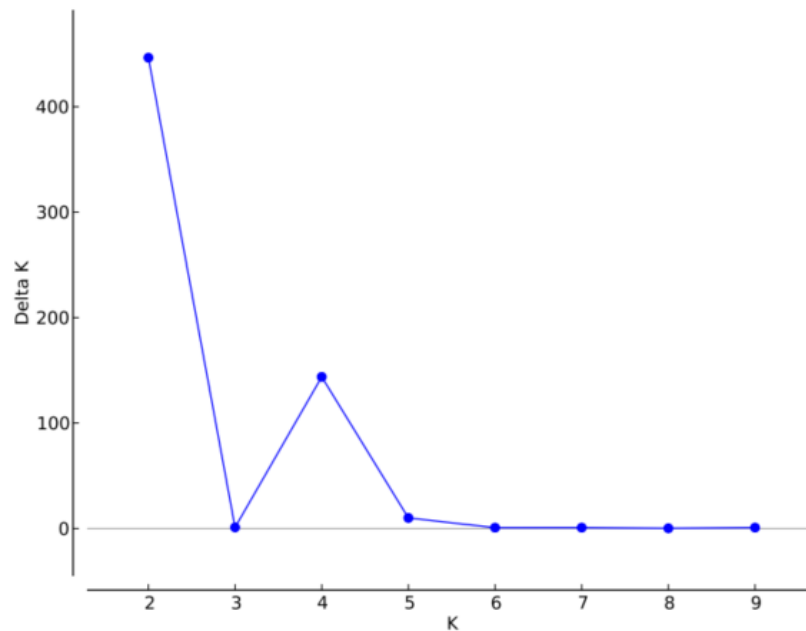


Figura 1. Valor de K estimado através do log-verossimilhança dos dados de exemplares de *L. alexandri* oriundos três Estações de Piscicultura e de dois trechos do São Francisco (alto e submédio). Eixo Y para os valores de delta (K) e eixo X para os diferentes valores de K testados.

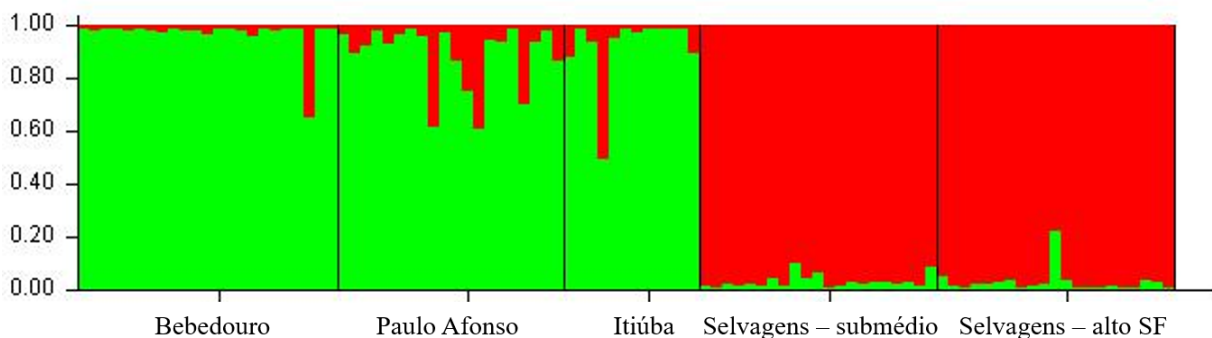


Figura 2. Atribuições dos genótipos de *L. alexandri* amostrados em três Estações de Piscicultura e dois trechos do São Francisco (alto e submédio). Cada barra vertical representa um indivíduo diferente e a cor do comprimento é proporcional ao grupo inferido.

### *Região controle (D-loop)*

Após a edição e o alinhamento das sequências da região controle do mtDNA foram obtidas 109 sequências, sendo 55 dos animais das três Estações de Piscicultura e 54 de animais selvagens. O fragmento do D-loop apresentou 424pb. Foram encontrados 36 sítios polimórficos (mutações), dos quais sete foram singletons e 29 parcimoniosamente informativos, todos com duas variantes.

Nas amostragens analisadas, as diversidades haplotípica ( $H_d$ ) e nucleotídica ( $\pi$ ) variaram entre 0 e 0,955, e entre 0 e 0,01156, respectivamente (Tabela 4). Já as distâncias genéticas ( $\Phi_{ST}$ ) entre

amostragens variaram entre 0,044 e 0,635 (Tabela 5). Os valores da AMOVA (apenas para as Estações) indicaram que a variação genética encontrada é explicada tanto por diferenças dentro (53,28%) como entre (46,72%) as Estações de Piscicultura ( $p < 0,01$ ).

Tabela 4. Diversidade haplotípica e nucleotídica estimados para o *L. alexandri* amostrado em três Estações de Piscicultura e dois trechos do São Francisco (alto e submédio) .

Populações	Número de espécimes	Número de haplótipos	Diversidade haplotípica (Hd)	Diversidade nucleotídica ( $\pi$ )
Selvagens - alto SF	24	11	0,862 ± 0,053	0,00912 ± 0,00067
Selvagens - submédio SF	30	18	0,943 ± 0,026	0,01156 ± 0,00181
Itiúba	12	9	0,955 ± 0,047	0,00513 ± 0,00058
Paulo Afonso	20	4	0,363 ± 0,131	0,00182 ± 0,00079
Bebedouro	23	1	0,000 ± 0,000	0,00000 ± 0,00000
Total	109	36	0,839 ± 0,033	0,00762 ± 0,00076

Tabela 5. Diferenciação genética  $\Phi_{ST}$  par a par estimada para o *L. alexandri* amostrado em três Estações de Piscicultura e dois trechos do São Francisco (alto e submédio).

	Est. Bebedouro	Est. Paulo Afonso	Est. Itiúba	Selvagens - submédio SF	Selvagens - alto SF
Est. Bebedouro	-				
Est. Paulo Afonso	0,04434*	-			
Est. Itiúba	0,63578*	0,50739*	-		
Selvagens - submédio SF	0,09746*	0,09882*	0,22265*	-	
Selvagens - alto SF	0,26051*	0,17819*	0,34711*	0,12152*	-

\* nível de significância  $p < 0,05$ .

Foram reconhecidos 36 haplótipos mitocondriais, 18 deles encontrados nos Selvagens do submédio São Francisco, 11 nos Selvagens do alto São Francisco, nove em Itiúba e quatro em Paulo Afonso (Tabela 4). Um dos haplótipos englobou 38,5% dos animais analisados e incluiu todos os 23 reprodutores de Bebedouro, 16 animais de Paulo Afonso, dois indivíduos de Itiúba e um Selvagem do submédio São Francisco. Na rede de haplótipos baseada no método median-joining, o número de mutações entre os haplótipos variou de um a nove (Figura 3).



Em outros Siluriformes, a porcentagem de microssatélites polimórficas é maior. Shibata et al (2013) descreveram 13 loci microssatélites para a *Microglanis cottoides* (Siluriformes, Pseudopimelodidae), sendo 11 (84,6%) polimórficos, com altos níveis de variabilidade, com o número de alelos variando de 2 a 20, média de 8,3 alelos por locus e  $H_e$  variando entre 0,119 e 0,931. Para o *Zungaro jahu* (Siluriformes, Pimelodidae), um outro bagre migrador, foram encontrados oito (57,1%) loci microssatélites polimórficos, de um total de 14 testados. Com uma variabilidade de 3 a 10 alelos, uma média de 6,7 alelos por locus e  $H_e$  entre 0,3298 e 0,8670 (CARRILLO-AVILA et al., 2009). Semelhantemente, num estudo com *Pseudoplatystoma corruscans* (Siluriformes, Pimelodidae) foram encontrados 5 loci polimórficos de 16 testados, os quais apresentaram uma variabilidade de 7 a 23 alelos e  $H_e$  entre 0,500 a 0,615 (REVALDAVES et al, 2005). Saulo-Machado et al. (2011), encontraram polimorfismo em todos os 15 loci analisados para o *Pseudoplatystoma punctifer* (Siluriformes, Pimelodidae), um bagre amazônico migrador (BUIRAGO-SUÁREZ e BURR, 2007), com um número de alelos entre 2 e 18 e  $H_e$  entre 0,025 e 0,931.

A baixa quantidade de loci polimórficos não é uma exclusividade do pacamã. HUGHES et al. (2015) estudou o peixe pulmonado australiano *Neoceratodus forsteri* (Sarcopterygii, Neoceratodontidae), que possui hábito sedentário e cuidado parental, e encontrou 11 microssatélites polimórficas em meio a 115 avaliadas e uma  $H_e$  variando entre 0,203 e 0,602, com 2 a 6 alelos por locus.

Durante muito tempo, acreditou-se que microssatélites com repetições dinucleotídicas deveriam ter um número mínimo de repetições e que o nível de polimorfismo estava diretamente relacionado com o comprimento total da microssatélite (SMULDERS et al., 1997; ELLEGREN, 2004). Weber (1990) comparou microssatélites do genoma humano e concluiu que um número mínimo de seis repetições era necessário para aumentar a taxa de mutação em nível suficiente para desenvolver polimorfismo. Mais recentemente, Tang et al. (2008) compararam microssatélites extraídas de ESTs (Expressed Sequence tags) em diversos organismos e concluiu que motivos dinucleotídicos curtos com um máximo de cinco repetições eram mais eficientes em mostrar polimorfismo do que os motivos longos com mais de 10 repetições.

Todos os sete marcadores microssatélites utilizados no presente estudo eram compostos de motivos dinucleotídicos perfeitos com um número de oito repetições, contudo, apesar do baixo número de alelos encontrados, foi possível observar uma leve diminuição do número médio de alelos presentes nos animais do cativeiro quando comparado com os animais selvagens, principalmente com os selvagens do alto São Francisco. Coimbra et al. (2017) detectaram uma perda significativa no número de alelos entre curimatãs-pacu *Prochilodus argenteus* selvagens e de cativeiro usando microssatélites de repetições di, tri e tetranucleotídicas de diversas naturezas (imperfeitas, perfeitas, compostas) com repetições entre 5 e 18. Semelhantemente, Matsumoto e Hilsdorf (2009) avaliando

a diversidade genética do *Brycon insignis* com microssatélites dinucleotídicas perfeitas com repetições entre 11 e 45, observaram a redução na riqueza de alelos de 28 a 57% entre animais do cativeiro e selvagens. Santos et al. (2016) utilizando um conjunto de microssatélites dinucleotídicas com repetições variando de 15 a 28, foram capazes de detectar a diminuição no número de alelos entre 39 e 56% em indivíduos de *Colossoma macropomum* selvagens e de cativeiro.

Na análise do genoma mitocondrial, 36 haplótipos foram encontrados nas cinco amostragens, sendo 29 foram encontrados nos 54 selvagens (29/54). Já nas amostragens do cativeiro, o número de haplótipos foi muito inferior, variando de um (Estação de Bebedouro) a nove (Estação de Itiúba). Proporções similares foram encontradas por Pereira (2015), que detectou 24 haplótipos de D-loop em 45 pacamãs (24/45) selvagens do alto São Francisco. Quando Pereira (2015) utilizou esses selvagens como reprodutores, também observou uma diminuição do número de haplótipos para seis já na F<sub>1</sub>, concluindo que a contribuição desigual das matrizes tem um forte efeito na redução da diversidade genética. Em programas de repovoamento na China com ciprinídeos, Li et al (2016) constataram uma perda no número de haplótipos equivalente a 50% entre *Percocypris pingi* selvagens e de cativeiro, enquanto Zhao et al (2017) detectaram uma redução da ordem de 70% entre os peixes selvagens e os de cativeiro de um programa destinado a recuperação do também ciprinídeo *Tanichthys albonubes*, que figura como “extinto na natureza”.

Em relação a diversidade haplotípica e nucleotídica, os valores variaram entre 0,862 e 0,943 de Hd e  $\pi$  entre 0,00912 e 0,01156 para os Selvagens do alto SF e submédio SF, respectivamente. O D-loop mostrou uma menor diversidade para a Estação de Bebedouro, que apresentou valores de Hd e  $\pi$  iguais a zero, uma vez que um único haplótipo ocorreu naquele grupo. Num estudo com *Geophagus brasiliensis*, um peixe sedentário que apresenta cuidado parental, Ferreira et al. (2015) encontraram valores de Hd entre 0 e 0,653 e  $\pi$  ente 0 e 0,013 para populações de diferentes pontos do rio Laranjinha. Os valores de zero para Hd e  $\pi$  na Estação de Bebedouro, sugerem um possível efeito “gargalo” nesse plantel. Gargalos aceleram o acúmulo de endogamia e sua prevenção, especialmente durante a formação dos plantéis, pode ser um dos aspectos mais importantes no gerenciamento de estoques de reprodutores (TAVE, 1999).

A possibilidade de que a baixa variabilidade genética seja uma característica natural das populações de pacamãs, associada ao seu comportamento sedentário com cuidado parental, não pode ser descartada. Alguns estudos sugerem que peixes neotropicais de água doce não migradores e que apresentam algum tipo de cuidado parental ou fecundação interna, possuem uma menor variabilidade genética (ZAWADZKI et al., 2005; LASSALA e RENESTO, 2007), uma vez que essas espécies são aparentemente, mais propensas à deriva genética e endogamia. É também esperado que estes animais apresentem uma distribuição mais heterogênea da diversidade ao longo dos diferentes trechos de um rio ou bacia ao qual pertençam (SOFIA et al., 2008).

Uma das maiores preocupações para a conservação da biodiversidade é a diversidade genética, pois pode afetar negativamente a viabilidade de uma espécie, podendo reduzir a adaptabilidade e a persistência da população (FRANKHAM et al., 2010; ALLENDORF et al., 2012). Os peixes de água doce são mais propensos à perda de biodiversidade, pois frequentemente suas populações são pequenas e fragmentadas, tornando-as mais suscetíveis à degradação de habitat, à poluição e à introdução de espécies exóticas (HUGHES et al. 2012).

A baixa diversidade genética encontrada nas Estações de Piscicultura voltadas ao repovoamento do rio São Francisco fica mais evidente para os dados do sequenciamento do D-loop, que claramente mostra uma redução de pelo menos 50% no número de haplótipos entre os animais selvagens e de cativeiro. A situação mais crítica é a da Estação de Bebedouro que apresentou um único haplótipo do D-loop. Segundo o gerente da Estação de Piscicultura de Bebedouro (Rozzano Figueiredo, comunicação pessoal), durante uma obra de ampliação daquela Estação em 2007, todos os reprodutores foram perdidos após um incidente com o tanque onde eram mantidos e, aparentemente, alevinos oriundos de uma mesma fêmea reprodutora foram engordados para reconstruir o plantel de reprodutores, o que explica a ocorrência de um único haplótipo.

Em uma revisão realizada por Araki e Schmid (2010), foram analisados 32 trabalhos que comparavam o nível de diversidade genética entre os estoques do cativeiro e estoques selvagens. Vinte e um desses trabalhos relataram um menor número de alelos encontrados nos animais de cativeiro, quando comparados aos selvagens. Uma redução na heterozigosidade também foi encontrada em vários casos, mas não tão frequentemente quanto a redução do número de alelos.

Quaisquer que sejam os fatores determinantes dessa perda, essa fragilidade genética é motivo de preocupação, uma vez que impactos ambientais futuros (como a seca, dejetos da mineração, poluição urbana, novas hidroelétricas, etc.) podem reduzir ainda mais a diversidade dessas populações, ameaçando sua viabilidade (VITORINO et al., 2017), podendo chegar à extinção (MARKERT et al., 2010).

Como as microssatélites, aqui utilizadas, mostraram um baixo polimorfismo em termos de número de alelos (de dois a oito), é importante destacar que seria necessário um número muito maior delas para se estimar com maior precisão as diferenças de diversidade entre o cativeiro e os animais selvagens. Contudo, os resultados das microssatélites quando analisados em conjunto com os dados de sequenciamento do D-loop, são capazes de mostrar a perda de diversidade genética dos cativeiros de pacamã e deve ser usado sempre que possível para complementar análises envolvendo outros marcadores, como os SNPs, por exemplo.

A análise bayesiana do Structure (Figura 2) evidencia uma diferenciação entre os animais do cativeiro e os selvagens. Quando analisados apenas os dados do cativeiro, os cálculos dos  $F_{ST}$ ,  $R_{ST}$  mostraram uma maior semelhança entre as Estações de Paulo Afonso e Itiúba. Por outro lado, os dados de  $\Phi_{ST}$  par a par, como também o compartilhamento dos haplótipos, mostraram que as Estações da Paulo Afonso e Bebedouro são mais semelhantes entre si do que a de Itiúba. A Estação de Bebedouro forneceu alevinos para recompor os plantéis de reprodutores tanto de Paulo Afonso como de Itiúba, em 2011 e 2012, respectivamente. Aparentemente, essa introgressão foi maior em Paulo Afonso do que em Itiúba, já que 16 dos 20 indivíduos coletados em Paulo Afonso compartilhavam o mesmo único haplótipo de Bebedouro, enquanto que essa fração foi de apenas 2/12 em Itiúba.

Segundo o gerente da Estação de Piscicultura de Paulo Afonso (Miguel Arcanjo dos Santos Neto, comunicação pessoal), cerca de 500 alevinos oriundos de uma Estação de Piscicultura do alto São Francisco, em Três Marias pertencente também à Codevasf, foram doados em 2007 à Estação de Paulo Afonso com o intuito de aumentar o plantel de reprodutores desta última. Isto explica porque essa Estação compartilha o haplótipo 9 encontrado entre selvagens do alto São Francisco. Contudo, segundo ele, a maior parte destes animais trazidos não sobreviveram e nova doação ocorreu em 2012, desta vez por parte de Bebedouro.

Apesar do baixo número de animais amostrados na Estação de Itiúba, esta apresentou o maior número de haplótipos entre todas as estações. Essa Estação teve seu plantel de reprodutores construído a partir de indivíduos selvagens coletados no baixo São Francisco e só sofreu nova injeção em 2012, sendo possível a presença de animais remanescentes de origem selvagem neste plantel.

As informações obtidas com o sequenciamento do D-loop retratam a história de formação desses plantéis mais fielmente do que aquela obtida com os microssatélites. Esse fato deixa clara a necessidade de se aumentar o número de marcadores microssatélite com alto polimorfismo ou de se investir em outros marcadores, como os SNPs, que ocorrem em maior número, uma vez que sabidamente os marcadores de origem nuclear são mais apropriados para análises dessa natureza do que os mitocondriais (ARAKI e SCHMID, 2010).

A diferenciação encontrada entre os selvagens e os animais do cativeiro pode ser resultante do manejo de reprodutores empregado pelas Estações de Piscicultura. A maior parte delas não dispõem de recursos e pessoal qualificado para capturar reprodutores periodicamente (capture based restocking), dificultando a renovação de seus plantéis, tampouco para marcarem seus animais com PIT tags. Além disso, o pacamã já não é uma espécie de frequente ocorrência e, portanto, sua captura não é um processo trivial. Frente a essa dificuldade, as Estações são levadas a utilizar as proles, oriundas dos cruzamentos, como futuros reprodutores (culture based restocking). Quando não se tem o controle efetivo das relações de parentesco entre reprodutores, é provável que cruzamentos sejam



conduzidos entre indivíduos aparentados, como irmãos-completos ou meio-irmãos. Adotando-se esse método, pode-se ter uma redução dramática da diversidade genética em poucas gerações, a exemplo do que se registrou na Estação de Bebedouro, quando um único haplótipo foi encontrado dentre 23 indivíduos amostrados, contrastando com os 29 haplótipos detectados entre 54 selvagens.

A adoção do método “culture based restocking” requer uma estratégia sofisticada fundamentada na utilização de um número mínimo de animais para a formação do plantel fundador, na marcação física de todos os indivíduos e no conhecimento de suas relações de parentesco. Machado-Schiaffno et al, (2007) relataram as perdas de diversidade em juvenis de salmão do Atlântico (*Salmo salar* L.), provenientes de programas de repovoamento, quando comparados a indivíduos selvagens, provavelmente devido ao efeito gargalo causado pelo número reduzido de reprodutores utilizados nos cruzamentos.

A Estação de Xique-xique (BA), que não fez parte das amostragens desse estudo, obteve a primeira desova de pacamã em 2017 (CODEVASF, 2017), mas todas as outras estações já trabalham com o repovoamento do pacamã há mais de duas décadas (TENÓRIO, 2003). A Estação de Três Marias (MG), que também não foi analisada nesse estudo, é a única que tem utilizado a estratégia de renovação dos reprodutores a cada novo período reprodutivo. Todas as outras estações utilizam o mesmo plantel durante anos, substituindo os animais que morrem com as proles descendentes. Além disso, os reprodutores não possuem nenhum tipo de identificação/marcação e, geralmente, são mantidos em grandes tanques com proporções desiguais entre machos e fêmeas, impossibilitando saber o número da população efetiva e se todos os animais estão deixando descendentes.

Segundo Miller e Kapuscinski (2003), não existe um número mínimo universal ideal para compor um plantel de reprodutores, embora comumente seja recomendado pela literatura o uso de 50 animais, como estratégia para diminuir a perda de alelos entre gerações e prevenir os efeitos da endogamia (FRANKEL e SOULÉ, 1981), além da preservação do fitness a curto prazo (FAO, 1980). Para espécies raras e ameaçadas de extinção, Ortega-Villaizan et al. (2011), recomendam a utilização do modelo de mínimo parentesco (MK- Minimal Kinship), que utiliza dados de microssatélites e se baseia na proporção média de compartilhamento de alelos, sendo o mais recomendado para diminuir a perda de variação genética relacionada ao efeito fundador e à deriva genética, em populações de cativeiro. Eles afirmam que um número efetivo de parentais contribuintes de pelo menos 150, seria o ideal para preservar cerca de 80% do número de alelos e 100% da heterozigosidade esperada durante trinta gerações.

Outros métodos baseados em marcadores co-dominantes, também são usados para identificar a relação de parentesco entre animais, como Ritland (1996), Lynch e Ritland (1999) e Queller e Goodnight (1989). Apesar da variedade de estimadores existentes, o ideal é que testes sejam

conduzidos com diferentes estimadores e grupos com grau de parentesco conhecido, afim de se identificar qual é o melhor para uma dada espécie (ORTEGA-VILLAIZAN et al., 2011).

Um outro fator importante a ser considerado é a proporção sexual utilizada nos cruzamentos, através de seleção e acasalamento, entre indivíduos geneticamente importantes, diferentemente do que ocorre quando se efetua acasalamentos ao acaso (BALLOU e LACY 1995; SEKINO et al., 2004). Num estudo com pacu (*Piaractus mesopotamicus*) Lopera-Barrero et al. (2007) avaliou dois tipos de cruzamentos (1:1 e 2:1, macho:fêmea) em sistemas de reprodução semi-natural e encontrou uma perda de variabilidade genética no sistema que utilizou dois machos para cada fêmea (2:1). Semelhantemente, Lopera-Barrero et al (2010) utilizaram um pequeno plantel de 24 animais, e conseguiram estabilizar a variabilidade genética utilizando a proporção de parentais (1:1) um macho para cada fêmea de *Brycon orbignyianus*. Para o repovoamento do esturjão, Pierre (1996) recomendou a utilização de pelo menos seis animais selvagens, numa proporção de (1:1) e que deveriam ser utilizados apenas por um período reprodutivo, além de evitar a mistura de esperma de múltiplos doadores em caso de fertilização artificial.

A escolha por reprodutores selvagens é corroborada por Christie et al. (2014), que ao compilarem trabalhos sobre reprodução de quatro espécies de salmão em cativeiro, concluíram que os animais gerados no cativeiro apresentam apenas metade do sucesso reprodutivo quando comparado aos animais de origem selvagem, além disso sugeriram que os machos são mais suscetíveis a mudanças genéticas e ambientais causadas pela reprodução no cativeiro. Recomenda-se a utilização do maior número efetivo de reprodutores possível, preferivelmente de animais não aparentados, e realizar cruzamentos com igual proporção sexual, a fim de manter o potencial genético das proles produzidas (BROWN et al., 2005; FROST et al., 2006).

O manejo das progênies também pode influenciar na diversidade genética dos programas de repovoamento. Rodriguez-Rodriguez et al (2010) sugeriram que as progênies destinadas ao repovoamento deveriam passar por uma primeira análise genética no estágio larval (3 dias após eclosão), o que proporcionaria uma visão geral da nova geração genética. Então, com 60 ou 90 dias, dependendo das condições do cativeiro, uma segunda análise poderia ser feita para determinar objetivamente a variabilidade genética final com a qual os indivíduos seriam liberados no rio. Segundo Lopera-Barrero et al (2008), estas análises devem ser realizadas para determinar quais indivíduos deverão ser liberados e determinar a verdadeira viabilidade de repovoamento, impedindo a introdução de material genético com alta diferenciação genética em relação a população selvagem.

Há muitos elementos capazes de comprometer o sucesso de um programa de repovoamento, pois além da diversidade genética, aspectos ecológicos relacionados à soltura dos alevinos também interferem sobre o sucesso do repovoamento no que diz respeito ao recrutamento, tais como o tamanho de soltura, local de soltura, presença de predadores, disponibilidade de alimento no local de

soltura, etc (STØTTRUP e SPARREVOHN, 2007; PERSAT et al., 2016). Dados de sobrevivência, principais causas de mortalidade, contribuições dos animais repovoados para as gerações futuras e seus possíveis impactos no ambiente podem ser usados como parâmetros para mensurar o sucesso de programas de repovoamento. Complementarmente, é importante determinar se os animais introduzidos estão chegando à idade adulta e se apresentam sucesso reprodutivo.

Segundo LOPES et al., 2013, a Chesf sozinha foi responsável pelo repovoamento de 347.181 alevinos de pacamã em todo o São Francisco entre 1995 e 2012. Contudo, relatórios da Chesf para o monitoramento da pesca artesanal no submédio e baixo São Francisco, durante o período de junho de 2017 a abril de 2018, revelam uma média de captura mensal para o pacamã de 52,69 kg, 783,5 kg de curimatã e 2861,3 kg de pacu (CHESF, 2017, 2018). O que mostra que a disponibilidade de *L. alexandri* no ambiente selvagem ainda é muito pequena, mesmo com tantos anos de repovoamento para a espécie.

Dadas as potenciais ameaças de estocar indivíduos altamente divergentes ou geneticamente enfraquecidos (MEFFE, 1990; HUEY et al., 2013) e o baixo índice de sucesso do modelo atual adotado pelo programas de repovoamento, deve-se considerar a possibilidade de se investir em estratégias que adotem o modelo de repovoamento baseado em capturas, que pode demandar algum investimento na aquisição de exemplares selvagens, mas que garantiria a manutenção da diversidade genética, diminuindo as diferenças entre repovoados e selvagens.

## CONCLUSÃO

O número de haplótipos da região controle do mtDNA nos reprodutores das três Estações de Piscicultura avaliadas, foi de um para Bebedouro, quatro em Paulo Afonso e nove em Itiúba. De um total de 52 marcadores microsatélites avaliados, sete foram validados em dois grupos de animais selvagens amostrados no submédio e no alto São Francisco e em três Estações de Piscicultura nas regiões do submédio e baixo São Francisco. A diversidade genética dos animais do cativeiro não representa a diversidade presente na população selvagem do submédio São Francisco, portanto, recomenda-se a renovação desses plantéis e a inserção de novas estratégias como marcação, desovas individualizadas, proporção igual de machos e fêmeas, avaliação do grau de parentesco, cruzas geneticamente direcionadas, etc, para que o animais que venham a ser repovoados possuam uma variabilidade genética semelhante à população natural.

Alternativamente, deve-se considerar a possibilidade de se adotar o modelo de repovoamento baseado em capturas, ainda que isso demande alterações na logística dessas estações de piscicultura. Futuros estudos para identificação dos melhores locais de estocagem e identificação do melhor

tamanho de soltura, de maneira que o animais não sejam domesticados são também essenciais para o sucesso dos programas de repovoamento do pacamã.

## REFERÊNCIAS

ALLENDORF, F.W.; LUIKART, G.H.; AITKEN, S.N. **Conservation and the genetics of populations**. Oxford: Wiley Blackwell Publishing, 2012. 610p.

ALVES, C.B.M.; POMPEU, P.S. **Peixes do rio das Velhas: passado e presente**. Belo Horizonte: Segrac, 2001. 194p.

ARAKI, H.; SCHMID, C. Is hatchery stocking a help or harm? Evidence, limitations and future directions in ecological and genetic surveys. **Aquaculture**, v.308, p.2-11, 2010.

BALLOU, J.D.; LACY, R.C. Identifying genetically important individuals for management of genetic diversity in pedigreed populations. In: BALLOU, J.D., GILPIN, M., FOOSE, T.J. (Eds.), **Population Management for Survival & Recovery. Analytical Methods and Strategies in Small Population Conservation**. New York: Columbia University Press, 1995. p.76-111.

BANDELT, H.J.; DRESS, A.W.M. Split decomposition: A new and useful approach to phylogenetic analysis of distance data. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.1, p.242–252, 1992.

BANDELT, H.J.; FORSTER, P.; ROHL, A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. **Molecular Biology and Evolution**, v.16, p.37–48, 1999.

BOTSTEIN, D.; WHITE, R.L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R.W. Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**, v.32, p.314-331, 1980.

BROWN, R.C.; WOOLLIAMS, J.A.; MCANDREW, B.J. Factors influencing effective population size in commercial population of gilthead seabream, *Sparus aurata*. **Aquaculture**, v.247, p.219-225, 2005.

BUITRAGO-SUAREZ, 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.

CARRILLO-AVILA, M.; RESENDE, E.K.; MARQUES, D.K.S.; GALETTI, P.M. Isolation and characterization of polymorphic microsatellites in the threatened catfish Jaú, *Zungaro jahu* (Siluriformes, Pimelodidae). **Conservation Genetics**, v.10, p.1597–1599, 2009.

CARVALHO, D.C.; PERINI, V.R.; BASTOS, A.S.; COSTA, I.R.; LUZ, R.K.; FURTADO, C.; PROSDOCIMI, F. The complete mitochondrial genome of the threatened neotropical catfish *Lophiosilurus alexandri* (Siluriformes: Pseudopimelodidae) and phylogenomic analysis indicate monophyly of Pimelodoidea. **Genetics and Molecular Biology**, v.39, p.674-677, 2016.

CHESF. Subprograma de Monitoramento da Pesca Artesanal, Relatório 01. Porto Alegre, Junho 2017 a. Disponível em: <<http://www.chesf.gov.br/sustentabilidade/Pages/MeioAmbiente/Monitoramento-do-Rio-Sao-Francisco.aspx>>. Acesso em: 3 de fevereiro 2019.

CHESF. Subprograma de Monitoramento da Pesca Artesanal, Relatório 02. Porto Alegre, Julho 2017 b. Disponível em: <<http://www.chesf.gov.br/sustentabilidade/Pages/MeioAmbiente/Monitoramento-do-Rio-Sao-Francisco.aspx>>. Acesso em: 3 de fevereiro 2019.

CHESF. Subprograma de Monitoramento da Pesca Artesanal, Relatório 04. Porto Alegre, Agosto 2017 c. Disponível em: <<http://www.chesf.gov.br/sustentabilidade/Pages/MeioAmbiente/Monitoramento-do-Rio-Sao-Francisco.aspx>>. Acesso em: 3 de fevereiro 2019.

CHESF. Subprograma de Monitoramento da Pesca Artesanal, Relatório 05. Porto Alegre, Setembro - Outubro 2017 d. Disponível em: <<http://www.chesf.gov.br/sustentabilidade/Pages/MeioAmbiente/Monitoramento-do-Rio-Sao-Francisco.aspx>>. Acesso em: 3 de fevereiro 2019.

CHESF. Subprograma de Monitoramento da Pesca Artesanal, Relatório 06. Porto Alegre, Outubro - Novembro 2017 e. Disponível em: <<http://www.chesf.gov.br/sustentabilidade/Pages/MeioAmbiente/Monitoramento-do-Rio-Sao-Francisco.aspx>>. Acesso em: 3 de fevereiro 2019.

CHESF. Subprograma de Monitoramento da Pesca Artesanal, Relatório 07. Porto Alegre, Novembro - Dezembro 2017 f. Disponível em: <<http://www.chesf.gov.br/sustentabilidade/Pages/MeioAmbiente/Monitoramento-do-Rio-Sao-Francisco.aspx>>. Acesso em: 4 de fevereiro 2019.

CHESF. Subprograma de Monitoramento da Pesca Artesanal, Relatório 08. Porto Alegre, Dezembro - Janeiro 2017 g, 2018 a. Disponível em: <<http://www.chesf.gov.br/sustentabilidade/Pages/MeioAmbiente/Monitoramento-do-Rio-Sao-Francisco.aspx>>. Acesso em: 4 de fevereiro 2019.

CHESF. Subprograma de Monitoramento da Pesca Artesanal, Relatório 09. Porto Alegre, Janeiro - Fevereiro 2018 b. Disponível em: <<http://www.chesf.gov.br/sustentabilidade/Pages/MeioAmbiente/Monitoramento-do-Rio-Sao-Francisco.aspx>>. Acesso em: 4 de fevereiro 2019.

CHESF. Subprograma de Monitoramento da Pesca Artesanal, Relatório 10. Porto Alegre, Fevereiro - Março 2018 c. Disponível em: <<http://www.chesf.gov.br/sustentabilidade/Pages/MeioAmbiente/Monitoramento-do-Rio-Sao-Francisco.aspx>>. Acesso em: 4 de fevereiro 2019.

CHESF. Subprograma de Monitoramento da Pesca Artesanal, Relatório 11. Porto Alegre, Março - Abril 2018 d. Disponível em: <<http://www.chesf.gov.br/sustentabilidade/Pages/MeioAmbiente/Monitoramento-do-Rio-Sao-Francisco.aspx>>. Acesso em: 4 de fevereiro 2019.

COIMBRA, M.R.M.; LIMA, A.P.S.; OLIVEIRA, K.K.C.; SEVERI, W. Microsatellite assessment of the genetic diversity in indigenous populations of curimba (*Prochilodus argenteus*) in the São Francisco river (Brazil). **Conservation Genetics**, v.18, p.965–975, 2017.

CHRISTIE, M.R.; FORD, M.J.; BLOUIN, M.S. On the reproductive success of early-generation hatchery fish in the wild. **Evolutionary Applications**, v.7, p.883-896, 2014.

CODEVASF. Centro integrado da Codevasf realiza primeira desova de pacamã. Brasília. Disponível em: <<http://www.codevasf.gov.br/noticias/2017-1/centro-integrado-da-codevasf-realiza-primeira-desova-de-pacama/?searchterm=constru%C3%A7%C3%A3o>>. Acesso em: 3 de fevereiro 2019.

DANTAS, H.L.; SANTOS NETO, M.A.; OLIVEIRA, K.K.C.; SEVERI, W.; DINIZ, F.M.; COIMBRA, M.R.M. Genetic diversity of captive and wild threatened catfish *Pseudoplatystoma corruscans* in the Sao Francisco River. **Reviews in Fisheries Science**, v.21, p.237-246, 2013.

ELLEGREN, H. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. **Nature Reviews Genetics**, v.5, p.435–445, 2004.

EARL, D.A.; VON, H.B.M. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. **Conservation Genetics Resources**, v.4, p.359–361, 2012.

EVANNO, G.; REGNAULT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure. A simulation study. **Molecular Ecology**, v.14, p.2611-2620, 2005.

EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. **Evolutionary Bioinformatics**, v.1, p.47–50, 2005.

FAO. Conservation of the genetic resources of fish: problems and recommendations. Report of the expert consultation on the genetic resources of fish. Rome, Fisheries Technical Paper No. 217, 1980.

FALUSH, D.; STEPHENS, M.; PRITCHARD, J.K. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. **Genetics**, v.164, p.1567-1587, 2003.

FERREIRA, G.G.; GALINDO, B.A.; FRANTINE-SILVA, W.; ALMEIDA, F.S. SOFIA, S.H. Genetic structure of a Neotropical sedentary fish revealed by AFLP, microsatellite and mtDNA markers: a case study. **Conservation Genetics**, v.16, p.151-166, 2015.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J.D.; BRISCOE, D.A. Introduction to conservation genetics. Cambridge: Cambridge University Press, 2010. 610p.

FRANKEL, O.H.; SOULÉ, M.E. **Conservation and Evolution**. Cambridge, New York: Cambridge University Press, 1981. 327p.

FROST, L.A.; EVANS, B.S.; JERRY, D.R. Loss of genetic diversity due to hatchery culture practices in barramundi (*Lates calcarifer*). **Aquaculture**, v.261, p.1056-1064, 2006.

HAWLEY, D.M.; SYDENSTRICKER, K.V.; KOLLIAS, G.V.; DHONDT, A.A. Genetic diversity predicts pathogen resistance and cell-mediated immunocompetence in house finches. **Biology Letters**, v.1, p.326–329, 2005.

HUEY, J.A.; ESPINOZA, T.; HUGHES, J.M. Natural and anthropogenic drivers of genetic structure and low genetic variation in the endangered freshwater cod, *Maccullochella mariensis*. **Conservation Genetics**, v.14, p.997-1008, 2013.

HUGHES, J.M.; REAL, K.M.; MARSHALL, J.C.; SCHMIDT, D.J. Extreme genetic structure in a small-bodied freshwater fish, the purple spotted gudgeon, *Mogurnda adspersa* (Eleotridae). **Plos One**, v.7, p.1-11, 2012.

HUGHES, J.M.; SCHMIDT, D.J.; HUEY, J.A.; REAL, K.M.; ESPINOZA, T.; MCDOUGALL, A.; KIND, P.K.; BROOKS, S.; ROBERTS, D.T. Extremely Low Microsatellite Diversity but Distinct Population Structure in a Long-Lived Threatened Species, the Australian Lungfish *Neoceratodus forsteri* (Dipnoi). **Plos One**, v.10, p.1-14, 2015.

ICMBIO, **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção**: Volume VI – Peixes. Brasília, DF: ICMBio/MMA, 2018. p.76.

KALINOWSKI, S.T.; TAPER, M.L.; MARSHALL, T.C. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. **Molecular Ecology**, v.16, p.1099-1106, 2007.

KOHLER, H.C. Aspectos geológicos da bacia hidrográfica do São Francisco. In: GODINHO, H.P.; GODINHO, S.L. (org). **Águas, Peixes e Pescadores do São Francisco das Minas Gerais**. Belo Horizonte. PUC Minas, 2003. 468p.

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. **Molecular Biology and Evolution**, v.33, p.1870-1874, 2016.

LASSALA, M.D.P.; RENESTO, E. Reproductive strategies and genetic variability in tropical freshwater fish. **Genetics and Molecular Biology**, v.30, p.690–697, 2007.

LI, X.; DENG, Y.; YANG, K.; GAN, W.; ZENG, R.; DENG, L.; SONG, Z. Genetic Diversity and Structure Analysis of *Percocypris pingi* (Cypriniformes: Cyprinidae): Implications for Conservation and Hatchery Release in the Yalong River. **Plos One**, v.11, p.1-18, 2016.

LOPERA-BARRERO, N.M.; ALVAREZ, C.A.R.; RODRIGUEZ RODRIGUEZ, M.P.; POVH, J. A.; VARGAS, L.; STREIT JÚNIOR, D.P.; SIROL, R.N.; RIBEIRO, R.P. Diversidade genética e paternidade de progênes de *Brycon orbignyanus* obtidas por diferentes sistemas reprodutivos. **Semina Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 541-554, 2014.

LOPERA-BARRERO, N.M.; LIMA, E.; FILHO, L.; GOES, E.; CASTRO, P.; ZARDIN, A.; POVEDA-PARRA, A.; RIBEIRO, R. Genetic variability of broodstocks of restocking programs in Brazil. **Revista MVZ Córdoba**, v.20, p.4677-4687, 2015.

LOPERA-BARRERO, N.M.; RIBEIRO, R.P.; POVH, J.A.; GOMES, P.C.; VARGAS, L.; OLIVEIRA, S.N. Caracterización genética de lotes de peces usados en programas de repoblamiento y su importancia en la conservación genética en la piscicultura. **Zootecnia Tropical**, v.26, p.515-522, 2008.



LOPERA-BARRERO, N.M.; RIBEIRO, R.P.; SIROL, R.N. et al. Genetic diversity in piracanjuba populations (*Brycon orbignyanus*) with the RAPD (Random Amplified Polimorphic DNA) markers. **Journal of Animal Science**, v.84, p.170-170, 2006.

LOPERA-BARRERO, N.M.; VARGAS, L.; SIROL, R.N.; RIBEIRO, R.P.; POVH, J.A.; MANGOLIN, C.A. Caracterização genética de *Brycon orbignyanus* utilizando o sistema seminatural. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, p.184-191, 2010.

LOPERA-BARRERO, N.M.; STREIT JR, D.P.; SIROL, R.N.; RIBEIRO, R.P.; POVH, J.A.; VARGAS, L.; GOMES, P.C.; LOPES, T.S.; JACOMETO, C.B; BLANCK, D.V. Monitoramento da diversidade genética dos reprodutores e da progênie de *Piaractus mesopotamicus* obtida pelo sistema seminatural. In: Congresso Brasileiro de produção de peixes nativos de água doce, 1, 2007. Dourados. **Anais**. Embrapa Agropecuária Oeste. Dourados. Documentos 87.

LOPES, J.P.; FRANCA, F.L.; SANTOS NETO, M.A. O domínio na produção de alevinos de pacamã: Propagação na Chesf permite repovoamento no rio São Francisco. **Panorama da Aquicultura**, v.23, p.24-29, 2013.

LYNCH, M.; RITLAND, K. Estimation of Pairwise Relatedness with Molecular Markers. **GENETICS**, v.152, p.1753-1766, 1999.

MACHADO-SCHIAFFINO, G.; DOPICO, E.; GARCIA-VAZQUEZ, E.; Genetic variation losses in Atlantic salmon stocks created for supportive breeding. **Aquaculture**, v.264, p.59-65, 2007.

MANETA, M.P.; TORRES, M.; WALLENDER, W.W.; VOSTI, S.; KIRBY, M.; BASSOI, L.H.; RODRIGUES, L.N. Water demand and flows in the São Francisco River Basin (Brazil) with increased irrigation. **Agricultural Water Management**, v.96, p.1191-1200, 2009.

MARKERT, J.A.; CHAMPLIN, D.M.; GUTJAHR-GOBELL, R.; GREAR, J.S.; KUHN, A.; MCGREEVY, T.J.; NACCI, D.E. Population genetic diversity and fitness in multiple environments. **BMC Evolutionary Biology**, v.10, p.1-13, 2010.

MARTINEZ, A.S.; WILLOUGHBY, J.R.; CHRISTIE, M.R. Genetic diversity in fishes is influenced by habitat type and life-history variation. **Ecology and Evolution**, v.8, p.1-10, 2018.

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.

MEFFE, G.K. Genetic approaches to conservation of rare fishes: examples from North American desert species. **Journal of Fish Biology**, v.37, p.105-112, 1990.

MILLER, L.M; KAPUSCINSKI, A.R. Genetic guidelines for hatchery supplementation programs. In: HALLERMAN, E.M. (org). Population Genetics: Principles and Applications for Fisheries Scientists. Maryland, American Fisheries Society, 2003. p.341-350.

OOSTERHOUT, C.V.; WEETMAN, D.; HUTCHINSON, W.F. Estimation and adjustment of microsatellite null alleles in nonequilibrium populations. **Molecular Ecology Notes**, v.6, p.255–256, 2006.

ORTEGA-VILLAIZAN, M.M.; NOGUCHI, D.; TANIGUCHI, N. Minimization of genetic diversity loss of endangered fish species captive broodstocks by means of minimal kinship selective crossbreeding. **Aquaculture**, v.318, p.239-243, 2011.

PEREIRA, A.H. Diversidade genética e comportamento reprodutivo do pacamã (*Lophiosilurus alexandri*), uma espécie de peixe ameaçada de extinção na Bacia do Rio São Francisco. 2015. 46p. **Monografia** - Pontífica Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte.

PERSAT, H.; MATTERSDFORFER, K.; CHARLAT, S.; SCHENEKAR, T.; WEISS, S. Genetic integrity of the European grayling (*Thymallus thymallus*) populations within the Vienne River drainage basin after five decades of stockings. **Cybium**, v.40, p.7-20, 2016.

PIERRE, R.A.S. Restoration of Atlantic sturgeon in the northeastern USA with special emphasis on culture and restocking. **Journal of Applied Ichthyology**, v.15, p.180-182, 1999.

POVH, J. A.; RIBEIRO, R. P.; SIROL, R. N.; STREIT JUNIOR, D. P.; LOPERA-BARRERO, N. M.; VARGAS, L.; GOMES, P. C.; LOPES, T. S. Diversidade genética de pacu do rio Paranapanema e do estoque de um programa de repovoamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.201-206, 2008.

PRITCHARD, J.K.; STEPHENS, P.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v.155, p.945–959, 2000.

QUELLER, D.C.; GOODNIGHT, K.F. Estimating relatedness using genetic markers. **Evolution**, v.43, p.258–275, 1989.

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.

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.

RICE, W.R. Analyzing tables of statistical tests. **Evolution**, v.43, p.223–225, 1989.

RITLAND, K. Estimators for pairwise relatedness and individual inbreeding coefficients. **Genetical Research**, v.67, p.175, 1996.

RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, M.P.; LOPERA BARRERO, N.M.; RIBEIRO, R.P.; POVH, J.A.; VARGAS, L.; SIROL, R.N. Diversidad genética de piracanjuba usada en programas de repoblación con marcadores microsatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, p.53-63, 2010.

ROZAS, J.; FERRER-MATA, A.; SÁNCHEZ-DELBARRIO, J.C.; GUIRAO-RICO, S.; LIBRADO, P.; RAMOS-ONSINS S.E.; SÁNCHEZ-GRACIA, A. DnaSP v6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets. **Molecular Biology and Evolution**, v.34, p.3299-3302, 2017.

SANTOS, C.H.A.; SANTANA, G.X.; SÁ LEITÃO, C.S.; PAULA-SILVA, M.N.; ALMEIDA-VAL, V.M.F. Loss of genetic diversity in farmed populations of *Colossoma macropomum* estimated by microsatellites. **Animal Genetics**, v.47, p.373–376, 2016.

SANTOS, J.C.E.; LUZ, R.K. Effect of salinity and prey concentrations on *Pseudoplatystoma corruscans*, *Prochilodus costatus* and *Lophiosilurus alexandri* larviculture. **Aquaculture**, v.287, p.324–328, 2009.

SATO, Y.; GODINHO, H.P. Peixes da bacia do rio São Francisco, p. 401-413. In: LOWE-McCONNELL, R.H. Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais. São Paulo: Edusp, 1999. 534p.

SATO, Y.; FENERICH-VERANI, N.; NUÑER, A.P.O.N.; GODINHO, H.P.; VERANI, J.R. Padrões reprodutivos de peixes da bacia do São Francisco. In: GODINHO, H.P.; GODINHO, A.L. (org). Águas e peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais. Belo Horizonte. PUC Minas; 2003. p.229–74.

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 Genetics Resources**, v.3, p.307–310, 2010.

SEKINO, M.; SUGAYA, T.; HARA, M.; TANIGUCHI, N. Microsatellite relatedness estimator used for minimal kinship selection *Paralichthys olivaceus*. **Aquaculture**, v.233, p.163-172, 2004.

SCHUELKE, M. An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. **Nature Biotechnology**, v.18, p.233-234, 2000.

SCHULTZ, J.K.; BAKER, J.D.; TOONEN, R.J.; BOWEN, B.W. Extremely Low Genetic Diversity in the Endangered Hawaiian Monk Seal (*Monachus schauinslandi*). **Journal of Heredity**, v.100, p.25–33, 2009.

SHIBATTA, L.S.; FERREIRA, D.G.; OLIVEIRA, C.; ALMEIDA, F.S.; SHIBATTA, O.A.; SOFIA, A.H. Development and characterization of microsatellite loci of *Microglanis cottoides* (Siluriformes: Pseudopimelodidae) and cross-species amplification. **Neotropical Ichthyology**, v.11, p.581-585, 2013.

SLATKIN, M. Isolation by distance in equilibrium and nonequilibrium populations. **Evolution**, v.47, p.264–279, 1993.

SICCHA-RAMIREZ, Z.R.; MAROSO, F.; PARDO, B.G.; FERNÁNDEZ, C.; MARTÍNEZ, P.; OLIVEIRA, C. SNP identification and validation on genomic DNA for studying genetic diversity in *Thunnus albacares* and *Scomberomorus brasiliensis* by combining RADseq and long read high throughput sequencing. **Fisheries Research**, v.198, p.189–194, 2018.

SIROL, R.N.; BRITTO, S.G. Conservação e manejo da ictiofauna: repovoamento. In: NOGUEIRA, M.G.; HENRY, R.; JORCIN, A. (Eds.). *Ecologia de reservatórios: impactos potenciais, ações de manejo e sistemas em cascatas*. São Carlos: RiMA, 2006. p.275-284.

SOFIA, S.H.; GALINDO, B.A.; PAULA, F.M.; SODRE, L.M.K.; MARTINEZ, C.B.R. Genetic diversity of *Hypostomus ancistroides* (Teleostei, Loricariidae) from an urban stream. **Genetics and Molecular Biology**, v.31, p.317–323, 2008.

SMULDERS, M.J.M.; BREDEMEIJER, G.; RUS-KORTEKAAS, W.; ARENS, P.; VOSMAN B. Use of short microsatellites from database sequences to generate polymorphisms among *Lycopersicon esculentum* cultivars and accessions of other *Lycopersicon* species. **Theoretical and Applied Genetics**, v.94: p.264-272, 1997.

STØTTRUP, J. G.; SPARREVOHN, C. R. Can stock enhancement enhance stocks? **Journal of Sea Research**, v.57, p.104-113, 2007.

TALLMON, D.; LUIKART, G.; WAPLES, R. The alluring simplicity and complex reality of genetic rescue. **Trends in Ecology & Evolution**, v.19(9), p.489–496, 2004.

TANG, J.; BALDWIN, S.J.; JACOBS, J.M.E.; LINDEN, C.G.V.; VOORRIPS, R.; LEUNISSEN, J.A.; HERMAN VAN ECK, H.; VOSMAN, B. Large-scale identification of polymorphic microsatellites using an *in silico* approach. **BMC Bioinformatics**, v.9, p.1-13, 2008.

TANIGUCHI, N. Genetic factors in broodstock management for seed production. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.13, p.177–185, 2003.

TAVE, D. Inbreeding and brood stock management. Fisheries Technical Paper. No. 392. Rome, FAO. 1999. 122p.

TENÓRIO, R.A. Aspectos da biologia reprodutiva do niquim *Lophiosilurus alexandri* Steindachner, 1876 (Actinopterygii, Pimelodidae) e crescimento da progênie em diferentes condições ambientais. 2003. 57p. **Dissertação (Mestrado)** – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

VITORINO, C.A.; NOGUEIRA, F.; SOUZA, I.L.; ARARIPE, J.; VENERE, P.C. Low Genetic Diversity and Structuring of the Arapaima (*Osteoglossiformes*, *Arapaimidae*) Population of the Araguaia-Tocantins Basin. **Frontiers in Genetics**, v.8, p. 1-10, 2017.

WEBER, J.L. Informativeness of Human (dC-dA)<sub>n</sub> Polymorphisms. *Genomics*, v.7, p.517-524, 1990.

WRIGHT, S. **Evolution and the Genetics of Populations**. Variability within and among Natural Populations. University of Chicago Press, Chicago, 1978. 590p.

ZAWADZKI, C.H.; RENESTO, E.; REIS, R.E.; MOURA, M.O.; MATEUS, R.P. Allozyme relationships in hypostomines (Teleostei: Loricariidae) from the Itaipu Reservoir, upper Paraná river basin, Brazil. **Genetica**, v.123, v.271-283, 2005.

ZHAO, J.; HSU, K.C.; LUO, J.Z.; WANG, C.H.; CHAN, B.P.; LI, J.; KUO, P.H.; LIN, H.D. Genetic diversity and population history of *Tanichthys albonubes* (Teleostei: Cyprinidae): Implications for conservation. **Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems**, v.28, p.422-434, 2017.

### 3- Considerações finais

- Este primeiro entendimento sobre a estrutura genética da população de *L. alexandri* é crucial para monitorar a diversidade genética, o manejo e a conservação de sua população;
- Os baixos níveis de diversidade genética encontrados nesta espécie destacam a importância de uma melhor compreensão dos processos que potencialmente ameaçam a viabilidade de suas populações. A baixa diversidade genética do pacamã pode estar relacionada ao seu comportamento sedentário e de cuidado parental, e deve, portanto, ser considerada em medidas de conservação para esta espécie e outras com comportamentos semelhantes;
- Como as microssatélites não se mostraram tão informativas, seria interessante o teste com marcadores mais robustos, como é o caso dos SNPs ou a construção de bibliotecas de microssatélites com motivos mais longos. A construção de um painel de SNPs poderia ser uma alternativa para a identificação rápida da diversidade genética dos animais a serem usados para a formação dos plantéis de reprodutores, além de ser possível sua utilização para identificação da procedência dos animais em ambientes naturais (se selvagem ou se de cativeiro);
- É urgente retomar a estatística pesqueira, de modo que as próprias empresas que impactam o rio (hidrelétricas, mineradoras e outras) a financiem de forma a identificar se o repovoamento está surtindo efeito.
- É importante a adoção de metodologia de repovoamento mais seguras como o repovoamento baseado em captura, o que garantiria a manutenção da diversidade genética sem tantas restrições do ponto de vista genético.

#### 4- Referências

- ALVES, C.B.M.; POMPEU, P.S. **Peixes do rio das Velhas: passado e presente**. Belo Horizonte: Segrac, 2001. 194p.
- ALLENDORF, F.W.; LUIKART, G.H.; AITKEN, S.N. Conservation and the genetics of populations, Wiley Blackwell Publishing, Oxford, (2012)
- AVISE, J.C. **Molecular markers, natural history and evolution**. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts, 2004. 541 p.
- BECKER, A.G.; LUZ, R.K.; MATTIOLI, C.C.; NAKAYAMA, C.L.; SILVA, W.D.S.; LEME, F.D.O.P.; MENDES, H.C.P.M.; HEINZMANN, B.M.; BALDISSEROTTO, B. Can the essential oil of *Aloysia triphylla* have anesthetic effect and improve the physiological parameters of the carnivorous freshwater catfish *Lophiosilurus alexandri* after transport? **Aquaculture**, v.481, p.184-190, 2017.
- BUCKUP, P.A.; MENEZES, N.A.; GHAZZI, M.S. **Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil**. Rio de Janeiro: Museu Nacional, 2007.195 p.
- BRASIL. Decreto-Lei nº 794, de 19 de outubro de 1938. Código de Pesca. Rio de Janeiro, RJ, Disponível em: <<http://www2.camara.leg.br/legin/fed/declei/1930-1939/decreto-lei-794-19-outubro-1938-350346-publicacaooriginal-1-pe.html>>. Acesso em: 03 fev. 2019.
- CARVALHO, D.C.; PERINI, V.R.; BASTOS, A.S.; COSTA, I.R.; LUZ, R.K.; FURTADO, C.; PROSDOCIMI, F. The complete mitochondrial genome of the threatened neotropical catfish *Lophiosilurus alexandri* (Siluriformes: Pseudopimelodidae) and phylogenomic analysis indicate monophyly of Pimelodoidea. **Genetics and Molecular Biology**, v.39, p.674-677, 2016.
- 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.
- COIMBRA, M.R.M.; LIMA, A.P.S.; OLIVEIRA, K.K.C.; SEVERI, W. Microsatellite assessment of the genetic diversity in indigenous populations of curimba (*Prochilodus argenteus*) in the São Francisco river (Brazil). **Conservation Genetics**, v.18, p.965–975, 2017.

DANTAS, H.L. Avaliação da estrutura genética do surubim *Pseudoplatystoma corruscans* (Actinopterygii: Siluriformes) como subsídio para o repovoamento do submédio São Francisco. 2010. **Dissertação (Mestrado)** – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

DANTAS, H.L.; SANTOS NETO, M.A.; OLIVEIRA, K.K.C.; SEVERI, W.; DINIZ, F.M.; COIMBRA, M.R.M. Genetic diversity of captive and wild threatened catfish *Pseudoplatystoma corruscans* in the Sao Francisco River. **Reviews in Fisheries Science**, v.21, p.237-246, 2013.

FERREIRA, G.G.; GALINDO, B.A.; FRANTINE-SILVA, W.; ALMEIDA, F.S. SOFIA, S.H. Genetic structure of a Neotropical sedentary fish revealed by AFLP, microsatellite and mtDNA markers: a case study. **Conservation Genetics**, v.16, p.151-166, 2015.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. EMBRAPA – CENARGEN, 1995. 220p.

GODINHO, H.P.; GODINHO, A.L. **Águas, Peixes e Pescadores do São Francisco das Minas Gerais. Belo Horizonte**. PUC Minas, 2003. 468p.

HORAI, S.; HAYASAKA, K. Intraspecific nucleotide sequence differences in the major noncoding region of human mitochondrial DNA. **American Journal of Human Genetics**, v.46, p.828-842, 1990.

ICMBIO - Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. Portaria nº 34, de 27 de maio de 2015. Plano de Ação Nacional para Conservação das Espécies Ameaçadas de Extinção da Fauna Aquática da Bacia do São Francisco - PAN São Francisco. 2015. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/docs-plano-de-acao/pan-fauna-aquatica-sao-francisco/portaria-aprovacao-pan-fasf-site.pdf>>. Acesso em: 03 fev. 2019.

ICMBIO, **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Volume VI – Peixes**. Brasília, DF: ICMBio/MMA, 2018. p.76.

KOHLER, H.C. Aspectos geológicos da bacia hidrográfica do São Francisco. In: GODINHO, H.P.; GODINHO, S.L. (org). Belo Horizonte. PUC Minas, 2003. 468p.

LIMA, R.V. Marcadores microssatélites para o pacamã (*Lophiosilurus alexandri*, Steindachner, 1876): uma espécie endêmica ameaçada de extinção no rio São Francisco. 2016. **Dissertação (Mestrado)** – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.



LOPERA-BARRERO, N.M.; RIBEIRO, R.P.; POVH, J.A. O repovoamento de peixes: uma estratégia multidisciplinar? **Aquicultura e Pesca**, v.30, p.71-74, 2007.

LOPERA-BARRERO, N.M. Conservation of *Brycon orbignyanus* natural populations and stocks for their reproductive, genetic, environmental sustainability: A model for species threatened with extinction. *Ciencia e Investigación Agraria*, v.36, p.191-208, 2009.

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

LOPERA-BARRERO, N.; LIMA, E.; FILHO, L.; GOES, E.; CASTRO, P.; ZARDIN, A.; POVEDA-PARRA, A.; RIBEIRO, R. Genetic variability of broodstocks of restocking programs in Brazil. **Revista MVZ Córdoba**, v.20, p.4677-4687, 2015.

LOPES, J.P.; FRANCA, F.L.; SANTOS NETO, M.A. O domínio na produção de alevinos de pacamã: Propagação na Chesf permite repovoamento no rio São Francisco. **Panorama da Aquicultura**, v.23, p.24-29, 2013.

LUZ, R.K.; SANTOS, J.C.E. Densidade de estocagem e salinidade da água na larvicultura do pacamã. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.903-909, 2008.

MANETA, M.P.; TORRES, M.; WALLENDER, W.W.; VOSTI, S.; KIRBY, M.; BASSOI, L.H.; RODRIGUES, L.N. Water demand and flows in the São Francisco River Basin (Brazil) with increased irrigation. **Agricultural Water Management**, v.96, p.1191-1200, 2009.

MATTIOLI, C.C.; TAKATA, R.; LEME, F.D.O.P.; COSTA, D.C.; MELILLO FILHO, R.; SILVA, W.D.S.; LUZ, R.K. The effects of acute and chronic exposure to water salinity on juveniles of the carnivorous freshwater catfish *Lophiosilurus alexandri*. **Aquaculture**, v.481, p.255-266, 2017.

MELILLO FILHO, R.; GHELLER, V.A.; CHAVES, G.V.; SILVA, W.D.S.; COSTA, D.C.; FIGUEIREDO, L.G.; JULIO, G.S.C.; LUZ, R.K. Early sexing techniques in *Lophiosilurus alexandri* (Steindachner, 1876), a freshwater carnivorous catfish. **Theriogenology**, v.86, p.1523-1529, 2016.

MELLO, G.C.; SANTOS, M.L.; ARANTES, F.P.; PESSALI, T.C.; BRITO, M.F.; SANTOS, J.E. Morphological characterization of the digestive tract of the catfish *Lophiosilurus alexandri* Steindachner, 1876 (Siluriformes, Pseudopimelodidae). **Acta Zoologica**, v.100, p.14-23, 2019.

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

MUNEER, P.M.A.; REMYA, S.; GOPALAKRISHNAN, A.; BASHEER, V.S.; MUSAMMILU, K.K.; PONNIAH, A.G. Development and characterization of RAPD and microsatellite markers for genetic variation analysis in the critically endangered yellow catfish *Horabagrus nigricollaris* (Teleostei: Horabagridae). *Biochemical Genetics*, v.49, p.83-95, 2011.

NAVARRO, R.D.; COSTA, D.C.; SILVA, W.S.; SILVA, B.C; LUZ, R.K. Long-term transportation of juvenile pacamãs *Lophiosilurus alexandri* at different densities. **Acta Scientiarum**, v.39, p.211-214, 2017.

POVH, J. A.; RIBEIRO, R. P.; SIROL, R. N.; STREIT JUNIOR, D. P.; LOPERA-BARRERO, N. M.; VARGAS, L.; GOMES, P. C.; LOPES, T. S. Diversidade genética de pacu do rio Paranapanema e do estoque de um programa de repovoamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.201-206, 2008.

POVH, J.A.; RIBEIRO, R.P.; LOPERA-BARRERO, N.M.; GOMES, P.C.; BLANCK, D.V.; VARGAS, L.; JACOMETO, C.B.; LOPES, T.S. Monitoramento da variabilidade genética de pacu, *Piaractus mesopotamicus*, do programa de aumento de estoque do rio Paranapanema. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, p.1191-1195, 2009.

RIBEIRO, P.A.P.; HOYOS, D.C.M.; OLIVEIRA, C.G.; FLORA, M.A.L.D.; LUZ, R.K. Eugenol and benzocaine as anesthetics for *Lophiosilurus alexandri* juvenile, a freshwater carnivorous catfish. **Aquaculture International**, v.27, p.313-321, 2019.

RIBEIRO, R.P.; RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, M.P.; RESENDE, E.K.; SOUZA, F.P.; POVH J.A.; POVEDA-PARRA, A.R.; GOES, E.S.R.; GALO, J.M.; JUNIOR, M.B.; LOPERA-BARRERO, N.M. Genetic characteristics of Tambaqui broodstocks in the state of Rondônia, Brazil: implications on production and conservation. **Semina: Ciências Agrárias**, v.37, p.2375-2386, 2016.

RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, M.P.; LOPERA BARRERO, N.M.; RIBEIRO, R.P.; POVH, J.A.; VARGAS, L.; SIROL, R.N. Diversidad genética de piracanjuba usada en programas de repoblación con marcadores microsatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, p.53-63, 2010.

ROJAS, T.C.G. Utilização de AFLP para estudos genéticos em *Prochilodus argenteus* (Pisces, Prochilodontidae). 2008. 68p. **Dissertação (Mestrado)** – Universidade Federal de São Carlos, São Paulo.

SANTOS, J.C.E.; LUZ, R.K. Effect of salinity and prey concentrations on *Pseudoplatystoma corruscans*, *Prochilodus costatus* and *Lophiosilurus alexandri* larviculture. **Aquaculture**, v.287, p.324–328, 2009.

SANTOS, J.C.E.; PEDREIRA, M.; LUZ, R.K. Feeding frequency in Pacamã larviculture. **Revista Caatinga**, v.29, p.512-518, 2016.

SATO, Y.; FENERICH-VERANI, N.; NUÑER, A.P.O.N.; GODINHO, H.P.; VERANI, J.R. Padrões reprodutivos de peixes da bacia do São Francisco. In: GODINHO, H.P.; GODINHO, A.L. (org). Águas e peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais. Belo Horizonte. PUC Minas; 2003. p. 229–74.

SATO, Y.; GODINHO, H.P. Peixes da bacia do rio São Francisco, p. 401-413. In: LOWE-McCONNELL, R.H. Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais. São Paulo: Edusp, 1999. 534p.

TANIGUCHI, N. Genetic factors in broodstock management for seed production. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.13, p.177–185, 2003.

TENÓRIO, R.A. Aspectos da biologia reprodutiva do niquim *Lophiosilurus alexandri* Steindachner, 1876 (Actinopterygii, Pimelodidae) e crescimento da progênie em diferentes condições ambientais. 2003. 57p. **Dissertação (Mestrado)** – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

## APÊNDICES

Apêndice 1. Tamanho dos alelos e suas frequências em todos os locais amostrados. Os alelos privados estão em negrito.

<b>Locus</b>	<b>Alelos</b>							
<b>Lalex1</b>								
	119	121	125					
Bebedouro	0,109	0,391	0,500					
Paulo Afonso	0,395	0,289	0,316					
Itiúba	0,125	0,458	0,417					
Selvagens - Submédio	0,132	0,342	0,526					
Selvagens - Alto	0,118	0,353	0,529					
<b>Lalex5</b>								
	135	139						
Bebedouro	1,000	-						
Paulo Afonso	0,975	0,025						
Itiúba	0,958	0,042						
Selvagens - Submédio	0,857	0,143						
Selvagens - Alto	0,881	0,119						
<b>Lalex9</b>								
	<b>132</b>	136	138	140	142	<b>146</b>		
Bebedouro	-	-	0,804	-	0,196	-		
Paulo Afonso	0,075	0,100	0,500	0,025	0,300	-		
Itiúba	-	-	0,792	-	0,208	-		
Selvagens - Submédio	-	-	0,786	0,048	0,167	-		
Selvagens - Alto	-	0,524	-	0,048	-	0,429		
<b>Lalex15</b>								
	<b>146</b>	<b>154</b>	156	<b>158</b>	<b>160</b>	<b>164</b>		
Bebedouro	-	-	1,000	-	-	-		
Paulo Afonso	-	-	1,000	-	-	-		
Itiúba	0,125	-	0,875	-	-	-		
Selvagens - Submédio	-	-	-	0,929	0,071	-		
Selvagens - Alto	-	0,024	0,500	-	-	0,476		
<b>Lalex19</b>								
	194	200						
Bebedouro	0,630	0,370						
Paulo Afonso	0,150	0,850						
Itiúba	0,125	0,875						
Selvagens - Submédio	0,310	0,690						
Selvagens - Alto	0,150	0,850						
<b>Lalex25</b>								
	184	200	254	<b>264</b>	266	268	<b>286</b>	
Bebedouro	-	-	0,543	-	0,413	-	0,043	
Paulo Afonso	0,325	0,075	0,125	-	0,475	-	-	
Itiúba	0,375	0,250	-	-	0,375	-	-	
Selvagens - Submédio	-	-	-	-	0,857	0,143	-	
Selvagens - Alto	0,119	-	-	0,048	0,810	0,024	-	
<b>Lalex30</b>								
	177	<b>179</b>	181	<b>183</b>	185	187	<b>197</b>	203
Bebedouro	0,348	-	-	-	0,478	0,043	0,043	0,087

Paulo Afonso	-	-	-	-	0,550	0,400	-	0,050
Itiúba	-	-	-	-	0,875	0,125	-	-
Selvagens - Submédio	0,119	-	0,143	-	0,286	0,452	-	-
Selvagens - Alto	-	0,100	0,250	0,025	0,275	0,350	-	-

---

Apêndice 2. Todos os primers testados com locus, motivo de repetição, sequência, tamanho (pb), heterozigidade esperada ( $H_e$ ) e observada ( $H_o$ ) e conteúdo de informação de polimorfismo (PIC).

Locus	Motivo de repetição	Sequências dos primers (5' - 3')	Ta °C	MgCl <sub>2</sub> (mM)	Faixa de tamanho do alelo (pb)	N <sub>a</sub>	H <sub>o</sub>	H <sub>e</sub>	PIC
Lalex1	(AT)8	F: GGACGTCATACCTTCTCTGTCC R: CTGAACACACTCAGAGGAAAGC	60	2,5	119 - 125	3	0,944	0,594	0,506
Lalex2	(GA)8	F: CGAATAGGCATAGAACAGGTCA R: TCCCTCTCATCCTGCTTACTG	60	2,5	101	1	Mono	Mono	0
Lalex3	(GA)8	F: ACAGCCTCTCTTCCTTTCCA R: GAGCCTTTCACAGACCCAAG	60	2,5	122	1	Mono	Mono	0
Lalex4	(AT)8	F: CCTACCTGCATGTTTCAGCA R: TGGGTAAATGCAGGGGTTA	60	2,5	123	1	Mono	Mono	0
Lalex5	(CT)8	F: CCGTAACAGGCTCGGTTTT R: AGAGACAGGTCTGGGGAACA	60	2,5	135 - 139	2	0,264	0,230	0,202
Lalex6	(AT)8	F: AAGGGTTAGCAATTTTCAGTTTAACA R: AAACCATCATGCGTGTGAGA	60	2,5	117	1	Mono	Mono	0
Lalex7	(TA)8	F: GGAGCCAAGAGGAATTAGGG R: AACCGACTGTTCACTTGCTG	60	1,5	117	1	Mono	Mono	0
Lalex8	(AC)8	F: GACAGTCAGAATTAGGACCAGACA R: TGTGAACACAATCGTGAGTCTT	60	2,5	125	1	Mono	Mono	0
Lalex9	(CT)8	F: CTATTACGGCTGTTTCCTTGG R: CTCATCTTGAGGAAACGTTGG	60	2,5	132 - 146	5	0,619	0,731	0,675
Lalex10	(CA)8	F: AGCAAGAACTAGGTCAGTAGC R: GCACAAAACACTGTGCCATA	60	2,5	137	1	Mono	Mono	0
Lalex11	(TG)8	F: TCTTCTGTACGTCCACTGCT R: CAGTCAATTGTTTGGATTTAATAACA	60	2,5	129	1	Mono	Mono	0
Lalex12	(AT)8	F: TTCACATCTTCAGGGTCCA R: TGAAAAGAACAGATCAAGTGAATG	60	2,5	189	1	Mono	Mono	0

Lalex13	(CA)8	F: CGGGGGAGTGTTTAATCAGA R: CCAGCTAGCACTCGACACCT	60	2,5	195	1	Mono	Mono	0
Lalex14	(AG)8	F: TGTGCTTGGTCTTCTAACCA R: GGGGGTTTATAAGTTCTTTACGC	60	2,5	187	1	Mono	Mono	0
Lalex15	(AC)8	F: CACTTCATGGTCTGGCTTTG R: CACTGAAAGCACTATTGACAGCA	60	2,5	146 - 164	5	0,476	0,672	0,604
Lalex16	(GA)8	F: GGAGATACGGAGCACGAATG R: AGAGCCAGGTCTCATGTTCC	60	2,5	207	1	Mono	Mono	0
Lalex17	(TC)8	F: TTAGACATCCTCGAGCACCA R: AAATCTATAACAATTCATTGCCATT	60	2,5	150	1	Mono	Mono	0
Lalex18	(CA)8	F: GCAGTGCATGCCGATTA R: GACTGCCTCTCAAATGTGCTC	60	2,5	105	1	Mono	Mono	0
Lalex19	(TC)8	F: GAAATGAAACAGGCCAGGAA R: TGTAGAAGAGTAGACCACGAACTGA	60	2,5	194 - 200	2	0,268	0,360	0,293
Lalex20	(TA)8	F: CGAATGTGTACCCTAGCCTGT R: CAACATGGCAGCTTGGATTA	–	–	NA	–	–	–	–
Lalex21	(CAG)6	F: GAGACAGGTCCTTGGCTTTG R: ACTCTGGGCCAGGCGTTTAT	60	2,5	145	1	Mono	Mono	0
Lalex22	(TA)8	F: GACAAACACGCATACACAAAA R: TCTCATCAACTTTAGGTGCAGAA	NA	NA	153	1	Mono	Mono	0
Lalex23	(CA)8	F: GTCCACGTGAGGGTCGTAAT R: CGCGTGTGTTTAGCAGTTTG	60	2,5	143	1	Mono	Mono	0
Lalex24	(CT)8	F: CTCTGTCACTCTCTCACCCTCA R: AAGAGATGGGGGCATAAAGC	60	2,5	233	1	Mono	Mono	0
Lalex25	(TG)8	F: AGACATGTTGCTGCCCTCCA R: CTATAGAAACAGAAGCGCTAA	60	2,5	184 - 286	4	0,190	0,298	0,279
Lalex26	(CA)8	F: CACTTCTCCTAAGCCGAAT R: TCAGGCATGATATGCTTTGG	60	2,5	250	1	Mono	Mono	0
Lalex27	(TC)8	F: ACAGCTGCTTCTGTCTCCA R: GTGGATGCCTCTGTTCTCGT	60	2,5	250	1	Mono	Mono	0

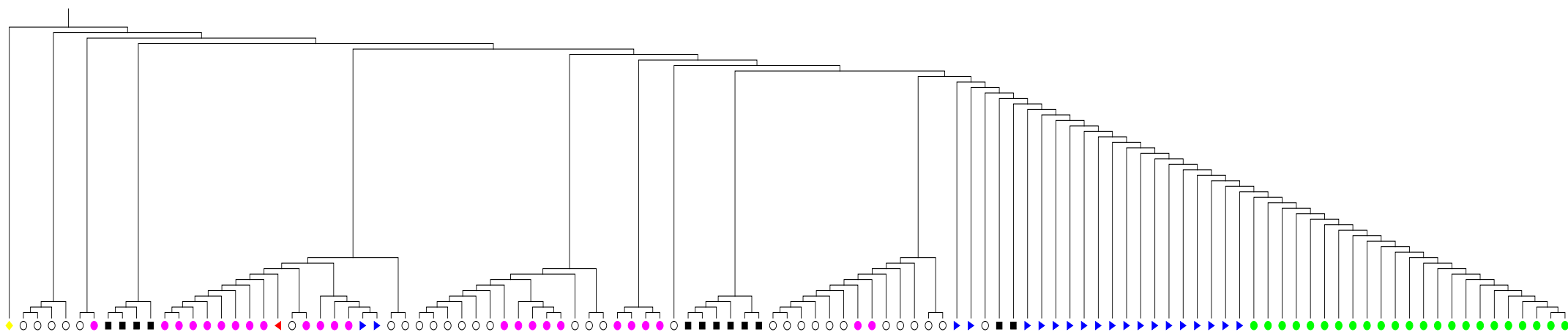
Lalex28	(AG)8	F: GGAGCCCACGCACTATAAAC R: TTTCATTCCACAATGGAAACAG	–	–	NA	–	–	–	–
Lalex29	(TA)8	F: GTGACCCCAAGCCAATAGAA R: CATTGCTAGCTTGAAGAATGTCA	60	2,5	148	1	Mono	Mono	0
Lalex30	(CG)8	F: CACCGATTTCAGAACTGAAGG R: ATGCAGAAAAATCGCAAACA	60	2,5	177 - 203	6	0,561	0,724	0,668
Lalex36	(CAG)6	F: GTCCTTCCTGAGGGAAAAGC R: GAATCCGTCACGGGTAAAGA	62	2	186	1	Mono	Mono	0
Lalex39	(TG)8	F: CACATTTCCACACAGACGA R: CAGACCCGAAAACGTAGCA	62	2	256	1	Mono	Mono	0
Lalex40	(AG)8	F: TCTCAACCATTCCCACATTT R: ATTGTGGCTGGGAATCAAAG	–	–	NA	–	–	–	–
Lalex41	(AT)8	F: AAAGGGCAGACGTAATGGTG R: CCCAGCTTGTGTCTAAAATTGG	60	2,5	297	1	Mono	Mono	0
Lalex42	(AG)8	F: GGCTGGCACAGATTTACACC R: CTGTGGCAAACGTGAGAAGA	60	2,5	298	1	Mono	Mono	0
Lalex43	(TA)8	F: GGCTGATCAATGCATAAGCTG R: GCATTGTCCACATGTCAGGA	60	2,5	299	1	Mono	Mono	0
Lalex44	(AC)8	F: CAGGTCTGAACGAAGGCTTTT R: CAGCTTCCTGCATAACGTTTC	–	–	NA	–	–	–	–
Lalex45	(AG)8	F: TATGACCGACTCCAGCATCA R: CGAACAGAGAGACTGCGAGA	60	2,5	284	1	Mono	Mono	0
Lalex46	(CAC)6	F: AACTGACCTCGTCCACATCC R: AGAGGCAGCCAGGTTTCAGT	60	2,5	114	1	Mono	Mono	0
Lalex47	(AC)8	F: AGCTGGGTCAGTGCAGACC R: TGCAGCTGCTTCAGACAAGT	60	2,5	266	1	Mono	Mono	0
Lalex48	(AGG)6	F: ACAGGCTTCGGACGTTCTTA R: CTTCACAGGTCAAAGCTGAAG	60	2,5	259	1	Mono	Mono	0
Lalex49	(CCT)6	F: CAAAGGAACCAGAACTGGAAA R: CCACAGAGTTGTTGCAATCG	60	2,5	125	1	Mono	Mono	0



Lalex50	(CGTG)5	F: TGATGTCCCTAAACCCCGTA R: GAGAATGGATCATGCGCTTC	60	2,5	261	1	Mono	Mono	0
Lalex51	(TAG)6	F: AACACGCATTAAGTGGACCTG R: CACGTATGAACTCACGTCTGC	60	2,5	290	1	Mono	Mono	0
Lalex52	(GT)8	F: TGTATTTACGCAAAGGTGAAGG R: TGATTTTACCACCCTTTCTCG	58	3	256	1	Mono	Mono	0
Lalex53	(GGA)6	F: ATCGGCCAATTACACAAAGC R: TTCAGATCACCGCAGAGAGTT	60	2,5	204	1	Mono	Mono	0
Lalex54	(GT)8	F: CAGGCTCTGTTCTGTGTGGA R: GCACCACCATATTGTTGATGAT	60	2,5	147	1	Mono	Mono	0
Lalex55	(CT)8	F: CCCTAATGAACAAATCCAATGC R: CAGCTTCCATGCTGTCTGTT	60	2,5	158	1	Mono	Mono	0
Lalex56	(AGCT)5	F: CCGTTACCTCTGCAAGCTAGT R: TGCTATAGGGCGTTTTCTC	60	2,5	173	1	Mono	Mono	0
Lalex57	(CAA)6	F: TCATGCATCCAAACATCTCC R: GTTGTGAATGAGCCAGCAAA	60	2,5	157	1	Mono	Mono	0
Lalex59	(AC)8	F: GGAGAGAGGACCTGCACAAC R: GATGGTCACTATGCCGATCA	60	2,5	161	1	Mono	Mono	0
Lalex60	(AC)8	F: ATCTTCTCCGTCCTCCGAGT R: CACAGCTACAGCTACCGTTTTG	60	2,5	137	1	Mono	Mono	0

---

Apêndice 3. Dendrograma de similaridade entre os animais que compõem os plantéis de reprodutores das três Estações de Piscicultura, os exemplares selvagens (alto e submédio São Francisco), uma sequência referência do GenBank (KJ494387) do *Lophiosilurus alexandri* e uma sequência do GenBank do *Ictalurus punctatus* (EF139164), utilizando o Método de associação Média (UPGMA).



◆ *Ictalurus punctatus* (EF139164); ◀ sequência referência do GenBank (KJ494387); ● selvagens - alto SF; ○ selvagens - submédio SF; ■ Itiúba; ▶ Paulo Afonso; ● Bebedouro.