



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

**ESTRUTURA GENÉTICA E MANEJO REPRODUTIVO**  
**PARA RECUPERAÇÃO DO PIAU-VERDADEIRO,**  
***Leporinus obtusidens*, NO RIO SÃO FRANCISCO**

**Karine Kelly Cavalcanti Oliveira**

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

**Professora: Maria Raquel Moura Coimbra**  
Orientador

Recife, 2018.

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

O48e Oliveira, Karine Kelly Cavalcanti  
Estrutura genética e manejo reprodutivo para recuperação do piau-verdadeiro, *Leporinus obtusidens*, no Rio São Francisco / Karine Kelly Cavalcanti Oliveira. – 2018.  
65 f. : il.

Orientadora: Maria Raquel Moura Coimbra.  
Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, Recife, BR-PE, 2017.  
Inclui referências.

1. Diversidade genética 2. Microssatélites 3. Programas de repovoamento I. Coimbra, Maria Raquel Moura, orient. II. Título

CDD 639

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

**ESTRUTURA GENÉTICA E MANEJO REPRODUTIVO PARA**  
**RECUPERAÇÃO DO PIAU-VERDADEIRO, *Leporinus obtusidens*, NO RIO**  
**SÃO FRANCISCO**

**Karine Kelly Cavalcanti Oliveira**

Tese julgada adequada para obtenção do título de doutor em Recursos Pesqueiros e Aquicultura. Defendida e aprovada em 19/12/2017 pela seguinte Banca Examinadora.

---

**Profª. Drª. Maria Raquel Moura Coimbra**  
**Orientadora**  
**Departamento de Pesca e Aquicultura/ UFRPE**

---

**Prof. Dr. Rodrigo Augusto Torres**  
**Membro externo**  
**Departamento de Zoologia/ UFPE**

---

**Profª. Drª. Ana Carla Asfora El-Deir**  
**Membro externo**  
**Departamento de Biologia/ UFRPE**

---

**Prof. Dr. Humber Agrelli de Andrade**  
**Membro interno**  
**Departamento de Pesca e Aquicultura/ UFRPE**

---

**Prof. Dr. William Severi**  
**Membro interno**  
**Departamento de Pesca e Aquicultura/ UFRPE**

## **Dedicatória**

Dedico este trabalho aos meus pais, Ricardo e Conceição, pelo amor, carinho e apoio que me deram durante minha vida toda. Aos meus irmãos, Kíria, Ricardinho e Kiara, por sempre me motivar, ajudar e apoiar minhas lutas. Ao meu esposo Ivan, pela compreensão e dedicação nos momentos em que sempre precisei.

## **Agradecimentos**

Ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela oportunidade em realizar este trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela bolsa concedida em alguns meses, que serviu de apoio para realização do trabalho e aprendizado.

À Companhia Hidro Elétrica do São Francisco – CHESF, por parte do financiamento neste trabalho de pesquisa.

À Profa. Dra. Maria Raquel Moura Coimbra, pela orientação neste estudo, dedicação à pesquisa, notório exemplo de pesquisadora e, em particular, pelos anos de convivência, enorme contribuição para a minha formação pessoal e profissional. Obrigada por sempre acreditar em mim.

Aos amigos e as amigas, que estiveram sempre presentes em muitos momentos da minha vida, em especial, a Patrícia e Maíra pelo grande incentivo. Não poderia faltar Miguel, que me mostrou que com o entusiasmo e persistência podemos alcançar inúmeras conquistas.

Aos colegas e estagiários do LAGA pela dedicação constante à execução das atividades de rotina no laboratório, sem a qual nenhum experimento ou estudo poderia ser concluído com êxito.

À CODEVASF, pelo apoio técnico nas coletas.

Aos colegas de curso e aos funcionários do Depaq, com os quais a convivência foi amistosa e agradável.

A todos que contribuíram de alguma forma para realização deste trabalho, em especial, à minha família, meus sinceros agradecimentos.

## Resumo

Os barramentos de grandes hidrelétricas vêm comprometendo a existência de diversas espécies de peixes, principalmente aquelas que efetuam migração reprodutiva. A bacia do rio São Francisco é um exemplo deste cenário, onde nove hidrelétricas representam obstáculos intransponíveis, que ameaçam a perpetuação de várias espécies, entre elas o piau-verdadeiro, *Leporinus obtusidens*. A recuperação dessas espécies tem sido conduzida por meio do repovoamento, que consiste na indução à reprodução no cativeiro, seguida da liberação de grandes quantidades de formas jovens para aumentar sua abundância ao longo de todo o rio ou em parte dele. A eventual ocorrência de estruturação genética na população de uma espécie implica na necessidade de mais de um programa de repovoamento. O objetivo desta proposta foi avaliar como a diversidade genética desta espécie se distribui ao longo da bacia, para fins de repovoamento, e de que forma o manejo reprodutivo da espécie (em termos de contribuição parental) afeta tais programas. A análise Bayesiana, através de dez marcadores de microssatélites, revelou que as populações de piau-verdadeiro do rio São Francisco estão estruturadas em três grupos: grupo I (Alto SF), grupo II (Médio SF e Submédio) e grupo III (Baixo SF) com consequências para o repovoamento. Na avaliação da contribuição parental do manejo reprodutivo (estoque de reprodutores da Chesf), também realizada com marcadores de microssatélites, foi visto que a participação efetiva de machos é muito menor do que a das fêmeas. Além disso, o tamanho efetivo populacional no modelo estudado mostrou-se reduzido, comprometendo o potencial evolutivo dessa espécie. As informações aqui adquiridas são de grande importância para o planejamento dos programas de repovoamento e ainda para o melhor aproveitamento do estoque de reprodutores.

**Palavras-chave:** Estrutura genética, Anostomidae, Repovoamento.

## **Abstract**

The dams of large hydroelectric have been compromising the existence of several species of fish, especially those that carry out reproductive migration. The São Francisco River basin is an example of this scenario, where nine hydroelectric dams represent insurmountable obstacles that threaten the perpetuation of several species, among them the true piau, *Leporinus obtusidens*. Recovery this species has been conducted by means of restocking, which consists in the induction in breeding on captivity, the release of large numbers of young forms to increase their abundance along the whole river or part of it. The eventual occurrence of genetic structuring in the population of a species implies the need for more than one repopulation program. The objective of this proposal was to evaluated as the genetic diversity of this species if distributed throughout the basin for restocking purposes, and how the species reproductive management (in terms of parental contribution) affects such programs. A Bayesian analysis revealed that the São Francisco River basin is structured in three groups: group I (Upper SF), group II (Middle SF and Sub-middle SF) and group III (Lower SF) with consequences for repopulation. The evaluation of the parental contribution in the reproductive management revealed that the effective participation of males is much smaller than that of females and that the effective population size in the model studied compromises the evolutionary potential of the species. The information acquired here is of great importance for the planning of repopulation programs and for the best use of the fish hatchery.

**Key words:** Genetic structure, Anostomidae, Restocking.

## Lista de figuras

	Página
<b>Figura 1-</b> Exemplar de <i>Leporinus obtusidens</i> .	15
<b>Figura 2-</b> Bacia do rio São Francisco e os pontos de coleta.	25
<b>Figura 3-</b> Combinações de pares de indivíduos obtidos a partir do coeficiente de Ritland ( $r_{xy}$ ) para os grupos de populações selvagens de <i>L. obtusidens</i> e uma de cativoiro. 30p.	30
<b>Figura 4-</b> Atribuições dos genótipos de <i>L. obtusidens</i> capturados em diferentes locais de amostragem na Bacia do rio São Francisco. 31p.	31
<b>Figura 5 -</b> Gráfico de correlação para o IBD. 32p.	31

## Lista de tabelas

	Página
<b>Tabela 1-</b> Amostras de <i>L. obtusidens</i> coletadas em seis localidades dos quatro trechos do rio São Francisco (SF).	24
<b>Tabela 2-</b> Diversidade genética de sítios amostrais de <i>L. obtusidens</i> no rio São Francisco baseada em dez <i>loci</i> de microssatélites.	27
<b>Tabela 3-</b> $F_{ST}$ par a par (diagonal abaixo) e $R_{ST}$ par a par (diagonal acima) de <i>L. obtusidens</i> .	31
<b>Tabela 4-</b> Diversidade genética por grupos de populações selvagens e cativeiro de <i>Leporinus obtusidens</i> .	32
<b>Tabela 5-</b> Distribuição dos reprodutores e filhotes para as três desovas.	46

## Sumário

	Página
Dedicatória.....	4
Agradecimentos.....	5
Resumo.....	6
Abstract.....	7
Lista de figuras.....	8
Lista de tabelas.....	9
1- Introdução.....	11
2. Revisão de literatura.....	12
2.1 Caracterização da Bacia do rio São Francisco.....	12
2.2 Influência dos barramentos em espécies migradoras: aspectos bioecológicos.....	14
2.3 Ictiofauna da Bacia do rio São Francisco: <i>Leporinus obtusidens</i> .....	15
2.4 Estratégias para a conservação: STPs e Repovoamento.....	16
2.5 Influência de fatores na estruturação genética: IBD x IBE.....	18
3. Hipóteses.....	19
4. Objetivos.....	20
4.1 Geral.....	20
4.2 Específicos.....	20
ARTIGO I.....	21
ARTIGO II.....	43
5. Considerações finais.....	55
6. Referências Bibliográficas.....	55

## 1- Introdução

Na produção mundial de hidroenergia o Brasil encontra-se na terceira posição, de acordo com o boletim da Key World Energy Statistics, 2015. Apesar do evidente sucesso em relação aos objetivos da geração de energia, uma série de impactos negativos gerados por esse sistema são por vezes despercebidos. Esses aproveitamentos hidrelétricos são responsáveis por perdas de áreas florestais e danos à biodiversidade, bem como, por mudanças nos ecossistemas aquáticos, muitas vezes irreversíveis (SILVA et al., 2010).

A bacia do rio São Francisco é um exemplo desse cenário negativo, onde imensos barramentos foram construídos para gerar hidroenergia. Essas construções são apontadas como a principal causa da redução de espécies que realizam migração reprodutiva (piracema).

Na ictiofauna brasileira, os peixes de piracema são os mais conhecidos e valorizados. Essas espécies realizam migrações reprodutivas, tendo a necessidade de mover-se livremente entre os sítios de desova, alimentação e desenvolvimento. Nesse contexto, a presença de cheias intensas e duradouras são primordiais para completar seu ciclo reprodutivo. Entretanto, os grandes barramentos existentes nos rios impedem a livre movimentação dos peixes, ou seja, a dinâmica reprodutiva é intensamente comprometida, pois essas construções modificam a frequência, a sazonalidade e a intensidade das cheias (AGOSTINHO et al., 2008). Assim, para o sucesso reprodutivo das espécies migradoras é primordial conhecer melhor as relações entre os barramentos e o deslocamento dos peixes.

O piau-verdadeiro, *Leporinus obtusidens* (Valenciennes, 1837), é um peixe nativo da bacia do São Francisco que realiza piracema, cujas populações vêm diminuindo, principalmente, nas regiões do Submédio e Baixo São Francisco, trechos onde se concentra a maior parte das hidrelétricas da bacia.

A recuperação de espécies de águas continentais é feita por meio de repovoamentos, que nada mais são do que programas de soltura de formas jovens de peixes para aumentar sua abundância. Para o sucesso de tais programas, é necessária a associação de informações baseadas tanto em dados ecológicos quanto genéticos da espécie. A identificação de uma única população ou de metapopulações, ao longo do

rio, constitui uma informação imprescindível na construção do estoque de reprodutores para o repovoamento para que adaptações locais não sejam rompidas.

Nos últimos anos, várias agências governamentais e privadas dedicaram-se a produzir alevinos para o repovoamento de trechos de rios fragmentados por hidrelétricas, no entanto, a maior parte delas não considerou aspectos ecológicos e genéticos por questões orçamentárias.

No Brasil ainda não existe o estabelecimento de um padrão para a execução dos programas de repovoamento. Por exemplo, ao longo do rio São Francisco existem seis programas de repovoamento de piau-verdadeiro em curso, quatro deles dirigidos aos trechos do Submédio e Baixo, que são os mais impactados pelos barramentos das hidrelétricas. Esses programas têm diferentes escalas de produção e duas estratégias de manejo de reprodutores, dependendo da localização na bacia. Há programas que renovam seus plantéis de reprodutores anualmente, quando há disponibilidade de reprodutores, devolvendo-os ao rio após a desova. No entanto, a maior parte dos programas usam os mesmos reprodutores por anos e renovam seus plantéis a partir de descendentes nascidos no cativeiro, aumentando a consanguinidade de seus planteis, com consequências desastrosas para às populações selvagens.

O objetivo dessa pesquisa foi fazer um levantamento da diversidade genética de populações de *Leporinus obtusidens* ao longo dos quatro trechos da bacia do rio São Francisco, através de marcadores de microssatélites desenvolvidos para essa espécie. Outro aspecto que foi avaliado foram as práticas executadas na Estação de Piscicultura de Paulo Afonso pertencente à Companhia Hidro Elétrica do São Francisco - Chesf, em que reprodutores e progênies foram avaliadas durante o período reprodutivo, a fim de se observar quantos reprodutores de fato tomavam parte na disseminação da diversidade genética.

## **2. Revisão de literatura**

### **2.1 Caracterização da Bacia do rio São Francisco**

O rio São Francisco possui a terceira maior bacia hidrográfica do Brasil, que abrange uma área aproximada de 645.000 km<sup>2</sup>, correspondente a cerca de 8% do

território nacional, além de ser a única grande bacia contida integralmente em território brasileiro (KOHLENER, 2003). Três diferentes biomas brasileiros estão presentes nessa bacia, quais sejam: Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica, e sua drenagem percorre os estados de Minas Gerais, Bahia, Pernambuco, Alagoas e Sergipe, além do Distrito Federal (GODINHO e GODINHO, 2003). Tradicionalmente, a bacia do rio São Francisco é subdividida em quatro grandes regiões: Alto, Médio, Submédio e Baixo São Francisco, que são assim caracterizadas: “Alto” que se estende da nascente até Pirapora-MG (630 km); “Médio” que é o maior trecho, entre Pirapora e Remanso (1090 km); “Submédio” que segue de Remanso até Paulo Afonso (686 km) e “Baixo” São Francisco, menor trecho, compreendida entre o complexo de hidrelétricas de Paulo Afonso e a foz (274 km) (ANA, 2010).

Essa bacia é formada pelo rio São Francisco, que é o seu principal rio, e um dos mais longos da América do Sul, com extensão total de 2.700 km, e tem sua nascente na região da serra da Canastra em Minas Gerais, desaguando no Oceano Atlântico, entre os Estados de Alagoas e Sergipe (GODINHO e GODINHO, 2003). Historicamente, recebeu o título de “rio da integração nacional” devido às características geofísicas, pois liga o sudeste ao nordeste do país. Há diversos tributários que deságuam no rio, sendo os mais importantes os rios do Alto e Médio São Francisco, tais como o Paraopeba (MG), das Velhas (MG), Paracatu (MG), Urucuia (MG), Corrente (BA) e Grande (BA), todos perenes (GODINHO e GODINHO, 2003). Já os tributários situados no semiárido são intermitentes, ou seja, secam nos períodos em que o regime de chuvas é baixo e produzem grandes torrentes na época de alta pluviosidade, segundo a Agência Nacional de Águas (ANA, 2010).

A geração de hidroenergia é a grande vocação desta bacia, seguida da agricultura irrigada, aquicultura, suprimento de água e a pesca artesanal (TUNDISI et al., 1999). Quase 25% dos reservatórios brasileiros estão contidos nesta bacia, quais sejam: Três Marias (Alto); Sobradinho, Itaparica, Moxotó e Complexo de Paulo Afonso (Submédio) e Xingó (Baixo) (SATO e GODINHO, 2003). Estes reservatórios representam obstáculos intransponíveis à ictiofauna desta bacia, especialmente para aquelas espécies que efetuam migração reprodutiva (piracema). Em diversos sistemas hidrográficos sul-americanos, as populações locais de peixes têm diminuído e uma das principais causas apontadas é a construção de barragens (MATEUS et al., 2004).

## **2.2 Influência dos barramentos em espécies migradoras: aspectos bioecológicos**

Collins et al. (2013) afirmaram que as espécies migradoras de peixes de água doce apresentam segregação espacial entre os sítios de desova, alimentação e desenvolvimento. Nesse sentido, o sucesso reprodutivo é estritamente dependente da amplitude e duração das cheias (GODINHO et al., 2007), da presença de sítios de desenvolvimento (BAUMGARTNER et al., 2004), bem como da conectividade entre esses e os sítios de desova. A construção de hidrelétricas mudou profundamente a paisagem das bacias hidrográficas da América do Sul, alterando a qualidade e a disponibilidade de habitats, bem como a dinâmica das águas (AGOSTINHO et al., 2010). Vale ressaltar, que nenhum dos reservatórios hidrelétricos no Nordeste do Brasil apresenta qualquer tipo de passagem que proporcione a movimentação de peixes de jusante para montante, favorecendo o isolamento entre as populações fragmentadas.

A contenção dos rios para a geração de energia elétrica é uma das principais fontes de impacto sobre a ictiofauna migradora do país, visto que leva a alterações drásticas no pulso de inundação, modificações nas características físico-químicas da água e também diminui as chances de ovos e larvas, produzidos a montante, alcançarem os sítios de desenvolvimento a jusante (AGOSTINHO et al., 2007). As planícies de inundação são consideradas os principais locais de berçário dessas espécies (BAUMGARTNER et al., 2004), muito embora a desova ocorra em ambiente lótico. Alguns trabalhos têm mostrado que o bloqueio dessa movimentação entre os diferentes sítios de desenvolvimento, alimentação e reprodução, bem como, as modificações no regime de cheias naturais têm implicações catastróficas sobre as espécies migradoras (AGOSTINHO et al., 2005; GODINHO et al., 2007). Dessa forma, existe a necessidade de compreender quais são as características dos reservatórios que favorecem, pelo menos temporariamente, a presença, reprodução e recrutamento das espécies migradoras.

Além disso, a fragmentação e redução do habitat aumenta o risco de deriva genética e reduz o fluxo gênico, diminuindo a diversidade genética, o que interrompe o processo de distribuição e adaptação de espécies (TEMPLETON et al., 2001). Cornuet e Luikart (1996) observaram que quando as populações reduzem a diversidade genética e entram em efeito “gargalo”, tornam-se mais suscetíveis à extinção.

### 2.3 Ictiofauna da Bacia do rio São Francisco: *Leporinus obtusidens*

Na bacia do rio São Francisco, a ictiofauna é bastante rica, compreendendo aproximadamente 211 espécies de peixes conhecidas (REIS et al., 2016), e ainda um grande número de espécies aguarda ser descoberto. Neste acervo ictiológico, a família Anostomidae apresenta ampla distribuição nas bacias brasileiras e, dentre os anostomídeos, o gênero *Leporinus* apresenta o maior número de espécies (GARAVELLO e BRITSKI, 2003). *Leporinus obtusidens* (Valenciennes, 1837) (Figura 1) é um peixe de grande porte, sendo o anostomídeo de maior tamanho na Bacia do rio São Francisco. Recentemente, esta espécie foi reclassificada taxonomicamente para a bacia do rio São Francisco, sendo agora definida como *L. obtusidens*, embora anteriormente fosse classificada como *L. elongatus* (BRITSKI et al., 2012). Esta espécie é conhecida como “piapara” na bacia do Prata e como “piau-verdadeiro” na do São Francisco. Apresenta grande diversidade alimentar sendo, portanto, uma espécie onívora (ARAÚJO LIMA et al., 1995), o que propicia sua adaptação ao ambiente de cativeiro.



Figura 1. Exemplar de *Leporinus obtusidens*. Fonte: Arquivo pessoal.

O piau-verdadeiro apresenta migrações reprodutivas, subindo os rios até locais com condições físico-químicas adequadas para a desova, entre os meses de dezembro e janeiro (VAZZOLER, 1996). De acordo com dados extraídos da Companhia Energética de Minas Gerais-CEMIG, 2006, em cada desova as fêmeas, dependendo do seu tamanho, as fêmeas podem produzir de 300 mil a 1,5 milhões de ovos em cada desova. Esta é uma espécie que apresenta grande plasticidade adaptativa nas diferentes

fases de desenvolvimento (larva, juvenil e adulto), tendo capacidade de adaptação tanto em ambientes artificiais como em cativeiro (PARMA, 1980).

*Leporinus obtusidens* é um importante recurso pesqueiro para as comunidades ribeirinhas, devido ao seu valor econômico. Possui grande aceitação no mercado, tanto na pesca comercial como esportiva, por apresentar excelente qualidade de carne e comportamento agressivo quando seus adultos são capturados em anzol, sendo seus juvenis apreciados por criadores de peixes ornamentais. Na aquicultura, o piau-verdadeiro apresenta características zootécnicas promissoras, como facilidade de reprodução em cativeiro, tolerância ao manejo e fácil aceitação de ração (REYNALTE-TATAJE et al., 2001). Em virtude da pressão da pesca decorrente de seu valor econômico e das mudanças ambientais na bacia, os estoques de *L. obtusidens* vêm diminuindo na região do Submédio e Baixo São Francisco, segundo relatos locais e, já é considerado pela *International Union for the Conservation of Nature* (IUCN) em 2016 como tendo populações com estoque em decréscimo.

#### **2.4 Estratégias para a conservação: STPs e Repovoamento**

Tradicionalmente, no Brasil, as tentativas para minimizar os efeitos negativos do bloqueio à migração de peixes, baseiam-se em três medidas: a instalação de sistemas de transposição de peixes (STPs), a exemplo das “escadas para peixes ou canais”; a gestão de programas de repovoamento e, também, o controle da atividade pesqueira (defeso) (AGOSTINHO et al., 2010). Essa última medida, apresenta graves desvios quanto à sua eficiência, sobretudo devido à falta de fiscalização efetiva, já tão presente em nosso país e, ainda, a ausência de sincronia entre a época estabelecida para o defeso e a época de desova dos peixes migradores nas diferentes bacias hidrográficas.

A construção de passagens para peixes em barramentos é uma ação adotada, muitas vezes, apenas para cumprir uma legislação vigente, o que a torna uma medida dissonante de seus reais objetivos. A exemplo disso, podem-se citar as primeiras instalações de escadas para peixes no Brasil, originalmente projetadas para a passagem de peixes anádromos, como os salmões, contrariando a biologia e ecologia dos peixes nativos, que são potamódromos, e apresentam seu ciclo de vida totalmente em água doce (AGOSTINHO et al., 2008). Outro agravante em muitos STPs é que esses possuem vazões inferiores às recomendadas na literatura, o que pode resultar na baixa

utilização dos sistemas por grandes migradores (SILVA, 2008). Uma pesquisa realizada por Pelicice e Agostinho (2008) sugere que o sistema de transposição de peixes pode ter efeitos adversos à conservação, funcionando como armadilha ecológica, devido ao fluxo unidirecional do deslocamento, que impede a migração descendente dos peixes adultos e de sua prole através do reservatório e barragem. Fica evidente que, sob a perspectiva da conservação da ictiofauna, a eficiência das escadas é controversa, necessitando que as características ecológicas das espécies sejam consideradas, para que possam ser efetivamente preservadas.

Os esforços dispensados à conservação das espécies migradoras através da gestão de programas de repovoamento, foram comprometidos pela falta de objetivos claros e de apoio científico (VIEIRA e POMPEU 2001; AGOSTINHO et al., 2004), embora, essa prática de manejo ainda seja a mais utilizada no Brasil. As licenças de operação das empresas hidrelétricas brasileiras são condicionadas a ações de repovoamento propostas pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). Tais ações devem priorizar a manutenção da diversidade genética, importante à conservação das espécies em longo prazo.

Hoskin et al. (2014) relatam que para manter a diversidade genética das populações naturais, em ações de repovoamento, é importante monitorar a contribuição parental durante a produção da prole. No Brasil, a prática em programas de repovoamento é a utilização de vários indivíduos para a produção de alevinos, e muitas vezes, não são feitas análises sobre a contribuição parental durante o processo da reprodução. Um estudo realizado para a perca-gigante, *Lates calcarifer*, destacou que a contribuição dos pais na prole durante a desova em cativeiro foi altamente variável, mostrando que mais da metade da prole foi gerada por um apenas um macho (FROST et al., 2006). Isso tem implicações significativas na manutenção da conservação das espécies utilizadas no repovoamento, impactando diretamente a diversidade genética. Portanto, na prática de repovoamento devemos também considerar o tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ), que mede a perda de heterozigotos e está estritamente relacionado com o fluxo gênico (WRIGHT, 1931). Um estudo realizado por Cunha et al. (2003) mostrou que o uso de poucos reprodutores associado a altos índices de endogamia, pode tornar o sistema de produção animal inviável e até mesmo conduzir as populações à extinção, o que torna relevante a preocupação com o tamanho efetivo populacional, bem como, as proporções sexuais entre os reprodutores.

Miller e Kapuscinski (2003) relatam que tentativas de repovoamento que não priorizaram os aspectos ecológicos e genéticos trouxeram poucos benefícios e, em alguns casos, contribuíram para o declínio de populações selvagens de salmão. Estes autores advertem, ainda, que sem uma aderência a estes princípios, a integração pretendida entre os animais do cativeiro e do ambiente selvagem pode ter efeitos negativos. O monitoramento dos indivíduos do ambiente repovoado é necessário para minimizar os efeitos negativos do repovoamento, como a perda de diversidade.

O levantamento da estrutura e diversidade genética das populações podem ser investigadas através do polimorfismo do DNA, com o emprego de marcadores moleculares, por exemplo, os de microssatélite. Tais marcadores apresentam alto polimorfismo, codominância e seletividade neutra (POWELL et al., 1996). Dada a importância dos marcadores microssatélites, muitos trabalhos têm sido feitos nos últimos anos em peixes de água doce, desde o isolamento e caracterização até a avaliação da estrutura genética de populações selvagens (DANTAS, et al, 2013; COIMBRA et al., 2017).

Aqui vale ressaltar que, um outro aspecto necessário para manter a composição genética das populações de peixes nativos é o estabelecimento de princípios para o gerenciamento de iniciativas de propagação. Alguns pontos devem ser priorizados, quais sejam: evitar a introdução de espécies exóticas; ter controle sobre a sanidade das populações introduzidas para evitar a propagação de enfermidades; usar um número de reprodutores que garanta um coeficiente de endocruzamento inferior a 5% por geração; além de cuidados com relação à alimentação de alevinos, tamanho de soltura e localização de berçários naturais (MILLER e KAPUSCINSKI, 2003).

## **2.5 Influência de fatores na estruturação genética: IBD x IBE**

Ao longo dos anos, diversos estudos tiveram como objetivo entender os fatores que incidem na estruturação genética em peixes migradores (CRISPO et al., 2006, LIU, et al., 2016; BRAGA-SILVA e GALETTI, 2016; FERREIRA et al., 2017). Segundo Wang et al. (2013) os modelos de diferenciação genética representam a variação espacial do fluxo gênico, influenciados de duas maneiras relevantes, sejam elas: pelo isolamento por distância (IBD) e pelo isolamento por ambiente (IBE). Populações isoladas espacialmente por barreiras estruturais no ambiente e por distâncias geográficas podem estar obedecendo ao IBD (WRIGHT, 1943), já as que experimentam

essa separação devido à adaptação ambiental estão seguindo o padrão de isolamento por ambiente (IBE) (WANG e SUMMERS, 2010). Eventualmente, os isolamentos geográfico e ambiental podem estar associados à estruturação genética das populações, ou seja, fatores geográficos e ecológicos podem mutuamente reduzir o fluxo gênico (COYNE e ORR, 2004; CRISPO et al., 2006; THORPE et al., 2008).

Para explicar a estruturação genética em populações de salmonídeos muitos trabalhos vêm destacando o modelo de isolamento por ambiente, em detrimento ao tradicional padrão de isolamento por distância (BRADBURY e BENTZEN, 2007; NOSIL et al. 2009; ORSINI et al., 2013). Bond et al. (2014) ainda evidenciam que, para algumas populações de peixes próximas, a separação genética está relacionada às pequenas diferenças nas condições ambientais. Fica claro que, a compreensão dos fatores ambientais envolvidos no isolamento genético das populações é um item que não deve ser negligenciado na conservação de peixes (BRADBURY et al., 2013).

Portanto, um dos conceitos que tem sido proposto para explicar a relação entre as diferenças ambientais e as mudanças no fluxo gênico em uma determinada região é o "isolamento por meio ambiente" (IBE) (WANG & BRADBURD 2014). Tal conceito destaca que, independentemente da distância geográfica, as variáveis ambientais como umidade (BRADBURD et al. 2013), habitat ou tipo de substrato (ANDREW et al., 2012) e, ainda, fatores abióticos, como temperatura e precipitação (WANG, 2012), ou fatores bióticos, como densidade de vegetação (VIA e HAWTHORNE, 2002), podem provocar a diferenciação genética espacial das populações. Assim, o isolamento por meio ambiente é um padrão que pode ser gerado por uma variedade de processos ecológicos.

Em vista disso, o presente trabalho pretende investigar a ocorrência de mais de uma população de *L. obtusidens* nos diferentes trechos do rio São Francisco, a fim de orientar as ações de repovoamento. Ainda, neste contexto, a escassez de informações relacionadas à eficiência de programas de repovoamento, tais como, quais reprodutores estão contribuindo durante o manejo reprodutivo executado e, ainda, se a proporção entre machos e fêmeas de fato está sendo efetiva.

### **3. Hipóteses**

- a) As populações existentes de *Leporinus obtusidens* estão estruturadas geneticamente ao longo da bacia do rio São Francisco.
- b) Os reprodutores de *Leporinus obtusidens* mantidos na Estação de Piscicultura de Paulo Afonso contribuem igualmente para o repovoamento e representam um número mínimo efetivo populacional.

## 4. Objetivos

### 4.1 Geral

Explorar composição genética do *Leporinus obtusidens* ao longo da Bacia do rio São Francisco e verificar estratégias reprodutivas em cativeiro por meio de microssatélites.

### 4.2 Específicos

- a) Analisar a distribuição da diversidade genética de *L. obtusidens* nos trechos do Alto, Médio, Submédio e Baixo da bacia do rio São Francisco.
- b) Determinar se o estoque de reprodutores da Estação de Piscicultura da Chesf utilizado no repovoamento representa a diversidade genética dos indivíduos selvagens nas regiões-alvo do programa.
- c) Identificar as contribuições genéticas de parentais machos e fêmeas durante três desovas de reprodutores de *L. obtusidens*, utilizados nas práticas de repovoamento da Estação de Piscicultura da Chesf.

## ARTIGO I

Artigo a ser submetido na revista *Ecology of Freshwater Fish*

Estrutura genética do piau-verdadeiro, *Leporinus obtusidens*, na Bacia  
do rio São Francisco

## 1 **RESUMO**

2  
3 No Brasil, os ecossistemas aquáticos têm sido exaustivamente afetados pela construção  
4 de barragens hidrelétricas, apontadas como a principal causa da redução nos estoques  
5 de espécies que realizam migração reprodutiva (piracema). Neste contexto, a bacia do  
6 rio São Francisco vem sendo afetada severamente e os trechos mais comprometidos são  
7 os do Submédio e Baixo São Francisco. O repovoamento é citado como uma das ações  
8 mais importantes na recuperação desses estoques e consiste na soltura de alevinos  
9 oriundos do cativeiro. O piau-verdadeiro (*Leporinus obtusidens*) é um peixe nativo  
10 desta Bacia e é uma das espécies migradoras fortemente afetadas pela construção das  
11 hidrelétricas, o que a torna alvo de muitos programas de repovoamento. A fim de  
12 assessorar tais programas, a diversidade genética do piau ao longo da bacia e de  
13 reprodutores de um programa de repovoamento foi analisada por meio de dez  
14 marcadores microssatélites. Um total de 145 alelos foi encontrado em todos os  
15 marcadores para todas as populações, com uma média superior a 10 nas populações  
16 selvagens e 5,4 no cativeiro. Uma estruturação populacional foi sugerida na análise  
17 Bayesiana que indicou a existência de três populações, uma no Alto, uma no Médio e  
18 Submédio e uma no Baixo São Francisco. Teste de isolamento por distância ( $R^2=0,166$ )  
19 foi realizado e não evidenciou uma correlação positiva. Aqui, pode-se propor que existe  
20 uma estruturação a partir da influência do meio ambiente, ou seja, entre os climas do  
21 cerrado, caatinga e mata Atlântica e os parâmetros genéticos, sugerindo a necessidade  
22 de três programas de repovoamento. Já o cativeiro diferiu substancialmente das  
23 populações selvagens e não deve mais ser usado sob o risco de comprometer a  
24 eficiência do programa com relação à reabilitação das populações.

25

26

## 27 **Introdução**

28

29 O Brasil é o terceiro produtor mundial de hidroenergia, contribuindo com 10,1%  
30 da hidrodução global em 2014, segundo o último relatório do Key World Energy  
31 Statistics 2016 da International Energy Agency (IEA), publicado em 2016. Na matriz  
32 energética brasileira, a hidroeletricidade é a principal fonte, sendo responsável por mais  
33 de 65,2% (EPE, 2015). Contudo, esses empreendimentos hidroelétricos são  
34 responsáveis por perdas de áreas florestais e danos à biodiversidade, bem como, por

35 mudanças nos ecossistemas aquáticos, muitas vezes irreversíveis (Silva et al., 2010).  
36 Sabe-se que um terço dos peixes de água doce no mundo estão em risco, por causa do  
37 avanço das construções de hidrelétricas (Winemiller et al., 2016). A bacia do rio São  
38 Francisco é um exemplo desse cenário, onde imensos barramentos foram construídos  
39 para gerar energia. Essa expansão continuará e mais 13 grandes projetos serão  
40 implementados no Alto São Francisco (EPE, 2015).

41 Segundo Agostinho et al. (2007), essas construções são apontadas como a  
42 principal causa da redução das populações de espécies que realizam migração  
43 reprodutiva (piracema). No entanto, a criação de um obstáculo físico é, provavelmente,  
44 o menor dos problemas causado pelas hidrelétricas aos peixes migradores, uma vez que  
45 é a regulação do fluxo das águas que proporciona a perda de intensidade das enchentes  
46 à jusante dos reservatórios, tornando a vazão irregular e interferindo diretamente na  
47 regulação dos processos ecológicos (Poff et al., 1997; Bunn & Arthington, 2002).

48 A construção de hidrelétricas mudou profundamente a paisagem das Bacias  
49 Hidrográficas da América do Sul, alterando a qualidade e a disponibilidade de habitats,  
50 bem como a dinâmica das águas (Agostinho et al., 2010). Aqui vale ressaltar que,  
51 nenhum dos reservatórios hidrelétricos no Nordeste brasileiro apresenta qualquer tipo  
52 de passagem que proporcione a movimentação dos peixes de jusante para montante,  
53 favorecendo o isolamento entre as populações fragmentadas.

54 Na Bacia do rio São Francisco, a ictiofauna é bastante rica, compreendendo  
55 aproximadamente 211 espécies de peixes conhecidas (Reis et al., 2016). Nesse acervo  
56 ictiológico, a família Anostomidae apresenta ampla distribuição nas bacias brasileiras  
57 e, dentre os anostomídeos, o gênero *Leporinus* apresenta o maior número de espécies  
58 (Garavello & Britski, 2003). *Leporinus obtusidens*, anteriormente classificado como *L.*  
59 *elongatus*, é o anostomídeo de maior porte na Bacia do rio São Francisco (Britski et al.  
60 2012). Esta espécie é conhecida como “piapara” na Bacia do Prata e como “piau-  
61 verdadeiro” na do São Francisco (Reis, 2003). Possui hábito alimentar  
62 preferencialmente herbívoro-insetívoro, mas pode ingerir pequenos crustáceos e  
63 plâncton (Fontenele & Vasconcelos, 1977). Por tratar-se de uma espécie de piracema,  
64 seu ciclo reprodutivo é sazonal, realizando migração no período da reprodução  
65 (Reynalte-Tataje & Zaniboni Filho, 2010), associada às altas vazões (Vazzoler &  
66 Menezes, 1992).

67 O comportamento e a estratégia reprodutiva da maioria dos peixes são cíclicos,  
68 com o período de desova ocorrendo no momento mais vantajoso, para que a prole tenha

69 maior chance de sobrevivência. O ambiente deve ter alimento suficiente e proteção  
 70 contra predadores, além de parâmetros físico-químicos favoráveis (Ramos et al., 1999).  
 71 De acordo com Agostinho et al. (2007), as espécies de peixes que não conseguem  
 72 encontrar tais condições são progressivamente extintas. Atualmente, as populações de  
 73 piau-verdadeiro encontram-se em decréscimo, segundo a lista de espécies ameaçadas  
 74 da União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN, 2016).

75 Nesse trabalho foi realizado o primeiro levantamento da diversidade genética  
 76 de populações de *Leporinus obtusidens* em toda a Bacia do São Francisco e do estoque  
 77 de reprodutores de um programa de repovoamento dirigido às populações do Submédio  
 78 e Baixo São Francisco, através de marcadores microssatélites. O objetivo foi avaliar a  
 79 ocorrência de metapopulações e discutir a pertinência dessa estratégia de manejo,  
 80 adotada pela maioria dos programas.

81

## 82 **Material e Métodos**

83

### 84 **Coleta de amostras**

85

86 Amostras teciduais da nadadeira caudal de indivíduos de *Leporinus obtusidens*  
 87 foram coletadas durante o período reprodutivo (Tabela 1) em localidades situadas nas  
 88 regiões do Alto, Médio, Submédio e Baixo rio São Francisco (Figura 1). Foram  
 89 coletadas também amostras de 48 reprodutores destinados ao repovoamento do  
 90 Submédio e Baixo São Francisco mantidos na Estação de Piscicultura da Companhia  
 91 Hidro Elétrica do São Francisco - Chesf em Paulo Afonso/Bahia. Todas as amostras  
 92 foram preservadas em etanol a 95%.

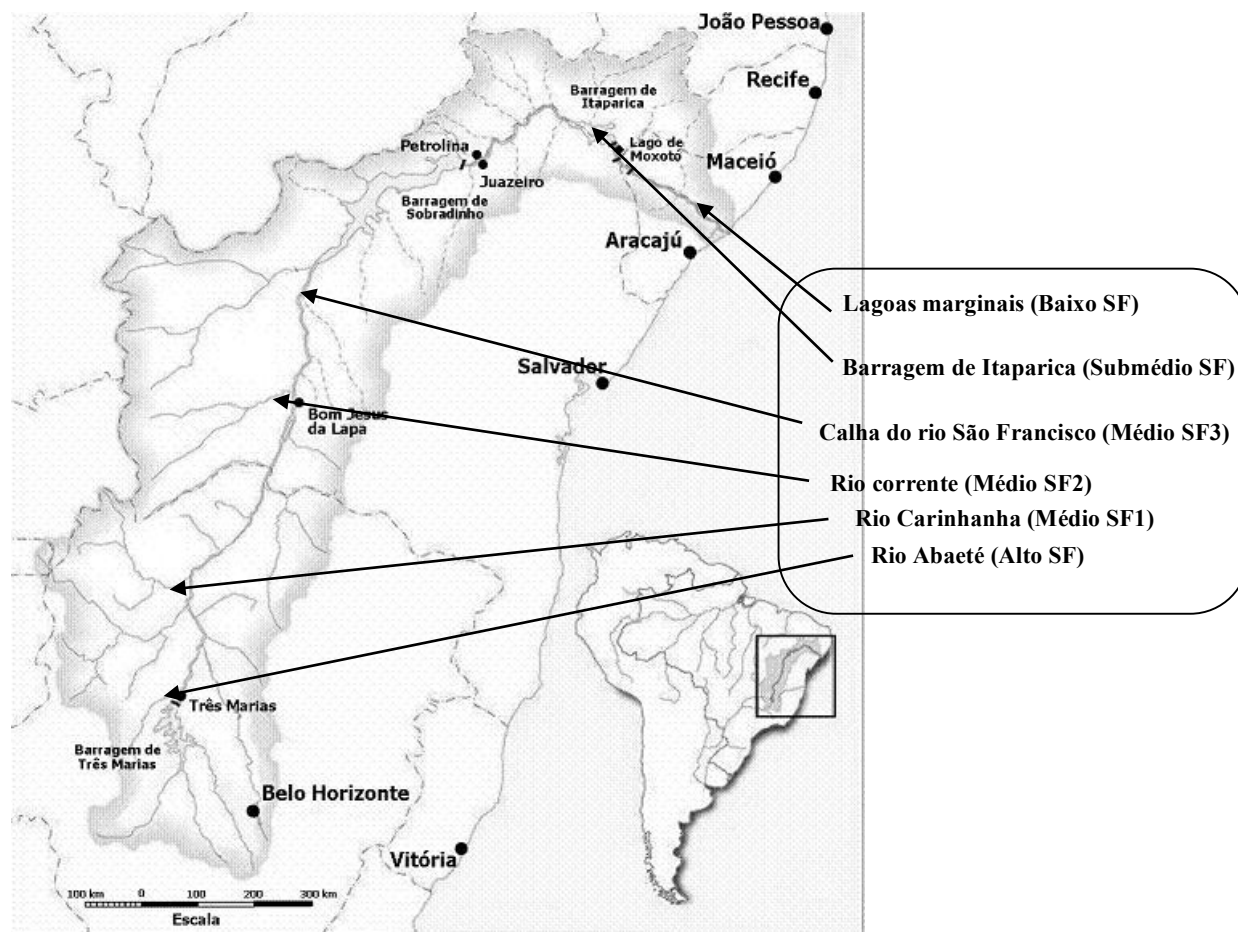
93

94 **Tabela 1.** Amostras de *L. obtusidens* coletadas em seis localidades dos quatro trechos do rio São  
 95 Francisco (SF).

<b>Regiões fisiográficas</b>	<b>Mês/ano</b>	<b>Cidade/estado</b>	<b>Total</b>	<b>Latitude</b>	<b>Longitude</b>
1- Alto SF (rio Abaeté)	nov/11	Três Marias/Minas Gerais	44	18° 06' 35''	45° 27' 48''
2- Médio SF 1 (rio Carinhanha)	out/12	Carinhanha/Bahia	32	14° 19' 10''	43° 46' 16''
3- Médio SF 2 (rio Corrente)	out/12	Sítio do Mato/Bahia	48	13° 07' 29''	43° 27' 52''
4- Médio SF 3 (calha do SF)	dez/11	Xique-Xique/Bahia	48	10° 49' 42''	42° 44' 18''
5- Submédio SF (lago Itaparica)	jan/12	Petrolândia/Pernambuco	32	09° 00' 34''	38° 14' 58''

6- Baixo SF (lagoas marginais) fev/11 Propriá/Alagoas 40 10° 10' 20'' 36° 50' 47''

96  
97



98  
99  
100  
101

**Figura 1.** Bacia do rio São Francisco e os pontos de coleta.

Fonte: <http://www.sfrancisco.bio.br>

102 **Extração de DNA**

103

104

105 O tecido de todos os indivíduos foi extraído de acordo com o protocolo padrão  
106 de Fenol/Clorofórmio/Álcool Isoamílico (FCI), com poucas modificações (Sambrook  
107 et al., 1989). O DNA foi ressuspensionado em TE (Tris-HCl 10 mM pH 8,0, EDTA 1 mM  
108 pH 8,0) e armazenado no freezer a -20°C. A concentração do DNA foi feita em um  
109 fluorímetro (QuantiFluor/Promega) e a integridade foi avaliada em eletroforese em gel  
de agarose a 1%.

110

111 **Amplificação por PCR e Genotipagem dos microssatélites**

112

113 Dez *loci* de microssatélites descritos por Oliveira et al. (2014) foram  
114 amplificados através da reação em cadeia da polimerase (PCR), utilizando-se as

115 seguintes condições para um volume final de 10 uL: 1 uL ou 2 uL de DNA (20-40  
116 ng/uL), 1X Tampão de PCR (20 mM Tris-HCl (pH 8.0), 40 mM NaCl), 1U de *Taq* DNA  
117 polimerase recombinante, 10 pmol/uL de cada *primer Forward* (marcados com  
118 fluorescência) e *Reverse*, 200 uM de dNTP e 1,5 ou 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub>. Os ciclos de  
119 PCR consistiram de uma desnaturação inicial de 94°C por 4 minutos, seguido de 35  
120 ciclos de 94°C durante 30 segundos, temperatura de anelamento durante 30 segundos,  
121 extensão a 72 °C durante 1 minuto e uma extensão final a 72°C durante 40 minutos.

122 Para a genotipagem, os amplicons marcados foram misturados de acordo com  
123 diferentes fluorescências, em seguida desnaturados por 5 min a 95°C em formamida e  
124 submetidos à análise por eletroforese no sequenciador automático 3500 Genetic  
125 Analyzer (Applied Biosystems). O tamanho dos fragmentos foi estimado com base no  
126 marcador interno GS600LIZ (Applied Biosystems) e no Software GeneMapper 3.7  
127 (Applied Biosystems).

128

### 129 **Análises estatísticas**

130

131 As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software GENEPOP 4.0  
132 (Raymond & Rousset, 1995), a fim de se obter o número de alelos ( $N_a$ ),  
133 heterozigosidades observadas ( $H_o$ ) e esperadas ( $H_e$ ), desvio do equilíbrio de Hardy-  
134 Weinberg (EHW) e o coeficiente de endocruzamento ( $F_{IS}$ ). O método da cadeia de  
135 Markov foi aplicado para estimar o desvio do EHW usando os seguintes parâmetros:  
136 desmemorização = 1000, número de séries = 100, e número de iterações = 1000.

137 A ocorrência de alelos nulos ( $A_n$ ) foi verificada com o aplicativo Micro-checker  
138 (Oosterhout et al., 2006). O número de alelos efetivos ( $A_e$ ), ou seja, aqueles que  
139 efetivamente passarão à geração seguinte e o número de alelos privados ( $N_p$ ), únicos de  
140 cada população, foram obtidos pelo programa GenAlEx 6.1 (Peakall & Smouse, 2006).  
141 A riqueza de alelos ( $A_r$ ) foi calculada com o software  $F_{STAT}$  (Goudet, 1993).

142 O índice de Wright,  $F_{ST}$ , que mede o grau de diferenciação entre as populações  
143 e a magnitude da variação devida a diferenças entre as populações (AMOVA) foi  
144 estimado usando-se o software Arlequin (Excoffier et al., 2005). A significância de  
145 múltiplos testes foi corrigida pelo método de Bonferroni (Rice, 1989).

146 O método Bayesiano de agrupamento foi usado para verificar a possibilidade de  
147 atribuir um conjunto de indivíduos a uma das  $k$  populações sem qualquer informação  
148 prévia sobre a origem geográfica desses indivíduos. As análises foram realizadas

149 usando o Structure versão 2.3.4 (Pritchard et al., 2000), sob o “modelo de mistura” e as  
 150 seguintes condições: burn-in de 50.000 seguido por 200.000 repetições de Monte Carlo  
 151 Cadeia de Markov (MCMC) e quatro repetições para cada valor k (k = 1-10). O valor  
 152 de K foi estimado utilizando o modelo log-probabilidade ( $\log [P (X / K)]$ ) (Falush et al.,  
 153 2003) e o melhor  $\Delta k$  foi baseado no método proposto por Evanno et al. (2005).

154 Foi realizado teste de Mantel com 10.000 permutações, para avaliar a  
 155 importância relativa da distância geográfica (isolamento por distância, IBD), nos  
 156 padrões espaciais de diferenciação genética (estimativas de  $F_{ST}$  linearizadas,  $F_{ST} / (1 -$   
 157  $F_{ST})$ ). As distâncias geográficas entre os pontos de coleta foram calculadas seguindo a  
 158 localização (Latitude e Longitude) e estimadas a partir da visualização das coordenadas  
 159 no *Google Earth*.

160

## 161 Resultados

162

163 Em um primeiro momento, os dados foram tratados por local de amostragem. A  
 164 diversidade genética das populações selvagens e de cativeiro estão descritas na tabela  
 165 2. As amostras de indivíduos selvagens apresentaram número médio de alelos acima de  
 166 10, enquanto que entre os reprodutores do cativeiro esse número foi de 5,4. O número  
 167 médio de alelos efetivos ( $A_e$ ) foi de 2,04 para o cativeiro e para as localidades selvagens  
 168 variou de 5,81 a 8,05. Um total de 21 alelos privados foi detectado, sendo 16 deles no  
 169 Alto e Médio, e os demais, distribuídos entre as outras regiões e no cativeiro (Tabela  
 170 2).

171

172 **Tabela 2.** Diversidade genética de sítios amostrais de *L. obtusidens* no rio São Francisco e do plantel de  
 173 reprodutores da Chesf baseada em dez *loci* de microssatélites.

Localidade	Lobt01	Lobt02	Lobt03	Lobt04	Lobt05	Lobt06	Lobt07	Lobt08	Lobt09	Lobt10	Média
<b>Alto</b>											
N	44	44	44	44	44	44	44	44	44	44	-
$N_a$	7	9	7	22	24	7	4	8	14	6	10,8
$A_e$	5,1	3,7	2,65	16,54	18,52	2,9	2,14	4,56	9,35	4,4	6,99
$A_r$	6,68	7,94	6,26	20,43	22,61	5,94	4	7,48	13,18	5,99	10,05
$H_o$	0,886	0,772	0,613	0,886	0,931	0,659	0,659	0,841	0,795	0,681	0,772
$H_e$	0,813	0,738	0,631	0,951	0,956	0,663	0,541	0,789	0,903	0,781	0,776
$A_n$	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	-
$N_p$	0	0	0	0	0	0	0	2	2	1	-
$F_{IS}$	-0,091	-0,046	0,027	0,068	0,026	0,006	-0,222	-0,653	0,129	0,129	0,005
EHW	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-

**Médio SF1**

N	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	-
$N_a$	7	10	7	19	21	5	4	14	22	7	11,6
$A_e$	4,94	3,89	2,67	8,53	11,44	2,72	1,47	8,56	10,34	3,58	5,814
$A_r$	7	9,68	6,99	19	20,66	4,93	3,93	13,62	21,29	6,9	11,4
$H_o$	0,843	0,656	0,687	1	0,937	0,642	0,375	0,937	0,937	0,483	0,749
$H_e$	0,81	0,754	0,635	0,905	0,927	0,642	0,326	0,891	0,917	0,727	0,753
$A_n$	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	-
$N_p$	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	-
$F_{IS}$	-0,041	0,132	-0,082	-0,106	-0,011	0,028	-0,149	-0,052	-0,022	0,338	-0,002
EHW	Ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-

**Médio SF2**

N	48	48	48	48	48	48	48	48	48	48	-
$N_a$	7	8	8	22	28	5	4	16	22	10	13
$A_e$	4,86	3,81	2,44	15,46	18,21	2,97	1,71	7,95	11,84	4,58	7,38
$A_r$	6,93	7,21	7,04	20,24	24,48	4,48	3,86	13,83	19,96	9,11	11,71
$H_o$	0,75	0,895	0,625	0,77	0,708	0,583	0,5	0,937	0,958	0,666	0,739
$H_e$	0,802	0,745	0,597	0,945	0,955	0,671	0,421	0,883	0,925	0,789	0,773
$A_n$	Não	Não	Não	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	-
$N_p$	0	0	0	1	1	2	0	2	0	0	-
$F_{IS}$	0,066	-0,204	-0,046	0,186	0,26	0,132	-0,188	-0,061	-0,036	0,157	0,044
EHW	ns	ns	ns	*	*	ns	ns	ns	*	ns	-

**Médio SF3**

N	48	48	48	48	48	48	48	48	48	48	-
$N_a$	7	9	8	25	23	4	5	14	22	9	12,6
$A_e$	4,52	3,59	3,65	15,3	9,14	3,05	1,7	7,2	10,84	4,4	6,339
$A_r$	6,97	7,81	7,4	21,04	19,72	3,95	4,6	12,93	19,32	8,63	11,24
$H_o$	0,869	0,77	0,739	0,708	0,916	0,625	0,5	0,875	0,895	0,729	0,762
$H_e$	0,782	0,729	0,728	0,944	0,9	0,679	0,416	0,87	0,917	0,788	0,775
$A_n$	Não	Não	Não	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não	-
$N_p$	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	-
$F_{IS}$	-0,112	-0,057	-0,014	0,252	-0,018	0,081	-0,204	-0,005	0,023	0,066	0,008
EHW	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	*	ns	-

**Submédio**

N	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	-
$N_a$	7	10	7	19	21	5	4	15	21	8	11,7
$A_e$	5,14	4,19	2,41	8,57	13,84	2,47	2	7,53	11,53	4,18	6,186
$A_r$	6,99	9,74	6,99	19	20,66	4,93	3,93	14,56	20,53	7,93	11,53
$H_o$	0,843	0,656	0,687	1	0,937	0,656	0,375	0,937	0,968	0,687	0,775
$H_e$	0,798	0,766	0,663	0,905	0,927	0,639	0,326	0,897	0,921	0,768	0,761
$A_n$	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	-
$N_p$	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	-
$F_{IS}$	-0,058	0,146	-0,037	-0,106	-0,011	-0,026	-0,149	-0,045	-0,052	0,106	-0,024
EHW	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-

**Baixo**

N	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	-
---	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	---

$N_a$	6	8	5	18	24	5	2	8	19	10	10,5
$A_e$	3,35	4,8	3,36	10,81	14,95	3,12	1,1	5,3	9,01	5,94	6,174
$A_r$	5,76	7,91	4,94	16,34	21,93	4,78	1,99	7,74	17,54	9,62	9,86
$H_o$	0,564	0,55	0,75	0,85	0,85	0,763	0,1	0,684	0,82	0,475	0,641
$H_e$	0,717	0,801	0,711	0,918	0,944	0,693	0,096	0,82	0,904	0,842	0,745
$A_n$	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	-
$N_p$	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	-
$F_{IS}$	0,216	0,316	-0,054	0,076	0,101	-0,102	-0,04	0,167	0,094	0,439	0,129
EHW	ns	ns	ns	*	*	ns	ns	ns	ns	*	-
<b>Cativeiro</b>											
N	48	48	48	48	48	48	48	48	48	48	-
$N_a$	4	5	5	8	7	7	2	5	7	4	5,4
$A_e$	1,58	2,14	1,83	1,7	1,21	3,01	1,84	1,38	3,09	2,68	2,04
$A_r$	3,86	4,48	3,87	6,11	5,46	5,97	2	4,23	5,85	3,62	4,54
$H_o$	0,333	0,458	0,625	0,458	0,145	0,625	0,375	0,166	0,875	0,52	0,458
$H_e$	0,373	0,54	0,46	0,417	0,178	0,675	0,462	0,28	0,683	0,633	0,470
$A_n$	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não	-
$N_p$	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	-
$F_{IS}$	0,108	0,153	-0,361	-0,099	0,186	0,074	0,19	0,407	-0,283	0,18	0,026
EHW	ns	*	ns	ns	ns	ns	*	*	*	*	-

174 N, número de indivíduos;  $N_a$ , número de alelos;  $A_e$ , número de alelos efetivos;  $A_r$ , riqueza alélica;  $H_o$ , heterozigosidade observada;  $H_e$ ,  
 175 heterozigosidade esperada;  $A_n$ , ocorrência de alelos nulos;  $N_p$ , alelos privados;  $F_{IS}$ , coeficiente de consanguinidade; Desvio do equilíbrio de  
 176 Hardy-Weinberg (EHW), ns (não significativo), \*  $p < 0,05$ . Alto (rio Abaeté); Médio SF1 (rio Carinhonha), Médio SF2 (rio Corrente); Médio SF3  
 177 (rio São Francisco); Submédio (reservatório de Itaparica); Baixo (lagoas marginais do rio São Francisco) e Cativeiro (Estação de piscicultura de  
 178 Paulo Afonso).  
 179

180 As heterozigosidades médias observada ( $H_o$ ) e esperada ( $H_e$ ) variaram de 0,458  
 181 a 0,775 e de 0,470 a 0,776, respectivamente. Já o desvio do equilíbrio de Hardy-  
 182 Weinberg (EHW) corrigido por Bonferroni foi significativo para o cativeiro em cinco  
 183 *loci*. No caso das amostras selvagens, o desvio de EHW foi significativo para alguns  
 184 *loci* em algumas localidades, não havendo nenhum *locus* em desvio sistemático (Tabela  
 185 2). No geral, considerando-se apenas as amostras selvagens, de 60 testes de  
 186 probabilidade, apenas nove foram significativos para o desvio do EHW.

187 As probabilidades encontradas nas análises do desequilíbrio de ligação, quando  
 188 corrigidas pelo método de Bonferroni, não foram significativas, indicando que cada  
 189 *locus* pertencia a cromossomos diferentes.

190 Em relação ao coeficiente de endogamia, a maioria das amostras, incluindo a de  
 191 cativeiro, apresentou valores negativos ou muito baixos de  $F_{IS}$  (Tabela 2), no entanto,  
 192 no Baixo São Francisco o coeficiente foi superior a 0,12.

193 O  $F_{ST}$  e  $R_{ST}$  geral entre as amostras selvagens foram de 0,014 e 0,015,  
 194 respectivamente, e as estimativas par a par de  $F_{ST}$  variaram de -0,0133 a 0,0316 e foram  
 195 significativas ( $P < 0,05$ ) para as combinações entre a amostra do Alto e as demais, assim

196 como para a amostra do Baixo e as demais. Já para as combinações entre o cativo e  
 197 as amostras selvagens, todos os valores de  $F_{ST}$  foram significativos, variando 0,1879 a  
 198 0,2268 (Tabela 3). A AMOVA mostrou que 95% de toda a variação foi encontrada  
 199 dentro das populações. Nos dois índices de diferenciação populacional ( $F_{ST}$  ou  $R_{ST}$ ), as  
 200 maiores distâncias encontradas foram entre o Alto e o Baixo.

201

202 **Tabela 3.**  $F_{ST}$  par a par (diagonal abaixo) e  $R_{ST}$  par a par (diagonal acima) de *L. obtusidens* estimados  
 203 para seis localidades na Bacia do rio São Francisco e para o cativo da Chesf (nível de significância  
 204 \* $P < 0,05$ ).

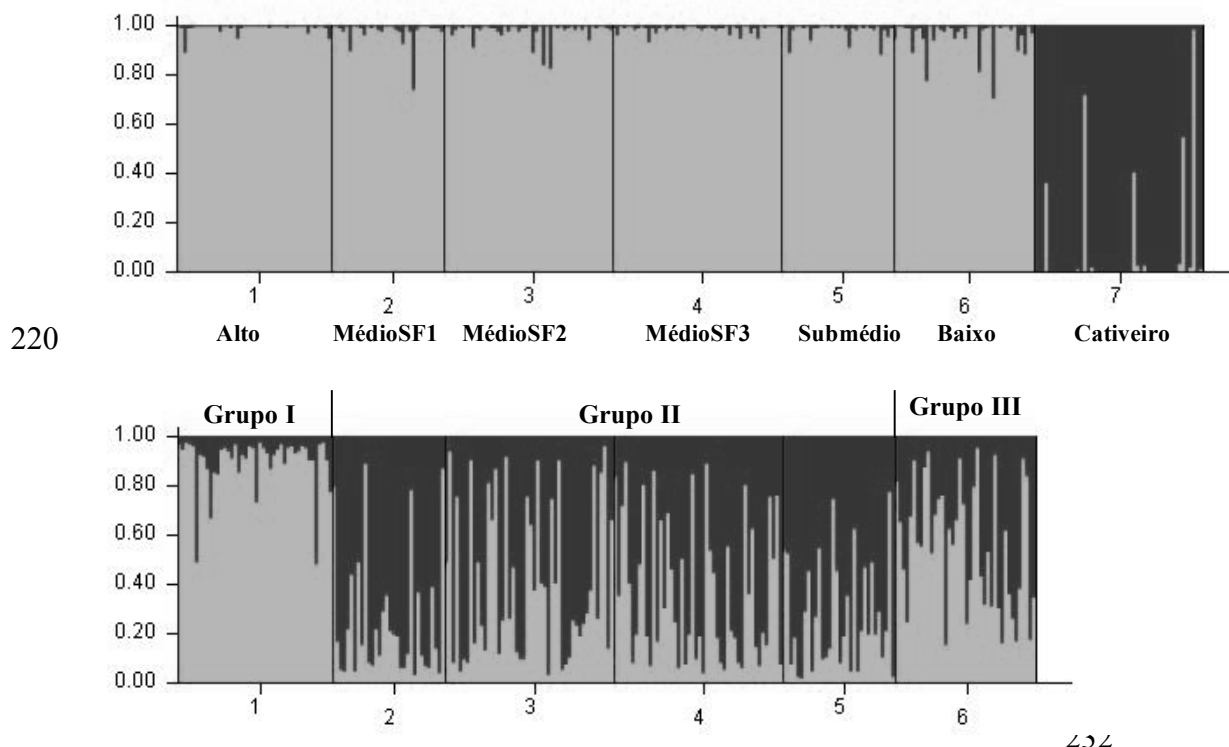
		$R_{ST}$						
		Alto	Médio SF1	Médio SF2	Médio SF3	Submédio	Baixo	Cativo
$F_{ST}$	Alto	-	0,0247	0,0199	0,0273	0,0248	0,0326	0,2934
	Médio SF1	0,0241*	-	0	0,0007	0	0,0238	0,2492
	Médio SF2	0,0195*	-0,0017	-	0,0011	0,0004	0,0211	0,2313
	Médio SF3	0,0266*	0,0007	0,0011	-	0,0016	0,0219	0,2455
	Submédio	0,0242*	-0,0133	0,0004	0,0016	-	0,0218	0,2462
	Baixo	0,0316*	0,0232*	0,0206*	0,0214*	0,0213*	-	0,2709
	Cativo	0,2268*	0,1995*	0,1879*	0,1971 *	0,1975*	0,2131*	-

205

206

207 Na análise Bayesiana para todas as populações, a maior probabilidade de  
 208 valores de K sugeriu dois patrimônios genéticos ( $K=2$ ), tanto incluindo o cativo,  
 209 como o excluindo. Na análise incluindo o cativo (Figura 3, primeira prancha), mais  
 210 de 95% dos indivíduos das populações selvagens são designados como cluster 1 (cinza),  
 211 enquanto os indivíduos da população de cativo são na sua maioria (93%) designados  
 212 como cluster 2 (preto). Na análise em que o cativo é retirado (Figura 2, segunda  
 213 prancha), claramente percebe-se que a amostra mais distinta é a do Alto (grupo I) com  
 214 89,8% dos indivíduos assinalados como cluster 1 (cinza), ao passo que para a maior  
 215 parte das amostras do Médio e Submédio (grupo II), este percentual oscila entre 25,4 e  
 216 42,1 com a maior parte dos indivíduos pertencendo ao cluster 2 (preto) e para a amostra  
 217 do Baixo (grupo III) o percentual fica em 56,3% para o cluster 1 (cinza) e 43,7% para  
 218 o cluster 2 (preto).

219



233 **Figura 2.** Atribuições dos genótipos de *L. obtusidens* capturados em diferentes locais de amostragem  
 234 na Bacia do rio São Francisco. A primeira prancha incluiu a população de cativeiro, a segunda não.  
 235

236 Após a observação de agrupamentos das populações, foram calculados novos  
 237 valores de parâmetros de diversidade genética para os três grupos, Tabela 4.

238

239 **Tabela 4.** Diversidade genética por grupos de populações selvagens e cativeiro de *Leporinus obtusidens*  
 240 na Bacia do rio São Francisco.

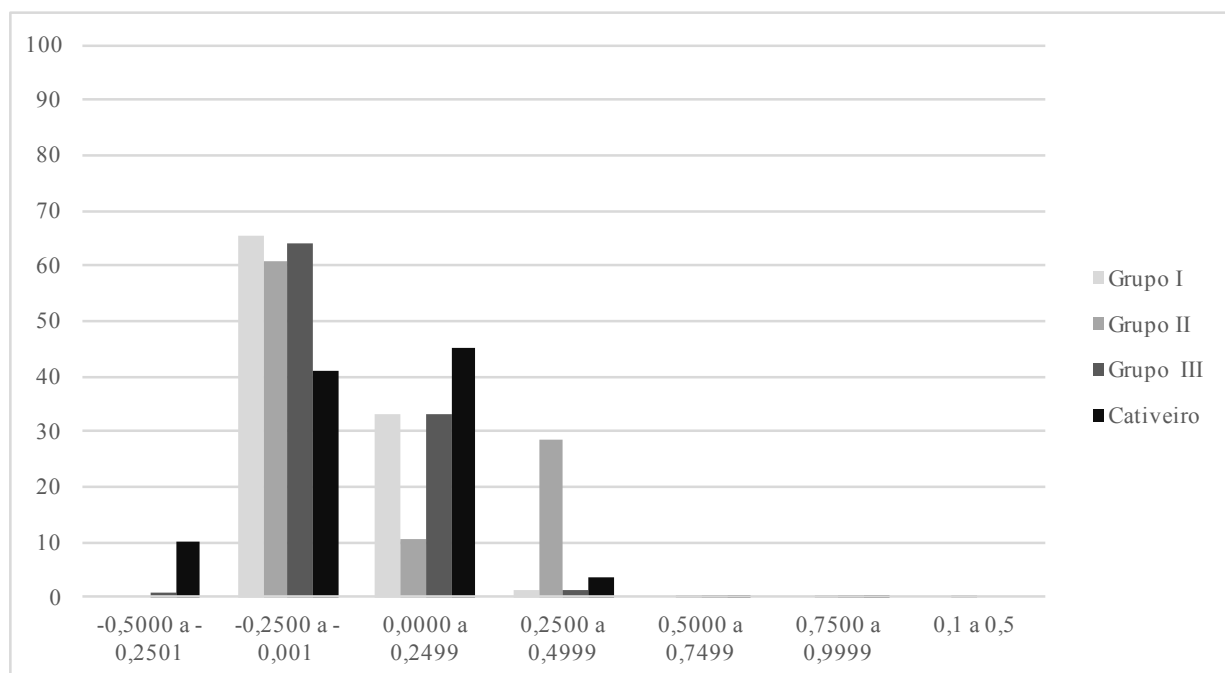
	$N_a$	$N_p$	$A_r$	$H_o$	$H_e$	$F_{IS}$
Grupo I	10,8	5	10,05	0,772	0,776	0,005
Grupo II	14,8	12	14,77	0,754	0,766	0,0099
Grupo III	10,5	2	9,86	0,641	0,745	0,129
Cativeiro	5,4	2	4,54	0,458	0,47	0,026

241  $N_a$ = número médio de alelos;  $N_p$ = número de alelos privados;  $A_r$ = riqueza alélica;  $H_o$ = heterozigidade  
 242 média observada,  $H_e$ = heterozigidade média esperada;  $F_{IS}$ = coeficiente de endogamia.  
 243

244 O grau de parentesco de cada grupo (I, II, III e Cativeiro) foi estimado por meio  
 245 do coeficiente de Ritland ( $r_{xy}$ ) (Ritland, 1996), disponível no software COANCESTRY  
 246 1.0.1.2 (Wang, 2011) com o intuito de explorar as similaridades genéticas em cada  
 247 grupo. As combinações consideraram um total de 15.257 pares de reprodutores  
 248 possíveis, uma vez que a identificação sexual não estava disponível. Valores positivos  
 249 de  $r_{xy}$  indicam relação de parentesco entre os indivíduos de um grupo, enquanto os  
 250 negativos, a ausência desta. Nos grupos selvagens, os valores positivos compuseram

251 entre 10,5 e 33,1% dos pares analisados, ao passo que no cativeiro este montante foi de  
 252 45% (Figura 3).

253



254

255 **Figura 3.** Combinações de pares de indivíduos obtidos a partir do coeficiente de Ritland ( $r_{xy}$ ) para os  
 256 grupos de populações selvagens de *L. obtusidens* e do cativeiro.

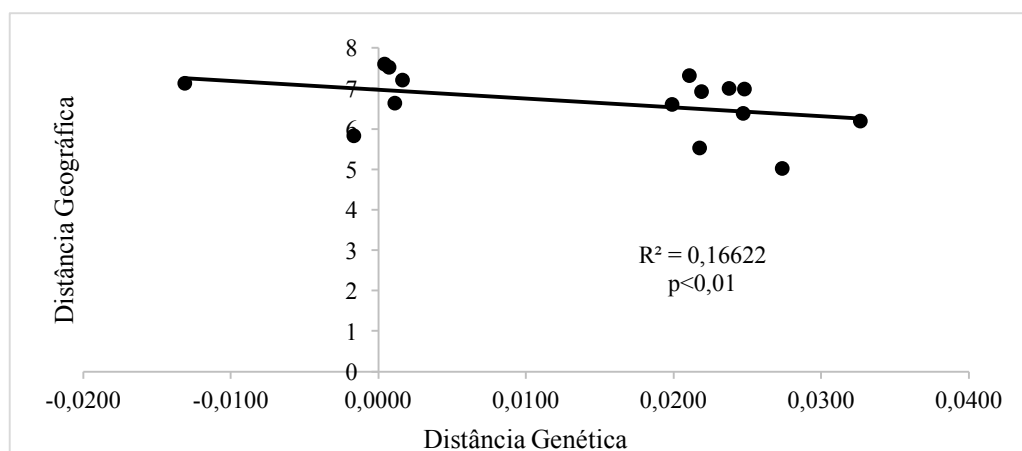
257

258

259 O teste de Mantel para o IBD mostrou correlação pouco significativa ( $R^2=0,166$ ,  
 260  $p<0,01$ ) entre a distância geográfica e a diferenciação genética (Figura 4).

261

262



**Figura 4.** Gráfico de correlação para o IBD relação entre a distância geográfica ( $\log$  distância) e a distância genética ( $F_{ST}/1-F_{ST}$ ).

263

264

265 **Discussão**

266

267 **Unidades de Manejo do *Leporinus obtusidens* na Bacia do rio São Francisco**

268

269 A distribuição da diversidade genética entre e dentro dos níveis hierárquicos de  
270 subdivisão de uma espécie se dá pela estruturação genética (Brown, 1978). Um  
271 conjunto complexo de fatores evolutivos é necessário para o desenvolvimento e a  
272 manutenção dessa estruturação nas populações (Hamrick, 1982). São conhecidos três  
273 tipos de estruturação genética em peixes: a de populações distintas (com fluxo gênico  
274 baixo e manutenção de populações isoladas), de populações contínuas (onde há um  
275 fluxo gênico moderado e um padrão de isolamento por distância) e o último tipo a de  
276 populações sem diferenciação (com homogeneidade genética entre todas as extensões  
277 de distribuição geográficas investigadas) (Laikre et al., 2005).

278 Nesse estudo foi encontrada uma estruturação genética de populações distintas  
279 de *L. obtusidens* amostradas ao longo do rio São Francisco. Três unidades de manejo  
280 foram detectadas tanto pela análise Bayesiana, quanto pelo  $F_{ST}$ , sendo uma no Alto,  
281 uma no Médio/Submédio e uma terceira no Baixo. As mais divergentes foram as do  
282 Alto e a do Baixo, distantes cerca de 1.800 km. Apesar desse perfil de estruturação  
283 genética detectado, a primeira barreira física encontrada entre as localidades é o  
284 reservatório de Sobradinho, na divisa entre o Médio e o Submédio São Francisco. Do  
285 ponto de coleta que denominamos de Alto (à jusante da barragem de Três Marias) até  
286 o Submédio (à jusante de Sobradinho) o rio corre livremente (MMA, 2006). Ou seja, a  
287 despeito de haver aí uma barreira física instalada há quase 40 anos atrás (construção da  
288 barragem de Sobradinho), esta não foi suficiente para diferenciar geneticamente o piau-  
289 verdadeiro que habita o Médio e o Submédio São Francisco, mesmo na ausência de  
290 mecanismos de transposição dos peixes.

291 Em um estudo feito com o *Cycleptus elongatus*, espécie amplamente distribuída  
292 na Bacia do rio Mississipi, mostrou que ao longo de quase 2.500 Km desse rio não foi  
293 possível detectar estruturação genética, apesar da existência de barramentos há mais de  
294 60 anos. Os autores sugeriram que essa falta de estruturação decorria da presença de  
295 passagens, que ainda possibilitavam a circulação dos indivíduos, aumentando o fluxo  
296 gênico (Bessert & Ortí, 2008).

297

298 **IBD x IBE**

299

300 No que diz respeito ao isolamento por distância, verificou-se que o padrão de  
301 estruturação não pode ser explicado pela distância fluvial e que, conseqüentemente, há  
302 outros fatores que podem influenciar, como por exemplo, as características físico-  
303 químicas dos diferentes trechos da Bacia do São Francisco, ou por características de  
304 cada unidade fisiográfica que a dividem. Em geral, o Alto apresenta um clima  
305 temperado de altitude, com vegetação de cerrado e águas mais frias; no Médio e  
306 Submédio o clima é, predominantemente, semiárido, sujeito a períodos prolongados de  
307 estiagem e vegetação notadamente de caatinga; já o Baixo apresenta um clima sub-  
308 úmido, sofrendo influência da Mata Atlântica e da vegetação litorânea (MMA, 2006).  
309 Evidências de estruturação em virtude do ambiente também foram encontradas em  
310 estudo feito na Bacia Amazônica, para uma espécie de bagre (*Brachyplatystoma*  
311 *platynemum*), que exibiu populações estruturadas, uma para o rio Madeira e outra para  
312 o rio Amazonas. Os autores indicaram que essa estruturação pode ter ocorrido pelas  
313 diferenças químicas das águas dos rios (Ochoa et al., 2015). Uma outra espécie  
314 migratória de peixe da bacia do São Francisco, o *Prochilodus argenteus*, também exibiu  
315 uma estruturação populacional com três unidades de conservação, com destaque para o  
316 grupo do Médio, notadamente distinto das demais (Coimbra et al., 2017).

317 Bessert e Ortí (2008) estudaram o *Cycleptus elongatus*, peixe migrador de  
318 longas distâncias da Bacia do rio Mississippi, para estimar se houve estruturação  
319 genética nessas populações, após a construção de pelo menos seis grandes barragens ao  
320 longo do rio Missouri, principal afluente dessa Bacia hidrográfica. Nesse trabalho  
321 foram avaliadas nove populações do rio Missouri (231 indivíduos) e sete populações  
322 do rio Mississippi (142 indivíduos), os autores encontraram perdas na diversidade  
323 genética das populações do rio Missouri de *C. elongatus* e, atribuíram isso à redução  
324 na riqueza de alelos e também ao fluxo gênico. Os autores encontraram uma correlação  
325 significativa entre a distância geográfica e a distância genética, apenas para as  
326 populações do rio Missouri, configurando o isolamento por distância (IBD,  $R^2= 0,692$ ).

327 Muitas questões são levantadas quando se tenta encontrar uma razão que  
328 explique a estruturação genética em peixes. No presente trabalho, fica evidente que  
329 existe uma associação entre a distribuição da diversidade genética do piau-verdadeiro  
330 e os fatores ambientais (biomas), ou seja, as distâncias genéticas e os diferentes biomas  
331 das áreas estudadas (cerrado, caatinga e mata atlântica) estão relacionados. Um estudo

332 realizado com o peixe-palhaço (*Amphiprion bicinctus*) ao longo dos 1500 Km do mar  
333 Vermelho, mostrou que a estruturação genética para essa espécie obedece a um modelo  
334 padrão combinado entre o IBD e o IBE ( $R^2= 0,71$ ), onde foi verificado um padrão de  
335 isolamento pela observação da presença de clorofila-a e da sua localização geográfica  
336 (Nanninga et al., 2014).

337 Dennenmoser et al. (2014) propuseram um estudo para avaliar o isolamento por  
338 distância e o isolamento por meio ambiente na diferenciação genética do *Cottus asper*,  
339 o trabalho foi realizado tanto com os peixes que habitavam dois ambientes (água doce  
340 e estuário) como os que viviam apenas na água doce, na região do rio Fraser em 31  
341 localidades (tributários, estuário e canal principal). Os autores encontraram  
342 estruturação genética nas populações que habitavam os tributários até perto do estuário  
343 e os indivíduos do rio principal e, atribuíram essa diferença genética ao isolamento por  
344 ambiente (IBE), independentemente da distância geográfica.

345 A fragmentação do habitat em rios, apenas por variação no fluxo de água,  
346 mudanças de temperatura, ou seja, uma heterogeneidade em fina escala pode causar  
347 diminuição do fluxo gênico e, isolar populações (Dias et al., 2013). As populações de  
348 trutas dentro de uma única bacia hidrográfica nos EUA em Connecticut (Kanno et al.,  
349 2011) e na Virgínia (Whiteley et al., 2013) apresentaram uma estruturação influenciada  
350 por características naturais da paisagem, incluindo a declividade do rio e a temperatura  
351 da água. Nesse sentido, entendemos que a estruturação presente nas populações de piau-  
352 verdadeiro na bacia do rio São Francisco decorre da influência ambiental nos trechos  
353 dessa bacia.

354 Como não existem estudos voltados à estruturação genética da espécie, as  
355 comparações limitam-se apenas a outras espécies do gênero *Leporinus*. Um estudo  
356 baseado na variação do DNA mitocondrial (D-loop) em seis amostras de *L. elongatus*  
357 coletadas em quatro tributários do rio Paraná e em duas localidades do curso principal  
358 do rio confirmou existir um fluxo gênico reduzido entre elas, sugerindo uma  
359 diferenciação genética parcial (Martins et al., 2003). Molina et al. (2008) também  
360 investigaram essa espécie em dois tributários abordados no estudo anterior e detectaram  
361 estruturação populacional com base em diferenças cromossômicas. Ramos et al. (2012)  
362 avaliaram grupos de *L. elongatus* coletados em escadas de passagem de duas  
363 localidades em um tributário do rio Paraná em período fora da piracema e detectaram  
364 uma única origem genética para os dois grupos populacionais, ressaltando que esta

365 única população era composta de subpopulações com baixa diversidade genética entre  
366 elas.

367 Nossos resultados sugerem que o IBE é relevante para a compreensão da  
368 diferenciação genética espacial do piau-verdadeiro no contexto da variação da  
369 paisagem, oriunda de diversos processos que limitaram o fluxo gênico.

370

### 371 **Programa de Repovoamento do Piau-verdadeiro**

372

373 Compreender os efeitos genéticos das estratégias de gestão, em programas de  
374 repovoamento, tem sido um desafio importante com implicações econômicas e de  
375 conservação (Savary, 2017). No presente estudo, os resultados obtidos destacam a  
376 incompatibilidade da diversidade genética dos grupos de populações selvagens, em  
377 relação aos dados genéticos encontrados para o estoque de reprodutores da Chesf. Isso  
378 fica evidente quando observamos o número médio de alelos presentes nos diferentes  
379 grupos populacionais, onde todos apresentam valores acima de 10, ao passo que a média  
380 encontrada para o cativo não ultrapassou cinco alelos. As heterozigosidades  
381 observada ( $H_o= 0,458$ ) e esperada ( $H_e= 0,47$ ) também foram menores no cativo  
382 quando comparadas aos grupos de populações selvagens ( $H_o \geq 0,641$ ;  $H_e \geq 0,766$ ). Vale  
383 destacar o elevado número de alelos privados, principalmente nos grupos I e II ( $N_p=$   
384 17), muito maior que o cativo ( $N_p= 2$ ).

385 Na Estação de Piscicultura da Chesf em Paulo Afonso, os reprodutores de piau-  
386 verdadeiro foram coletados há cerca de 20 anos, portanto, pode-se dizer que ao menos  
387 10 gerações já foram produzidas desde então e, famílias consanguíneas vêm sendo  
388 usadas nas ações de repovoamento (Miguel Arcanjo, comunicação pessoal). Embora o  
389 índice de endogamia ( $F_{IS}= 0,026$ ) não tenha evidenciado déficit de heterozigotos, o  $F_{ST}$   
390 par a par ( $>0,18$ ) desses reprodutores com as amostras selvagens mostrou uma alta  
391 diferenciação genética, além da já mencionada perda de alelos da ordem de 50%.  
392 Alguns trabalhos têm destacado que quando se encontram altas diferenciações  
393 genéticas entre populações selvagens e de cativo usado no repovoamento, alelos  
394 importantes podem ser perdidos a partir de ações mal planejadas, podendo levar a  
395 espécie à extinção (Almeida et al., 2003; Leuzzi et al., 2004). Outros estudos mostraram  
396 que quando há liberação de peixes originários de cativo geneticamente empobrecidos  
397 (baixa riqueza de alelos), as populações naturais podem sofrer perdas na diversidade  
398 genética, devido a redução do tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ) (Allendorf et al.,

399 2012; Allendorf et al., 2014). Além disso, a introgressão genética pode trazer como  
400 consequência a perda de alelos importantes à adaptação ao ambiente selvagem, causada  
401 por exemplo, pela domesticação dos reprodutores criados em cativeiro (Frankham et  
402 al., 2010; Christie et al., 2014). Em contrapartida, estudos feitos com salmonídeos têm  
403 mostrado a importância da implementação de protocolos que contemplem as relações  
404 de parentesco e a proporção sexual entre machos e fêmeas, como medidas para  
405 minimizar tais efeitos (Hess et al., 2012; Milot et al., 2013). Em resumo, as práticas de  
406 repovoamento tradicionais e negligentes podem prejudicar profundamente a  
407 integridade genética das populações selvagens, o que, por sua vez, afeta o potencial  
408 adaptativo em longo prazo dessas populações. Nesse sentido, faz-se urgente a  
409 renovação dos reprodutores, atentando-se para o fato de que dois planteis deverão ser  
410 construídos em função dos resultados na análise Bayesiana, sendo um dirigido ao  
411 Submédio e outro, ao Baixo São Francisco.

412 Atrelada à renovação dos reprodutores será essencial marcá-los fisicamente e  
413 selecionar cruzamentos de modo a evitar a consanguinidade e manter a diversidade  
414 genética. Diferentes estimadores de relacionamentos  $r_{xy}$  (Queller & Goodnight, 1989),  
415  $r_{xy}$  (Lynch & Ritland, 1999) e  $r_{xy}$  (Wang, 2002) podem ser utilizados, para compreensão  
416 da relação de parentesco entre os indivíduos de cativeiro. Dont-Nivet e Vandeputte  
417 (2011) estudando populações de peixes demonstraram que o acasalamento entre irmãos  
418 completos pode ser evitado através desses estimadores e que, isso possibilitou o  
419 aumento da diversidade genética dos alevinos liberados. No caso do piau-verdadeiro, é  
420 preciso que a escolha desse índice tenha base na avaliação de indivíduos, cujo  
421 parentesco seja conhecido, e selecionar o índice que melhor os represente. Um outro  
422 aspecto a ser considerado nesses programas é que seja avaliado o número de parentais  
423 potencialmente dominantes que, efetivamente, contribuam na manutenção da  
424 diversidade genética nas desovas coletivas desses programas (Número efetivo  
425 populacional).

426

## 427 **Conclusões**

428

429 Com base nos resultados encontrados, para efetuar repovoamento do piau-  
430 verdadeiro (*Leporinus obtusidens*) na Bacia do São Francisco, com fins de conservação,  
431 serão necessárias três unidades de estoques de reprodutores: um para a região do Alto,  
432 outro para as regiões do Médio e Submédio e uma para o Baixo São Francisco. Os

433 dados genéticos foram consistentes com o cenário onde existe um isolamento por  
434 ambiente, representado aqui pelos biomas de cada unidade de conservação. Além disso,  
435 a análise dos reprodutores de piau-verdadeiro armazenados na Estação de Piscicultura  
436 da Chesf evidenciou que os reprodutores que são usados no repovoamento não  
437 representam a diversidade genética disponível para as populações selvagens do  
438 Submédio e Baixo São Francisco, o que implica na necessidade de renovação imediata  
439 desses indivíduos a partir da população selvagem.

440

#### 441 **Referências Bibliográficas**

442

443 Agostinho, A. A., Gomes, L. C. & Pelicice, F. M. (2007). Ecologia e manejo de recursos  
444 pesqueiros em reservatórios do Brasil. Maringá: EDUEM: 501p.

445

446 Agostinho, A. A., Pelicice, F. M., Gomes, L. C. & Ferreira Júlio Jr, H. (2010). Reservoir  
447 fish stocking: When one plus one may be less than two. *Natureza & Conservação*,  
448 8: 103-111.

449

450 Allendorf, F. W., Berry, O., & Ryman, N. (2014). So long to genetic diversity, and  
451 thanks for all the fish. *Molecular Ecology*, 23, 23–25.

452

453 Allendorf, F. W., Luikart, G. H., & Aitken, S. N. (2012). *Conservation and the genetics*  
454 *of populations*. Oxford: Blackwell Publishing.

455

456 Almeida, F. S., Sodr , L. M. K. & Contel, E. P. B. (2003). Population structure analysis  
457 of *Pimelodus maculatus* (Pisces, Siluriformes) from the Tiet  and Paranapanema  
458 Rivers (Brazil). *Genetics and Molecular Biology*, 26: (3), 301-305.

459

460 Bessert, M. L. & G. Ort . (2008). Genetic effects of habitat fragmentation on blue  
461 sucker populations in the upper Missouri River (*Cyprinus elongatus* Lesueur, 1918).  
462 *Conservation Genetics*, 9: 821-832.

463

464 Britski, H. A., Birindelli, J. L. O. & Garavello, J. C. (2012). A new species of *Leporinus*  
465 Agassiz, 1829 from the upper Rio Paraná basin (Characiformes, Anostomidae) with  
466 redescription of *L. elongatus* Valenciennes, 1850 and *L. obtusidens* (Valenciennes,  
467 1837). *Papeis Avulsos de Zoologia*, 52: 441-475.

468

469 Brown, A. H. D. (1978). Isozymes, plant population genetics structure and genetic  
470 conservation. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v. 52, n. 4, p. 145-157.

471

472 Bunn, S. E & Arthington, A. H. (2002). Basic principles and ecological consequences  
473 of altered flow regimes for aquatic biodiversity. *Environmental Management* 30:  
474 492–507.

475

476 Christie, M. R., Ford, M. J., & Blouin, M. S. (2014). On the reproductive success of  
477 early-generation hatchery fish in the wild. *Evolutionary Applications*, 7, 883–896.

478

479 Coimbra, M. R., Lima, A. P., Oliveira, K. K. C. & Severi, W. (2017). Microsatellite  
480 assessment of the genetic diversity in indigenous populations of curimba  
481 (*Prochilodus argenteus*) in the São Francisco River (Brazil). *Conservation Genetics*,  
482 1-11.

483

484 Dennenmoser, S., Rogers, S. M., Vamosi S. M. (2014). Genetic population structure in  
485 prickly sculpin (*Cottus asper*) reflects isolation-by-environment between two life-  
486 history ecotypes, *Biological Journal of the Linnean Society*, Volume 113, Issue 4, 1,  
487 Pages 943–957.

488

489 Dont-Nivet, M., and M. Vandeputte. (2011). Is avoiding full sib matings really  
490 worthwhile in a breeding program? *Aquaculture* 314:277–281.

491

492 EPE – Empresa de Pesquisa Energética. (2015). Balanço Energético Nacional 201: Ano  
493 base 2014. Rio de Janeiro, 55p.

494

495 Evanno, G., Regnault, S. & Goudet J. (2005). Detecting the number of clusters of  
496 individuals using the software structure. A simulation study. *Molecular Ecology* 14:  
497 2611–2620.

498

499 Excoffier, L., Laval, G. & Schneider, S. (2005). Arlequin ver. 3.0: An integrated  
500 software package for population genetics data analysis. *Evolutionary*  
501 *Bioinformatics*. Online 1: 47–50.

502

503 Falush, D., Stephens, M. & Pritchard, J. K. (2003). Inference of population structure  
504 using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies.  
505 *Genetics* 164 (4): 1567-87.

506

507 Fontenele, O. & Vasconcelos, E. A. (1977). Considerações sobre a adaptação do piau-  
508 verdadeiro, *Leporinus obtusidens* CUV. e Val., 1864 (Anostomidae), em lagoas do  
509 nordeste brasileiro. Boletim Técnico do DNOCS v.35, 61-92.

510

511 Frankham, R., Ballou, J. D., & Briscoe, D. A. (2010). *Introduction to Conservation*  
512 *Genetics*. Cambridge: Cambridge University Press.

513

514 Garavello & Britski. Family Anostomidae (Headstanders). (2003). In: Reis, R.E,  
515 Kullander, S.O & Ferraris Jr., C.J (eds.) Check list of the freshwater fishes of South  
516 and Central America. EDIPUCRS, Porto Alegre, p. 71-84.

517

518 Goudet, J. (2005). FSTAT [Online]. Website last modified on August 23, 2005 (acesso  
519 em 18 agosto, 2013). Disponível em  
520 <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>.

521

522 Hamrick, J. L. (1982). Plant population genetics and evolution. *American Journal of*  
523 *Botany*, Columbus, v. 69, n. 10, p. 1685-1693.

524

525 Hess, M. A., Rabe, C. D., Vogel, J. L., Stephenson, J. J., Nelson, D. D., & Narum, S.  
526 R. (2012). Supportive breeding boosts natural population abundance with minimal

- 527 negative impacts on fitness of a wild population of Chinook salmon. *Molecular*  
528 *Ecology*, 21, 5236–5250.
- 529
- 530 IUCN - União Internacional para Conservação da Natureza. (2016). Acessado em 21  
531 julho de 2016. [http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2009-](http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2009-2.RLTS.T167695A6369023.en)  
532 2.RLTS.T167695A6369023.en
- 533
- 534 Kanno, Y., J. C. Vokoun, and B. H. Letcher. (2011). Fine-scale population structure  
535 and riverscape genetics of Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*) distributed  
536 continuously along headwater channel networks. *Molecular Ecology* 20:3711–3729.
- 537
- 538 KEY WORLD ENERGY STATISTICS. (2016). Disponível em:  
539 <https://www.iea.org/publications/freepublications/publication/KeyWorld2016.pdf>.  
540 Acesso em: 09/02/2017.
- 541
- 542 Laikre, L., Palm, S. & Ryman, N. (2005). Genetic Population Structure of Fishes:  
543 Implications for Coastal Zone Management. *Ambio* (34) 2:111-119.
- 544
- 545 Leuzzi, M. S. P., Almeida, F. S., Orsi, M. L. & Sodr , M. L. K. (2004). Analysis by  
546 RAPD of the genetic structure of *Astyanax altiparanae* (Pisces, Characiformes) in  
547 reservoirs of the River Paranapanema. *Genetics and Molecular Biology*, 27, 355-  
548 362.
- 549
- 550 Lynch, M., & K. Ritland. (1999). Estimation of pairwise relatedness with molecular  
551 markers. *Genetics* 152:1753–1766.
- 552
- 553 Martins, C., Wasko, A. P., Oliveira, C. & Foresti, F. (2003). Mitochondrial DNA  
554 variation in wild populations of *Leporinus elongatus* from the Paraná River basin.  
555 *Genetics and Molecular Biology*, 26 (1): 33 – 38.
- 556
- 557 Milot, E., Perrier, C., Papillon, L., Dodson, J. J., & Bernatchez, L. (2013). Reduced  
558 fitness of Atlantic salmon released in the wild after one generation of captive  
559 breeding. *Evolutionary Applications*, 6, 472–485.
- 560
- 561 MMA - Ministério do Meio Ambiente-Brasil. (2006). Caderno da Região Hidrográfica  
562 do São Francisco / Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Recursos Hídricos.  
563 – Brasília: 148 p.
- 564
- 565 Molina, W. F., Shibatta, O., Galetti Jr., P. M. (2008). Chromosomal evidence of  
566 population subdivision in the freshwater fish *Leporinus elongatus* in the Upper  
567 Paraná River basin. *Genetics and Molecular Biology*, São Paulo, v. 31, n. 1, supl. p.  
568 270-274.
- 569
- 570 Nanninga, G., Mughal, M., Saenz-Agudelo, P., Bayer, T., Berumen, M. (2014).  
571 Environmental gradients predict the genetic population structure of a coral reef fish  
572 in the Red Sea. *Molecular Ecology* 23, 591–602.
- 573
- 574 Ochoa, L. E. et al. (2015). Genetic structure and historical diversification of catfish  
575 *Brachyplatystoma platynemum* (Siluriformes: Pimelodidae) in the Amazon basin

- 576 with implications for its conservation. *Ecology And Evolution*. Hoboken: Wiley-  
577 blackwell, v. 5, n. 10, p. 2005-2020.
- 578
- 579 Oliveira, K.K.C., Lima, A.P.S. & Coimbra, M.R.M. (2014). Isolation and  
580 characterization of the first microsatellite markers in the Neotropical freshwater fish  
581 piau-verdadeiro, *Leporinus obtusidens* (Valenciennes, 1837). *Conservation*  
582 *Genetics Resources* 7: (1) 77-79.
- 583
- 584 Oosterhout, C.V., Weetman, D. & Hutchinson, W.F. (2006). Estimation and adjustment  
585 of microsatellite null alleles in nonequilibrium populations. *Molecular Ecology*.  
586 *Notes* 6: 255-256.
- 587
- 588 Peakall, R. & Smouse, P.E. (2006). GenAIEx 6: Genetic Analysis in Excel Population  
589 genetics software for teaching and research. *Molecular Ecology*. *Notes* 6: 288-295.
- 590
- 591 Poff, H. L., Allan, D., Bain, M. B., Karr, J. R., Prestegard, K. L., Richter, B. D., Sparks,  
592 R. E., & Stromberg, J. C. (1997). The natural flow regime: a paradigm for river  
593 conservation and restoration. *Bioscience*, vol. 47, n. 11. P. 769-784.
- 594
- 595 Pritchard, J. K., Stephens, P. & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure  
596 using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945–959.
- 597
- 598 Queller, D. C, Goodnight, K. F. (1989). Estimating relatedness using genetic markers.  
599 *Evolution* 43:258–275
- 600
- 601 Ramos, J. B. V., Sodr , L.M.K., Orsi, M.L. & Almeida, F.S. (2012). Genetic diversity  
602 of the species *Leporinus elongatus* (Teleostei: Characiformes) in the Canoas  
603 Complex - Paranapanema River. *Neotropical Ichthyology*, Porto Alegre, v. 10, n. 4,  
604 p. 821-828.
- 605
- 606 Ramos, L. A. & Konrad, H. G. (1999). Biologia reprodutiva de *Hemiancistrus* sp.  
607 (Osteichthyes, Loricariidae) do rio dos sinos, RS. *Boletim do Instituto de Pesca*, São  
608 Paulo, v. 25, p. 45-50, mar.
- 609
- 610 Raymond, M. & Rousset, F. (1995). GENEPOP (version 1.2): population genetics  
611 software for exact tests and ecumenicism. *Journal Heredity* 86 (3): 248-249.
- 612
- 613 Reis, R. E., Albert, J. S., Dario F. Di, Mincarone, M. M., Petry, P. & Rocha, L. A.  
614 (2016). Fish biodiversity and conservation in South America. *Journal of Fish*  
615 *Biology* 89, 12–47.
- 616
- 617 Reis, R.E., Kullander, S.O. & Ferraris júnior, C.J. (2003). Check list of the freshwater  
618 fishes of South and Central America (Org.). Porto Alegre: EdiPUCRS, 742 p.
- 619
- 620 Reynalte-Tataje, D. & Zaniboni Filho, E. (2010). Cultivo de piapara, piava, piau -  
621 g nero *Leporinus*. In Baldisserotto, B. & Carvalho-Gomes, L. Espécies nativas para  
622 piscicultura no Brasil. 2  ed. Santa Maria: UFSM, p. 73-92.
- 623
- 624 Rice, W.W. (1989). Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*, Lancaster 43: 223-  
625 225.

626

627 Ritland, K. (1996). Estimators for pairwise relatedness and inbreeding  
628 coefficients. *Genetics Research* 67: 175–186.

629

630 Sambrook, J., Fritschi, E. F. & Maniatis, T. (1989). Molecular cloning: a laboratory  
631 manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.

632

633 Savary, R., Dufresnes, C., Champigneulle, A., et al. (2017). Stocking activities for the  
634 Arctic charr in Lake Geneva: Genetic effects in space and time. *Ecology and*  
635 *Evolution*. 7: 5201-5211.

636

637 Silva, J.J.L.S., Marques, M. & Damásio, J.M. (2010). Impactos do desenvolvimento do  
638 potencial hidroelétrico sobre os ecossistemas aquáticos do Rio Tocantins. *Ambi-*  
639 *Agua*, Taubaté, 5, 1,189-203.

640

641 Vazzoler, A. E. A. M. & Menezes, N. A. (1992). Síntese de conhecimentos sobre o  
642 comportamento reprodutivo dos Characiformes da América do Sul (Teleostei,  
643 Ostariophys). *Revista Brasileira de Biologia*, 52(4):627-640.

644

645 Wang, J. L. (2002). An estimator for pairwise relatedness using molecular markers.  
646 *Genetics* 160:1203–1215.

647

648 Wang, J. L. (2011). COANCESTRY: a program for simulating, estimating and  
649 analysing relatedness and inbreeding coefficients. *Molecular Ecology Resources* 11:  
650 141–145.

651

652 Whiteley, A. R., J. A. Coombs, M. Hudy, Z. Robinson, A. R. Colton, K. H. Nislow, and  
653 B. H. Letcher. (2013). Fragmentation and patch size shape genetic structure of Brook  
654 Trout populations. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 70:678–  
655 688.

656

657 Winemiller, K. O. et al. (2016). Balancing hydropower and biodiversity in the Amazon,  
658 Congo, and Mekong. *Science*: 351 (6269), 128-129.

659

660

## ARTIGO II

Artigo a ser submetido na revista científica *Journal of Applied genetics*.

Estratégias reprodutivas do piau-verdadeiro, *Leporinus obtusidens*, em programas de repovoamento

## 1 RESUMO

2  
3 O piau-verdadeiro (*Leporinus obtusidens*) é uma espécie de peixe que executa migração  
4 reprodutiva com importância na pesca comercial e de subsistência nas bacias sul-  
5 americanas. O piau-verdadeiro enfrenta risco de extinção em pelo menos duas grandes  
6 bacias, a do rio São Francisco e a do rio Paraná. A região do Submédio São Francisco  
7 é a mais crítica em relação à extinção da ictiofauna que realiza piracema por concentrar  
8 a maior parte das hidrelétricas desta bacia. Para tentar minimizar tais impactos e  
9 aumentar os estoques pesqueiros de piau-verdadeiro são realizadas ações de  
10 repovoamento nessa região. Tais medidas são feitas sem critérios genéticos podendo  
11 causar perda do potencial adaptativo dos repovoados. Nesse sentido, o presente trabalho  
12 teve como objetivo avaliar a contribuição efetiva de reprodutores em uma Estação de  
13 Piscicultura responsável pelo repovoamento do *L. obtusidens* na Bacia do rio São  
14 Francisco. Este estudo foi conduzido durante as práticas de reprodução do *L. obtusidens*  
15 na Estação de Piscicultura da Chesf em Paulo Afonso-BA, cuja prole foi utilizada para  
16 o repovoamento na região do Submédio do rio São Francisco. Neste trabalho foram  
17 coletadas amostras de 61 reprodutores e um total de 140 filhotes, em três períodos de  
18 desovas: ano de 2014 (duas desovas) e 2016 (uma desova). As análises de contribuição  
19 parental foram realizadas através de oito marcadores microssatélites. Os resultados  
20 obtidos mostraram que de um total de 40 machos utilizados como reprodutores, apenas  
21 oito conseguiram contribuir com gametas para a geração seguinte. Essa diminuta  
22 participação de machos provocou uma redução no tamanho efetivo populacional em  
23 todas as desovas, com valores de  $N_e$  esperado de 24,43; 21,33; 8,89 e  $N_e$  observado de  
24 8; 8,4; 4,8, respectivamente, para as três desovas. Com base nos resultados obtidos, são  
25 feitas recomendações sobre a logística dos cruzamentos a fim de melhorar a eficiência  
26 de tais programas.

## 28 29 INTRODUÇÃO

30  
31 No mundo, as águas doces perdem espécies mais rapidamente do que o ambiente  
32 terrestre ou marinho (SALA et al. 2000). Reis et al. (2016) afirmam que de 4 a 10% das  
33 espécies de peixes na América do Sul enfrentam algum grau de risco de extinção,  
34 principalmente devido à perda e degradação do habitat, tais como, o represamento  
35 hidrelétrico, a drenagem da água para irrigação, urbanização, sedimentação e  
36 sobrepesca.

37 Os barramentos, criados pelas usinas hidrelétricas, são uma grande ameaça para  
38 a biodiversidade de água doce Vörösmarty et al. (2010). O Brasil não constitui uma  
39 exceção, a exemplo da bacia do rio São Francisco, onde é registrado grandes impactos  
40 no uso dos rios, seja para o abastecimento humano, irrigação, indústria ou por usinas  
41 hidrelétricas, sendo pelo menos cinco delas de grande porte (Três Marias, Sobradinho,

42 Itaparica, Complexo Paulo Afonso e Xingó) (ANA 2015), que produzem cerca de 12%  
43 da energia brasileira (ELETROBRAS, 2015).

44 *Leporinus obtusidens* (Valenciennes, 1837), piau-verdadeiro, é uma das  
45 espécies de peixe migrador das bacias hidrográficas brasileira afetada pela dinâmica  
46 das águas dos reservatórios, visto que as barragens impedem ou retardam o  
47 deslocamento natural dessa espécie para montante durante o período de desova,  
48 prejudicando diretamente seu sucesso reprodutivo (Agostinho et al. 2005).

49 Uma das ações mais utilizadas no Brasil para diminuir os impactos  
50 proporcionados pelos barramentos é a liberação de alevinos advindos de programas de  
51 repovoamento. A prática consiste em manter reprodutores no cativeiro, acasalá-los e  
52 liberar os alevinos no rio em trechos onde a abundância da espécie está comprometida.  
53 É recomendável que cada macho e cada fêmea sejam utilizados uma única vez para  
54 maximizar o tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ), entretanto, muitas vezes isso não é  
55 possível devido a problemas relacionados a espaço físico e orçamento.

56 Na Estação de Piscicultura da Companhia Hidro Elétrica do São Francisco  
57 (Chesf) em Paulo Afonso Estado da Bahia, cujos alevinos produzidos se destinam aos  
58 programas de repovoamento dirigido aos trechos do Submédio e Baixo São Francisco,  
59 a desova ocorre em sistema seminatural. Neste sistema, machos e fêmeas são  
60 hipofisados e colocados juntos em tanques obedecendo a uma proporção de 2:1  
61 (machos: fêmeas). Os ovos são coletados e incubados. Nessa logística, a contribuição  
62 de cada parental não é determinada e isso pode afetar o tamanho efetivo populacional  
63 ( $N_e$ ) (Liu et al. 2012). De acordo com Kristensen et al. (2015)  $N_e$  é uma medida  
64 essencial para avaliar a viabilidade populacional em termos de potencial evolutivo e  
65 adaptativo frente às pressões da seleção natural.  $N_e$  pode ser definido como o montante  
66 de deriva nas frequências alélicas em relação a uma população idealizada (Hartl e  
67 Clark 1997), qual seja, aquela com um número ilimitado de reprodutores, com razão  
68 sexual 1:1, com sucesso reprodutivo homogêneo, sem sobreposição de gerações e com  
69 ausência de migração, mutação ou seleção. Três desvios dessa população ideal são  
70 relevantes em sistemas de aquicultura: 1) quando o sistema de acasalamento da espécie  
71 utiliza um número desigual de machos e fêmeas (seja por existirem machos dominantes,  
72 por existirem machos territorialistas, por acasalamentos preferenciais com respeito ao  
73 tamanho de um dos sexos, ou porque fêmeas maduras sejam escassas); 2) quando a  
74 qualidade dos gametas é variável ou quando a fecundidade está relacionada ao tamanho

75 da fêmea; 3) quando o número de parentais é variável de uma geração a outra, podendo  
76 levar a um efeito de gargalo (Hallerman, 2003).

77 Até o momento, não foi avaliado se esse sistema é de fato eficiente para planteis  
78 de reprodutores de *Leporinus obtusidens*, o que pode prejudicar a longo prazo a gestão  
79 desses programas de repovoamento. O presente estudo visa fazer o levantamento da  
80 prática reprodutiva do *Leporinus obtusidens*, durante as ações de repovoamento para  
81 um trecho da Bacia do rio São Francisco. Aqui foi analisada a diversidade genética dos  
82 reprodutores e sua prole, com a finalidade de verificar a real contribuição dos pais e,  
83 ainda, a relação efetiva entre machos e fêmeas durante a desova, através de marcadores  
84 microssatélite.

85

## 86 MATERIAL E METÓDOS

87

### 88 Amostragem

89

90 Para este estudo foram utilizados 61 reprodutores (21 fêmeas, 40 machos) de  
91 *Leporinus obtusidens* da Estação de Piscicultura da Chesf, localizada em Paulo Afonso-  
92 BA. Três desovas distintas entre 2014 e 2016 foram avaliadas, conforme Tabela 1. Os  
93 peixes tinham em média 1,5 kg de peso, três anos de idade e estavam no período de  
94 reprodução, a exceção da última desova em fevereiro de 2016, em que os indivíduos já  
95 apresentavam sinais de regressão sexual, o que causou redução no número amostral de  
96 reprodutores e progênie. Durante a seleção desses reprodutores foi feita a retirada de  
97 amostra da nadadeira caudal de cada indivíduo utilizado e, preservadas em etanol a  
98 95%.

99

100 **Tabela 1.** Distribuição dos reprodutores e filhotes de *L. obtusidens* para as três desovas realizadas na  
101 EPPA.

Ano	Mês	Número de Fêmeas	Número de Machos	Número de Filhotes
2014	Outubro	09	19	50
2014	Novembro	08	16	50
2016	Fevereiro	04	05	40
Total	-	21	40	140

102

103 O sistema reprodutivo utilizado foi o seminatural, ou seja, após a indução  
104 hormonal os reprodutores foram alocados no mesmo tanque até o final das desovas.  
105 Reprodutores selecionados foram mantidos no laboratório em tanques separados e

106 induzidos à reprodução com a aplicação de extrato de hipófise de carpa (Woynarovich  
107 & Horváth, 1983) e transferidos para um tanque circular com 4,0 m de raio, 1,0 m de  
108 profundidade e volume total de 16.000 L. O fluxo de água era contínuo de 30 L/s, para  
109 manter a vazão recomendada (3-4 L/s) nas seis incubadoras. Cada incubadora  
110 cilíndrico-cônica de volume total de 200 litros de água recebia os ovos proveniente do  
111 tanque circular. As larvas foram mantidas nas incubadoras por cerca de quatro dias até  
112 o consumo do saco vitelino. E seguida, foram transportadas para tanques berçários e,  
113 após 30 dias, foram feitas as coletas da prole. Cento e quarenta alevinos foram coletados  
114 de forma aleatória. Essas foram armazenadas em microcubos e conservadas em etanol  
115 95%.

116

### 117 **Extração e Amplificação do DNA**

118

119 Para a extração de DNA, foi utilizada a metodologia seguindo protocolo padrão  
120 de Sambrook et al. (1989) baseado em Fenol/Clorofórmio/Álcool Isoamílico (FCI) com  
121 poucas modificações. A quantificação do DNA foi feita em um fluorímetro  
122 (QuantiFluor/ Promega) e a integridade foi avaliada em eletroforese em gel de agarose  
123 a 1%.

124 O DNA foi amplificado para um volume final de reação de 10 uL, contendo 1X  
125 tampão de PCR Tris-HCl; 1,5 ou 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub>; 10 pmol/ul de cada *primer*  
126 (*Forward* marcado e *Reverse*); 0,2 mM de cada dNTP, 1U de Platinum *Taq* DNA  
127 Polimerase; 20-40 ng de DNA. As amplificações foram feitas adotando-se uma  
128 desnaturação inicial de 94°C por 4 min e, em seguida, foram realizados 30 ciclos,  
129 consistindo de 30 s de desnaturação a 94°C; 30 s de anelamento do *primer* a uma  
130 temperatura variável de acordo com cada *locus* de microsatélite (Lobt01, Lobt02,  
131 Lobt03, Lobt04, Lobt05, Lobt07, Lobt08 e Lobt09), descritos por Oliveira et al. (2014),  
132 seguido de uma extensão final a 72°C por 40 minutos.

133 Os amplicons marcados foram misturados de acordo com as diferentes  
134 fluorescências, desnaturados por 5 min a 95°C em formamida e submetidos à  
135 eletroforese em um Genetic Analyzer 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). O  
136 tamanho dos fragmentos foi estimado com base no marcador interno GS600LIZ  
137 (Applied Biosystems) utilizando-se o aplicativo GeneMapper 3.7 (Applied  
138 Biosystems).

139

140

141 **Análise estatística**

142

143 Todos os 140 alevinos genotipados para as microssatélites foram submetidos a  
144 uma análise de paternidade conduzida no software PAPA, versão 2.0 (Duchesne et al.  
145 2002). O número efetivo populacional foi estimado de duas formas: 1) por meio do  
146 programa *NeEstimator* (Ovenden et al. 2007), usando o modelo de desequilíbrio de  
147 ligação e 2) através do método descrito por Wright (1931), onde o cálculo considera a  
148 relação entre os sexos dentro da população, segundo a fórmula:

$$149 \quad Ne = \frac{4Nm \times Nf}{Nm + Nf}$$

150 onde,  $Nm$  = número de machos e  $Nf$  = número de fêmeas utilizados na reprodução.

151

152 **RESULTADOS**

153

154 Os resultados obtidos mostraram que para as três desovas analisadas, alguns  
155 casais produziram um grande número de descendentes e outros, não. Cada fêmea  
156 reproduziu com apenas um macho, numa relação de 1:1. As contribuições parentais  
157 foram desiguais para os três conjuntos de desovas. Entre os machos das desovas I e II,  
158 apenas três de 20 machos utilizados conseguiram contribuir na geração seguinte, sendo  
159 assim distribuídos: M3-34%; M6-40%; M17-26%; M22-48%; M27-34%; M32-18%.  
160 Isso mostra que houve uma eficiência de apenas 15% na 1ª desova e 18% na 2ª desova.  
161 Para os machos da 3ª desova, ocorreu uma contribuição de dois machos (M38-47,5%;  
162 M39-52,5%) entre os cinco utilizados, com uma eficiência de 40%. Entre as fêmeas, a  
163 contribuição parental foi mais uniforme: desova I (F2-12%; F4-14%; F5-12%; f6-20%;  
164 F7-20%; F9-22%), desova II (F10-18%; F12-12%; F13-10%; F14-12%; F15-20%;  
165 F16-16%; F17-17%) e desova III (F19-27,5%; F20-25%; F21-47,5%). Quase todas as  
166 fêmeas participaram efetivamente das desovas, dentre 21 utilizadas, 16 tiveram  
167 contribuíram para a geração seguinte, com eficiência superior a 70%.

168 O tamanho efetivo populacional esperado obtido pelo *NeEstimator*,  
169 considerando todos os reprodutores como matrizes potenciais, gerou valores muito  
170 baixos (inferiores a 30), à exceção da terceira desova, cujo valor foi infinito. Quando  
171 apenas os reprodutores que participaram efetivamente das desovas como parentais  
172 foram avaliados, os tamanhos efetivos aumentaram, mas continuaram em um patamar

173 crítico em todas as desovas, sendo a terceira a mais crítica de todas com 8,9 indivíduos  
 174 (Tabela 2). O tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ) calculado pelo modelo de Wright  
 175 (1931) foi inferior a 25 (Tabela 3) em todas as desovas, mas quando só os reprodutores  
 176 que participaram da desova foram considerados, esse tamanho foi muito menor, com  
 177 valores abaixo de 10, com reduções entre 46% (desova III) e 67% (desova I) dentre as  
 178 três desovas.

179

180 **Tabela 2.** Tamanho efetivo da população ( $N_e$ ) \* para *L. obtusidens*

	$N_e$ (esperado)			$N_e$ (observado)		
	Desova I	Desova II	Desova III	Desova I	Desova II	Desova III
Desequilíbrio de ligação	25,8	19,8	Infinito	60,1	114,8	8,9
IC 95%	12 - 104,5	8,3 - 98,6	6,6 - $\infty$	3,4 - $\infty$	4,7 - $\infty$	1,1 - $\infty$

181 \* *NeEstimator* v1,3; IC 95% = intervalo de confiança.  $\infty$  = infinito

182

183 **Tabela 3.** Tamanho efetivo da população ( $N_e$ ) \* para *L. obtusidens*

	Desova I	Desova II	Desova III
$N_e$ (esperado)	24,43	21,33	8,9
$N_e$ (observado)	8	8,4	4,8

184 \* Fórmula de Wright (1931).

185

## 186 DISCUSSÃO

187

### 188 Contribuição Parental

189

190 No presente estudo, os conjuntos de marcadores utilizados foram suficientes e  
 191 demonstraram grande eficiência na atribuição de parentesco, acima de 99%, resultados  
 192 semelhantes aos encontrados em trabalhos feitos para a carpa-comum, *Cyprinus carpio*,  
 193 (Vandeputte et al. 2004), para espécies de pargo *Sparus auratus*, *Pagrus pagrus* e *P.*  
 194 *auriga*, (Navarro et al. 2008) e também para a carpa prateada, *Hypophthalmichthys*  
 195 *molitrix* (Gheyas et al. 2009).

196 Nossos resultados mostraram que a contribuição desigual dos pais está  
 197 relacionada a uma estratégia reprodutiva não adequada para programas de  
 198 repovoamento, visto que, muitos machos utilizados não contribuíram efetivamente. Tal  
 199 fato revela que, nessa prática, ocorre alto custo no manejo reprodutivo, já que apenas 8

200 machos de um total de 40 é que reproduziram, correspondendo a quase 80% de  
201 ineficiência.

202 Entender o comportamento reprodutivo de peixes em sistema de cativeiro é  
203 fundamental para o sucesso reprodutivo. Alguns estudos têm mostrado que, os machos  
204 desenvolvem táticas reprodutivas dominantes, como por exemplo, a maior proximidade  
205 da fêmea no momento da desova (Oliveira et al. 2001; Neff et al. 2003) e a sincronia  
206 de liberação do esperma com o ovo (Egeland et al. 2015). Estudos feitos com  
207 salmonídeos mostraram que, existem machos dominantes e esses ganham vantagem na  
208 paternidade, por exemplo, pelo menor tempo na liberação do esperma (Watanabe et al.  
209 2008; Berejikian et al. 2010). Um outro trabalho feito com o salmão do Atlântico, *Salmo*  
210 *salar*, mostrou que quando os machos atrasam dois segundos para liberar o esperma, a  
211 paternidade diminui em quase 40% (Yeates et al. 2007). Para o peixe medaka, *Oryzias*  
212 *latipes*, a paternidade subiu de 20 para 41% quando ocorreu a sincronia de machos  
213 dominantes e fêmeas (Koya et al. 2013).

214 Nossos resultados mostraram que existe uma contribuição extremamente  
215 desigual entre os machos, que pode estar relacionado à presença de machos dominantes.  
216 Nesses sistemas, seria recomendado que os machos fossem avaliados quanto à  
217 existência de machos dominantes e, à motilidade e densidade de gametas antes da  
218 hipofisção, desde que estes fossem marcados fisicamente.

219 O sucesso reprodutivo relativo (RRS) é um parâmetro que tem se destacado para  
220 avaliar as consequências da aptidão entre peixes reintroduzidos (criados em cativeiro)  
221 e peixes selvagens (Christie et al. 2014). Araki et al (2007) descreveram que o sucesso  
222 reprodutivo pode ser avaliado através de análises comparativas da contribuição parental  
223 dos cruzamentos entre os indivíduos de cativeiro (C) e selvagem (S) (CxC; SxS; CxS).  
224 Um estudo feito com salmonídeos mostrou que, machos advindos do cativeiro geraram  
225 menos descendentes que machos selvagens, quando foram cruzados com fêmeas  
226 também de cativeiro, indicando uma interação negativa da domesticação, com destaque  
227 para a baixa adaptação ao ambiente natural (Araki et al. 2007), que afeta mais machos  
228 que fêmeas.

229

### 230 **Tamanho efetivo populacional ( $N_e$ )**

231

232 Após a confirmação das paternidades, ficou claro que o número efetivo  
233 populacional do piau-verdadeiro do cativeiro da Estação de Piscicultura de Paulo

234 Afonso é, em todas as situações, extremamente crítico. Pohr et al. (2010) analisando o  
235 pacu, *Piaractus mesopotamicus*, também verificou que os reprodutores de cativeiro  
236 tiveram  $N_e$  reduzido, passando de 19,8 para 12,9, no entanto, não foi encontrada perda  
237 da diversidade genética devido a alta uniformidade na contribuição parental. Perdas de  
238  $N_e$  também foram relatadas em um estudo realizado com *Larimichthys crocea*, espécie  
239 cultivada de peixe marinho, em que as perdas variaram entre 69,6 e 31,2%, devido à  
240 contribuição parental desigual, ou seja, ao sucesso reprodutivo (Liu et al. 2012).

241 Essa redução no tamanho efetivo populacional pode provocar riscos e  
242 comprometer o repovoamento. Frankham et al. (2013) descreveram que, para evitar o  
243 aumento da consanguinidade a curto prazo em populações tanto selvagens como de  
244 cativeiro, um valor mínimo de 100 no tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ) seria  
245 necessário. E, ainda, que um valor mínimo de 1000 seria indispensável para preservar  
246 o potencial evolutivo em longo prazo, que é de absoluto interesse na prática do  
247 repovoamento.

248 Em vista disso, sugerimos algumas recomendações a respeito do manejo  
249 reprodutivo do piau-verdadeiro, quais sejam:

250

- 251 1) Renovar os planteis de reprodutores quando possível;
- 252 2) Marcar fisicamente todos os reprodutores;
- 253 3) Identificar machos viáveis quer seja por comportamento dominante, quer seja  
254 por viabilidade espermática;
- 255 4) Adotar uma proporção de machos e fêmeas de 1:1 e promover desovas  
256 individualizadas.

257

## 258 **Conclusão**

259

260 Este é o primeiro estudo que mostra a dinâmica reprodutiva em uma Estação de  
261 Piscicultura, fornecendo dados valiosos que podem ser usados para a manutenção da  
262 diversidade genética e controle da endogamia nos programas de repovoamento do  
263 *Leporinus obtusidens*.

264

265

## 266 **Referências Bibliográficas**

267

- 268 Agostinho AA, Thomaz SM, Gomes LC (2005) Conservation of the biodiversity of  
269 Brazil's inland waters. *Cons. Biol.*, v.19, p.646-652.  
270
- 271 ANA - AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. Coordenação de Outorgas. Disponível  
272 em:<<http://www2.ana.gov.br/Paginas/institucional/SobreaAna/uorgs/sof/geout.a>  
273 spx> Acesso em: 3 março 2015.  
275
- 276 Araki H, Ardren WR, Olsen E, Cooper B, M. S. Blouin (2007) Reproductive success  
277 of captive-bred steelhead trout in the wild: evaluation of three hatchery programs  
278 in the Hood River. *Conservation Biology* 21:181–190.  
279
- 280 Berejikian BA, Van Doornik DM, Endicott RC, Hoffnagle TL, Tezak EP, Moore ME,  
281 Atkins J (2010) Mating success of alternative male phenotypes and evidence for  
282 frequency-dependent selection in Chinook salmon, *Oncorhynchus*  
283 *tshawytscha*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 67, 1933–1941.  
284
- 285 Christie MR, Ford M.J., Blouin MS (2014). On the reproductive success of early-  
286 generation hatchery fish in the wild. *Evolutionary Applications*, 7, 883–896.  
287
- 288 Duchesne P, Godbout MH, Bernatchez L (2002) PAPA (package for the analysis of  
289 parental allocation): a computer program for simulated and real parental  
290 allocation. *Mol. Ecol. Notes*, 2, 191–193.  
291
- 292 Egeland TB, Rudolfson G, Nordeide JT, Folstad I (2015) On the relative effect of  
293 spawning asynchrony, sperm quantity, and sperm quality on paternity under  
294 sperm competition in an external fertilizer. *Frontiers in Ecology and Evolution*  
295 3:77.  
296
- 297 Frankham R, Brook BW, Bradshaw CJA, Traill LW, Spielman D (2013) 50/500 rule  
298 and minimum viable populations: response to Jamieson and Allendorf. *Trends*  
299 *Ecol. Evol.* 28, 187–188.  
300
- 301 Gheyas AA, Woolliams JA, Taggart JB, Sattar MA, Das TK et al. (2009) Heritability  
302 estimation of silver carp *Hypophthalmichthys molitrix* harvest traits using  
303 microsatellite based parentage assignment. *Aquaculture* 294: 187–193.  
304
- 305 Hallerman EM (2003) Population genetics: principles and applications for fisheries  
306 scientists. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland: 458 pp.  
307
- 308 Hartl DL, Clark AG (1997) Principles of populations genetics, 3th ed. Sunderland,  
309 Massachusetts: Sinauer, 542p.  
310
- 311 Koya Y, Koike Y, Onchi R, Munehara, H (2013) Two patterns of parasitic male mating  
312 behaviors and their reproductive success in Japanese medaka, *Oryzias latipes*.  
313 *Zool. Sci.* 30, 76–82.  
314
- 315 Kristensen TN, Hoffmann AA, Pertoldi C, Stronen AV (2015) What can livestock  
316 breeders learn from conservation genetics and *vice versa*? *Frontiers in*  
317 *Genetics*, 6, 38.  
319

- 320 Liu XD, Zhao GT, Wang ZY, Cai HY, Wang QR (2012) Parentage assignment and  
321 parental contribution analysis in large yellow croaker *Larimichthys crocea* using  
322 microsatellite markers. *Current Zoology* 58(2):244–249.  
323
- 324 Navarro A, Badilla R, Zamorano MJ, Pasamontes V, Hildebrandt S et al., (2008)  
325 Development of two new microsatellite multi-plex PCRs for three sparid species:  
326 Gilthead seabream (*Sparus auratus* L.), red porgy (*Pagrus pagrus* L.) and  
327 redbanded seabream (*P. auriga*, Valenciennes, 1843) and their application to  
328 paternity studies. *Aquaculture* 285: 30–37.  
329
- 330 Neff BD, Fu P, Gross MR (2003) Sperm investment and alternative mating tactics in  
331 Bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). *Behav. Ecol.* 14, 634–641.  
332
- 333 Oliveira KKC, Lima APS, Coimbra MRM (2014) Isolation and characterization of the  
334 first microsatellite markers in the Neotropical freshwater fish piau-verdadeiro,  
335 *Leporinus obtusidens* (Valenciennes, 1837). *Conservation Genetics Resources* 7:  
336 (1) 77-79.  
337
- 338 Oliveira RF, Canario AVM, Grober MS, Santos RS (2001). Endocrine correlates of  
339 male polymorphism and alternative reproductive tactics in the Azorean rock-pool  
340 blenny, *Parablennius sanguinolentus parvicornis*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 121,  
341 278–288. doi: 10.1006/gcen.2001.7596  
342
- 343 Ovenden J, Peel D, Street R, Courtney A, Hoyle S et al. (2007) The genetic effective  
344 and adult census size of an Australian population of tiger prawns (*Penaeus*  
345 *esculentus*), *Molecular Ecology* 16, 127-38.  
346
- 347 Povh, Jayme Aparecido et al. (2010) Microsatellite analysis of the parental contribution  
348 of *Piaractus mesopotamicus* to the production of offspring in the semi-natural  
349 system of reproduction. *Braz. arch. biol. technol.* [online], vol.53, n.2.  
350
- 351 Reis RE, Albert JS, Dario FDi, Mincarone MM, Petry P, Rocha LA (2016) Fish  
352 biodiversity and conservation in South America. *Journal of Fish Biology* 89, 12–  
353 47.  
355
- 356 Sala OE, et al. (2000) Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science* 287:  
357 1770–1774.  
358
- 359 Sambrook J, Fritschi EF, Maniatis T (1989). *Molecular cloning: a laboratory manual*,  
360 Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.  
361
- 362 Vandeputte M, Kocour M, Mauger S, Dupont-Nivet M, De Guerry D, Rodina M, Gela  
363 D, Vallod D, Chevassus B, Linhart, O (2004) Heritability estimates for growth-  
364 related traits using microsatellite parentage assignment in juvenile common carp  
365 (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture* 235, 223–236.  
366
- 367 Vörösmarty CJ, et al. 2010. Global threats to human water security and river  
368 biodiversity. *Nature* 467: 555–561.  
369

- 370 Watanabe M, Takamura S, Maekawa K (2008) Effects of timing of nest entry and body  
371 size on the fertilization success of alternative male reproductive phenotypes of  
372 masu salmon (*Oncorhynchus masou*).  
373
- 374 Woynarovich E, Horváth L (1983) A propagação artificial de peixes de águas tropicais:  
375 manual de extensão. Brasília: Escopo. 220p.  
376
- 377 Wright S (1931) Evolution in Mendelian populations. *Genetics*, v.16, p. 97-159.  
378
- 379 Yeates SE, Searle J, Ward RG, Gage MJ (2007) A two-second delay confers first-male  
380 fertilization precedence within in vitro sperm competition experiments in Atlantic  
381 salmon. *J. Fish Biol.* 70, 318–32.

## 5. Considerações finais

Diante do cenário irreversível para os inúmeros efeitos do represamento sobre a ictiofauna, os esforços devem extrapolar os centros de pesquisa e precisam chegar tanto no setor econômico do país como no setor social. Aqui foram encontrados dados sobre a estruturação das populações de piau-verdadeiro (*Leporinus obtusidens*) na Bacia do Rio São Francisco. Isto poderá contribuir de forma substancial e efetiva no manejo dos programas de repovoamento. Nesse sentido, foi proposto estocar e reproduzir peixes com recursos genéticos equivalentes aos estoques de peixes nativos, ou seja, priorizar a manutenção da diversidade genética. Além disso, deve-se obedecer a critérios rígidos de conservação, quais sejam, a escolha dos reprodutores com princípios genéticos, local para o repovoamento, devendo considerar a fase de desenvolvimento e, isso implica em procurar os locais onde é observada a presença de forma jovens, dentro do ambiente. Algumas práticas de lançamento no país dão preferência aos locais de maior acessibilidade (perto de pontes, por exemplo), mas se o intuito é a conservação da espécie deve-se escolher os locais de ontogenia da espécie. A época de liberação também é dependente do ciclo de vida e, portanto, influenciada pela fase e tamanho em que o peixe deve ser liberado.

## 6. Referências Bibliográficas

AGOSTINHO, A.A.; GOMES, L.C.; LATINI, J.D. Fisheries management in Brazilian reservoirs: lessons from/for South America. **Interciencia**, 29:334-338. 2004.

AGOSTINHO, A.A.; PELICICE, F.M.; GOMES, L.C. Dams and the fish fauna of the Neotropical region: impacts and management related to diversity and fisheries. **Brazilian Journal of Biology**, 68:1119-1132. 2008.

AGOSTINHO, A.A.; THOMAZ, S.M.; GOMES, L.C. Conservation of the biodiversity of Brazil's inland waters. **Cons. Biol.**, v.19, p.646-652. 2005.

AGOSTINHO, A.A., F. M. PELICICE, L.C. GOMES e H. FERREIRA JÚLIO Jr. Reservoir fish stocking: When one plus one may be less than two. **Natureza & Conservação**, 8: 103-111. 2010.

AGOSTINHO, A.A.; GOMES, L.C.; PELICICE, F.M. **Ecologia e manejo de recursos pesqueiros em reservatórios do Brasil**. Maringá: EDUEM, 2007. 501p.

AGOSTINHO, A.A.; THOMAZ, S.M.; GOMES, L.C. Conservation of the biodiversity of Brazil's inland waters. **Conservation Biology**, v.19, n.3, p.646-652. 2005.

ALLENDORF, F.W.; BERRY, O.; RYMAN, N. So long to genetic diversity, and thanks for all the fish. **Molecular Ecology**, 23, 23–25. 2014.

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

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

ANA - AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. Coordenação de Outorgas. Disponível em: <<http://www2.ana.gov.br/Paginas/institucional/SobreaAna/uorgs/sof/geout.aspx>> Acesso em: 3 março 2015.

ANA – AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. Relatório de Avaliação Social do Programa. **Programa Interáguas**. 42p. 2010.

ANDREW, R.L.; OSTEVIK, K.L.; EBERT, D.P.; RIESEBERG, L.H. Adaptation with gene flow across the landscape in a dune sun- flower. **Molecular Ecology**, 21, 2078–2091. 2012.

ARAKI, H.; ARDREN, W.R.; OLSEN, E.; COOPER, B.; BLOUIN, M.S. Reproductive success of captive-bred steelhead trout in the wild: evaluation of three hatchery programs in the Hood River. **Conservation Biology** 21:181–190. 2007

BAUMGARTNER, G.; K. NAKATANI; L. C. Gomes; A. BIALETZKI; P. V. SANCHES e M. C. MAKRAKIS. Identification of spawning sites and natural nurseries of fishes in the upper Paraná River, Brazil. **Environmental Biology of Fishes**, v.71, p.115-125. 2004.

BEREJKIAN, B.A.; VAN DOORNIK, D.M.; ENDICOTT, R.C.; HOFFNAGLE, T.L.; TEZAK, E.P.; MOORE, M.E.; ATKINS, J. Mating success of alternative male phenotypes and evidence for frequency-dependent selection in Chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*. **Can. J. Fish. Aquat. Sci.** 67, 1933–1941. 2010.

BESSERT, M. L.; ORTÍ, G. Genetic effects of habitat fragmentation on blue sucker populations in the upper Missouri River (*Cycleptus elongatus* Lesueur, 1918). **Conservation Genetics**, 9: 821-832. 2008.

BOND, M.H.; CRANE, P.A.; LARSON, W.A.; QUINN, T.P. Is isolation by adaptation driving genetic divergence among proximate Dolly Varden char populations? **Ecology and Evolution** 4:2515–2532. 2014.

BRADBURY, I.R.; HAMILTON, L.C.; ROBERTSON, M.J.; BOURGEOIS, C.E.; MANSOUR A., AND J. B. DEMPSON. Landscape structure and climatic variation determine Atlantic salmon genetic connectivity in the northwest Atlantic. **Can. J. Fish. Aquat. Sci.** 71:246–258. 2013.

BRADBURY, I.R.; BENTZEN, P. Non-linear genetic isolation by distance: implications for dispersal estimation in anadromous and marine fish populations. **Mar. Ecol. Prog. Ser.** 340:245–257. 2007.

BRAGA-SILVA, A. & GALETTI, P.M., Jr. Evidence of isolation by time in freshwater migratory fish *Prochilodus Costatus* (Characiformes, Prochilodontidae). **Hydrobiologia**, 765, 159–167. 2016.

BRITSKI, H.A.; BIRINDELLI, J.L.O.; GARAVELLO, J.C. A new species of *Leporinus* Agassiz, 1829 from the upper Rio Paraná basin (Characiformes, Anostomidae) with redescription of *L. elongatus* Valenciennes, 1850 and *L. obtusidens* (Valenciennes, 1837). **Papeis Avulsos de Zoologia**, 52: 441-475. 2012.

BROWN, A.H.D. Isozymes, plant population genetics structure and genetic conservation. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 52, n. 4, p. 145-157. 1978.

BUNN, S.E & ARTHINGTON, A.H. Basic principles and ecological consequences of altered flow regimes for aquatic biodiversity. **Environmental Management** 30: 492–507. 2002.

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

COIMBRA, M.R.; LIMA, A.P.; 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**, 1-11. 2017.

COLLINS, S.M.; BICKFORD, N.; MCINTYRE, P.B.; COULON, A.; ULSETH, A.J.; TAPHORN, D.C., FLECKER, A.S. Population Structure of a Neotropical Migratory Fish: Contrasting Perspectives from Genetics and Otolith Microchemistry. **Transactions of the American Fisheries Society** Vol. 142, Iss. 5. 2013.

CORNUET, J.M.; LUIKART, G. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. **Genetics** 144, 2001–2014. 1996.

COYNE, J.A.; ORR, H.A. **Speciation**. Sinauer Associates, Sunderland, MA. 2004.

CRISPO, E.; BENTZEN, P.; REZNICK, D.N.; KINNISON, M.T. & HENDRY, A.P. The relative influence of natural selection and geography on gene flow in guppies. **Mol. Ecol.**, 15, 49–62. 2006.

CUNHA, E.E. et al. Efeito de tipos de acasalamentos e razões sexuais na seleção baseada no BLUP. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 6, p. 1297 – 1303, 2003.

DANTAS, H.L.; DOS SANTOS NETO, M.A.; OLIVEIRA, K.K.C.; SEVERI, W., MENDONÇA, F. D. & COIMBRA, M.R.M. Genetic Diversity of Captive and Wild Threatened Catfish *Pseudoplatystoma corruscans* in the São Francisco River. **Reviews in fisheries science**, 21(3-4), 237-246. 2013.

DENNENMOSER, S.; ROGERS, S.M.; VAMOSI S.M. Genetic population structure in prickly sculpin (*Cottus asper*) reflects isolation-by-environment between two life-history ecotypes, **Biological Journal of the Linnean Society**, Volume 113, Issue 4, 1, Pages 943–957. 2014.

DONT-NIVET, M.; VANDEPUTTE, M. Is avoiding full sib matings really worthwhile in a breeding program? **Aquaculture** 314:277–281. 2011.

DUCHESNE, P.; GODBOUT, M.H.; BERNATCHEZ, L. PAPA (package for the analysis of parental allocation): a computer program for simulated and real parental allocation. **Mol. Ecol. Notes**, 2, 191–193. 2002.

EGELAND, T.B.; RUDOLFSEN, G.; NORDEIDE, J.T.; FOLSTAD, I. On the relative effect of spawning asynchrony, sperm quantity, and sperm quality on paternity under sperm competition in an external fertilizer. **Frontiers in Ecology and Evolution** 3:77. 2015.

EPE – **Empresa de Pesquisa Energética**. Balanço Energético Nacional 201: Ano base 2014. Rio de Janeiro, 55p. 2015.

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

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

FALUSH, D.; STEPHENS, M. & PRITCHARD, J. K. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. **Genetics** 164 (4): 1567-87. 2003.

FERREIRA, D. G.; SOUZA-SHIBATTA, L.; SHIBATTA, O. A.; SOFIA, S. H.; CARLSSON, J.; DIAS, J. H. P.; MAKRAKIS, S.; MAKRAKIS, M. C. Genetic structure and diversity of migratory freshwater fish in a fragmented Neotropical river system. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, 27, 209–231. 2017.

FONTENELE, O. & VASCONCELOS, E. A. Considerações sobre a adaptação do piau-verdadeiro, *Leporinus obtusidens* CUV. e Val., 1864 (Anostomidae), em lagoas do nordeste brasileiro. **Boletim Técnico** do DNOCS v.35, 61-92. 1977.

FRANKHAM, R.; BROOK, B.W.; BRADSHAW, C.J.A.; TRAILL, L.W.; SPIELMAN, D. 50/500 rule and minimum viable populations: response to Jamieson and Allendorf. **Trends Ecol. Evol.** 28, 187–188. 2013.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D., & BRISCOE, D. A. **Introduction to Conservation Genetics**. Cambridge: Cambridge University Press. 2010.

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

GARAVELLO e BRITSKI. Family Anostomidae (Headstanders). *In*: Reis RE, Kullander SO e Ferraris Jr. CJ (eds.) **Check list of the freshwater fishes of South and Central America**. EDIPUCRS, Porto Alegre, p. 71-84. 2003.

GHEYAS, A.A.; WOOLLIAMS, J.A.; TAGGART, J.B.; SATTAR, M.A.; DAS, T.K.; et al. Heritability estimation of silver carp *Hypophthalmichthys molitrix* harvest traits using microsatellite based parentage assignment. **Aquaculture** 294: 187–193. 2009.

GODINHO A.L. e GODINHO H.P. Breve visão do São Francisco. *In*: Godinho H.P.; Godinho A.L. (ed.). **Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais**. Belo Horizonte: PUC Minas, p.15–25. 2003.

GODINHO, A.L.; B. KYNARD e C.B. MARTINEZ. Supplemental water releases for fisheries restoration in a brazilian floodplain river: a conceptual model. **River Research and Applications**, v.23, n.9, p.947-962. 2007.

GOUDET, J. FSTAT [Online]. Website last modified on August 23, 2005 (acesso em 18 agosto, 2013). Disponível em <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>. 2005.

HALLERMAN, E.M. **Population genetics: principles and applications for fisheries scientists**. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland: 458 pp. 2003.

HAMRICK, J.L. Plant population genetics and evolution. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 69, n. 10, p. 1685-1693. 1982.

HARTL, D.L.; CLARK, A.G. **Principles of populations genetics**, 3th ed. Sunderland, Massachusetts: Sinauer, 542p. 1997.

HESS, M.A.; RABE, C.D.; VOGEL, J.L.; STEPHENSON, J.J.; NELSON, D.D.; NARUM, S. R. Supportive breeding boosts natural population abundance with minimal negative impacts on fitness of a wild population of Chinook salmon. **Molecular Ecology**, 21, 5236–5250. 2012.

HOSKIN, M.L.; HUTCHISON, M.J.; BARNES, A.C.; OVENDEN, J.R.; POPE, L.C. Parental contribution to progeny during experimental spawning of jungle perch, *Kuhlia rupestris*. **Marine and Freshwater Research** 66(4) 375-380. 2014.

IUCN - **União Internacional para Conservação da Natureza**. Acessado em 21 julho de 2016. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2009-2.RLTS.T167695A6369023.en>. 2016.

KANNO, Y.; VOKOUN, J.C.; LETCHER, B. H. Fine-scale population structure and riverscape genetics of Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*) distributed continuously along headwater channel networks. **Molecular Ecology** 20:3711–3729. 2011.

KEY WORLD ENERGY STATISTICS. (2016). Disponível em: <https://www.iea.org/publications/freepublications/publication/KeyWorld2016.pdf>. Acesso em: 09/02/2017.

KOHLER, H. C. Aspectos geoecológicos da bacia hidrográfica do São Francisco. In: H.P. Godinho & S.L. Godinho (eds.). **Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais**. Pontifícia Universidade Católica de Minas, Belo Horizonte, 458 pp. 2003.

KOYA, Y.; KOIKE, Y.; ONCHI, R.; MUNEHARA, H. Two patterns of parasitic male mating behaviors and their reproductive success in Japanese medaka, *Oryzias latipes*. **Zool. Sci.** 30, 76–82. 2013.

KRISTENSEN, T.N.; HOFFMANN, A.A.; PERTOLDI, C.; STRONEN, A.V. What can livestock breeders learn from conservation genetics and *vice versa*? **Frontiers in Genetics**, 6, 38. 2015.

LAIKRE, L.; PALM, S. & RYMAN, N. Genetic Population Structure of Fishes: Implications for Coastal Zone Management. **Ambio** (34) 2:111-119. 2005.

LEUZZI, M.S.P.; ALMEIDA, F.S.; ORSI, M.L. & SODRÉ, M.L.K. Analysis by RAPD of the genetic structure of *Astyanax altiparanae* (Pisces, Characiformes) in reservoirs of the River Paranapanema. **Genetics and Molecular Biology**, 27, 355-362. 2004.

LIU, X.D.; ZHAO, G.T.; WANG, Z.Y.; CAI, H.Y.; WANG, Q.R. Parentage assignment and parental contribution analysis in large yellow croaker *Larimichthys crocea* using microsatellite markers. **Current Zoology** 58(2):244–249. 2012.

LYNCH, M., & K. RITLAND. Estimation of pairwise relatedness with molecular markers. **Genetics** 152:1753–1766. 1999.

MARTINS, C.; WASKO, A. P.; OLIVEIRA, C. & FORESTI, F. Mitochondrial DNA variation in wild populations of *Leporinus elongatus* from the Paraná River basin. **Genetics and Molecular Biology**, 26 (1): 33 – 38. 2003.

MATEUS, L.A., PETRERE Jr., M. Age, growth and yield per recruit analysis of the pintado *Pseudoplatystoma coruscans* (Agassiz., 1829) in the Cuiabá River basin, Pantanal Matogrossense, **Brazil. Braz. J. Biol.** 64 (2), 257–264. 2004.

MILLER, L. M; KAPUSCINSKI, A. R. Genetic guidelines for hatchery supplementation programs. In: HALLERMAN, E.M. **Population genetics: principles and applications for fisheries scientists**. Bethesda: American Fisheries Society, p. 329-355. 2003.

MILOT, E.; PERRIER, C.; PAPILLON, L.; DODSON, J. J., & BERNATCHEZ, L. Reduced fitness of Atlantic salmon released in the wild after one generation of captive breeding. **Evolutionary Applications**, 6, 472–485. 2013.

MMA - **Ministério do Meio Ambiente**-Brasil. (2006). Caderno da Região Hidrográfica do São Francisco / Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Recursos Hídricos. – Brasília: 148 p.

MOLINA, W.F.; SHIBATTA, O.; GALETTI JR., P.M. Chromosomal evidence of population subdivision in the freshwater fish *Leporinus elongatus* in the Upper Paraná River basin. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v. 31, n. 1, supl. p. 270-274. 2008.

NANNINGA, G.; MUGHAL, M.; SAENZ-AGUDELO, P.; BAYER, T.; BERUMEN, M. Environmental gradients predict the genetic population structure of a coral reef fish in the Red Sea. **Molecular Ecology** 23, 591–602. 2014.

NAVARRO, A.; BADILLA, R.; ZAMORANO, M.J.; PASAMONTES, V.; HILDEBRANDT, S.; et al., Development of two new microsatellite multi-plex PCRs for three sparid species: Gilthead seabream (*Sparus auratus* L.), red porgy (*Pagrus pagrus* L.) and redbanded seabream (*P. auriga*, Valenciennes, 1843) and their application to paternity studies. **Aquaculture** 285: 30–37. 2008.

NEFF, B.D.; FU, P.; GROSS, M.R. Sperm investment and alternative mating tactics in Bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). **Behav. Ecol.** 14, 634–641. 2003.

NOSIL, P.; FUNK, D.J.; ORTIZ-BARRIENTOS, D. Divergent selection and heterogeneous genomic divergence. **Mol. Ecol.** 18:375–402. 2009.

OCHOA, L.E. et al. Genetic structure and historical diversification of catfish *Brachyplatystoma platynemum* (Siluriformes: Pimelodidae) in the Amazon basin with implications for its conservation. **Ecology And Evolution**. Hoboken: Wiley-blackwell, v. 5, n. 10, p. 2005-2020. 2015.

OLIVEIRA, R.F.; CANARIO, A.V.M.; GROBER, M.S.; SANTOS, R.S. Endocrine correlates of male polymorphism and alternative reproductive tactics in the Azorean rock-pool blenny, *Parablennius sanguinolentus parvicornis*. **Gen. Comp. Endocrinol.** 121, 278–288. doi: 10.1006/gcen.2001.7596. 2001.

OLIVEIRA, K.K.C.; LIMA, A.P.S. & COIMBRA, M.R.M. Isolation and characterization of the first microsatellite markers in the Neotropical freshwater fish piau-verdadeiro, *Leporinus obtusidens* (Valenciennes, 1837). **Conservation Genetics Resources** 7: (1) 77-79. 2014.

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

ORSINI, L.; VANOVERBEKE, J.; SWILLEN, I.; MERGEAY, J.; DE MEESTER, L. Drivers of population genetic differentiation in the wild: isolation by dispersal

limitation, isolation by adaptation and isolation by colonization. **Mol. Ecol.** 22:5983–5999. 2013.

OVENDEN, J.; PEEL, D.; STREET, R.; COURTNEY, A.; HOYLE, S.; et al. The genetic effective and adult census size of an Australian population of tiger prawns (*Penaeus esculentus*), **Molecular Ecology** 16, 127-38. 2007.

PARMA, J.M.C. Crescimento de *Leporinus obtusidens* (Val.) (Pisces, Anostomidae) bajo diferentes dietas artificiales. **Revista de La Asociacion de Ciências Naturales del Litoral**. Santa Fé, n. 11, p. 1-11, 1980.

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

PELICICE, F.M.; AGOSTINHO, A.A. Fish-passage facilities as ecological traps in large Neotropical rivers. **Conservation Biology**, 22:180-188. 2008.

POFF, H.L.; ALLAN, D.; BAIN, M.B.; KARR, J.R.; PRESTEGAARD, K.L.; RICHTER, B.D.; SPARKS, R.E.; STROMBERG, J. C. The natural flow regime: a paradigm for river conservation and restoration. **Bioscience**, vol. 47, n. 11. P. 769-784. 1997.

POVH, J. A. et al. Microsatellite analysis of the parental contribution of *Piaractus mesopotamicus* to the production of offspring in the semi-natural system of reproduction. **Braz. arch. biol. technol.** [online], vol.53, n.2. 2010.

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

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

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

RAMOS, J.B.V.; SODRÉ, L.M.K.; ORSI, M.L. & ALMEIDA, F.S. Genetic diversity of the species *Leporinus elongatus* (Teleostei: Characiformes) in the Canoas Complex - Paranapanema River. **Neotropical Ichthyology**, Porto Alegre, v. 10, n. 4, p. 821-828. 2012.

RAMOS, L.A. & KONRAD, H.G. Biologia reprodutiva de *Hemiancistrus* sp. (Osteichthyes, Loricariidae) do rio dos sinos, RS. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 25, p. 45-50, mar. 1999.

RAYMOND, M. & ROUSSET, F. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. **Journal Heredity** 86 (3): 248-249. 1995.

REIS R.E.; ALBERT J.S.; DI DARIO F.; MINCARONE M.M.; PETRY P. & ROCHA L.A. Fish biodiversity and conservation in South America. **Journal of Fish Biology** 89, p. 12–47. 2016.

REIS, R.E.; KULLANDER, S.O. & FERRARIS JÚNIOR, C.J. **Check list of the freshwater fishes of South and Central America** (Org.). Porto Alegre: EdiPUCRS, 742 p. 2003.

REYNALTE-TATAJE, D. & ZANIBONI FILHO, E. Cultivo de piapara, piava, piau - gênero *Leporinus*. In Baldisserotto, B. & Carvalho-Gomes, L. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2º ed. Santa Maria: UFSM, p. 73-92. 2010.

REYNALTE-TATAJE, D.; ZANIBONI-FILHO, E.; MUELBERT, B. Stages of the embryonic development of the piavuçu *Leporinus macrocephalus* (Garavello & Britski, 1988). **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 4, p. 823-327, 2001.

RICE, W.W. Analyzing tables of statistical tests. **Evolution**, Lancaster 43: 223-225. 1989.

RITLAND, K. Estimators for pairwise relatedness and inbreeding coefficients. **Genetics Research** 67: 175–186. 1996.

SALA, O.E.; et al. Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science* 287: 1770–1774. 2000.

Sambrook J, Fritschi EF, Maniatis T (1989). **Molecular cloning: a laboratory manual**, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.

SATO Y. e GODINHO, H.P. Migratory fishes of the São Francisco river. In: **Migratory fishes of South America: biology, fisheries and conservation status**, Carolsfeld, J.; Harvey, B.; Ross, C.; Baer, A. (eds.). World Fisheries Trust: Victoria, BC, Canada, p. 195-232. 2003.

SAVARY, R., DUFRESNES, C., CHAMPIGNEULLE, A., et al. Stocking activities for the Arctic charr in Lake Geneva: Genetic effects in space and time. **Ecology and Evolution**. 7: 5201-5211. 2017.

SILVA, F.O. Transposição de peixes pelo elevador de Funil, rio Grande, Bacia do alto Paraná, MG. **Dissertação de mestrado**. Universidade Federal de Minas Gerais. 54p, 2008.

SILVA, J.J.L.S.; MARQUES, M. & DAMÁSIO, J.M. Impactos do desenvolvimento do potencial hidroelétrico sobre os ecossistemas aquáticos do Rio Tocantins. **Ambi-Agua**, Taubaté, 5, 1,189-203. 2010.

TEMPLETON, A.R.; ROBERTSON, R. J.; BRISSON, J. e STRASBURG, J. Disrupting evolutionary processes: The effect of habitat fragmentation on collared lizards in the Missouri Ozarks. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 98: 5426- 5432. 2001.

THORPE, R.S.; SURGET-GROBA, Y. & JOHANSSON, H. The relative importance of ecology and geographic isolation for speciation in anoles. *Philos. Trans. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci.*, 363, 3071–3081. 2008.

TUNDISI, J.G., TUNDISI, T.M., ROCHA, O. **Ecosistemas de águas interiores**. p. 153-192. In: Rebouças, A.C., BRAGA, B., TUNDISI, J.G. (Eds.). *Águas doces do Brasil: capital ecológico, uso e conservação*. São Paulo, Escrituras, 717 pp. 1999.

VANDEPUTTE, M.; KOCOUR, M.; MAUGER, S.; DUPONT-NIVET, M.; DE GUERRY, D.; RODINA, M.; GELA, D.; VALLOD, D.; CHEVASSUS, B.; LINHART, O. Heritability estimates for growth-related traits using microsatellite parentage assignment in juvenile common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture* 235, 223–236. 2004.

VAZZOLER, A.E.A.M. & MENEZES, N.A. Síntese de conhecimentos sobre o comportamento reprodutivo dos Characiformes da América do Sul (Teleostei, Ostariophysii). *Revista Brasileira de Biologia*, 52(4):627-640. 1992.

VAZZOLER, AEAM., **Biologia da reprodução de Peixes Teleósteos: teoria e prática**. Maringá: EDUEM, 169p. 1996.

VIA, S.; HAWTHORNE, D.J. The genetic architecture of ecological specialization: correlated gene effects on host use and habitat choice in pea aphids. *The American Naturalist*, 159, S76–S88. 2002.

VIEIRA F e POMPEU O.S. Peixamentos - uma alternativa eficiente? *Ciência Hoje*, 30:28-33. 2001.

VÖRÖSMARTY, C.J.; et al. Global threats to human water security and river biodiversity. *Nature* 467: 555–561. 2010.

WANG, I.J. Environmental and topographical variables shape genetic structure and effective population sizes in the endangered Yosemite toad. *Diversity and Distributions*, 18: 1033-1041. 2012.

WANG, I.J. & BRADBURD, G.S. Isolation by environment. *Mol Ecol*, 23: 5649–5662. 2014.

WANG, I.J.R.; GLOR, E. & LOSOS, J.B. Quantifying the roles of ecology and geography in spatial genetic divergence. *Ecol. Lett.* 16, 175–182. 2013.

WANG, I.J. & SUMMERS, K. Genetic structure is correlated with phenotypic divergence rather than geographic isolation in the highly polymorphic strawberry poison-dart frog. *Mol. Ecol.*, 19, 447–458. 2010.

WANG, J. L. An estimator for pairwise relatedness using molecular markers. *Genetics* 160:1203–1215. 2002.

WANG, J.L. COANCESTRY: a program for simulating, estimating and analysing relatedness and inbreeding coefficients. **Molecular Ecology Resources** 11: 141–145. 2011.

WATANABE, M.; TAKAMURA, S.; MAEKAWA, K. Effects of timing of nest entry and body size on the fertilization success of alternative male reproductive phenotypes of masu salmon (*Oncorhynchus masou*). **Canadian Journal of Zoology**, 86(10): 1121-1130. 2008.

WHITELEY, A.R.; COOMBS, J. A.; HUDY, M.; ROBINSON, Z.; COLTON, A. R.; NISLOW, K.H.; B. LETCHER. H. Fragmentation and patch size shape genetic structure of Brook Trout populations. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences** 70:678–688. 2013.

WINEMILLER, K.O. et al. Balancing hydropower and biodiversity in the Amazon, Congo, and Mekong. **Science**: 351 (6269), 128-129. 2016.

WOYNAROVICH, E.; HORVÁTH, L. **A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão**. Brasília: Escopo. 220p. (1983)

WRIGHT, S. Evolution in Mendelian populations. **Genetics**, v.16, p. 97-159. 1931.

WRIGHT, S. Isolation by distance. **Genetics**, 28, 114–138. 1943.

YEATES, S.E.; SEARLE, J.; WARD, R.G.; GAGE, M.J. A two-second delay confers first-male fertilization precedence within in vitro sperm competition experiments in Atlantic salmon. **J. Fish Biol.** 70, 318–322. 2007.