

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 24/02/2018.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“Júlio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

**GENÉTICA APLICADA NO ESTUDO DA CADEIA  
PRODUTIVA DE SERRASALMÍDEOS: IDENTIFICAÇÃO  
DE ESPÉCIES E HÍBRIDOS COMERCIALIZADOS**

**DIEGO GALETTI MARTINS**

**ORIENTADOR: Dr. FÁBIO PORTO-FORESTI**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista – UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Genética).

**Botucatu- SP**

**- 2017 -**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Martins, Diego Galetti.

Genética aplicada no estudo da cadeia produtiva de Serrasalmídeos : identificação de espécies e híbridos comercializados / Diego Galetti Martins. - Botucatu, 2017

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Fábio Porto Foresti

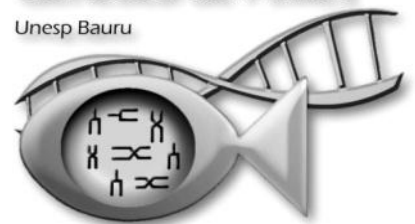
Capes: 20204000

1. Peixe - Identificação. 2. Peixe - Comércio. 3. Aquicultura. 4. Conservação biológica.

Palavras-chave: Aquicultura; Conservação biológica; Marcadores moleculares .



Laboratório de  
**Genética de Peixes**  
Unesp Bauru



*“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”*

*(Arthur Schopenhauer)*

*Dedico este trabalho aos meus pais, João e Suzeley, pelo amor e apoio incondicionais, essenciais em minha vida.*

## **AGRADECIMENTOS**

O meu agradecimento é dedicado às instituições e pessoas que contribuíram de algum modo para a concretização deste trabalho, em particular:

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio concedido.

A Faculdade de Ciências da Universidade Estadual Paulista, campus Bauru e ao departamento de Ciências Biológicas, pelas condições oferecidas para a execução deste trabalho e pela contribuição para minha formação profissional.

Ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, campus de Botucatu, ao Curso de Pós-graduação em Ciências Biológicas- Genética e a Seção de Pós-graduação do IBB, pela oportunidade.

Ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), pelo suporte oferecido durante as coletas.

Ao Laboratório de Genética de Peixes (LAGENPE), por me acolher de braços abertos e permitir a realização deste trabalho.

Ao Professor e amigo Fábio Porto-Foresti, pela oportunidade oferecida. Obrigado pelos ensinamentos, apoio e principalmente por acreditar em mim!

Ao Professor Fausto Foresti, pelo exemplo de pessoa e pesquisador. Ao Professor Cláudio de Oliveira, por toda compreensão e ajuda durante esta etapa.

A amiga Fernanda Dotti do Prado, pelos valiosos ensinamentos desde minha iniciação científica até a etapa atual, pela paciência ao ensinar e por participar em grande parte da minha formação profissional.

Aos amigos Andrea Mourão e Thiago Davanso, pela amizade sincera, ajuda e apoio durante esta etapa.

Aos amigos Manolo Penitente e Sandro Daniel, que se mostraram disponíveis e solícitos em todos os momentos que precisei.

As amigas Aline Valentim, Bruna Mendonça e Maíce Ramos, pela ótima convivência, amizade e apoio.

Aos amigos Caio Goes, William Correia e Raul Oliveira, que sempre se fizeram solícitos.

A família LAGENPE: Fábio, Egberto, Manolo, Fernanda, Sandro, Andrea, Bruna, Aline, Maíce, Caio G., Caio F., Will, Raul, Vinícius e Caíque. Sem vocês, isso não seria possível.

Aos amigos de graduação, em especial: Gustavo, Bruno, Natália, Ingrid, Giulia e Débora, pela experiência de vida que compartilhamos e amizade cultivada.

Aos amigos de Descalvado: Leandro, Guilherme M., Jorge, Jonas, Fábio, André, Guilherme R., Victor, Leo, Osvaldo, Bruno, Felipe, Guilherme C., Arthur, Sinuhe, Lucas e Matheus. Obrigado por fazerem parte da minha vida.

A Natália, meu amor, minha parceira. Obrigado pelo carinho, companheirismo e apoio, fundamentais em minha vida. Te amo.

A minha falecida avó, Maria Martins, pelos anos de intensa convivência e amor. Obrigado pelos ensinamentos, jamais me esquecerei de você.

Aos familiares membros das famílias Galetti e Martins, por todo amor e incentivo em todas as etapas de minha vida. Obrigado por estarem sempre presentes.

A minha família, João, Suzeley e Jéssica, pelo amor incondicional e por sempre acreditarem no meu potencial. Minhas conquistas sempre serão dedicadas a vocês. Amo vocês.



**RESUMO**

O consumo per capita de proteína animal vem crescendo de forma significativa no Brasil e no mundo. Dentre as distintas fontes para este recurso, o pescado destaca-se como a mais comercializada mundialmente, com 167.2 milhões de toneladas produzidas em 2014. No Brasil, atualmente, a maior parcela do comércio de espécies de peixes continentais é proveniente de pisciculturas, tendo como prática comum a hibridação interespecífica. Dentre as espécies nativas mais utilizadas para os cruzamentos interespecíficos em cultivos brasileiros estão: *Colossoma macropomum* (tambaqui), *Piaractus mesopotamicus* (pacu) e *Piaractus brachypomus* (pirapitinga), que juntamente a seus híbridos recíprocos, corresponderam a 39,2% da produção aquícola brasileira em 2015, com 190 mil toneladas produzidas. Entretanto, devido à dificuldade de diferenciação morfológica em relação às espécies puras, híbridos podem ser erroneamente manejados, ocasionando problemas para a produção, comércio e ambiente. Dentro deste contexto, o presente estudo objetivou a identificação molecular de exemplares comercializados em uma das maiores feiras atacadistas da América Latina, a Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP). O diagnóstico genético revelou que 75,9% das amostras analisadas não condiziam com a nomenclatura comercial utilizada durante a venda, havendo exemplares de diferentes linhagens híbridas na composição dos lotes. Além de presentes, os exemplares híbridos foram notados em altas frequências, havendo uma correspondência de 51,6% das amostras com indivíduos híbridos avançados e 25,2% de híbridos F1. A princípio, a venda trocada se mostra negativa por ferir a segurança do consumidor, mas a problemática toma maiores proporções quando são levantados os problemas ambientais e produtivos que estão envolvidos nesta prática, pois colocam em risco a sustentabilidade desta modalidade de produção e a conservação de espécies nativas brasileiras. Desta forma, os resultados obtidos poderão contribuir em adequações na legislação vigente para a cadeia produtiva do pescado, de modo a atender suas particularidades sem comprometer o desenvolvimento aquícola nacional.

Palavras-chave: Marcadores moleculares, Aquicultura, Conservação biológica

**ABSTRACT**

The per capita consumption of animal protein has been growing significantly in Brazil and in the world. Among the different sources for this resource, the fish stands out as the most commercialized in the world, with 167.2 million tons produced in 2014. In Brazil, currently the largest share of the trade in inland fish species comes from fish farms, with interspecific hybridization as a common practice. Among the native species most used for interspecific crosses in Brazilian crops are *Colossoma macropomum* (tambaqui), *Piaractus mesopotamicus* (pacu) e *Piaractus brachypomus* (pirapitinga), which together with their hybrids, corresponded to 39.2% of Brazilian aquaculture production in 2015, with 190 thousand tons produced. However, due to the difficulty of morphological differentiation in relation to the pure species, hybrids can be mistakenly handled, causing problems for production, trade and environment. In this context, the present study aimed the molecular identification of 364 specimens marketed in one of the largest wholesale fairs in Latin America, the Company of Warehouses and General Warehouses of São Paulo (CEAGESP). The genetic diagnosis revealed that 75.9% of the analyzed samples did not match the commercial nomenclature used during the sale, with different hybrid lines in the composition of the lots. Further existing, the hybrid specimens were noticed at high frequencies, with a correspondence of 51.6% of the samples with advanced hybrid individuals and 25.2% of F1 hybrids. At first, the sale exchanged proves negative because it hurts consumer safety, but the problem takes on greater proportions when the environmental and productive risks that are involved in this practice are considered, because they jeopardize the sustainability of this type of production and the conservation of Brazilian native species. In this way, the results obtained may contribute to adjustments in the current legislation for the fish production chain, in order to meet their particularities without compromising national aquaculture development.

Keywords: Molecular markers, Aquaculture, Biological conservation

**SUMÁRIO**

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>01</b>
1.1 Produção e comércio de peixes no Brasil .....	01
1.1.1 Cadeia do Pescado e CEAGESP .....	02
1.2 Piscicultura e Peixes híbridos .....	05
1.3 Considerações sobre as espécies parentais e seus híbridos .....	09
1.4 Identificação molecular de híbridos .....	11
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>14</b>
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>15</b>
3.1 Amostragem material biológico .....	15
3.2 Métodos .....	17
3.2.1 Extração de DNA .....	18
3.2.2 PCR-Multiplex .....	19
3.2.3 PCR RFLP .....	21
3.2.4 Análise estatística.....	22
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>24</b>
4.1 Capítulo 1 – Comércio indiscriminado de Serrasalmídeos: uma ameaça para espécies nativas e produtividade da indústria aquícola.....	25
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>40</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>41</b>
<b>7 ANEXOS.....</b>	<b>.....</b>
<b>8 APÊNDICES .....</b>	<b>.....</b>

# *INTRODUÇÃO*

## **1 INTRODUÇÃO**

### **1.1 Produção e Comércio de Peixes no Brasil**

A demanda por proteína animal cresce de forma significativa tanto no Brasil como no mundo (Sidonio et al., 2012). Analisando os registros do início da década de 60, é notável um expressivo incremento no consumo per capita mundial deste recurso, variando de 23 kg em 1961 para 46,6 kg no ano de 2009 (Roppa, 2009). Dentre as distintas possibilidades de origem para a proteína animal, o pescado figura em primeiro lugar dentro do comércio mundial, com 167,2 milhões de toneladas produzidas em 2014, ofertando uma média mundial per capita de 20,1 kg (Sidonio et al., 2012; FAO, 2016).

Interpretando os dados da produção de pescado brasileiro do ano de 1950 a 2010 é notável que, até o ano de 1985, grande parcela do pescado nacional foi obtida pelo método de captura. A partir desta data é observada uma contínua regressão e estagnação nas taxas de pescado capturado, devido entre vários fatores, à degradação e poluição do ambiente aquático e à pressão pesqueira sobre os estoques naturais (Zaniboni, 1997; MPA, 2010). Segundo o relatório anual da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura, publicado em 2016, até o ano de 2013 cerca de 90% dos estoques naturais de peixes foram explorados acima de seus limites sustentáveis, salientando a necessidade de novas alternativas para produção deste recurso. Por outro lado, paralelo a esse evento houve um intenso incentivo ao desenvolvimento da aquicultura brasileira, que surge como uma saída para minimizar o impacto da pesca extrativa, com registros no período de 2009-2011 indicando um crescimento de 51,2% da atividade (MPA, 2010 e 2011). No ano de 2011, a produção aquícola continental e marinha, representou 44% do produto nacional, com 628.704 toneladas (MPA, 2011).

Dados recentes ressaltam o contínuo crescimento no setor, quando foram produzidas 691.331 toneladas em 2015, com valor total equivalente a R\$ 4,39 bilhões (IBGE, 2015). Assim, seguindo a tendência mundial de aumento da participação da aquicultura em relação à produção do pescado (FAO, 2016).

Apesar dos esforços realizados para incentivar a produção aquícola brasileira e do aumento significativo neste setor, a balança comercial nacional do pescado ainda é deficitária, havendo registros oficiais em 2011, no valor de -US\$ 991 milhões (MPA, 2011) e recentemente atingindo a marca de aproximados -US\$ 1,2 bilhão em 2015 (SEAFOODBRASIL, 2015), fato que explicita a necessidade de melhorias e avanços na cadeia produtiva de pescado nacional.

### **1.1.1 Cadeia Produtiva de Pescado e CEAGESP**

Segundo Suplicy (2007) a piscicultura continental brasileira pode ser compreendida por duas seções complementares, a produção de juvenis e o cultivo de peixes, onde apenas uma minoria dos cultivadores é responsável pela produção de seus próprios juvenis. Após o período de engorda, quando são alcançados os padrões exigidos pela indústria, é realizada a despesca e conseguinte abastecimento dos intermediários, que variam de grandes frigoríficos a entrepostos que atendem o mercado atacadista e varejista (Sidonio et al., 2012). Ao final da cadeia produtiva do pescado (Figura 1), o consumidor final tem acesso a produtos processados, congelados ou resfriados, de acordo com o destino tomado pela mercadoria após os intermediários (Sidonio et al., 2012).



**Figura 1:** Esquema geral da cadeia produtiva do pescado aquícola.

Recentemente alguns autores detectaram falhas que colocam em risco a produtividade e a segurança alimentar dentro da cadeia produtiva contextualizada. Segundo Hashimoto et al. (2011), em uma análise molecular de estoques comerciais de peixes representantes dos gêneros *Piaractus* e *Colossoma*, da família *Serrasalminidae*, foram identificados indivíduos híbridos em proporções superiores às espécies parentais cultivadas, constatação alarmante para a eficiência produtiva dos cultivos, cuja importância será discutida adiante, no tópico **1.2**. Indo além, referente à segurança alimentar também foi notado por diversos trabalhos a ocorrência do “*mislabeled*”, que significa rotulagem errada ou substituição de mercadoria (Carvalho et al., 2011; Lobo et al., 2014). Segundo Carvalho et al. (2011), que analisou através da técnica de *DNA Barcode* amostras processadas de pescado, foi identificada a substituição das espécies rotuladas por amostras de diferentes gêneros. Este dado também pode ser extrapolado para a temática do presente estudo, pois aponta e chama atenção para mais uma problemática pertinente à cadeia produtiva de pescado.

Conforme citado anteriormente, após o período de engorda é realizada a despesca, seguida do abastecimento dos intermediários (Sidonio et al., 2012), segmento

em que se enquadra a Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP) onde será o foco das análises do presente trabalho.

A Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP) foi fundada no ano de 1969, sendo considerada uma das maiores feiras atacadistas de pescado da América Latina. Atualmente é responsável pelo comércio diário de 200 t de pescado, com um rol de 97 espécies comercializadas e um total de 81 permissionários de distintas regiões brasileiras (CEAGESP, 2016). Devido à sua expressividade, tornou-se um canal para a distribuição da produção regional e estrangeira, assim como um ponto de encontro entre produtores e comerciantes. Dentre o montante comercializado pelo entreposto, no setor do pescado, 90% é constituído por espécies marinhas, com destaque para a sardinha, corvina e pescada (CEAGESP, 2016).

Apesar da aparente inexpressividade na comercialização de espécies dulcícolas, grupos de grande importância econômica como as tilápias e representantes da família Serrasalmidae figuram entre a porção dos peixes continentais comercializados (CEAGESP, 2016). Para a contabilização do comércio, os representantes da família Serrasalmidae, assim como seus híbridos, são listados unificadamente como “pacu”. Este grupo obteve um notável incremento em relação ao volume anual comercializado dentro do entreposto no quinquênio 2010-2014, onde foram negociados 145 e 439 toneladas respectivamente, representando um crescimento superior à 300% (Seção de Economia e Desenvolvimento – SEDES, 2015). Outro fato importante dentro deste contexto é a procedência dos exemplares dulcícolas negociados nos galpões do entreposto de pescado, onde destacam-se regiões diretamente ligadas à atividade aquícola, como: Almas (TO); Nossa Senhora do Livramento (MT); Itaporã (MS) e Presidente Epitácio (SP), fato que endossa o recente crescimento e importância da aquicultura na economia brasileira (SEDES, 2015).



## **1.2 Piscicultura e Peixes Híbridos**

Observando os dados da aquicultura mundial referente ao período entre os anos 1970 e 2008, é notável uma forte taxa de crescimento, atingindo uma média de 8,3% ao ano, marcando este setor como o mais crescente dentre os grupos animais destinados à alimentação (FAO, 2010). Em 2014, a aquicultura mundial foi responsável pela produção de 73,8 milhões de toneladas, com valor estimado em US\$ 160,2 bilhões (FAO, 2016). Por definição, a aquicultura é compreendida como o cultivo de organismos cujo ciclo de vida em condições naturais ocorre, ao menos parcialmente, em ambiente aquático (MPA, 2010). Esta prática pode ser utilizada tanto para a produção de organismos marinhos quanto continentais, permitindo a criação em cativeiro ou confinamento de variados grupos de interesse, como por exemplo: a carcinicultura, que diz respeito à criação de camarões em viveiros, ou a piscicultura, referente à produção de peixes (SEBRAE, 2007).

A piscicultura é responsável pela maior fração da aquicultura, havendo registros em 1998 de uma correspondência de 98% dos cultivos mundiais à modalidade, com produção de 17 milhões de toneladas de peixes continentais (FAO, 2000). Segundo o relatório publicado em 2016 pela mesma Organização, no ano de 2014, a piscicultura representou 67,5% do produto dos sistemas de cultivo mundiais, com produção de 49,8 milhões de toneladas. Recentemente no Brasil, em 2015, essa representatividade da piscicultura perante a aquicultura também foi alta, atingindo 69,9% e alcançando a marca de 483,2 mil toneladas produzidas (IBGE, 2015).

Perante esta realidade expansionista, surgem cada vez mais técnicas e metodologias com intuito de maximizar a produtividade das pisciculturas e consequentemente suprir a crescente demanda. Desde a década de 80 a genética contribui com projetos de cultivo de peixes, fomentando-os com metodologias como a

seleção, endogamia e hibridação (Foresti, 2000; Hulata, 2001; Porto-Foresti, 2004). Uma das práticas amplamente empregadas por piscicultores em seus cultivos é a hibridação interespecífica (Toledo-Filho et al., 1994, 1998; Gomes et al., 2010; Porto-Foresti et al., 2011). Esta aplicação consiste no cruzamento de indivíduos de espécies distintas, gerando um organismo com material genético misto, diferente de ambos parentais (Mayr, 1963).

A produção artificial de híbridos interespecíficos em pisciculturas objetiva o ganho de características zootécnicas desejáveis à produção, além de buscar desempenhos específicos melhores em relação às espécies parentais puras, denominado “vigor híbrido” (Bartley et al., 2001). O mesmo autor, em uma revisão sobre os resultados alcançados pela hibridação interespecífica artificial, cita características como o aumento da taxa de crescimento, resistência a doenças, maior tolerância a variações climáticas e melhor qualidade da carne, concluindo, do ponto de vista comercial, de forma favorável à produção de determinados híbridos. Ademais, há relatos de produtores evidenciando maior docilidade e facilidade da tomada de alimento nas fases iniciais de desenvolvimento para determinado grupo de bagres (Carvalho et al., 2008), além de melhorias em características como domínio do ambiente, capacidade de captura alimentar e aumento no brilho e intensidade da coloração para híbridos interespecíficos do gênero *Lepomis* (Gomes et al., 2010).

Segundo Porto-Foresti et al. (2008), os possíveis produtos híbridos com viabilidade de produção, a partir de espécies neotropicais brasileiras, estão listados na tabela 1. Apesar dos possíveis ganhos permitidos pela hibridação interespecífica artificial, graves problemas podem ser gerados pela má execução e manejo indevido nos projetos de cultivo (Toledo-Filho et al., 1994).

**Tabela 1-** Produtos híbridos interespecíficos entre espécies neotropicais com possibilidade de produção artificial em pisciculturas brasileiras.

Parental Fêmea	Parental Macho	Produto Híbrido
Tambaqui <i>Colossoma macropomum</i>	Pacu <i>Piaractus mesopotamicus</i>	“Tambacu”
Pacu <i>Piaractus mesopotamicus</i>	Tambaqui <i>Colossoma macropomum</i>	“Paqui”
Tambaqui <i>Colossoma macropomum</i>	Pirapitinga <i>Piaractus brachypomus</i>	“Tambatinga”
Pirapitinga <i>Piaractus brachypomus</i>	Tambaqui <i>Colossoma macropomum</i>	“Pirambaqui”
Pacu <i>Piaractus mesopotamicus</i>	Pirapitinga <i>Piaractus brachypomus</i>	“Patinga” ou “Papi”
Pirapitinga <i>Piaractus brachypomus</i>	Pacu <i>Piaractus mesopotamicus</i>	“Pirapicu”
Piaçu <i>Leporinus macrocephalus</i>	Piapara <i>Leporinus elongatus</i>	“Piaupara”
Piapara <i>Leporinus elongatus</i>	Piaçu <i>Leporinus macrocephalus</i>	“Piapaçu”
Pintado <i>Pseudoplatystoma corruscans</i>	Cachara <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i>	“Pintachara”
Cachara <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i>	Pintado <i>Pseudoplatystoma corruscans</i>	“Cachapinta”
Pintado <i>Pseudoplatystoma corruscans</i>	Jurupoca <i>Hemiosorubim platyrhynchus</i>	“Pintajuru”
Pintado <i>Pseudoplatystoma corruscans</i>	Pirarara <i>Phractocephalus hemiliopterus</i>	“Pintapira”
Cachara <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i>	Pirarara <i>Phractocephalus hemiliopterus</i>	“Cachapira”
Pintado <i>Pseudoplatystoma corruscans</i>	Jandiá <i>Leiarius marmoratus</i>	“Pintadiá”
Jandiá <i>Leiarius marmoratus</i>	Pintado <i>Pseudoplatystoma corruscans</i>	“Janditado”
Matrinxã <i>Brycon amazonicus</i>	Piracanjuba <i>Brycon orbignyanus</i>	“Matrinjuba”
Piracanjuba <i>Brycon orbignyanus</i>	Matrinxã <i>Brycon amazonicus</i>	“Piracaxã”

De forma geral, os problemas envolvendo híbridos em estoques cultivados são causados pela grande semelhança desses indivíduos com seus parentais puros, principalmente nas fases iniciais de desenvolvimento (Allendorf et al., 2001), ocasionando misturas e por consequência gerando plantéis reprodutores heterogêneos,

comprometendo a integridade e desempenho do cultivo pela contaminação e introgressão genética, que por sua vez, pode ser responsável pela perda de características desejáveis à produção, além de poder contribuir para o aumento da taxa de mortalidade das linhagens produzidas (Mia et al., 2005; Hashimoto et al., 2013).

A ocorrência de indivíduos híbridos em estoques reprodutores de sistemas de cultivo já foi evidenciada e documentada para diversos grupos, em variadas localidades: entre espécies de carpa na China (Mia et al., 2005), além de peixes redondos e bagres no Brasil (Hashimoto et al., 2011, 2013, 2014, 2016; Porto-Foresti et al., 2013). Além dos riscos relacionados às questões de produtividade, não menos importante mostram-se os impactos causados pela introdução desses organismos híbridos em estoques selvagens. O transbordamento e esvaziamento dos tanques de produção durante o manejo, além dos usuais “pesque-pague” são os principais meios de introdução de espécies exóticas pelos sistemas de cultivo (Orsi e Agostinho, 1999; Hashimoto et al., 2011, 2012; Prado et al., 2012). A complexidade para prever a forma como a introdução desses organismos híbridos impactará o ambiente selvagem é enorme (Ferguson e Thorpe, 1991). Em uma abordagem genético-ecológica, é essencial a determinação do grau de fertilidade apresentada pelos organismos em questão, pois os efeitos danosos decorrentes à contaminação genética aumentam de forma proporcional à fertilidade dos indivíduos envolvidos, tendo em vista que espécimes férteis poderão reproduzir com seus respectivos parentais e intensificar eventos como a introgressão e extinção genética (Toledo-Filho et al., 1994; Prado et al., 2012, 2016; Vaini et al., 2014).

Ademais, a atual forma de produção e venda de híbridos por pisciculturas, sem um efetivo monitoramento, chama atenção para os possíveis prejuízos decorrentes, caracterizando muitas vezes a venda trocada ou fraudulenta, lesando desde pequenos

consumidores até grandes piscicultores que estarão adquirindo matrizes não certificadas (Gomes et al., 2010; Porto-Foresti et al., 2013; Hashimoto et al., 2016).

### 1.3 Considerações sobre as Espécies Parentais e seus Híbridos

O táxon Serrasalminae é uma subfamília de peixes que compreende cerca de 80 espécies em 15 gêneros (Jégu, 2003). Esse grupo de peixes neotropicais atualmente é classificado a nível de família, denominada Serrasalmidae (Mirande, 2010), sendo popularmente conhecidos como Peixes Redondos (Suplicy, 2007). A abrangência desta família inclui indivíduos de grande interesse comercial como: pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887), pirapitinga (*Piaractus brachypomus* Cuvier, 1818) e tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818), que economicamente, representam à maior porção de peixes nativos produzidos pela aquicultura continental brasileira, sendo considerados alimentos de alta qualidade e relacionados ao incremento no consumo de pescado no Brasil (IBAMA, 2007; Suplicy, 2007). Se somados os valores referentes à produção das três espécies citadas acima com seus híbridos, no ano de 2011, a correspondência em relação à produção total da aquicultura continental brasileira foi de 37,97%, com 206.776 toneladas produzidas (MPA, 2011). Já em 2015, a correlação do referido grupo em comparação à produção aquícola continental brasileira também foi alta, com equivalência de 39,2% do produto nacional (IBGE, 2015).

Se analisados separadamente, *C. macropomum* é a espécie nativa brasileira mais produzida, com 115.318 toneladas comercializadas em 2011 (MPA, 2011) e recentemente totalizou a quantia de 135.860 toneladas em 2015 (IBGE, 2015). A hibridação interespecífica é uma prática muito comum em pisciculturas brasileiras (Porto-Foresti et al., 2010; Gomes et al., 2010), mas de forma especial em cultivos voltados à produção de peixes redondos. No ano de 2011, o híbrido interespecífico

tambacu, originado a partir do cruzamento da fêmea de *C. macropomum* com macho *P. mesopotamicus*, foi responsável por 9,1% de toda produção aquícola continental brasileira, com 49.818 toneladas. Este dado torna-se ainda mais relevante quando comparado à produção de espécies nativas brasileiras, como *P. mesopotamicus* e *P. brachypomus*, com respectivas 21.689 e 9.858 toneladas produzidas no ano (MPA, 2011). O tambacu se popularizou no Brasil devido a união da robustez do tambaqui com a resistência às baixas temperaturas do pacu, além de possuir taxa de crescimento superior em relação a seus parentais, o que facilitou a difusão deste cultivo por grande parte do país (Calcagnotto et al., 1999; Porto-Foresti et al., 2008; Hashimoto et al., 2012). Em relação à viabilidade reprodutiva do híbrido, já foi identificada fertilidade para os indivíduos machos, que podem retrocruzar com seu parental pacu (Hashimoto et al., 2012).

Outro híbrido que figura em destaque no cenário aquícola brasileiro é o tambatinga. Obtido através do cruzamento da fêmea *C. macropomum* com *P. brachypomus*, já constava na estatística pesqueira com produção superior ao parental pirapitinga desde o ano de 2007 (IBAMA, 2007) e mais recentemente, em 2011, atingiu a marca das 14.326,4 toneladas produzidas (MPA, 2011). As características de cultivo deste híbrido indicam melhores taxas de crescimento e produtividade que seus parentais, com suas exemplares fêmeas apresentando fertilidade (Martino et al., 2002; Porto-Foresti et al., 2010; Hashimoto et al., 2012).

Por fim, um híbrido interespecífico entre serrasalmídeos que também merece evidência é o patinga. Este híbrido, resultante do cruzamento entre a fêmea *P. mesopotamicus* e o macho *P. brachypomus*, apesar de não constar nos registros estatísticos de pescado brasileiro, está cada vez mais ganhando espaço e se popularizando entre os produtores (Hashimoto et al., 2012). Segundo informações de

piscicultores, o híbrido possui carne de alta qualidade e crescimento mais acelerado que seus parentais e outros híbridos (Hashimoto et al., 2011, 2012). Indo além, dados genético-moleculares corroboram à fertilidade das fêmeas deste híbrido, com ocorrência de gerações híbridas pós-F1, indicando a necessidade de maiores esforços para o estudo da viabilidade de produção e possíveis medidas de segurança durante a criação e manejo (Hashimoto et al., 2012).

#### **1.4 Identificação Molecular de Híbridos em peixes**

A identificação precisa das espécies parentais e seus respectivos híbridos é um estágio essencial para o desenvolvimento de projetos de cultivo envolvendo organismos resultantes de cruzamentos interespecíficos (Porto-Foresti et al., 2010, 2013). A realização desta etapa fornece informações necessárias para execução adequada do manejo destes animais, evitando a contaminação dos estoques cultivados, reduzindo a ocorrência de escapes e possíveis danos genético-ecológicos (Toledo-Filho et al., 1994). Assim, o monitoramento genético dos organismos resultantes dos processos de hibridação consiste no emprego de metodologias capazes de gerar características diagnósticas para a identificação eficaz de exemplares híbridos e parentais (Toledo-Filho et al., 1994; Porto-Foresti et al., 2010).

De forma sucinta, as metodologias propostas para diagnosticar eventos de hibridação em peixes utilizam parâmetros morfológicos e genéticos (Prado et al., 2011). Contudo, o fato de muitos híbridos F1, e principalmente os pós-F1, apresentarem um mosaico de fenótipos parentais, torna a aplicação de dados exclusivamente merísticos duvidosa (Toledo-Filho et al., 1994). O avanço e crescimento das técnicas genéticas aplicáveis para estudos envolvendo hibridação possibilitam a identificação segura tanto das espécies parentais quanto das linhagens híbridas, permitindo a documentação de

casos de hibridação e introgressão genética em ambientes naturais (Hashimoto et al., 2012; Prado et al., 2012). Dentre a gama de metodologias genéticas disponíveis estão os métodos citogenéticos (baseados na morfologia e estrutura cromossômica), genético-bioquímicos (que utiliza alozimas e isozimas) e genético-moleculares (análise de regiões específicas do DNA nuclear e mitocondrial) (Porto-Foresti et al., 2008).

Desde o final da década de 1960, os marcadores moleculares vêm contribuindo amplamente com estudos voltados à detecção da diversidade biológica (Gomes et al., 2010). Segundo Liu e Cordes (2004), a variedade de marcadores moleculares aplicáveis à aquicultura inclui as isoenzimas, AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*), RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), microssatélites, SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) e EST (*Expressed Sequence Tag*). De forma geral, esses marcadores fornecem informação para análises de variabilidade genética e endogamia; identificação de espécies ou linhagens; estudos populacionais e construção de mapas de ligação (Liu e Cordes, 2004).

A metodologia de PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction- Restriction Fragment Length Polymorphism*), que consiste na análise dos produtos de diferente peso molecular através da aplicação de enzimas de restrição sobre os amplificadores gênicos de estudo, é considerada de alto valor informativo e sensibilidade, sendo fortemente recomendada para a identificação espécie-específica (Chieng-Hung et al., 2012). Sua eficácia já foi comprovada em diversos estudos de identificação de linhagens parentais e híbridas em peixes (Hashimoto et al., 2011, 2013; Porto-Foresti et al., 2013; Prado et al., 2011, 2012), além de demonstrar alta especificidade, sendo capaz de diagnosticar a presença de carne bovina junto a carne bubalina em adulterações fraudulentas comerciais, nas quais a concentração da primeira chegava a 1% (Teixeira et al., 2015).



Outra metodologia, também considerada eficaz na diferenciação interespecífica, é a PCR-Multiplex (*Polymerase Chain Reaction-Multiplex*), que através da utilização de “*primers*” espécie-específicos para um locus singular, permite a realização simultânea de mais de uma reação de PCR, caracterizando a praticidade para execução, eficiência e relativa economia na identificação e diferenciação de híbridos (Hashimoto et al., 2011; Prado et al., 2011; Porto-Foresti et al., 2012, 2013; Lobo et al., 2014).

Os SNPs, polimorfismos baseados na substituição pontual de um nucleotídeo, possuem ocorrência abundante e fornecem uma ampla cobertura do genoma, explicando o grande número de marcadores possivelmente obtidos com a técnica (Vignal et al., 2002), demonstrando grande eficiência na diferenciação interespecífica e populacional (Willians et al., 2010).

Para a aplicação satisfatória das metodologias citadas é de grande valia a utilização de genes nucleares e mitocondriais em conjunto, pois são considerados essenciais na detecção de eventos de hibridação, em especial, na identificação de híbridos recíprocos (Toledo-Filho et al., 1994). O DNA mitocondrial por ser herdado de forma uniparental, maternal, permite um melhor entendimento do evento da hibridação, respondendo de forma conjunta ao DNA nuclear sobre a origem do referido processo (Porto-Foresti et al., 2010, 2012, 2013).

*CONSIDERAÇÕES*  
*FINAIS*

## **5 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Nos últimos anos houve um aumento significativo no número de estudos abordando o fenômeno da hibridação interespecífica em peixes, com diferentes enfoques na área produtiva, comercial e ecológica. O presente trabalho acaba corroborando a eficiência do uso de marcadores moleculares para o diagnóstico de linhagens híbridas e o marcante cenário de descontrole ao longo da cadeia produtiva de peixes, em especial, de Serrasalmídeos, que também foram constatados em estudos prévios.

Tendo ciência da importância econômica da aquicultura, de toda a problemática e das consequências que podem ser geradas pela prática irresponsável da hibridação, é necessário que sejam realizadas adaptações na atual legislação referente à produção e comércio destes indivíduos, de modo a zelar pela sustentabilidade da modalidade produtiva.

O uso de marcadores genéticos associados a um código de identificação de mercadorias poderá ser eficaz no monitoramento e fiscalização da cadeia produtiva do pescado, desde sua fase inicial, até a etapa de abastecimento dos intermediários. Assim, o emprego em conjunto dessas metodologias trará maior confiabilidade e segurança alimentar ao consumidor final, que poderá adquirir produtos certificados, além de agregar sustentabilidade à modalidade produtiva.

*REFERÊNCIAS  
BIBLIOGRÁFICAS*

**6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Allendorf F, Leary R, Spruell P e Wenburg J (2001). The problems with hybrids: setting conservation guidelines. *Trends in Ecology and Evolution*, 16: 613-622.
- Bartley DM, Rana K e Immink AJ (2001). The use of inter-specific hybrids in aquaculture and fisheries. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 10:325-337.
- Calcagnotto D, Almeida-Toledo LF, Bernardino G e Toledo-Filho SA (1999). Biochemical genetic characterization of F1 reciprocal hybrids between neotropical pacu (*Piaractus mesopotamicus*) and tambaqui (*Colossoma macropomum*) reared in Brazil. *Aquaculture*, 174:51-57.
- Carvalho DC, Neto DAP, Brasil BSAF e Oliveira DAA (2011). DNA barcoding unveils a high rate of mislabeling in a commercial freshwater catfish from Brazil. *Mitochondrial DNA*, 22(S1): 97-105.
- Carvalho DC, Seerig A, Melo DC, Sousa AB, Pimenta D e Oliveira DAA (2008). Identificação molecular de peixes: o caso do Surubim (*Pseudoplatystoma* spp.). *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 32: 215-219.
- CEAGESP (2016) Disponível em: < <http://www.ceagesp.gov.br/entrepostos/pescado/>>. Acesso em: Jan. 2016.
- Chien-Hung C, Cheng-Hong H e Deng-Fwu H (2012). Species identification of *Cyprinidae* fish in Taiwan by fins and PCR-RFLP. *Food Control*, 28(2): 240-245.
- De-Franco B, Mendonça FF, Oliveira FC e Foresti F (2012). Illegal trade of the guitarfish *Rhinobatos horkelii* on the coasts of central and Southern Brazil: genetic identification to aid conservation. *Aquatic conserv: Freshw. Ecosyst.* 22:272-276.
- De-Franco B, Mendonça FF, Hashimoto DT, Porto-Foresti F, Oliveira C e Foresti F (2010). Forensic identification of the guitarfish species *Rhinobatos horkelii*, *R. percellens* and *Zapteryx brevirostris* using multiplex-PCR. *Mol. Ecol. Res.*, 10: 197-199.
- Docker MF, Dale A e Heath DD (2003). Erosion of interspecific reproductive barriers resulting from hatchery supplementation of rainbow trout sympatric with cutthroat trout. *Molecular Ecology* 12: 3515-3521.
- FAO (2016) The State of World Fisheries and Aquaculture - 2016 (SOFIA). *Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO Fisheries and Aquaculture Department*, Rome.

- FAO (2010) The State of World Fisheries and Aquaculture - 2010 (SOFIA). *Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO Fisheries and Aquaculture Department*, Rome.
- FAO (2000) The State of World Fisheries and Aquaculture - 2000 (SOFIA). *Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO Fisheries and Aquaculture Department*, Rome.
- Ferguson A e Thorpe JE (1991) Biochemical Genetics and Taxonomy of Fish. FSBI Symposium. *Journal of Fish Biology*, 39: 1-357.
- Foresti F (2000) Biotechnology and fish culture. *Hydrobiologia*, 420:45–47
- Gomes LC, Simões LN e Araujo-Lima CARM (2010). Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: Baldisserotto, B., Gomes, L.C. (Eds.), *Espécies Nativas Para a Piscicultura no Brasil*. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, pp. 589–606.
- Hashimoto DT, Prado FD, Porto-Foresti F e Foresti F (2016). Molecular identification of intergenus crosses involving catfish hybrids: risks for aquaculture production. *Neotropical Ichthyology*, 14(2): e150139.
- Hashimoto DT, Senhorini JA, Foresti F, Martinez P e Porto-Foresti F (2014) Genetic Identification of F1 and Post-F1 Serrasalmid Juvenile Hybrids in Brazilian Aquaculture. *Plos One* 9:3:e89902.
- Hashimoto DT, Prado FD, Senhorini JA, Foresti F e Porto-Foresti F (2013). Detection of post-F1 fish hybrids in broodstock using molecular markers: approaches for genetic management in aquaculture. *Aquaculture Research*, 44:876–884.
- Hashimoto DT, Senhorini JA, Foresti F e Porto-Foresti F (2012). Interspecific fish hybrids in Brazil: management of genetic resources for sustainable use. *Reviews in Aquaculture* 4:1-11.
- Hashimoto DT, Mendonça FF, Senhorini JA, Oliveira C, Foresti F e Porto-Foresti F (2011). Molecular diagnostic methods for identifying Serrasalmid fish (Pacu, Pirapitinga and Tambaqui) and their hybrids in the Brazilian aquaculture industry. *Aquaculture* 321:49–53.
- Hashimoto DT (2011). Aplicação de marcadores moleculares no monitoramento genético de programas de hibridação interespecífica em pisciculturas brasileiras. Tese de Doutorado. Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, SP.

- Hashimoto DT, Mendonça FF, Senhorini JÁ, Bortolozzi J, Oliveira C, Foresti F e Porto-Foresti F (2010). Identification of hybrids between Neotropical fish *Leporinus macrocephalus* and *Leporinus elongatus* by PCR-RFLP and multiplex-PCR: tools for genetic monitoring in aquaculture. *Aquaculture* 298:346-349.
- Hulata G (2001). Genetic manipulations in aquaculture: a review of stock improvement by classical and modern technologies. *Genetica*, 111: 155-173.
- IBAMA (2007). Estatística da Pesca 2007: Brasil – Grandes regiões e unidades da Federação. 113.
- IBGE (2015). Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da Pecuária Municipal 2014, v 43. IBGE, Rio de Janeiro.
- Jégu M (2003). Subfamily *Serrasalminae* (Pacus and piranhas). In: Reis RE, Kullander SO e Ferraris CJ (eds.), Check list of the freshwater fishes of South and Central America. Edipucrs, Porto Alegre, 182-196.
- Liu S, Palti Y, Gao G e Rexroad CE III (2016). Development and validation of a SNP panel for parentage assignment in rainbow trout. *Aquaculture* 452:178–182.
- Liu ZJ e Cordes JF (2004). DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture*, 238:1-37.
- Lobo CMO, Porto-Foresti F, Prado FD, Furtado RTAL, Junior CAC e Mársico ET (2014). Molecular identification of *Pseudoplatystoma* sp. fish fillets by Multiplex PCR. *Vig Sanit Debate*, 2(3):64-70.
- Mair GC (2007). Genetics and breeding in seed supply for inland aquaculture. In: Bondad-Reantaso MG (ed.), Assessment of freshwater fish seed resources for sustainable aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper. No. 501. FAO, Rome, 519-548.
- Martino G (2002). Retrocruce de hembras híbridos (F1) (*Colossoma macropomum* · *Piaractus brachypomus*) con machos de las especies parentales. In: CIVA 2002 – *Comunicaciones y Foros de Discusión*, 688–693.
- Mayr E (1963). The breakdown of isolating mechanisms (hybridization). In: E. Mayr. *Animal species and evolution*, Belknap Press, Cambridge, MA, 110-135.
- Mendonça FF, Hashimoto DT, De-Franco B, Porto-Foresti F, Gadig OBF, Oliveira C e Foresti F (2010) Genetic identification of lamniform and carcharhiniform sharks using multiplex-PCR. *Conserv. Genet. Res.*, 2: 31-35.
- Mia MY, Taggart JB, Gilmour AE, Gheyas AA, Das TK, Kohinoor AHM, Rahman MA, Sattar MA, Hussain MG, Mazid MA, Penman DJ e McAndrew BJ (2005).

- Detection of hybridization between Chinese carp species (*Hypophthalmichthys molitrix* and *Aristichthys nobilis*) in hatchery broodstock in Bangladesh, using DNA microsatellite loci. *Aquaculture*, 247:267-273.
- Mirande JM (2010). Phylogeny of the family Characidae (Teleostei: Characiformes): from characters to taxonomy. *Neotrop. Ichthyol.*, 8(3): 385-568.
- MPA (2011). Produção pesqueira e aquícola – Estatística 2010 e 2011. Ministério da Pesca e Aquicultura, Brasília.
- MPA (2010). Produção pesqueira e aquícola – Estatística 2008 e 2009. Ministério da Pesca e Aquicultura, Brasília.
- Orsi ML e Agostinho AA (1999). Introdução de peixes por escapes acidentais de tanques de cultivo em rios da Bacia do rio Paraná, Brasil. *Rev. Bras. Zool.*, 16(2): 557-560.
- Porto-Foresti F, Hashimoto DT, Prado FD, Senhorini JA e Foresti F (2013). Genetic Markers for the Identification of Hybrids among Catfish Species of the Family Pimelodidae. *Journal of Applied Ichthyology*, 29: 643-647.
- Porto-Foresti F, Hashimoto DT, Prado FD, Senhorini JA e Foresti F (2012). Genetic markers for the identification among catfish species of the family Pimelodidae. *J. Appl. Ichthyol*, 1–5.
- Porto-Foresti F, Hashimoto DT, Prado FD, Senhorini JÁ, Foresti F (2011) A Híbridação interespecífica em peixes. *Panorama da Aquicultura*. 126:28-33.
- Porto-Foresti F, Hashimoto DT, Senhorini JA e Foresti F (2010) Híbridação em piscicultura: monitoramento e perspectivas. In: Baldisserotto B e Gomes LC (eds.), *Espécies nativas para a piscicultura no Brasil*. Santa Maria:Universidade Federal de Santa Maria, 589-606.
- Porto-Foresti F, Hashimoto DT, Alves AL, Castilho-Almeida RB, Senhorini JA, Bortolozzi J e Foresti F (2008). Cytogenetic markers as diagnoses in the identification of the hybrid of the species Piaçu (*Leporinus macrocephalus*) and Piapara (*Leporinus elongatus*). *Genetics and Molecular Biology*, 31: 195-202.
- Porto-Foresti F e Foresti F (2004). Genética e Biotecnologia em piscicultura: usos na produ o, manejo e conserva o dos estoques de peixes. In: Cyrino JEP, Urbinati EC, Fracalossi DM e Castagnolli N. *T picos especiais em piscicultura de agua doce tropical intensiva*. 1ed. São Paulo: Tec Art, 7:195-216.
- Prado FD, Cebri n RF, Hashimoto DT, Senhorini JA, Foresti F, Martínez P e Porto-Foresti F (2016). Hybridization and genetic introgression patterns between two



- South American catfish along their sympatric distribution range. *Hydrobiologia*, DOI 10.1007/s10750-016-3010-5.
- Prado F D, Hashimoto DT, Mendonça FF, Senhorini JA, Foresti F e Porto-Foresti F (2012). Detection of hybrids and genetic introgression in wild stocks of two catfish species (Siluriformes, Pimelodidae): The impact of hatcheries in Brazil. *Fisheries Research*, 125-126: 300-305.
- Prado FD, Hashimoto DT, Mendonça FF, Senhorini JA, Foresti F e Porto-Foresti F (2011). Molecular identification of hybrids between Neotropical catfish species *Pseudoplatystoma corruscans* and *Pseudoplatystoma reticulatum*. *Aquaculture Research*, 1-5.
- Prado FD (2010). Caracterização citogenética e molecular das espécies pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*), cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e seus híbridos utilizados na piscicultura brasileira. Dissertação de Mestrado. Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, SP.
- Pritchard JK, Stephens M e Donnelly P (2000). Interference of population Structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945-959.
- Roppa L (2009). Perspectivas da produção mundial de carnes, 2007 a 2015. Disponível em: <[http://pt.engormix.com/member\\_login.aspx?referer=yes](http://pt.engormix.com/member_login.aspx?referer=yes)>. Acesso em: dez. 2015.
- Seafoodbrasil (2015). Disponível em: <<http://seafoodbrasil.com.br/revista/seafood-brasil-15>>. Acesso em outubro de 2016.
- Sebrae – Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. *Criação de tilápias em tanques-redes*. 2007. Disponível em: <[http://www.biblioteca.sebrae.com.br/bds/bds.nsf/7227d4d9d30ab6cc832573a9006df4bc/\\$file/nt0003737a.pdf](http://www.biblioteca.sebrae.com.br/bds/bds.nsf/7227d4d9d30ab6cc832573a9006df4bc/$file/nt0003737a.pdf)>. Acesso em: out. 2011.
- SEDES (2015) Seção de Economia e Desenvolvimento. Disponível em: <<http://www.ceagesp.gov.br/entrepotos/servicos/produtos/sazonalidade-de-compras/>> Acesso em outubro de 2016.
- Sidonio L, Cavalcanti I, Capanema L, Morch R, Magalhães G, Lima J, Burns V, Alves Júnior AJ, Munglioli R (2012). Panorama da aquicultura no Brasil: desafios e oportunidades. *BNDES Setorial*, 35: 421-463.
- Suplicy FM (2007). Freshwater fish seed resources in Brazil. In: Bondad-Reantaso MG (ed.) Assessment of Freshwater Fish Seed Resources for Sustainable Aquaculture, 129–143.

- Teixeira LV, Teixeira CS e Oliveira DAA (2015). Identificação espécie-específica de carnes e produtos cárneos de origem bubalina e bovina pela técnica de PCR-RFLP. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 67(1) 309-314.
- Toledo-Filho SA, Almeida-Toledo LF, Foresti F, Calcagnotto D, Santos SBAF e Bernardino G (1998). Programas genéticos de seleção, hibridação e endocruzamento aplicados à piscicultura. *Cadernos de Ictiogenética* 4, CCS/USP, São Paulo.
- Toledo-Filho SA, Almeida-Toledo LF, Foresti F, Bernardino G e Calcagnotto D (1994). Monitoramento e conservação genética em projeto de hibridação entre pacu e tambaqui. *Cadernos de Ictiogenética* 2, CCS/USP, São Paulo.
- Vaini JO, Grisolia AB, Prado FD e Porto-Foresti F (2014). Genetic identification of interspecific hybrid of Neotropical catfish species (*Pseudoplatystoma corruscans* vs. *Pseudoplatystoma reticulatum*) in rivers of Mato Grosso do Sul State, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 12(3): 635-641.
- Vignal A, Milan D, SanCristobal M e Eggen A (2002). A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genet. Sel. Evol.*, 34: 275–305.
- Willians LM, Ma X, Boyko A, Bustamante CD e Oleksiak MF (2010). SNP identification, verification, and utility for population genetics in a non-model genus. *BMC Genet*, 11:32.
- Zaniboni Filho E (1997). O desenvolvimento da piscicultura brasileira sem a deterioração da qualidade de água. *Rev. Brasil. Biol.*, 57(1):3-9.
- Zhang HW, Yin SW, Zhang LJ, Hou XY e Wang YY (2015). Development and validation of single nucleotide polymorphism markers in *Odontobutis potamophila* from transcriptomic sequencing. *Genet. Mol. Res.*, 14(1):2080–2085.