UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

– BRUNO FRANCELINO DE MELO –

Genética de populações de *Prochilodus argenteus* e *P. costatus* do médio São Francisco

BOTUCATU

JULHO/2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (GENÉTICA)

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Genética de populações de *Prochilodus argenteus* e *P. costatus* do médio São Francisco

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Genética) do Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, como requisito para a obtenção do título de Mestre.

Aluno: **Bruno Francelino de Melo**

Orientador: **Prof. Dr. Claudio de Oliveira**

Botucatu

Julho / 2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ***ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE***

Melo, Bruno Francelino de.
Genética de populações de *Prochilodus argenteus* e *P. costatus* do médio São Francisco. - Botucatu, 2011

Dissertação (mestrado) – Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2011
Orientador: Claudio de Oliveira
Capes: 2020400

1. Genética de populações. 2. Biologia Molecular. 3. Peixes - Genética. 4. São Francisco, Rio.

Palavras-chave: Populações; Microssatélites; Migração; São Francisco.

unesp

PGenética

CAPES

Laboratório de Biologia e Genética de Peixes
UNESP - Botucatu - SP

Agradecimentos

Este trabalho foi realizado com a contribuição de incontáveis pessoas. Citarei alguns nomes, mas agradeço imensamente a todos que se envolveram e apoiaram para que o resultado final fosse atingido. Meus sinceros agradecimentos:

- Ao meu todo-poderoso Deus, pelas várias conversas que tivemos, pelos inúmeros pedidos atendidos e por sempre ter me abençoado e me protegido;
- Ao Prof. Dr. Claudio de Oliveira, meu orientador. Agradeço imensamente por ter aberto as portas do laboratório e pelos ensinamentos ao longo desses anos sobre genética, sobre peixes e sobre como se tornar um bom pesquisador. Meu muito obrigado;
- Ao amigo Dr. Yoshimi Sato, pela grandiosa colaboração na amostragem do trabalho, além dos ensinamentos sobre os peixes, sobre migrações e sobre o São Francisco. Agradeço também aos amigos da CODEVASF – Três Marias/MG, por todo o suporte na coleta das amostras;
- Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Genética) e ao Instituto de Biociências da UNESP – Botucatu, pela formação acadêmica;
- Ao Prof. Dr. Fausto Foresti, pelos ensinamentos e pelo exemplo de pesquisador e de ser humano;
- À Comissão Examinadora, pela disponibilidade e pelas críticas, sugestões e comentários que contribuirão para a finalização do trabalho;
- Ao amigo Dr. Daniel Cardoso de Carvalho, pelas amostras gentilmente cedidas;
- Ao Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Peixes Continentais do Instituto Chico Mendes (CEPTA / ICMBio) – Pirassununga/SP e aos amigos que lá trabalham, pela oportunidade de participar das expedições de coleta no rio São Francisco;

- Aos amigos e servidores da Seção de Pós-Graduação do IB, por todo o suporte burocrático e pelos inúmeros pedidos atendidos;
- Aos grandes e muitos amigos do Laboratório de Biologia e Genética de Peixes (da molecular, da citogenética e da morfologia de peixes) por terem me ensinado e me ajudado ao longo desse trabalho [meu muito obrigado!]. Certamente, muitos de vocês são responsáveis diretos pelo conhecimento que tenho hoje e têm fundamental importância na construção de minha carreira acadêmica;
- Ao amigo de laboratório Renato Devidé, pela disponibilidade na coleta das amostras em Minas Gerais;
- Aos colegas de pós-graduação, funcionários e amigos do Depto. Morfologia do IB, pela amizade e troca de experiências;
- À CAPES, pelo auxílio financeiro;
- À minha querida namorada Ana Paula, presente do primeiro ao último dia do mestrado, pelo amor e carinho, pela companhia, por ter tido paciência, por fazer meus dias mais felizes, e por ser tão especial pra mim. Muito obrigado, Ana;
- Aos muitos amigos de Fartura, pelas incontáveis risadas, pelos incontáveis jogos de voleibol e pelos grandes momentos de descontração que tive lá;
- Aos muitos amigos que fiz em Botucatu, pelas incontáveis risadas e pelos incontáveis churrascos. Muito obrigado pela força;
- E em especial, à minha família lá de Fartura-SP, meus pais Osvaldo e Maria Jaci, meus irmãos Ronaldo, Rosângela e Lucilene (e família: Ewerthon e meus queridos sobrinhos Bárbara e Bryan) e toda a imensa família Melo e família Petrini – a base da educação que tenho hoje. Muito obrigado pelo contínuo apoio e pela confiança depositada em mim, do início ao fim.

... Meu muito obrigado!

RESUMO

O Rio São Francisco forma uma das maiores bacias hidrográficas sulamericanas e vem sofrendo grandes impactos causados por ações antrópicas. A bacia conta com uma rica fauna de peixes, muitos de elevada importância para a pesca comercial e de subsistência. O estado de Minas Gerais apresenta uma importante indústria pesqueira e a região de Três Marias representa a zona mais produtiva na bacia do São Francisco. Nesta região, duas espécies de peixes são encontradas abundantemente: *Prochilodus argenteus* (curimatã-pacu), responsável por até 50% do pescado, sendo a espécie de maior porte da família Prochilodontidae com alguns indivíduos alcançando 15 kg, e *Prochilodus costatus* (curimatã-pioa) que possui um importante papel ecológico e para a pesca de subsistência. Estudos prévios sugerem a existência de diferentes populações de *P. argenteus* na região de Três Marias e de apenas uma população de *P. costatus* na mesma área. No entanto, os níveis de estruturação e os padrões de migração das espécies não foram testados utilizando indivíduos pertencentes aos tributários de todo o médio São Francisco. No presente estudo, duas hipóteses foram testadas: (i) os peixes que nascem nas lagoas marginais dos tributários vivem, preferencialmente nesses próprios tributários, não migrando para o leito do São Francisco; (ii) os peixes que nascem nas lagoas dos tributários migram preferencialmente para o leito do São Francisco no período de alimentação, retornando aleatoriamente ou não para os tributários durante o período de reprodução. Nove amostragens de *P. argenteus* com um total de 273 espécimes e cinco de *P. costatus* com 156 espécimes foram coletadas em todo o médio São Francisco em dois períodos, chuvoso e seco. Utilizamos seis loci microssatélites altamente polimórficos e os resultados indicaram altos níveis de variabilidade intrapopulacional em ambas as espécies. Adicionalmente, baixos índices

de diferenciação populacional detectados em *P. argenteus* (F_{ST} = 0,008, P < 0,008) e em *P. costatus* (F_{ST} = 0,031, P < 0,008), associados a altos valores de fluxo gênico sugerem a presença de apenas uma unidade panmítica em todo o médio São Francisco em ambas as espécies. Índices de R_{ST} par-a-par apontaram valores medianos de diferenciação populacional entre algumas localidades. Em ambas as espécies, a segunda hipótese sobre as rotas de migração foi aceita, na qual sugerimos que os peixes recrutados nas lagoas marginais dos tributários migram preferencialmente para o leito principal do São Francisco para alimentar-se e, na piracema, migram aleatoriamente para as cabeceiras dos tributários. Possíveis rotas de migração entre os peixes recrutados nas lagoas marginais dos tributários para a região de Três Marias na época reprodutiva foram detectadas. A presença de grupos residentes imediatamente à jusante da barragem de Três Marias foi confirmada, como sugerida por estudos anteriores. Considerando a importância ecológica e econômica de *P. argenteus* e *P. costatus*, e que as principais áreas de recrutamento destes peixes são as lagoas marginais dos tributários, nossos resultados podem contribuir para propostas de conservação desses berçários, assim como viabilizar o manejo adequado dos recursos pesqueiros do médio São Francisco.

Palavras-chave: Populações, Peixes, Microssatélites, Rotas migratórias, São Francisco.

ABSTRACT

The São Francisco is one of the largest South America river basin and has suffered large impacts caused by human actions. The basin has a rich fish fauna, many of great importance for commercial fishing and for subsistence. The Minas Gerais State has a strong fishery activity and the Três Marias region is the most productive fishing region in the São Francisco basin. In this region, two fish species are abundantly found: *Prochilodus argenteus* (curimatã-pacu), representing almost 50% of the total catch, being the largest member of the Prochilodontidae family sometimes reaching a body weight of 15 kg and *P. costatus* (curimatã-pioa) that has an important ecological role and for subsistence fishing. Previous studies suggest the existence of distinct populations of *P. argenteus* and only one population of *P. costatus* in the Três Marias region. However, the structuring levels and migration patterns were not tested using individuals from tributaries of the middle São Francisco. Here we tested two hypotheses: (i) fishes recruited on marginal lagoons from tributaries live preferably in these tributaries; (ii) fishes recruited on marginal lagoons from tributaries preferentially migrate downstream to the main stream of the São Francisco River in the feeding season, returning upstream randomly or not to the tributaries for reproduction. Nine populations of *P. argenteus* with 273 specimens and five populations of *P. costatus* with 156 specimens were collected throughout middle São Francisco in the rainy and dry seasons. We used six highly polymorphic microsatellite loci and the results indicated high levels of variability within populations for both species. Additionally, low values of population differentiation were detected in *P. argenteus* (F_{ST} = 0,008, P < 0,008) and *P. costatus* (F_{ST} = 0,031, P < 0,008) with high values of gene flow (*Nm*) suggest the presence of a single population for both species in the middle São Francisco. Pairwise

indexes of R_{ST} indicated median values of population differentiation among some locations. In both species, the second hypothesis about migration routes has been accepted, which suggest that fish recruited in marginal lagoons of the tributaries migrate preferentially to the main stream of the São Francisco for feeding and, then migrate randomly to headwaters of tributaries for spawning. Possible migration routes of specimens recruited in marginal lagoons of the tributaries to the Três Marias region were detected during the reproductive season. The presence of resident groups immediately downstream the Três Marias Dam was confirmed, as suggested by previous studies. Considering the ecological and economic importance of *P. argenteus* and *P. costatus* and that the main recruitment areas are the marginal lagoons from tributaries, our results may contribute to proposals for conservation of these nurseries, as well as enable the adequate management of fishery resources of the middle São Francisco.

Keywords: Populations, Fishes, Microsatellite loci, Migration routes, São Francisco basin.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS v

RESUMO vii

ABSTRACT ix

SUMÁRIO xi

1. INTRODUÇÃO 12

1.1. Bacia do Rio São Francisco 12

1.2. Gênero *Prochilodus* (Characiformes: Prochilodontidae) 16

1.2.1. *Prochilodus argenteus* Agassiz, 1829 18

1.2.2. *Prochilodus costatus* Valenciennes, 1850 20

1.3. Genética de Populações de *Prochilodus* (Characiformes, Prochilodontidae) 21

2. OBJETIVOS 28

3. MATERIAL E MÉTODOS 29

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Padrões genético-populacionais em *Prochilodus argenteus* e *P. costatus*, espécies migradoras da bacia do rio São Francisco, sudeste do Brasil 32

4.1. Introdução 33

4.2. Material e Métodos 35

4.2.1. Caracterização da área de estudo e amostragem 35

4.2.2. Protocolos moleculares 38

4.2.3. Análises estatísticas 39

4.3. Resultados 41

4.4. Discussão 51

4.5. Considerações finais 59

5. CONCLUSÕES 61

6. REFERÊNCIAS 62

1. INTRODUÇÃO

1.1. Bacia do rio São Francisco

A bacia hidrográfica do rio São Francisco abrange uma área de 645 mil km² (7,6% do território nacional), sendo a terceira maior do Brasil e a primeira em extensão contida inteiramente em território brasileiro, situando-se entre 13º-21ºS e 36º-48ºW (Kohler 2003). Os rios correm, primeiramente, em sentido geral sul-norte e depois leste-oeste, drenando os estados de Minas Gerais, Bahia, Pernambuco, Alagoas e Sergipe e o Distrito Federal, além de cortar três grandes biomas: Mata Atlântica, Cerrado e Caatinga (Godinho & Godinho 2003).

Possui um total de 36 tributários, sendo que, na margem direita, destacam-se os rios Pará, Paraopeba, das Velhas, Jequitaí e Verde Grande, e na margem esquerda, Abaeté, Paracatu, Urucuia, Carinhanha, Corrente e Grande, os quais garantem o fornecimento de 70% das suas águas em um trecho de 700 km (IBAMA 2007). Segundo Paiva (1982) e Sato & Godinho (1999), a bacia é dividida em quatro segmentos: (1) Alto: desde sua cabeceira, na Serra da Canastra, em São Roque de Minas (MG) até Pirapora (MG) (total de 630 km), com águas rápidas, frias e oxigenadas incluindo o grande Reservatório de Três Marias; (2) Médio: de Pirapora (MG) até Remanso (BA), com menor velocidade das águas e sujeito a grandes cheias (total de 1090 km); (3) Submédio: de Remanso (BA) até a cachoeira de Paulo Afonso (BA), estando praticamente barrado nesta região (total de 686 km); (4) Baixo: de Paulo Afonso (BA) até a foz no Oceano Atlântico (274 km), apresentando águas lentas e sob influência marinha.

Aproximadamente 70% da vazão que chega ao mar é proveniente dos rios de Minas Gerais (PLANVASF 1989). O estado abrange 36,8% de toda a bacia (CETEC 1983), onde vive cerca da metade de toda população do vale do São Francisco (CODEVASF 2003). A região de Três Marias, situada no meio-norte do estado, é conhecida por ser um dos principais centros de atividade pesqueira do São Francisco e um local onde muitas espécies de peixes migradores encontram condições favoráveis para maturação gonadal e desova como, por exemplo, à jusante do rio Abaeté (Sato et al. 2005). Os pescadores locais da região de Três Marias possuem os melhores equipamentos e dedicam-se mais intensamente à pesca do que os demais (Camargo & Petrere 2001; Godinho & Kynard 2008). A época chuvosa vai de novembro a fevereiro enquanto que a seca, de junho a agosto (Britski et al. 1988). Nessa região, situa-se a Usina Hidrelétrica (UHE) de Três Marias construída em 1961 com a proposta de regularizar o rio São Francisco, aumentar o volume d'água para navegação, controlar o fluxo e as inundações, privilegiar as irrigações e gerar energia hidrelétrica; situa-se também o reservatório de Três Marias, ocupando uma área de inundação de aproximadamente 100.000 ha (Britski et al. 1988; Sato et al. 2005).

Nos últimos anos, muitos impactos antrópicos vêm sendo causados na bacia do rio São Francisco, tais como a degradação do solo, o desmatamento ciliar, a poluição doméstica, a extração mineral, a destruição das várzeas e lagoas marginais para fins agrícolas (Fig. 1) e a construção de barragens para a geração de energia hidrelétrica (Sato et al. 1987; Menezes 1996). Dois eventos importantes de transposições de rios da bacia do rio São Francisco maximizam esses impactos nas comunidades adjacentes. O primeiro, durante a construção do reservatório de Furnas no início da década de 60, no alto Paraná, em que as águas do rio Piumhi foram desviadas para as cabeceiras do São Francisco, causando um grande impacto, principalmente na composição da atual

ictiofauna do São Francisco (Moreira-Filho & Buckup 2005). E mais recentemente, o antigo e polêmico projeto de transposição de parte das águas do baixo São Francisco teve seu início e prevê a construção de dois canais (Eixo Norte: que levará águas para os sertões de PE, CE, PB e RN; e Eixo Leste: que beneficiará parte do sertão e as regiões do agreste de PE e PB) que alcançariam 700 quilômetros de extensão (Ministério da Integração Nacional – www.integracao.gov.br), onde ambientes aquáticos distintos dos já existentes serão criados, impactando as comunidades de peixes existentes.

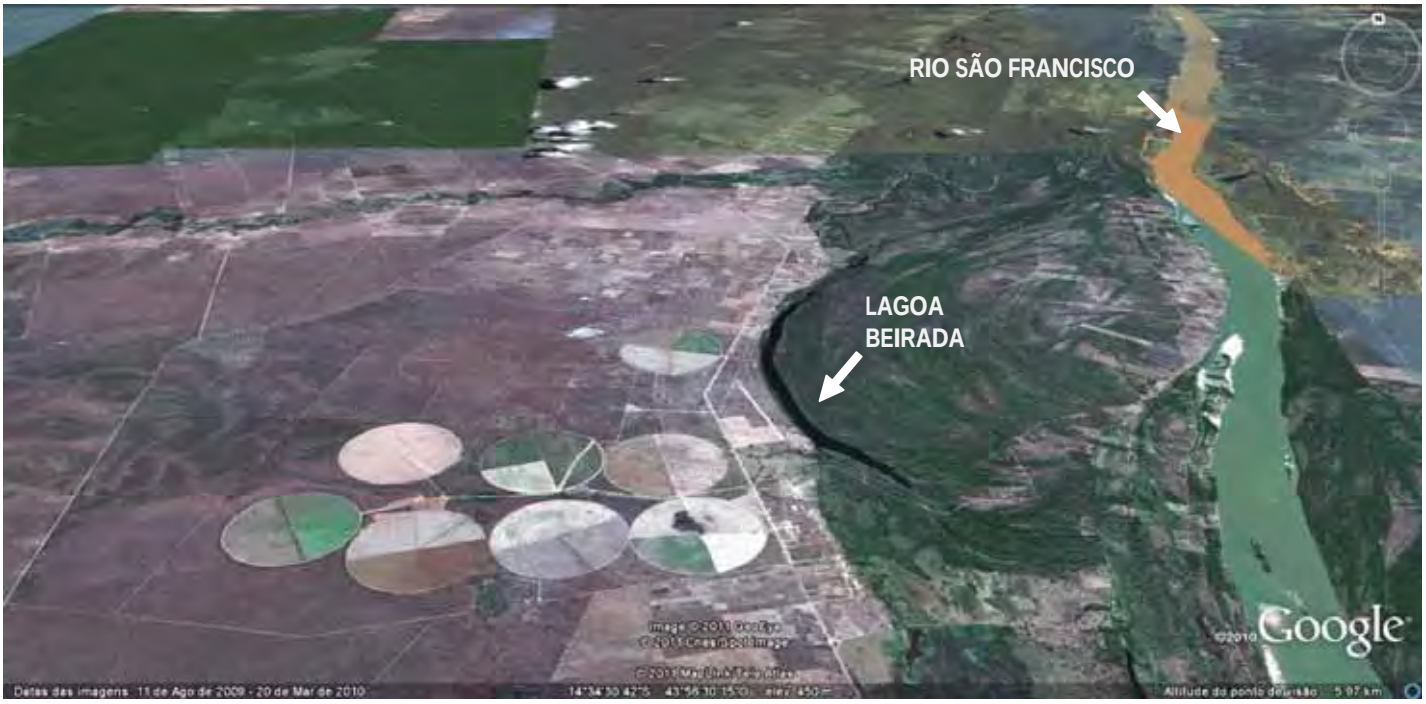

Fig. 1. O avanço das fronteiras agrícolas frente à uma lagoa marginal do leito principal do rio São Francisco, próxima à cidade de Manga, norte de Minas Gerais. Adaptado de Google Earth®.

É sabido que a construção de barragens e a formação de represas causam diversos impactos negativos para as comunidades de peixes, tais como a modificação da composição e estrutura da ictiofauna, o bloqueio das rotas migratórias rio acima conhecidas como piracema, a inibição da reprodução e a interferência na alimentação e nas áreas de recrutamento de juvenis (Welcomme 1979; Grizzle 1981; Hickman & Hevel 1986; Agostinho et al. 1993). Além disso, o controle de geração de energia determina o fluxo à jusante da barragem, inibindo a ocorrência das grandes cheias e

impedindo que muitas várzeas, antes alagáveis, deixem de receber água, comprometendo seu papel de berçários de jovens peixes migradores (Godinho & Godinho 2003). As barragens causam ainda um forte impacto negativo na pesca (Godinho & Godinho 1994), sendo que no São Francisco, um declínio acentuado tem sido verificado nos últimos 40 anos (Godinho & Godinho 2003). Na década de 70, a média era de 25 kg de peixe por dia para um pescador; nos anos 80 esse valor caiu para 11 kg (Sato & Godinho 2003). Costa et al. (1998) indicam que o trecho à jusante da represa de Três Marias e as porções baixas de seus afluentes devem ser consideradas como áreas prioritárias para a conservação de peixes, devido principalmente à presença de espécies endêmicas e ao fato de haver locais de reprodução de peixes de piracema. Rosa & Menezes (1996) listam diversas espécies de peixes ameaçadas na bacia do São Francisco: *Brycon orthotaenia, Compsura heterura, Hemigrammus brevis, Hysteronotus megalostomus, Myleus altipinnis, Trachelyopterus leopardinus, Duopalatinus emarginatus* e *Lophiosilurus alexandrii*. Subsequentemente, na lista de espécies ameaçadas de Minas Gerais, Lins et al. (1997) confirmam algumas espécies ameaçadas e apontam ainda diversas espécies de peixes comerciais e desportivas da mesma bacia, tais como *Brycon orthotaenia* (matrinchã), *Conorhynchos conirostris* (pirá), *Lophiosilurus alexandrii* (pacamã), *Pseudoplatystoma corruscans* (surubim), *Rhinelepis aspera* (cascudo-preto) e *Salminus franciscanus* (dourado).

Considerando as extensões das regiões marginais comprometidas por diversas ações antrópicas, a existência de diversas espécies de comportamento migratório e a importância da pesca comercial e de subsistência nas regiões ribeirinhas, a bacia do rio São Francisco torna-se um importante cenário para o desenvolvimento de estudos genéticos visando uma melhor compreensão de aspectos como migração e distribuição

dos grupos amostrais e sua aplicabilidade em ações conservacionistas e de manejo de espécies de peixes.

1.2. Gênero *Prochilodus* (Characiformes: Prochilodontidae)

A ordem Characiformes é uma das maiores e mais diversificadas, contendo cerca de 1.700 espécies (Nelson 2006), sendo exclusivamente de água doce e distribuída desde o sul da América do Norte (sul dos Estados Unidos e México), América Central, América do Sul (exceto o sul da Argentina e do Chile) e África, atingindo sua maior diversidade nas principais drenagens neotropicais (Buckup 1998). A ordem possui 14 famílias (Géry 1977; Reis et al. 2003), mas esse número varia para 15 (Ortí & Meyer 1997), 16 (Greenwood et al. 1996) ou 18 (Buckup 1998) devido a novas hipóteses de relacionamento, principalmente envolvendo Characidae, a maior família da ordem. Muitos Characiformes são de suma importância para a pesca (e.g. *Brycon*, *Hydrocynus*, *Piaractus*, *Salminus*) inclusive a família Prochilodontidae, que se destaca por sua abundância natural, ampla distribuição pela América do Sul e alta capacidade migratória.

Esta família é reconhecidamente monofilética (Vari 1983; Castro & Vari 2004) e composta por três gêneros: *Ichthyoelephas* Posada Arango, 1909 com duas espécies restritas à Colômbia e Equador*; Prochilodus* Agassiz, 1829 com 13 espécies distribuídas nas bacias do Lago Maracaibo, Orinoco, Amazonas, Paraná-Paraguai, São Francisco, e rios costeiros do Brasil e das Guianas; e *Semaprochilodus* Fowler, 1941 com seis espécies conhecidas das bacias do Orinoco, Amazonas, Marowijne (Suriname e Guiana Francesa) e Tocantins. São distinguidos morfologicamente das demais famílias (exceto quando em estágio larval) pela presença de lábios carnudos contendo

duas séries de numerosos dentes falciformes ou espatulados, relativamente pequenos, unidos aos lábios protáteis, ao invés dos ossos das maxilas (Castro & Vari 2003, 2004).

Peixes desta família podem ser encontrados em diversos habitats, desde lagoas marginais com fluxos para os rios principais, até rios moderadamente rápidos em regiões montanhosas, com ocorrência em águas escuras, claras e brancas (Castro & Vari 2003). Quanto a sua alimentação, são considerados iliófagos, os quais se alimentam de detritos e sedimentos (plantas, animais e detritos que aderem à vegetação, rochas e outras superfícies) que se acumulam na superfície subaquática. Adaptações anatômicas para esse tipo de alimentação são verificadas para esta família, tais como modificações nos maxilares, arcos branquiais e no sistema digestório (Bowen 1984; Bowen et al. 1984; Araújo-Lima et al. 1986). O acesso a esse recurso alimentar rico em energia e muito abundante em águas Neotropicais é a explicação mais provável para a notável abundância dos Prochilodontidae entre os peixes Neotropicais de água-doce (Castro & Vari 2003, 2004).

Devido a essa grande abundância, os Prochilodontidae são considerados um dos componentes mais importantes da pesca comercial e de subsistência em ambientes de água-doce na América do Sul, com exceção do Chile, onde essas espécies não são encontradas (Lowe-McConnel 1975; Goulding 1981; Vari 1983). Apenas duas espécies de *Semaprochilodus* representam mais de 90% da pesca comercial no baixo rio Negro, na bacia amazônica (Goulding et al. 1988), enquanto que na bacia do Paraná, *Prochilodus lineatus* alcança de 50 a 90% da biomassa total de peixes nas porções baixas do rio e nas regiões de inundação (Bonetto 1986; Flecker 1996). Segundo dados da Estatística de Pesca do IBAMA (2007), no ano de 2007 foram pescadas mais de 28 mil toneladas de curimatãs (*Prochilodus*) e mais de 17 mil de jaraquis

(*Semaprochilodus*) representando, juntos, cerca de 20% de toda a pesca extrativa continental no país.

Castro & Vari (2004) consideram dez espécies de *Prochilodus* ocorrendo no Brasil: *P. brevis, P. hartii* e *P. lacustris* nas bacias costeiras do nordeste; *P. britskii* da bacia do Tapajós, *P. nigricans* da bacia do Amazonas e do Tocantins e *P. rubrotaeniatus* dos afluentes do rio Negro, bacia amazônica; *P. vimboides* dos rios Jequitinhonha, Paraíba do Sul, costeiros e nas cabeceiras do alto Paraná e São Francisco; *P. lineatus* da bacia do rio da Prata e Paraíba do Sul. As outras duas espécies são endêmicas da bacia do São Francisco: *P. argenteus* e *P. costatus.*

1.2.1. *Prochilodus argenteus* Agassiz, 1829

Prochilodus argenteus Agassiz, 1829 (Fig. 2), previamente classificada como *P. margravii* Walbaum, 1792, é a espécie-tipo do gênero e popularmente conhecida como curimatã-pacu ou zulega. É endêmica do São Francisco e possui o maior porte da família Prochilodontidae, às vezes alcançando 15 kg (Sato et. al 1996a; Sato & Godinho 2003). É caracterizado por possuir corpo relativamente alto, comprimento padrão de aproximadamente 45 cm e pode ser distinguido por possuir 10 ou 11 fileiras horizontais de escamas entre a origem da nadadeira dorsal e a linha lateral versus 8 a 9 em *P. costatus*, espécie-irmã endêmica da mesma bacia (Britski et al. 1988; Castro & Vari 2004).

Fig. 2. *Prochilodus argenteus*, curimatã-pacu, rio São Francisco, Três Marias, MG, Brasil. Foto: Bruno F. Melo.

A espécie representa cerca de 50% da produção do pescado na região de Três Marias (Godinho & Godinho 2003) e, embora seja endêmica do São Francisco, existem espécimes introduzidos em vários rios do nordeste do Brasil pelo Departamento Nacional de Obras Contra as Secas – DNOCS (Castro & Vari 2004). Possui desova total, sendo que seu período reprodutivo estende-se de novembro a janeiro na estação chuvosa, coincidindo com a época de cheias, altas temperaturas e longos fotoperíodos (Sato et al 1996a; Caldeira et al. 2002). Nesta estação, grandes cardumes de *Prochilodus argenteus* são encontrados realizando migrações de piracema, rio acima. Sua capacidade altamente migratória foi primeiramente relatada por Pinheiro (1981) que recapturou espécimes a 1100 km rio acima após 168 dias da marcação e, em seguida por Paiva & Bastos (1982). Posteriormente, Godinho & Kynard (2006), utilizando o mesmo método (marcação e recaptura), observaram a existência de populações residentes e populações migradoras na porção média, e ainda a presença de pequenas (< 26 km) e grandes (> 53 km) migrações. Geneticamente, *P. argenteus* possui cariótipo com 2n=54 cromossomos como em outros Prochilodontidae (Pauls & Bertollo 1990) e sua estrutura populacional foi estudada através de marcadores RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) (Hatanaka & Galetti 2003) e microssatélites (Hatanaka et al. 2006).

1.2.2. *Prochilodus costatus* Valenciennes, 1850

Prochilodus costatus Valenciennes, 1850 (Fig. 3), primariamente classificado como *P. affinis* Reinhardt, 1874 e popularmente conhecido como curimatã-pioa, é filogeneticamente relacionado à *P. argenteus* (Castro & Vari 2004). Endêmico do São Francisco, a espécie tem importância comercial para a pesca profissional, alcançando 6 kg de peso corporal, sendo as fêmeas maiores que os machos (Sato et al. 1996a). É também considerado migrador de longa distância (Sato & Godinho 2003), alcançando até 232 km de distribuição linear (Alves 2007), principalmente na época reprodutiva.

Fig. 3. *Prochilodus costatus*, curimatã-pioa, rio São Francisco, Três Marias, MG, Brasil. Foto: Bruno F. Melo.

Na porção média da bacia, *P. costatus* possui um importante papel como recurso para a pesca artesanal sendo um dos mais capturados na região. (Camargo & Petrere 2001). Seu hábito detritívoro que envolve a transformação de sedimentos (Flecker 1996) contribui para um importante papel ecológico, tornando-se uma espécie-chave para programas de conservação (Carvalho-Costa et al. 2008). *Prochilodus costatus*, assim como *P. argenteus*, não tem encontrado condições apropriadas para reprodução na represa de Três Marias, dificultando a manutenção de suas populações (Pereira-Arantes et al. 2011). Possui cariótipo com 2n=54 cromossomos (Pauls & Bertollo 1990)

e apenas um estudo genético-populacional foi realizado com esta espécie utilizando marcadores moleculares microssatélites (Carvalho-Costa et al. 2008).

1.3. Genética de Populações de *Prochilodus* (Characiformes: Prochilodontidae)

Os primeiros trabalhos com genética de populações de peixes no Brasil foram realizados com espécies marinhas e, principalmente aquelas de interesse comercial (*Sardinella brasiliensis* e *Micropogonias furnieri*), e datam das décadas de 70 e 80, usando níveis de polimorfismos em proteínas, os quais mostraram poucas evidências de diferenciação genética entre as populações analisadas na costa sul e sudeste do Brasil (Ngan & Vazzoler 1976; Vazzoler & Ngan 1976; Suzuki et al. 1983a, 1983b; Vazzoler & Ngan 1989). Nas décadas de 90 e início de 2000, foi predominante o uso de loci codificadores de proteínas, de polimorfismo em isozimas e marcadores RAPD, tanto em peixes marinhos (Levy et al. 1998; Beheregaray & Levy 2000; Oyarzún et al. 2000; Freitas et al. 2003) como em peixes de água-doce (Renno et al. 1990; Revaldaves et al. 1997; Dergam et al. 1998; Sekine et al. 2002; Wasko & Galetti 2002; Almeida et al. 2003). Subsequentemente, os avanços em técnicas inovadoras em biologia molecular, principalmente o advento do sequenciamento de DNA (Sunnucks 2000), puderam contribuir para a obtenção de marcadores moleculares mais eficientes para a genética de populações como os variáveis loci microssatélites (Jarne & Lagoda 1996) e sequências de DNA mitocondrial (mtDNA) (Avise et al. 1979).

Microssatélites, ou *simple sequence repeats* (SSRs) são marcadores nucleares codominantes que possuem herança mendeliana, estão amplamente distribuídos ao longo do genoma pelos cromossomos e demonstram altos níveis de polimorfismos alélicos. Representam uma classe de sequências genômicas repetidas em tandem e são

tipicamente compostos de dois a seis nucleotídeos como $(AC)_n$ ou $(GATAAT)_n$ onde n corresponde entre 5 e 50 repetições (DeWoody & Avise 2000; Christiakov et al. 2006). As repetições dinucleotídicas são as mais frequentes (30–67%) e, em vertebrados, a repetição $(AC)_n$ é a mais encontrada (Toth et al. 2000). No genoma do baiacu japonês ou 'fugu' *Takifugu rubripes*, repetições dinucleotídicas têm a maior frequência (34%) em relação às demais (Edwards et al. 1998), sendo que 1,29% de seu genoma consiste de SSRs, enquanto que no baiacu de machas verdes (*Tetraodon nigroviridis*), os SSRs representam 3,21% de seu genoma (Crollius et al. 2000).

Regiões microssatélites têm sido extensivamente utilizadas em estudos com genética de peixes, principalmente no campo da pesca e aquicultura, onde são utilizados para a caracterização de estoques genéticos, seleção dos reprodutores, construção de densos mapas de ligação, mapeamento de características quantitativas importantes economicamente e na aplicação de marcadores em programas de melhoramento (Chistiakov et al. 2006). Diversos estudos sobre a estrutura genética populacional em peixes Neotropicais de água doce têm focado principalmente espécies pertencentes às ordens Characiformes e Siluriformes (Oliveira et al. 2009), utilizando diferentes tipos de marcadores moleculares altamente polimórficos, incluindo os microssatélites (Barroso et al. 2005; Hatanaka et al. 2006; Hrbek et al. 2007; Abreu et al. 2009; Calcagnotto & DeSalle 2009; Matsumoto & Hilsdorf 2009; Pereira et al. 2009; Hausdorf et al. 2011).

Populações de diferentes espécies de *Prochilodus* foram estudadas nas bacias sul-americanas por meio de marcadores moleculares nucleares e mitocondriais, tornando-se um importante modelo de estudos genéticos em peixes. No primeiro estudo buscando investigar a estrutura genética das populações, Revaldaves et al. (1997) utilizaram seis loci polimórficos de isozimas em três subpopulações de *P. lineatus* do

alto Paraná. Baixos índices de fixação e de distância genética e uma alta identidade genética evidenciaram uma única unidade reprodutiva panmítica com alto fluxo gênico nesta área de inundação estudada. Sivasundar et al. (2001) utilizaram sequências de mtDNA ATPase subunidades 6 e 8 em 21 espécimes, incluindo *P. lineatus* (bacia do rio Paraná), *P. nigricans* (bacia do rio Amazonas – Brasil e Peru), *P. mariae* (bacia do rio Orinoco – Venezuela), *P. magdalenae* (bacia do rio Magdalena – Colômbia) e *Semaprochilodus* como grupo externo, com o objetivo de analisar as relações filogenéticas entre estas espécies e correlacioná-las com sua distribuição biogeográfica. A fim de testar a hipótese filogeográfica de distribuição das espécies deste gênero, sequências da região controle D-loop do mtDNA foram analisadas para 26 espécimes de *P. lineatus* ao longo da bacia do rio Paraná e de seis outros espécimes de outras bacias. Os resultados mostraram que cada bacia hidrográfica contém um grupo monofilético de linhagens de mtDNA com *P. magdalenae* (rio Magdalena) sendo o grupo-irmão dos demais, ramificando subsequentemente no grupo do rio Orinoco, Amazonas e Paraná. Na análise filogeográfica, os resultados indicaram que haplótipos de mtDNA do Mogi-Guaçu têm estreita similaridade com haplótipos de indivíduos coletados no rio Bermejo, Argentina, a 2.600 km de distância e também apontaram diferentes haplótipos de D-loop com altos índices de fluxo gênico na bacia do rio Paraná, corroborando os resultados obtidos com isozimas.

Dois outros estudos foram realizados com genética de populações de *Prochilodus lineatus*. Garcez-Silva (2006) analisou amostras dos rios Grande, Mogi-Guaçu e Pardo, utilizando técnicas de PCR-RFLP para o fragmento entre os genes ND2 e COI e da região controle D-loop, ambos no mtDNA. O primeiro fragmento mostrou-se pouco polimórfico e para a região controle, não foi observada divergência genética entre as populações, havendo apenas uma população panmítica, exceto amostras do rio

Pardo, as quais evidenciaram níveis significantes de divergência. Os autores sugerem que as alterações ambientais causadas pelas barragens não geraram, em curto prazo, diferenças significativas entre as populações estudadas, assim como não parecem estar diminuindo a variabilidade genética da espécie. Outro estudo com genética de populações de *P. lineatus* foi realizado por Morelli (2008), utilizando marcadores microssatélites e sequências de D-loop para testar a hipótese nula de ausência de estruturação genética em populações migradoras e residentes no rio Mogi-Guaçu, alto rio Paraná, amostrados em diferentes anos consecutivos em períodos de chuva e de seca. Os resultados obtidos evidenciaram diferenciação genética baixa para microssatélites e moderada para a região controladora, entre as populações que migram e as que permanecem residindo no rio Mogi-Guaçu. Com isso, Morelli (2008) sugere um isolamento temporal entre as populações, associado à formação aleatória de cardumes migradores e à inserção de novos indivíduos juvenis, alterando assim as frequências alélicas das populações. Outros Prochilodontidae foram utilizados como modelo de estudos filogeográficos nos rios do norte da América do Sul. Turner et al. (2004) utilizaram sequências mitocondriais de ND4 e citocromo oxidase C subunidade I em *Prochilodus mariae*, *P. magdalenae, P. rubrotaeniatus* e *Semaprochilodus kneri* das bacias do Orinoco, Magdalena, Essequibo e Amazonas. As análises intra-específicas sugerem que um complexo conjunto de processos tem influenciado os padrões de variação genética nas linhagens dos Prochilodontidae.

Na bacia do rio São Francisco, alguns estudos com *Prochilodus argenteus* tiveram como objetivo detectar a estrutura das populações através de marcadores genéticos. No primeiro, Hatanaka & Galetti (2003) utilizaram marcadores RAPD em três subpopulações de *P. argenteus* – à jusante da UHE Três Marias, entre UHE e o rio Abaeté, e à jusante do rio Abaeté. Os resultados evidenciaram diferenças nos padrões de

bandas de segmentos amplificados ao acaso nas populações pertencentes às regiões estudadas, sendo sugerida pelos autores, a existência de diferentes unidades reprodutivas estruturadas, vivendo em ambientes distintos. No segundo, Hatanaka et al. (2006) utilizaram marcadores microssatélites em duas subpopulações (à jusante da UHE Três Marias e à jusante do rio Abaeté – cerca de 30 km de distância) coletadas em três anos não-consecutivos (1997, 2001 e 2003). Embora os resultados mostrem um baixo índice de diferenciação populacional estatisticamente significante, os autores destacam um elevado índice de heterozigosidade para um locus (0.647) e a existência de alelos privados, ambos na região à jusante do rio Abaeté. Com isso, os autores reforçam a ideia de que diferentes unidades reprodutivas de *P. argenteus* podem coexistir – modelo de populações estruturadas – mesmo apresentando um índice de diferenciação populacional significativamente baixo. Recentemente, dois outros estudos foram realizados com *P. argenteus*. Rojas (2008) utilizou marcadores dominantes AFLP (*Amplified Fragment Lenght Polymorphism*) para construir mapas de ligação e constatar a variabilidade genética em populações coletadas à montante da barragem de Três Marias. Seus resultados evidenciam uma alta homogeneidade dos indivíduos de F1 que foram repovoados à montante em relação aos indivíduos de estoques naturais à jusante, sugerindo que estudos genéticos se fazem necessários na definição de programas de repovoamento de peixes na região. Subsequentemente, Campos (2009) analisou a mesma população do estudo anterior utilizando 13 loci microssatélites. Baixos índices de homozigosidade e altos índices de heterozigotos em relação ao esperado e F_{IS} negativo dão indícios da ocorrência de um efeito gargalo (*bottleneck*) recente na população cultivada.

Além de *Prochilodus argenteus*, outros estudos foram realizados com *P. costatus*. Carvalho-Costa et al. (2008) utilizaram seis loci microssatélites em três

localidades da região de Três Marias: à jusante da UHE Três Marias, no rio Abaeté e à jusante do rio Abaeté. Baixos índices de F_{ST} e níveis de diversidade genética similares entre as subpopulações sugerem a existência de uma única unidade reprodutiva nesta área estudada, diferentemente do encontrado nos estudos com *P. argenteus* (Hatanaka et al. 2006). Num segundo estudo, Silva (2011) utilizou dez loci de microssatélites em três subpopulações do alto rio São Francisco, coletadas em épocas distintas. Seus resultados também mostram baixos índices de diferenciação populacional, sugerindo a existência de um único pool gênico na área estudada, corroborando os resultados de Carvalho-Costa et al. (2008) na região de Três Marias.

Como observado, estudos prévios apontam a existência de fraca ou mediana estruturação genética entre as populações de *Prochilodus argenteus* para a região de Três Marias. No entanto, essa hipótese ainda não foi testada com uma grande amostragem de várias localidades ao longo da bacia. O mesmo ocorre com a hipótese da existência de apenas uma população de *P. costatus*. Estudos utilizando uma extensa amostragem se fazem necessários para a detecção de possíveis populações isoladas sem fluxo gênico e a existência de rotas migratórias nas diferentes épocas do ano. Considerando que as espécies *P. argenteus* e *P. costatus* se reproduzem em lagoas marginais do rio São Francisco e de seus principais tributários (Camargo & Petrere 2001), não se tem conhecimento sobre a real migração dos peixes que ocorrem no trecho médio da bacia, onde a pesca comercial é realizada com maior frequência. Tendo em vista a eficiência já demonstrada na identificação de populações de peixes com marcadores moleculares, incluindo os microssatélites, o estudo da composição genética de exemplares coletados em lagoas marginais e no leito do rio São Francisco pode fornecer informações sobre os principais locais de reprodução dos peixes e suas rotas percorridas nos diferentes períodos. Essa identificação pode ser extremamente útil para

o desenvolvimento de projetos de conservação das áreas de recrutamento e de reprodução, bem como das espécies estudadas e para o manejo adequado dos recursos pesqueiros, extremamente relevante para a população ribeirinha e para a pesca comercial.

2. OBJETIVOS

Tendo em vista a eficiência na identificação de populações de *Prochilodus* utilizando polimorfismos alélicos de microssatélites, considerando as extensões das regiões marginais ameaçadas do médio São Francisco, e considerando a importância ecológica de *P. argenteus* e *P. costatus* para as comunidades aquáticas e a importância econômica para a sociedade, este estudo objetivou, prioritariamente, identificar as áreas de reprodução mais prováveis de *P. argenteus* e *P. costatus* na porção média do São Francisco. Duas hipóteses foram levantadas: (i) os peixes que nascem nas lagoas marginais dos tributários vivem preferencialmente nesses próprios tributários, não migrando para o leito do São Francisco, ou fazendo isso muito raramente. Assim o rio seria habitado por exemplares que nascem nas suas próprias lagoas marginais; (ii) os peixes que nascem nas lagoas marginais dos tributários migram preferencialmente para o leito do São Francisco durante seu período de alimentação, retornando aleatoriamente ou não para as cabeceiras dos tributários durante a reprodução. Outro ponto importante foi avaliar o padrão de estruturação dos grupos amostrais para uma melhor compreensão da diferenciação populacional que ocorre nesta bacia.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Tendo em vista que a barragem de Três Marias representa um obstáculo intransponível para os peixes, consideramos o médio São Francisco como sendo a região entre Três Marias (MG) e a desembocadura do rio Carinhanha, no qual a movimentação dos peixes é, aparentemente, livre. A amostragem foi realizada numa amplitude de cerca de 600 km, desde à jusante da UHE Três Marias (Três Marias-MG) até a fronteira dos estados de Minas Gerais e Bahia (Carinhanha-BA).

Neste estudo, consideramos a região de Três Marias compreendendo duas localidades. A primeira localidade está situada imediatamente abaixo da barragem, próxima ao perímetro urbano de Três Marias (MG) com duas coletas temporalmente distintas, uma na estação seca (TMDd – *T*rês *M*arias *D*am, *d*ry season) e outra na chuvosa (TMDr – *r*ainy season). A segunda localidade, cerca de 30 km abaixo da primeira, está situada à jusante do rio Abaeté, próxima a uma colônia de pescadores denominada Pontal. Neste importante local, as espécies de peixes migradores encontram condições apropriadas para a maturação e desova, diferentemente do local imediatamente abaixo da barragem (Sato et al. 2005). À jusante do Abaeté, as amostras foram coletadas em apenas um período sazonal, a estação chuvosa (ABAr). O mapa da Fig. 4 representa as duas localidades da região de Três Marias.

Fig. 4. Mapa da Região de Três Marias, estado de Minas Gerais. Triângulos amarelos correspondem aos pontos de coleta: imediatamente à jusante da UHE Três Marias (TMD) e cerca de 30 km abaixo, na confluência com o Rio Abaeté (ABA). Setas indicam o fluxo da água no rio. Adaptado de Google Earth®.

As oito lagoas marginais do rio São Francisco (que formam o grupo amostral SFR) estão localizadas no norte de MG, à jusante do rio Pandeiros, próximas às cidades de Januária (MG), Itacarambi (MG) e Manga (MG). Estas lagoas recebem ovos fecundados de peixes provenientes da piracema, quando os rios principais estão conectados, formando grandes áreas alagadas. Quando as chuvas cessam, essas lagoas permanecem isoladas do leito desde março a outubro. As coletas de SFR foram realizadas exatamente neste período, quando as lagoas estavam isoladas. Deste modo, e considerando que essas espécies possuem fecundação externa, podemos supor que os genitores certamente migraram para as cabeceiras na piracema e os ovos fecundados alcançaram as lagoas marginais então conectadas.

Os cinco grupos amostrais restantes, localizadas em cinco grandes afluentes, completam a amostragem. Lagoas marginais do rio das Velhas (VEL), Jequitaí (JEQ),

Urucuia (URU), Paracatu (PAR) e Carinhanha (CAR) recebem ovos fecundados de seus próprios tributários, nas porções altas, resultantes da migração de cardumes na piracema. Quando por acaso, esses ovos não encontram estas lagoas, seu destino pode ser as lagoas do próprio São Francisco. Alguns afluentes estão seriamente comprometidos pela ação antrópica, tais como o rio das Velhas, densamente povoado e passivo de influência doméstica e industrial da região metropolitana de Belo Horizonte (MG) e o rio Paracatu que, embora esteja situado numa área menos povoada, vem sofrendo crescente pressão antrópica com o desenvolvimento da agricultura de cerrado (Godinho & Godinho 2003), Com isso, muitas lagoas estão comprometidas e/ou apresentam diminuição na composição da fauna de peixes juvenis.

Amostras de tecido (fragmento de nadadeira caudal, peitoral ou pélvica ou tecido muscular) foram retiradas de animais recém capturados. Os que permaneceram vivos foram soltos em seu local de captura. Exemplares de cada espécie foram fixados em formol a 10% e conservado em etanol 70% na coleção de peixes do Laboratório de Biologia e Genética de Peixes (LBP) do Instituto de Biociências da UNESP, Botucatu, como testemunhos e para futuros estudos morfológicos. Os tecidos foram catalogados na ordem “espécie > população > indivíduo”, preservados em etanol 95% a -5ºC na coleção de tecidos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os estudos com genética de populações das duas espécies migradoras de *Prochilodus* da bacia do Rio São Francisco foram organizados na forma de um manuscrito. É apresentada uma parte introdutória com sua justificativa, objetivos, material e métodos utilizados, resultados obtidos e a discussão.

Padrões genético-populacionais em *Prochilodus argenteus* e *P. costatus*, espécies migradoras da bacia do rio São Francisco, sudeste do Brasil

Population genetic patterns in migratory fishes *Prochilodus argenteus* and *P. costatus* from the São Francisco Basin, southeastern Brazil

Resumo

Prochilodus argenteus e *P. costatus* são espécies migradoras de longa distância e de grande importância pesqueira na bacia do rio São Francisco devido à sua elevada abundância. São recrutados em lagoas marginais amplamente distribuídas principalmente na porção média da bacia e, quando jovens, realizam migrações para o leito para alimentação. Na época reprodutiva, realizam migrações rio acima para maturação e desova. No presente estudo, analisamos seis loci microssatélites em nove amostragens de *P. argenteus* e cinco amostragens de *P. costatus* do leito principal e de seus tributários para testar a hipótese nula da existência de uma única população na área estudada e da provável rota de migração entre os peixes destas espécies. Altos níveis de variabilidade intrapopulacional foram detectados para ambas as espécies. Entretanto, baixos índices de diferenciação populacional detectados em *P. argenteus* (F_{ST} = 0,008, P < 0,008) e em *P. costatus* (F_{ST} = 0,031, P < 0,008), associados a altos valores de fluxo gênico sugerem a presença de apenas uma unidade panmítica em todo o médio São Francisco em ambas as espécies. Índices de R_{ST} par-a-par apontaram valores medianos de diferenciação entre as populações coletadas na época seca e as populações coletadas na época chuvosa. Com base em índices de fixação, fluxo gênico, distância genética e análise bayesiana, podemos sugerir que os peixes recrutados nas lagoas marginais dos tributários migram preferencialmente para o leito principal do São Francisco para alimentar-se e, na piracema, migram aleatoriamente para as cabeceiras

dos tributários. Possíveis rotas de migração entre os peixes recrutados nas lagoas marginais dos tributários para a região de Três Marias na época reprodutiva foram detectadas. A presença de indivíduos residentes imediatamente à jusante da UHE Três Marias foi confirmada, como sugerida por estudos anteriores. Considerando a importância econômica de *P. argenteus* e *P. costatus*, e que as principais áreas de recrutamento destes peixes são as lagoas marginais dos tributários, nossos resultados podem contribuir para propostas de conservação desses berçários, assim como viabilizar o manejo adequado dos recursos pesqueiros do médio São Francisco.

4.1. Introdução

Os Prochilodontidae ocorrem abundantemente nas principais drenagens da América do Sul e são considerados um dos componentes mais importantes da pesca comercial e de subsistência em ambientes de água-doce Neotropical (Lowe-McConnel 1975; Goulding 1981, Vari 1983). *Prochilodus argenteus* Agassiz, 1829, espécie-tipo do gênero e popularmente conhecida como curimatã-pacu, é o maior representante da família Prochilodontidae, às vezes alcançando 15 kg de peso corporal (Sato et al. 1996a), sendo considerado um dos peixes mais importantes para a pesca comercial e esportiva da bacia do São Francisco (Camargo & Petrere 2001; Godinho et al. 2003) representando cerca de 50% da pesca total na região de Três Marias (Sato & Godinho 2003). *Prochilodus costatus* Valenciennes, 1850 pode alcançar mais de 6 kg (Sato & Godinho 2003), possui um importante papel como recurso para a pesca artesanal sendo um dos mais capturados (Camargo & Petrere 2001), embora não possua a mesma importância para a pesca no São Francisco como *P. argenteus* (Sato & Godinho 2003).

O São Francisco é a maior bacia hidrográfica em extensão contida inteiramente no território brasileiro, cobrindo uma área de 7,6% de seu território total, do sudeste ao nordeste, com domínios ecológicos variando de Mata Atlântica até Cerrado e Caatinga. Sua porção central é caracterizada pela presença de muitas várzeas e lagoas marginais, importantes berçários para o recrutamento de espécies de peixes migradores. Nos últimos anos, muitos impactos antrópicos têm sido causados na bacia do São Francisco, tais como a degradação do solo, desmatamento, poluição industrial e doméstica, extração mineral, destruição de várzeas e lagoas marginais para agricultura e a construção de grandes barragens para a geração de energia hidrelétrica (Sato et al. 1987; Menezes 1996). Além disso, importantes aspectos ecológicos em peixes no São Francisco, tais como os relacionados a locais de alimentação e de reprodução, estrutura e composição dos cardumes, comportamento de *homing* e distâncias percorridas entre habitats permanecem pouco conhecidos (Sato & Godinho 2003).

Estudos com genética de populações têm sido aplicados para se determinar a estrutura e dinâmica das populações de diversas espécies animais usando marcadores moleculares variáveis, tais como microssatélites e sequências de DNA mitocondrial (Zhang & Hewitt 2003). Microssatélites são marcadores nucleares codominantes com herança mendeliana, que estão abundantemente distribuídos pelo genoma e apresentam altos níveis de polimorfismos (DeWoody & Avise 2000). A estrutura populacional e a variabilidade genética populacional evidenciada por marcadores microssatélites são extensivamente aplicadas em estudos evolutivos de uma grande variedade de espécies de peixes (Chistiakov et al. 2006; Oliveira et al. 2009, para revisão), incluindo alguns Neotropicais de água-doce (Barroso et al. 2005; Hatanaka et al. 2006; Hrbek et al. 2007; Abreu et al. 2009; Calcagnotto & DeSalle 2009; Matsumoto & Hilsdorf 2009; Pereira et al. 2009; Hausdorf et al. 2011).

Estudos populacionais foram realizados com *Prochilodus argenteus* à jusante da UHE Três Marias usando marcadores RAPD (Hatanaka & Galetti 2003), microssatélites (Hatanaka et al. 2006) e também usando métodos de marcação e recaptura (Pinheiro, 1981; Paiva & Bastos 1982; Godinho & Kynard 2006). Igualmente, populações de *P. costatus* foram estudadas com marcação e recaptura (Alves 2007) e com microssatélites (Carvalho-Costa et al. 2008). Entretanto, não se tem conhecimento sobre as principais rotas de migração de *P. argenteus* e *P. costatus* no médio São Francisco. Considerando a eficácia na identificação de populações através de alelos microssatélites, considerando a existência de regiões marginais ameaçadas no médio São Francisco, e considerando a importância ecológica e econômica dessas espécies, o objetivo deste presente estudo foi identificar os padrões migratórios realizados por *P. argenteus* e *P. costatus* que são encontrados no médio São Francisco e obter dados mais robustos sobre a estrutura genético-populacional destas espécies.

4.2. Material e Métodos

4.2.1. Caracterização da área de estudo e amostragem

Os pontos de coleta de *Prochilodus argenteus* e *P. costatus* estão representados na Tabela 1. Nove amostragens de *P. argenteus* com um total de 273 indivíduos foram realizadas entre os meses de Julho/2008 e Julho/2010 ao longo de cerca de 600 km no médio São Francisco (Fig. 5). Destas, cinco foram coletadas em lagoas marginais dos tributários: rio das Velhas (VEL), rio Jequitaí (JEQ), rio Paracatu (PAR), rio Urucuia (URU) e rio Carinhanha (CAR); uma amostragem coletada em lagoas marginais do rio São Francisco (SFR); e três amostragens coletadas no leito principal do São Francisco: à jusante da UHE Três Marias na estação chuvosa (TMDr) e na estação de seca (TMDd) e

à jusante do rio Abaeté (ABAr). Cinco amostragens de *P. costatus* totalizando 156 espécimes foram realizadas no mesmo período: um grupo proveniente das lagoas do rio Paracatu (PAR), um das lagoas do próprio rio São Francisco, dois grupos coletados à jusante da UHE Três Marias (TMDd e TMDr) e um grupo coletado à jusante do rio Abaeté (ABAr) (Fig. 6).

Tabela 1. Amostragem de *Prochilodus argenteus* e *P. costatus* na bacia do rio São Francisco coletadas entre julho/2008 e julho/2010. Amostras de TMDr e ABAr da estação chuvosa (novembro a fevereiro) e amostras de TMDd coletadas na estação de seca (março a outubro). Traços representam localidades com amostragens insuficientes ou não-amostradas.

Localidade	**Pontos de coleta**	**Coordenadas geográficas**	**Amostragem**	***P.argenteus* (N)**	***P.costatus* (N)**
REGIÃO DE TRÊS MARIAS	Jusante UHE Três Marias (TMD)	18º12’32’’S / 45º15’41’’O	TMDd	33 (seca)	33 (seca)
			TMDr	22 (chuvosa)	26 (chuvosa)
	Jusante Rio Abaeté (ABA)	18º01’01’’S / 45º10’56’’O	ABAr	33 (chuvosa)	31 (chuvosa)
LAGOAS DO RIO SÃO FRANCISCO	Lagoa Lapinha	14º57’45’’S / 43º58’10’’O	SFR	33	33
	Lagoa Grande	15º30’27’’S / 44º17’04’’O			
	Lagoa Beirada	14º34’19’’S / 43º56’15’’O			
	Lagoa Lavagem	14º49’30’’S / 43º55’46’’O			
	Lagoa Maris	14º25’17’’S / 43º52’42’’O			
	Lagoa Ipueira	15º32’11’’S / 44º23’44’’O			
	Lagoa Cajueiro	15º05’29’’S / 44º01’07’’O			
	Lagoa Banguê	15º18’46’’S / 44º07’30’’O			
LAGOAS DO RIO DAS VELHAS	Lagoa Periperi	17º26’14’’S / 44º43’40’’O	VEL	28	-
	Lagoa Tiririca	17º13’33’’S / 44º48’27’’O			
	Lagoa Capivara	17º18’50’’S / 44º47’16’’O			
	Lagoa Maria Joana	17º19’30’’S / 44º45’57’’O			
	Lagoa do Saco	17º17’21’’S / 44º47’08’’O			
LAGOAS DO RIO JEQUITAÍ	Lagoa Cascalho	17º09’55’’S / 44º36’54’’O	JEQ	33	-
	Lagoa Lagoão	17º04’39’’S / 44º43’30’’O			
	Lagoa Tapera	17º05’46’’S / 44º42’40’’O			
LAGOAS DO RIO PARACATU	Lagoa Piranhas	16º38’54’’S / 45º09’39’’O	PAR	33	33
	Lagoa Faz. Sertaneja	17º04’07’’S / 45º34’42’’O			
	Lagoa Ferradura	17º02’03’’S / 46º02’03’’O			
	Lagoa Redonda	17º15’43’’S / 46°16’38’’O			
	Lagoa Neves	17º38’33’’S / 46º22’38’’O			
	Lagoa Água Limpa	16º37’24’’S / 45º10’20’’O			
	Lagoa Názara	17º15’43’’S / 46º26’38’’O			
LAGOAS DO RIO URUCUIA	Lagoa Cinquenta	16º09’18’’S / 45º43’01’’O	URU	33	-
	Lagoa Sucupira	15º37’01’’S / 46º10’33’’O			
	Lagoa Encantada	16º01’34’’S / 45º58’15’’O			
	Lagoa Silvério	15º59’06’’S / 46º00’07’’O			
	Lagoa Taboada	15º33’22’’S / 46º15’30’’O			
	Lagoa Capão Grosso	15º51’47’’S / 46º07’36’’O			
	Lagoa Piranhas	15º48’32’’S / 46°05’14’’O			
LAGOAS DO RIO CARINHANHA	Lagoa Água B ranca	14º19’08’’S / 43º51’18’’O	CAR	25	-
	Lagoa Peixe Gordo	14º20’09’’S / 43º47’48’’O			
	Lagoa Pau Branco	14º19’28’’S / 43º48’28’’O			
	Lagoa Morrinhos	14º19’39’’S / 43º48’55’’O			
	Lagoa Rio Velho	14º19’22’’S / 43º49’35’’O			
TOTAL				273	156

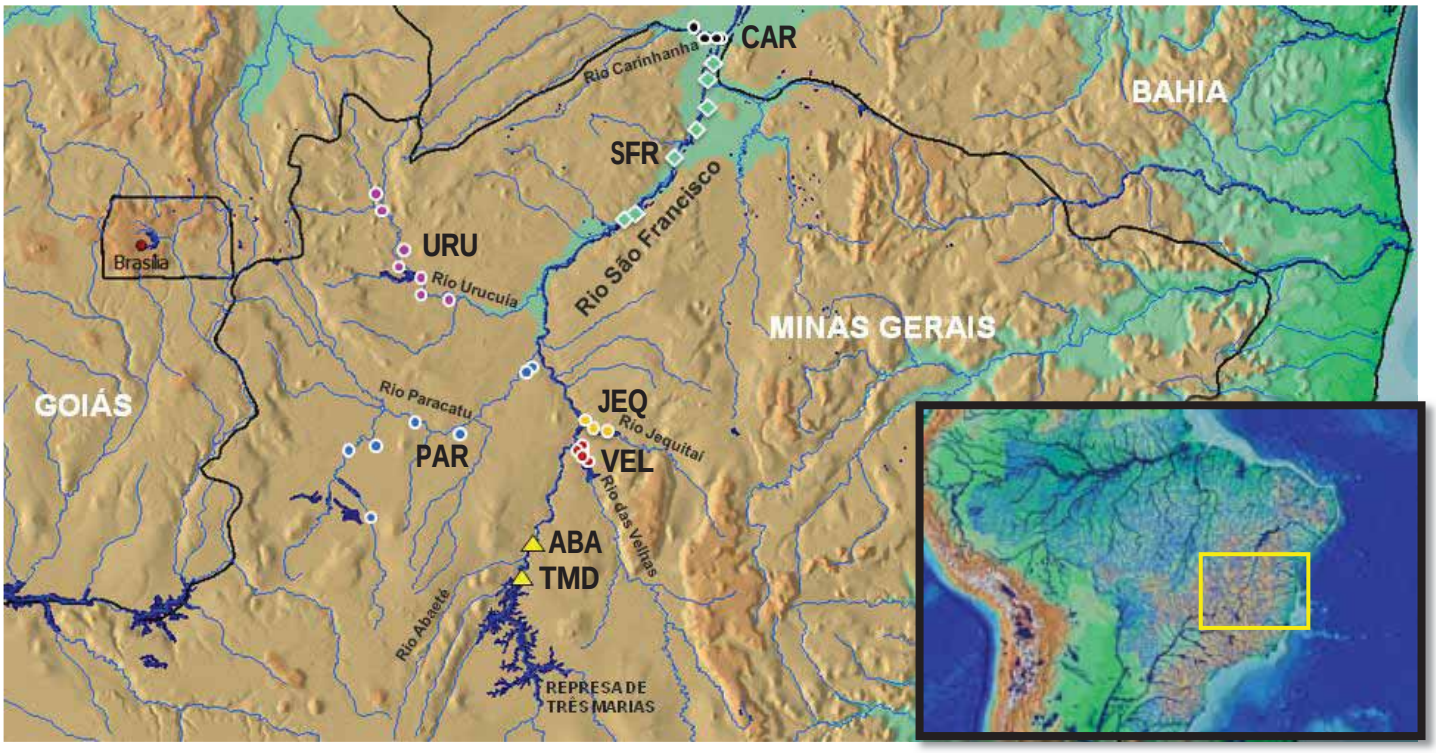

Fig. 5. Mapa de distribuição dos grupos amostrais de *Prochilodus argenteus* no médio São Francisco. Círculos representam lagoas marginais dos tributários, losangos representam lagoas marginais do próprio rio São Francisco e triângulos representam os pontos de coleta no leito do rio na Região de Três Marias.

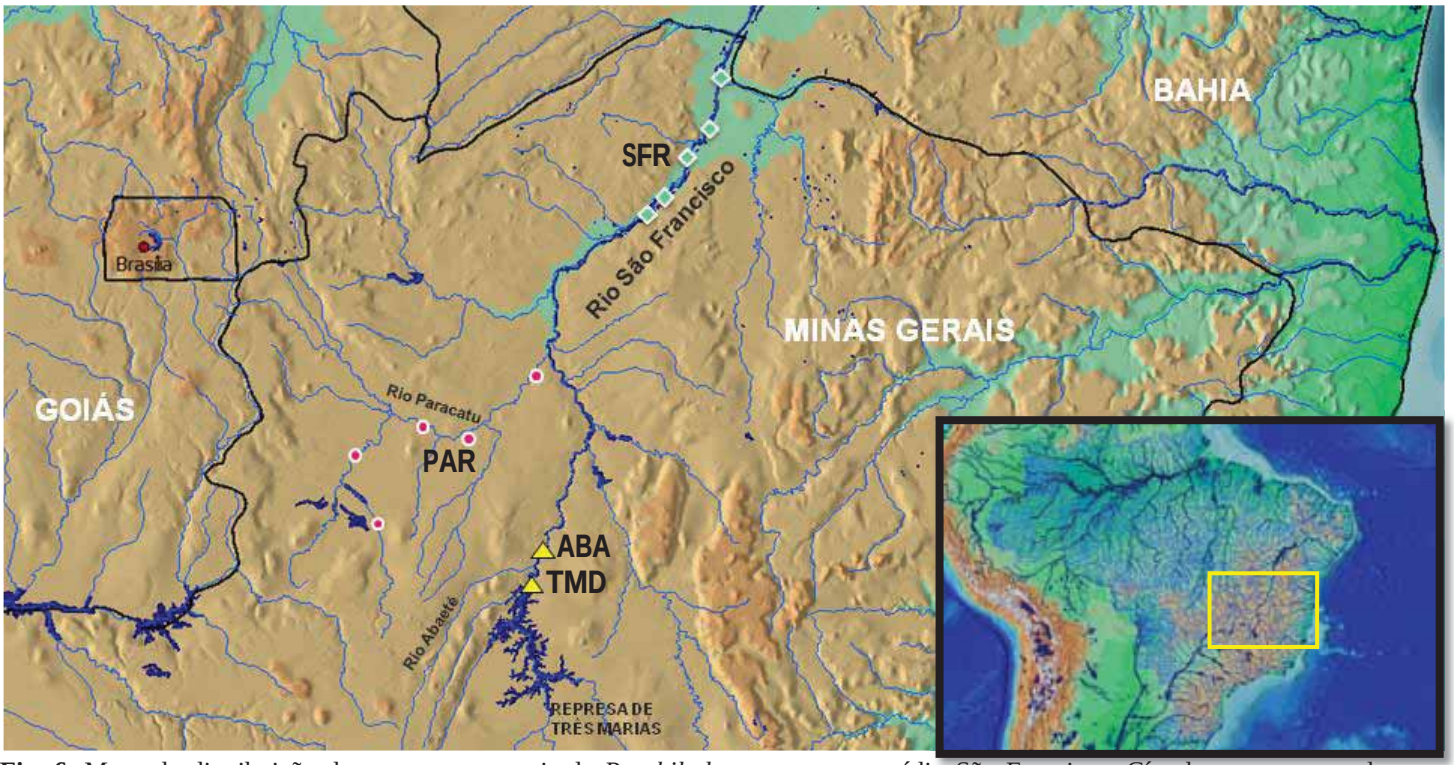

Fig. 6. Mapa de distribuição dos grupos amostrais de *Prochilodus costatus* no médio São Francisco. Círculos representam lagoas marginais dos tributários, losangos representam lagoas marginais do próprio rio São Francisco e triângulos representam os pontos de coleta no leito do rio na Região de Três Marias.

4.2.2. Protocolos moleculares

O DNA total foi isolado através do método de extração de Aljanabi & Martinez (1997) e então preservado em água ultrapura autoclavada. As amplificações foram realizadas em amostras de *Prochilodus argenteus* utilizando seis loci de microssatélites (Par66, Par69, Par71, Par76, Par83 e Par85) e em amostras de *P. costatus* utilizando os mesmos loci com a adição de Par80 no lugar de Par76 (monomórfico para esta espécie) (Barbosa et al. 2008) como descrito na Tabela 2.

Tabela 2. Relação dos *primers* para análise de microssatélites desenvolvidos por Barbosa et al (2008). Sequências F (*forward)* e R (*reverse*) no sentido 5' – 3' e os seis loci utilizados (+) em cada espécie.

Locus	Repetição	*Primers*	Tamanho (pb)	*P. argenteus*	*P. costatus*
Par66	$(AACA)_{12}$	F: 5'-TCTATAACTGTGGTCGTATG-3' R: 5'-GAGGTTTTGAGATCAGTTG-3'	153-185	+	+
Par69	$(TTAT)_7(TCAT)_6$	F: 5'-AATCTTTTCTAGGCTGTAGG-3' R: 5'-GGGAAGTAGAAAGAAGAAAC-3'	222-256	+	+
Par71	$(GA)_{24}$	F: 5'-TGTCGTCTGAAAGGAGTC-3' R: 5'-GAGGTTGTCCATTTTTAGAG-3'	237-281	+	+
Par76	$(CAGT)_{16}$	F: 5'-GGGTTACATTACATTCTAGG-3' R: 5'-CAAGTCTCTTCTGCTAACTG-3'	226-242	+	–
Par80	$(CT)_{37}$	F: CTAACCTACAAACCTCATTC R: CTGTAAAAGCTCCACTTATC	221-279	–	+
Par83	$(CACT)_{11}$	F: 5'-CATTTTCTAACAGCACTCC-3' R: 5'-TTCTTGTTCTCCTGTGTAAC-3'	264-300	+	+
Par85	$(AG)_{25}$	F: 5'-CCACTTAATGAGACCACAC-3' R: 5'-TTTCATTAGACTCGGTGAG-3'	227-271	+	+

Todas as reações de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) foram realizadas utilizando os aparelhos termocicladores MJ Research, INC. modelos PTC-100™Pro e Veriti 96, Applied Biosystems. As amplificações foram realizadas em uma solução com um volume total de 12,5µl com 7,3 µl de H_2O, 1,25 µl tampão (10X), 0,45 µl $MgCl_2$ (50mM), 0,4 µl dNTP (2mM), 0,5 µl de cada primer (10mM), 0,1 µl de Taq DNA polimerase e 2,0 µl de DNA. As reações consistiram de uma sequência de denaturação inicial a 95ºC por 5 min, 36 ciclos com denaturação da cadeia a 95ºC por 30s, hibridização dos primers a 52º por 30s e extensão dos nucleotídeos a 72ºC por 30s seguido pela extensão final a 72ºC por 10 min. Os produtos amplificados foram

aplicados em géis de poliacrilamida, separados por eletroforese com cerca de 130v e 100mA por aproximadamente 13 horas e corados com nitrato de prata (modificado de Bassam et al. 1991). O tamanho dos alelos foi identificado com marcador de peso molecular de 10 pb (10 bp DNA Ladder, Invitrogen) usando o software KODAK DIGITAL SCIENCE 1D.

4.2.3. Análises estatísticas

O número total de alelos (Na) e o número de alelos privados (Np) foram obtidos com programa POPGENE 1.32 (Yeh & Boyle 1997). Para a construção e exportação das matrizes utilizadas em outros programas e as estimativas de alelos privados foi utilizado o software GENALEX 6.1 (Peakall & Smouse 2006). Heterozigosidade esperada e observada (*H*e, *H*o), índice de fixação F_{IS} (Wright 1951) e teste exato de desequilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) (valor de significância $P < 0,05$) foram calculados com 1.000.000 de cadeias markovianas de Monte Carlo (MCMC), das quais 100.000 primeiras foram descartadas ('burn-in') e realizadas com ARLEQUIN 3.1 (Excoffier et al. 2005). Os níveis de significância para os testes de HWE, F_{ST} e R_{ST} foram ajustados usando as correções de Bonferroni (Rice 1989), sendo a correção padrão para HWE ($P \leq \alpha/k$, onde α representa o índice de significância 0,05 e k o número de loci) e sequencial para índices de fixação ($P \leq \alpha/k$, onde α representa o índice de significância 0,05 e k o número de estimativas).

Para inferir a causa mais provável dos desvios de HWE foi utilizado o software MICROCHECKER 2.2.1 (van Oosterhout et al. 2004) com a estimativa de alelos nulos segundo a equação 2 de Brookfield (1996). As análises realizadas no MICROCHECKER podem indicar: (i) presença de *stutters* (série de bandas causada provavelmente devido ao deslizamento da *Taq* polimerase durante a PCR) (Schlotterer & Tautz 1992; Hauge

& Lit 1993), (ii) *dropout*, alelos menores amplificados com mais frequência em relação aos alelos de maior tamanho, explicado pela amplificação preferencial (Banks et al. 1999), (iii) alelos nulos, resultantes da não amplificação de alguns alelos devido à substituições, inserções ou deleções no sítio de hibridização dos *primers* (Callen et al. 1993). O fluxo gênico foi estimado como número de migrantes por geração (*Nm*) de acordo com o método de alelos privados (Slatkin 1985) e o desequilíbrio de ligação foi estimado para todos os loci através de GENEPOP 4.0.1 (Raymond & Rousset 1995).

Para os cálculos de diferenciação populacional, os índices de fixação F_{ST} (Weir & Cockerham 1984), assumindo o *infinite allele model* (IAM, Kimura & Crow 1964) e R_{ST} (Slatkin 1995) assumindo o *stepwise mutation model* (SMM, Kimura & Otha 1978) e a análise de variância molecular (AMOVA) (Excoffier et al. 1992) calculada para todos os loci e para todas as populações com 16.000 permutações (Guo & Thomson 1992) foram calculados com ARLEQUIN 3.1 (Excoffier et al. 2005). Para os cálculos de AMOVA, as populações foram primeiramente consideradas como um grupo. Em seguida as populações de *Prochilodus argenteus* foram consideradas como divididas em dois grupos: grupo 1 (Região de Três Marias – ABAr, TMDd e TMDr) e grupo 2 (Lagoas marginais – SFR, VEL, JEQ, PAR, URU e CAR). Por outro lado, as populações de *P. costatus* foram primeiramente consideradas como apenas um grupo e, posteriormente divididas em dois grupos: grupo 1 (Região de Três Marias – ABAr, TMDd e TMDr) e grupo 2 (Lagoas marginais – LSF e PAR).

Os índices de distância genética de *chord* (Cavalli-Sforza & Edwards 1967) corrigida para o tamanho amostral foram calculados com GENECLASS2 (Piry et al. 2004) e seus valores foram usados para construir uma árvore não-enraizada de neighbor-joining (Saitou & Nei 1987) usando o programa PAUP 4.0B10 (Swofford 2003). O dendograma pôde ser visualizado com o programa FigTree 1.3.1. O software

STRUCTURE 2.3.3 (Pritchard et al. 2000) foi usado para calcular o nível de estrutura populacional através de uma análise bayesiana. Um modelo ancestral *admixture* com frequências alélicas correlacionadas foi usado para determinar a estrutura das populações. Cinco corridas independentes foram realizadas para cada *K* (*K* = 1 a 9 em *Prochilodus argenteus* e *K* = 1 a 5 em *P. costatus*). Todas as corridas consistiram de um "burn-in" de 100.000 passos, seguidos por 500.000 MCMC (Markovian chain of Monte Carlo).

4.3. Resultados

Diversidade genética em Prochilodus argenteus

Genótipos de 273 espécimes de nove amostragens da bacia do São Francisco foram analisados. Todos os loci foram altamente polimórficos. Um total de 99 alelos foi detectado para todos os loci em todas as amostragens. O número de alelos por locus variou de três (Par76) a 21 (Par85) com 9,68 alelos como média geral (Tabela 3). Dezenove alelos privados foram encontrados em baixa frequência (≤ 0,05), exceto o alelo 239 (0,052 – Par85 – URU). Os índices de H_O e H_E variaram de 0,379 (Par69) a 0,937 (Par71) e de 0,473 (Par69) a 0,951 (Par85) (Tabela 3). Das 54 estimativas de F_{IS}, 41 apresentaram valores positivos (deficiência de heterozigotos) e 13 apresentaram valores negativos (excesso de heterozigotos). A média geral para todos os loci e em todas as populações foi de F_{IS} = 0,123, P < 0,008 (Tabela 4). O déficit de heterozigotos foi significativamente detectado em todos os loci, exceto Par66 (F_{IS} = –0,035, P > 0,008) e a diversidade genética total variou de F_{IT} = -0,037, P > 0,008 (Par66) a 0,256, P < 0,008 (Par85) (Tabela 4).

A hipótese nula (H_0) de equilíbrio de Hardy-Weinberg foi aceita em 48 das 54 estimativas com valores significantes de $P > 0,008$ após correção de Bonferroni. Assim, foi verificada significância de desvio em seis estimativas, na maioria das vezes no locus Par85 (Tabela 3). Em todas as ocorrências, os valores significantes de desequilíbrio estavam associados à presença de alelos nulos (Tabela 3). Este fator foi verificado em 14 estimativas e a presença de *stutters* foi verificada em apenas um locus (Par85 – TMDr). O fluxo gênico para todos os loci foi estimado em 5,894 migrantes por geração (*Nm*). Não foi observada evidência de desequilíbrio de ligação em quaisquer loci analisados ($P > 0,05$), permitindo com que a variação alélica fosse tratada como independente.

Tabela 3. Dados de seis loci microssatélites para cada amostragem de *Prochilodus argenteus* analisada. *N* = número de indivíduos; Na = número de alelos; Np = número de alelos privados; Ho = heterozigosidade observada; He = heterozigosidade esperada; F_{IS} = índice de fixação (endogamia); HWE = valores probabilísticos de concordância com o equilíbrio de Hardy-Weinberg; * = $P \leq 0,008$ ajustados com a correção de Bonferroni; *R* = frequência de alelos nulos por locus.

População	Loci					
	Par66	Par69	Par71	Par76	Par83	Par85
ABAr						
N	30	32	22	30	31	21
Na/Np	9/1	5/0	10/0	5/0	12/0	15/1
Ho	0.733	0.656	0.682	0.666	0.677	0.428
He	0.787	0.641	0.860	0.732	0.844	0.927
F_{IS}	0.069	-0.023	0.211	0.091	0.200	0.543
HWE	0.473	0.026	0.018	0.565	0.132	0.000*
R	-	-	0.515	-	0.195	0.641
TMDd						
N	30	31	19	32	26	28
Na/Np	8/0	7/1	12/2	4/0	16/1	18/0
Ho	0.833	0.451	0.789	0.687	0.769	0.750
He	0.799	0.568	0.901	0.688	0.904	0.947
F_{IS}	-0.043	0.208	0.127	0.001	0.151	0.211
HWE	0.488	0.079	0.079	0.533	0.056	0.002*
R	-	-	-	-	-	0.309
TMDr						
N	20	19	19	22	22	19
Na/Np	7/0	4/0	10/0	3/0	13/1	16/0
Ho	0.800	0.526	0.737	0.727	0.818	0.737
He	0.774	0.621	0.850	0.669	0.860	0.939
F_{IS}	-0.034	0.156	0.137	-0.089	0.050	0.219
HWE	0.640	0.033	0.426	0.326	0.211	0.048
R	-	-	-	-	-	0.292
LSF						
N	27	29	26	27	28	30
Na/Np	7/0	6/0	12/0	4/0	13/0	20/0
Ho	0.778	0.379	0.807	0.518	0.785	0.933

População	Loci					
	Par66	Par69	Par71	Par76	Par83	Par85
He	0.746	0.646	0.890	0.740	0.865	0.951
F_{IS}	-0.042	0.417	0.094	0.303	0.093	0.019
HWE	0.834	0.009	0.099	0.038	0.831	0.672
R	-	0.356	-	0.392	-	-
VEL						
N	26	17	25	25	14	20
Na/Np	7/0	6/1	8/0	4/0	9/0	17/0
Ho	0.807	0.588	0.760	0.640	0.643	0.650
He	0.767	0.693	0.851	0.703	0.830	0.939
F_{IS}	-0.054	0.155	0.109	0.091	0.232	0.313
HWE	0.469	0.230	0.697	0.664	0.092	0.000*
R	-	-	-	-	-	0.495
JEQ						
N	32	33	26	14	18	28
Na/Np	7/0	7/0	11/0	4/0	10/1	19/1
Ho	0.875	0.636	0.807	0.643	0.611	0.750
He	0.789	0.624	0.865	0.717	0.839	0.946
F_{IS}	-0.110	-0.018	0.068	0.106	0.278	0.210
HWE	0.771	0.881	0.009	0.262	0.088	0.012
R	-	-	-	-	0.652	0.308
PAR						
N	33	32	25	29	24	27
Na/Np	8/1	7/0	15/1	4/0	9/0	21/3
Ho	0.848	0.656	0.840	0.483	0.708	0.740
He	0.823	0.693	0.916	0.678	0.834	0.951
F_{IS}	-0.030	0.054	0.085	0.291	0.153	0.224
HWE	0.051	0.258	0.125	0.094	0.048	0.000*
R	-	-	-	0.319	-	0.349
URU						
N	33	29	16	17	31	29
Na/Np	7/0	5/0	8/0	4/0	15/1	16/1
Ho	0.818	0.379	0.937	0.706	0.838	0.482
He	0.823	0.565	0.863	0.693	0.890	0.923
F_{IS}	0.006	0.333	-0.089	-0.018	0.059	0.481
HWE	0.341	0.001*	0.636	0.545	0.019	0.000*
R	-	0.334	-	-	-	0.385
CAR						
N	23	21	21	24	21	21
Na/Np	9/0	5/0	12/2	4/0	13/0	16/0
Ho	0.869	0.523	0.714	0.583	0.762	0.809
He	0.793	0.473	0.877	0.703	0.888	0.933
F_{IS}	-0.098	-0.108	0.189	0.173	0.145	0.136
HWE	0.482	0.807	0.031	0.159	0.019	0.053
R	-	-	-	-	-	-

O índice de diferenciação genética F_{ST} (baseado no modelo de mutação IAM) entre as populações de *Prochilodus argenteus* para todos os loci não foi significantemente diferente de zero (F_{ST} = 0,008, P < 0,05) sugerindo a ausência de diferenciação populacional nessa amostragem. O mesmo índice apresentou-se baixo em todos os loci, variando de -0,003 (Par66, Par69) a 0,021 (Par71) (Tabela 4). O índice F_{ST} par-a-par para todos os loci também mostrou valores baixos, variando de -0,054 (ABAr com JEQ) a 0,007 (ABAr com TMDd) (Tabela 5). O índice de diferenciação

genética R_{ST} total (baseado no modelo SMM) evidenciou valores relativamente mais elevados, (R_{ST} = 0,059, P < 0,008) (Tabela 4). O mesmo índice par-a-par também apresentou valores mais elevados, variando de -0.460 (ABAr com PAR) a 0.184 (TMDr com PAR).

Tabela 4. Índices de fixação F_{IS}, F_{IT}, F_{ST} e R_{ST} em *Prochilodus argenteus*. *, $P \leq 0{,}008$ após correção de Bonferroni.

Locus	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}	R_{ST}
Par66	-0.035	-0.037	-0.003	0.002
Par69	0.133*	0.128*	-0.003	-0.006
Par71	0.107*	0.124*	0.021*	0.131*
Par76	0.116*	0.124*	0.011	0.028
Par83	0.141*	0.149*	0.011	0.066*
Par85	0.255*	0.256*	0.007	0.074*
Média	0.123*	0.128*	0.008*	0.059*

Tabela 5. Diferenciação genética interpopulacional F_{ST} (acima) e R_{ST} (abaixo) em *Prochilodus argenteus*. * P < 0,05, após correção sequencial de Bonferroni.

	ABAr	TMDd	TMDr	SFR	VEL	JEQ	PAR	URU	CAR
ABAr	-	0.007	-0.000	-0.005	-0.038	-0.054	0.005	-0.015	0.001
TMDd	0.079	-	-0.007	-0.004	-0.021	-0.042	-0.003	-0.018	-0.003
TMDr	-0.006	-0.007	-	0.002	-0.037	-0.052	-0.005	-0.025	-0.001
SFR	-0.012	0.024	-0.040	-	-0.037	-0.038	-0.002	-0.021	-0.001
VEL	-0.107	0.059	-0.201	-0.031	-	-0.040	-0.013	-0.062	-0.018
JEQ	-0.101	0.114	-0.117	0.006	0.031	-	-0.019	-0.027	-0.051
PAR	-0.460	0.184*	0.013	0.117*	0.015	0.138*	-	-0.023	0.002
URU	-0.032	0.020	-0.005	-0.005	-0.127	-0.032	-0.000	-	-0.028
CAR	-0.015	0.064	-0.026	0.007	-0.090	-0.013	0.016	-0.017	-

Na análise de variância molecular (AMOVA) e considerando todas as populações fazendo parte de um grupo, a maior parte da variância total foi encontrada dentro das populações, com F_{ST} = 99,18%, enquanto que a variância entre as populações foi de apenas 0,82%. Quando utilizamos o índice R_{ST}, a variação genética dentro das populações foi inferior (94,03%) ao F_{ST} e a variação entre as populações aumentou consideravelmente (5,97%). Quando consideramos as populações

possivelmente fazendo parte de dois grupos, os índices (F_{ST}) de AMOVA também são consideravelmente superiores dentro das populações (99,13%), seguido pela variação entre os grupos (0,10%) e pela variação entre as populações dentro de cada grupo (0,76%). Comparados com F_{ST}, a variância dos índices R_{ST} dentro das populações foi inferior (93,73%), seguido pela variância entre as populações dentro dos grupos que foi cinco vezes maior (5,57%) e pela variância entre os grupos que permaneceu quase que inalterada (0,70%). A ausência de estruturação genética foi confirmada pela análise bayesiana pelo STRUCTURE, evidenciando a existência de uma única unidade panmítica, como evidenciada pela distribuição igual das probabilidades no gráfico (Fig. 7).

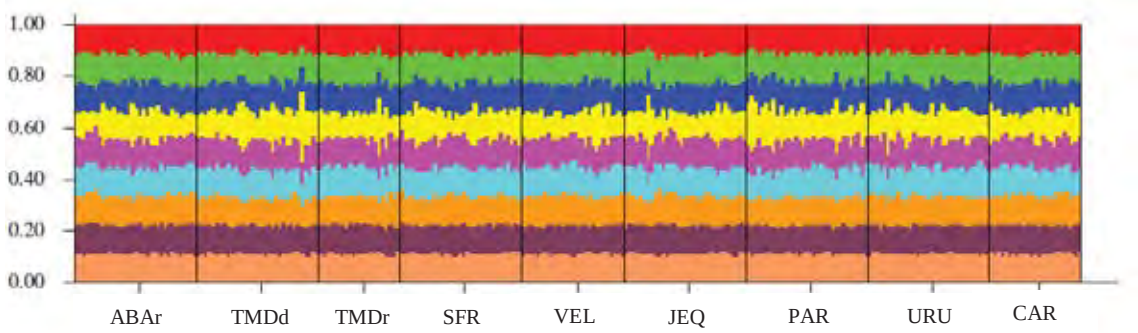

Fig. 7. Gráfico de barras representando a análise bayesiana e evidenciando a ausência total de estruturação entre as nove amostragens de *Prochilodus argenteus* no médio São Francisco.

Os valores de distância genética de *chord* (Cavalli-Sforza & Edwards 1967) foram estimados par-a-par e variaram de 24,0% (JEQ – PAR) a 35,3% (ABAr – URU). Foram encontrados índices mais elevados entre URU e as demais populações, exceto para TMDd. A Tabela 6 mostra os índices de distância genética para todos os loci em todas as populações de *Prochilodus argenteus.*

Tabela 6. Valores de distância genética de *chord* (Cavalli-Sforza & Edwards 1967) entre todas as populações de *Prochilodus argenteus*. Valores em %.

	ABAr	TMDd	TMDr	SFR	VEL	JEQ	PAR	URU	CAR
ABAr	-								
TMDd	32.7	-							
TMDr	28.4	27.3	-						
SFR	29.4	23.8	27.2	-					
VEL	31.0	31.9	29.0	25.2	-				
JEQ	26.7	30.0	27.9	24.7	27.8	-			
PAR	31.2	29.1	29.2	28.7	28.4	24.0	-		
URU	35.3	29.0	32.0	31.1	32.4	31.5	30.7	-	
CAR	29.7	28.4	28.2	27.6	26.9	29.3	29.8	31.5	-

Outra evidência da ausência de diferenciação entre os grupos amostrais é mostrada no dendograma de distância genética (Fig. 8) baseado nos valores de distância genética de *chord* (Cavalli-Sforza & Edwards 1967). Os agrupamentos que são formados indicam uma distância genética menor entre as respectivas amostragens.

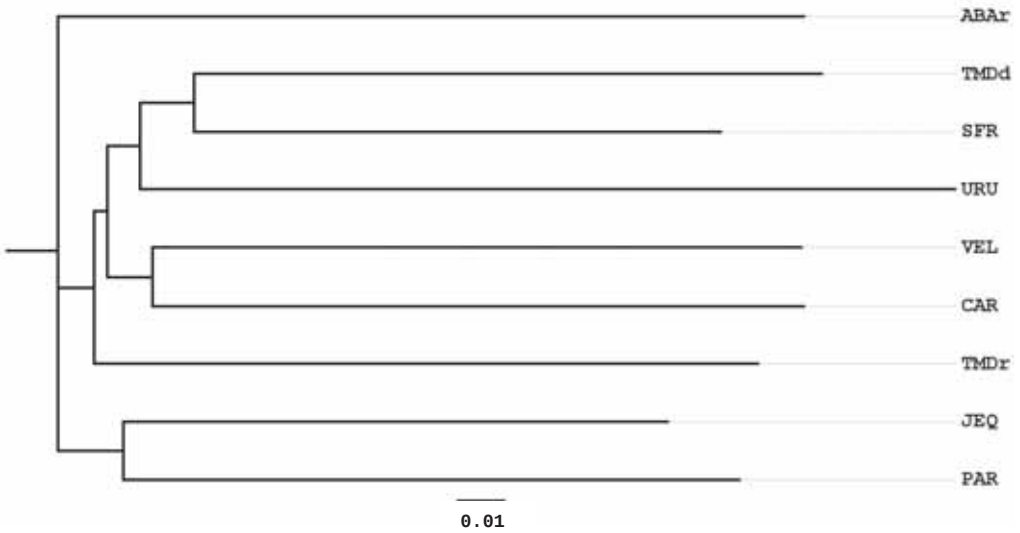

Fig. 8. Dendograma de distância genética *chord* de Cavalli-Sforza & Edwards (1967) gerado a partir do método de neighbor-joining (Saitou & Nei 1987).

Variabilidade genética em Prochilodus costatus

Cinco grupos amostrais com um total de 156 espécimes de *Prochilodus costatus* da bacia do São Francisco foram analisados. Todos os loci utilizados nas análises foram altamente polimórficos, com um total de 112 alelos detectados para todos os loci em todas as populações. O número de alelos por locus variou de quatro (Par69) a 26 (Par85) com 12,96 alelos como média geral (Tabela 7). Dezenove alelos privados foram encontrados em baixa frequência (≤ 0.04) em todos os loci e em todas as populações. Os valores de heterozigosidade observada e esperada variaram de 0,231 (Par69) até 0,958 (Par71) e de 0,580 (Par69) até 0,960 (Par85), respectivamente (Tabela 7).

As estimativas do índice de fixação F_{IS} que detecta endogamia baseando na deficiência ou excesso de heterozigotos apontaram 24 comparações com valores positivos (deficiência de heterozigotos) e seis comparações com valores negativos (excesso de heterozigotos). A deficiência de heterozigotos foi predominante em todos os loci, tendo apresentado positivo como média geral em todas as populações (F_{IS} = 0,113, P < 0,008) (Tabela 8). Entre os seis loci, a diversidade genética total variou de F_{IT} = 0,0018, P > 0,008 (Par66) a 0,262, P < 0,008 (Par69).

Testes para detecção de desequilíbrio genotípico entre os loci microssatélites indicaram que todas as populações apresentam desequilíbrio significante em pelo menos um locus, sendo Par71 o que mais apresentou esse desvio. Das 30 estimativas, apenas sete apresentaram-se em desequilíbrio e destas, seis estavam associadas à presença de alelos nulos (Tabela 7). Adicionalmente, alelos nulos foram verificados em oito estimativas, estando associados ao excesso de homozigotos. Presença de *stutters* foi verificada no locus Par71 (PAR). O fluxo gênico estimado foi de Nm = 10,259 migrantes por geração. Não foi detectado desequilíbrio de ligação em quaisquer loci

analisados (P > 0,05), permitindo com que a variação alélica fosse tratada como independente.

Tabela 7. Dados de seis loci microssatélites para cada amostragem de *Prochilodus costatus* analisada. *N* = número de indivíduos; Na = número de alelos; Np = número de alelos privados; Ho = heterozigosidade observada; He = heterozigosidade esperada; HWE = valores probabilísticos de concordância com o equilíbrio de Hardy-Weinberg; *, P < 0.008 ajustado com a correção de Bonferroni; *R* = frequência de alelos nulos por locus.

População	Loci					
	Par66	Par69	Par71	Par80	Par83	Par85
ABAr						
N	30	28	29	30	26	31
Na/Np	6/0	7/0	16/1	13/0	15/0	26/5
Ho	0.833	0.535	0.827	0.600	0.692	0.935
He	0.741	0.731	0.915	0.710	0.904	0.960
F_{IS}	-0.126	0.270	0.097	0.158	0.238	0.026
HWE	0.320	0.001*	0.044	0.077	0.016	0.717
R	-	0.278	-	-	0.335	-
TMDd						
N	33	26	31	33	26	32
Na/Np	7/1	5/1	16/1	16/2	12/0	22/0
Ho	0.788	0.231	0.742	0.909	0.731	0.906
He	0.803	0.615	0.915	0.912	0.879	0.946
F_{IS}	0.020	0.629	0.192	0.003	0.171	0.043
HWE	0.388	0.000*	0.000*	0.367	0.087	0.019
R	-	0.511	0.187	-	-	-
TMDr						
N	25	26	24	26	25	26
Na/Np	7/0	4/0	16/1	10/1	16/0	17/0
Ho	0.720	0.577	0.958	0.500	0.880	0.846
He	0.734	0.580	0.930	0.843	0.908	0.939
F_{IS}	0.020	0.006	-0.031	0.411	0.032	0.101
HWE	0.332	0.607	0.000*	0.000*	0.292	0.129
R	-	-	-	0.178	-	-
LSF						
N	28	18	25	27	22	25
Na/Np	7/0	6/0	16/0	17/1	13/0	18/1
Ho	0.750	0.666	0.680	0.889	0.909	0.800
He	0.782	0.647	0.903	0.865	0.889	0.936
F_{IS}	0.042	-0.030	0.251	-0.028	-0.023	0.148
HWE	0.050	0.612	0.002*	0.210	0.489	0.109
R	-	-	0.431	-	-	-
PAR						
N	29	31	29	31	19	28
Na/Np	7/0	6/0	14/0	16/1	17/1	21/2
Ho	0.724	0.677	0.620	0.774	0.947	0.786
He	0.812	0.730	0.914	0.874	0.927	0.942
F_{IS}	0.110	0.073	0.325	0.116	-0.022	0.168
HWE	0.215	0.656	0.000*	0.074	0.988	0.057
R	-	-	0.322	-	-	0.290

O índice global de F_{ST} para *Prochilodus costatus* evidenciou ausência significante de estruturação genética populacional no médio São Francisco (F_{ST} = 0,031, P < 0,05), corroborado pelo valor de R_{ST} (0,044, P < 0,05) (Tabela 8). Os valores

significantes de F_{ST} par-a-par também indicam a ausência de estruturação em todas as estimativas, variando de -0.005 a 0.049. Os valores de R_{ST} par-a-par evidenciam de leve a moderada estruturação, variando de -0.010 a 0.113. Os maiores valores são encontrados nas comparações entre SFR e as demais populações. (Tabela 9).

Tabela 8. Índices de fixação F_{IS} F_{ST} e F_{IT} e R_{ST} para todas as populações de *Prochilodus costatus*. *, $P \leq$ 0,008, após correção de Bonferroni.

Locus	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}	R_{ST}
Par66	0.014	0.018	0.004	0.006
Par69	0.199*	0.262*	0.078*	0.096*
Par71	0.171*	0.186*	0.018	0.063
Par76	0.121*	0.198*	0.087*	0.077*
Par83	0.089*	0.087*	-0.002	0.034
Par85	0.093*	0.092*	-0.001	0.014
Média	0.113*	0.139*	0.031*	0.044*

Tabela 9. Índices de fixação F_{ST} (acima) e R_{ST} (abaixo) comparativo entre cada população de *Prochilodus costatus*. * $P < 0,05$, após correção sequencial de Bonferroni.

	ABAr	TMDd	TMDr	SFR	PAR
ABAr	-	0.017*	0.049*	0.040*	0.039*
TMDd	0.052	-	0.031*	0.020*	0.017*
TMDr	0.001	-0.010	-	0.018*	-0.005
SFR	0.054	0.113*	0.064	-	0.005
PAR	0.012	0.062*	-0.010	0.011	-

Para os índices de AMOVA, a maior parte da variância total está dentro das populações (F_{ST} = 96,82%; R_{ST} = 95,59%), enquanto que entre as populações o valor a variância é de F_{ST} = 3,18% e R_{ST} = 4,41%. Quando consideramos em dois grupos, a variância molecular permanece quase que inalterada, com F_{ST} = 96,66% e R_{ST} = 94,22% dentro das populações; F_{ST} = 2,95%; R_{ST} = 2,30% entre as populações dentro de grupos; e F_{ST} = 0,38%; R_{ST} = 3,47% entre os grupos. Como visto, o índice R_{ST} apresentou valores mais elevados entre os grupos que entre as populações dentro de cada grupo.

Os valores de distância genética de *chord* (Cavalli-Sforza & Edwards 1967) variaram de 32,6% (TMDr – PAR) a 39,6% (SFR – ABAr). O grupo amostral que

apresenta índices mais discrepantes em relação aos demais foi SFR (Tabela 10). O dendograma gerado a partir dos valores de distância genética mostra graficamente a conexão entre ABAr e TMDd e entre PAR e TMDr, tendo SFR como a mais distante em relação às demais (Fig. 9). Adicionalmente, a análise bayesiana realizada por interações de cadeias markovianas gerada pelo programa STRUCTURE também evidencia ausência de estruturação (Fig. 10).

Tabela 10. Valores de distância genética de *chord* (Cavalli-Sforza & Edwards 1967) entre todas as amostragens de *Prochilodus costatus*. Valores em %.

	ABAr	TMDd	TMDr	SFR	PAR
ABAr	-				
TMDd	33.6	-			
TMDr	36.2	35.2	-		
SFR	39.6	37.5	38.7	-	
PAR	34.8	33.5	32.6	35.9	-

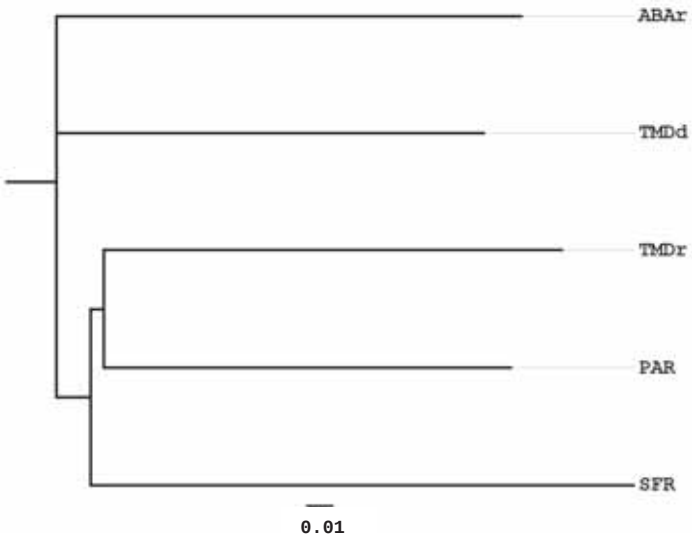

Fig. 9. Dendograma de distância genética de *chord* (Cavalli-Sforza & Edwards 1967) gerado por neighbor-joining (Saitou & Nei 1987) entre as populações de *Prochilodus costatus*.

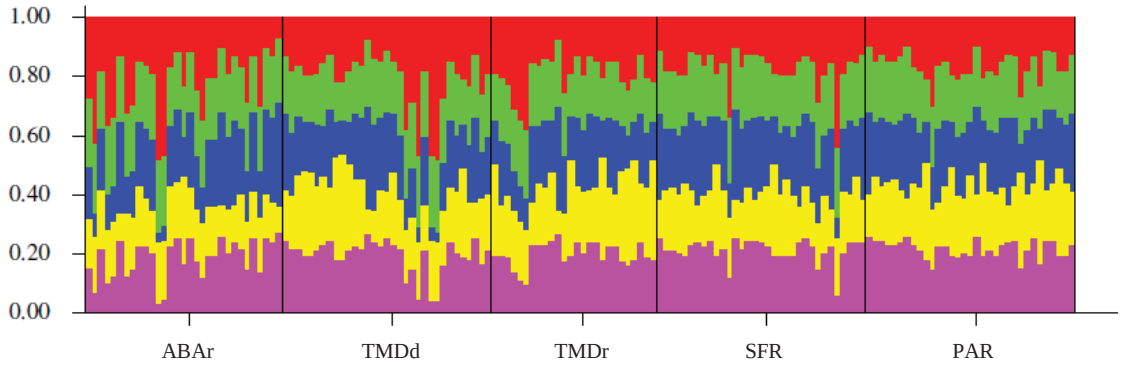

Fig. 10. Gráfico de barras gerado pela análise bayesiana evidenciando a ausência de estruturação entre as amostragens de *Prochilodus costatus* no médio São Francisco.

4.4. Discussão

Padrões genético-populacionais em *Prochilodus argenteus*

Níveis de variabilidade dos loci microssatélites, com média de 9,68 alelos por locus em *Prochilodus argenteus* foram semelhantes aos relatados para peixes de água doce, sendo a média de 9,1 alelos por locus em outras espécies (DeWoody & Avise 2000; Oliveira et al. 2009). Os índices de heterozigosidade encontradas no presente estudo (0,379 – 0,937) foram superiores àqueles encontrados por Hatanaka et al. (2006) (0,050 – 0,647) e similares aos encontrados por Barbosa et al. (2008) na caracterização dos loci utilizados (0.629 – 0.926). Podemos explicar esses valores pela ampla amostragem realizada e pela escolha dos loci desenvolvidos por Barbosa et al. (2008), os quais possuem níveis elevados de polimorfismo para esta espécie. No entanto, em 75,9% de nossas estimativas, os valores de heterozigosidade observados foram menores que o esperado (F_{IS} positivo) sugerindo assim a deficiência de heterozigotos nas populações. A deficiência de heterozigotos é bastante comum em peixes e está associada à subdivisão populacional (efeito Wahlund) e endogamia (O'Connell &

Wright 1997). Adicionalmente, Brookfield (1996) assume que a presença de alelos nulos, sem subdivisão populacional, é a principal causa da deficiência de heterozigotos. De fato, a presença de alelos nulos no presente estudo foi verificada em 25,9% das estimativas, e sempre associada aos índices significantes de desequilíbrio de Hardy-Weinberg. Considerando que nossos resultados não apontam subdivisão populacional, a deficiência de heterozigotos pode então ser explicada pela endogamia e pela ocorrência de alelos nulos. Desvios significantes no HWE ($P < 0,05$ após correção de Bonferroni) foram encontrados em apenas seis estimativas, mostrando que a grande maioria das populações (88,8%) está equilibrada. Desvios de HWE são comuns em regiões microssatélites (Alam & Islam 2005; Carreras-Carbonell et al. 2006; Chevolot et al. 2006). Para esta mesma espécie, Hatanaka et al. (2006) encontraram populações com desvios significantes de HWE em dois dos quatro loci utilizados. Causas de desvios de HWE podem estar associadas ao alto número de alelos por locus, ocorrência de alelos nulos, *stuttering* ou *drop-out*, efeito Wahlund, seleção de alelos específicos e endocruzamento (Pereira et al. 2009). A hipótese de ocorrência de alelos nulos e *stuttering* serem os causadores dos desvios parece ser a mais provável, uma vez que em todas as estimativas com desvios significantes de HWE em nossos resultados, existe ocorrência de alelos nulos.

De acordo com Wright (1978), índices F_{ST} com valores abaixo de 0,05 indicam pequena diferenciação genética; entre 0,05 e 0,15, moderada diferenciação; entre 0,15 e 0,25, grande diferenciação; e valores acima de 0,25, diferenciação muito elevada. Índices significantemente baixos de diferenciação populacional foram detectados entre as nove amostragens de *Prochilodus argenteus* na bacia do São Francisco, como indicados em diferentes testes estatísticos. O índice F_{ST} mostrou-se bastante inferior (0,008, $P < 0,05$), se comparado ao R_{ST} (0,059, $P < 0,05$). Esses índices são baseados

em modelos de mutações distintos, sendo F_{ST} associado ao IAM e o R_{ST} associado ao SMM. É esperado que os valores de R_{ST}, sob o modelo SMM, sejam maiores que os valores de F_{ST} (Slatkin 1995), embora o inverso já tenha sido verificado em outras espécies de peixes (e.g. Pereira et al. 2009).

O índice F_{ST} encontrado no presente estudo é idêntico ao encontrado por Hatanaka et al. (2006) com populações de *Prochilodus argenteus* exclusivamente da região de Três Marias (0,008, $P < 0,05$). No entanto, estes autores sugerem a existência de populações estruturadas, baseando-se na simples ocorrência de alelos privados e níveis de heterozigosidade elevados em uma das regiões estudadas. Por outro lado, nossos resultados não demonstram diferenciação genética baseada em valores F_{ST} par-a-par entre populações da região de Três Marias e nem apresentam diferenças nos valores de heterozigosidade e de presença de alelos privados. Com isso, sugerimos a existência de apenas uma unidade panmítica de *P. argenteus* não somente na região de Três Marias, mas também em todo o médio São Francisco até a desembocadura do rio Carinhanha. Baixos índices de F_{ST} têm sido verificados para outras espécies de Characiformes, tais como em *Colossoma macropomum* (Santos et al. 2007), *Piaractus mesopotamicus* (Calcagnotto & DeSalle 2009; Iervolino et al. 2010), *Prochilodus argenteus* (Hatanaka et al. 2006), *Prochilodus costatus* (Carvalho-Costa et al. 2008), *Prochilodus lineatus* (Revaldaves et al. 1997; Morelli 2008) e *Salminus brasiliensis* (Lopes et al. 2007).

Estudos prévios demonstram que exemplares de *Prochilodus argenteus* são capazes de realizar grandes migrações rio acima, principalmente na piracema, podendo alcançar até 1100 km de distância (Pinheiro 1981). Este comportamento pode explicar a existência de um considerável número de migrantes por geração (*Nm*) para todas as amostragens e para todos os loci estimado em 5,894. Nei (1987) sugere que valores

acima de um migrante por geração indicam que o fluxo gênico constitui um fator positivo contra a diferenciação genética entre populações. De fato, a existência de uma única unidade panmítica com evidências de endocruzamento, associada ao comportamento altamente migratório da espécie, reforça a ideia da extensiva troca de genes entre os cardumes.

Em ambas as propostas de agrupamento amostral (um grupo ou dois grupos) e em ambos os índices (F_{ST} e R_{ST}) de AMOVA, a variação interpopulacional apresentou-se mínima (0,10% a 5,97%) e a variação entre grupos não foi significativamente detectada. Estes resultados mostram que as amostras pertencentes à região de Três Marias (grupo 1) não são isoladas das populações que estão sendo recrutadas nas lagoas marginais (grupo 2). Com isso, podemos aceitar a segunda hipótese levantada, sugerindo que as populações de *Prochilodus argenteus* que são recrutadas nas lagoas marginais dos tributários migram preferencialmente para o leito do São Francisco no período de alimentação e em seguida, migram para a região de Três Marias ou retornam aleatoriamente às cabeceiras dos tributários para o período reprodutivo. Além disso, os índices $F_{ST,}$ R_{ST}, AMOVA, distância genética de *chord* e análise bayesiana não puderam detectar uma população destoante das demais que possuísse similaridade com os indivíduos coletados à jusante do rio Abaeté no período chuvoso. Assim, essa importante área recebe indivíduos não apenas de uma região exclusivamente, mas de várias regiões de todo o médio São Francisco.

A região de confluência entre o rio São Francisco e o rio Abaeté é considerada um dos principais pontos de desova de *Prochilodus argenteus* na época chuvosa, principalmente pelas condições limnológicas oferecidas pela junção dos dois rios (Sato et al. 2005). Como sugerido por Hatanaka & Galetti (2003), uma menor fração completa sua migração em direção à jusante da UHE durante o período reprodutivo, enquanto a

maior parte possivelmente migra para locais com condições ambientais mais favoráveis para reprodução. Sato et al. (2005) encontraram indivíduos com tamanho e peso corporal superiores e com melhores condições reprodutivas no trecho abaixo da confluência com o rio Abaeté em comparação com indivíduos acima da confluência, sob influência da barragem. Nossos resultados indicam diferenciação par-a-par entre essas duas regiões (ABAr e TMDd) com valores medianos de R_{ST} (0,079) e de distância genética (32,7%), sugerindo que nem todos os indivíduos presentes na estação seca imediatamente a jusante da UHE Três Marias migram até a jusante do Abaeté para desovar na época chuvosa. Adicionalmente, as comparações entre TMDd e TMDr apresentaram valores relativamente baixos de diferenciação (R_{ST} = -0,007) e de distância genética (27,3%), sugerindo a existência de indivíduos residentes no trecho a jusante da UHE Três Marias. Nossos dados corroboram a hipótese de Godinho & Kynard (2006), que relatam um padrão dualístico de migração em *Prochilodus argenteus*, com populações residentes (variação de ≤ 1 km) e migradoras (variação de > 53 km). Os autores sugerem ainda que os indivíduos adultos da população a jusante da UHE não migram rio abaixo, mas permanecem em seu local parecendo exigir a passagem para a montante, hipótese condizente com os resultados do presente estudo.

Prochilodus argenteus representa a maior parcela da biomassa (50%) dos recursos pesqueiros da região de Três Marias e de todo o São Francisco. Os resultados encontrados no presente estudo podem subsidiar programas de conservação das áreas de recrutamento como várzeas e lagoas marginais, visto que os peixes existentes na região de Três Marias parecem ser recrutados nas lagoas dos tributários e do próprio São Francisco. Lagoas marginais de tributários como o rio das Velhas, extremamente ameaçadas devido, principalmente à ação antrópica, servem como berçários para jovens dessa espécie e devem ser conservadas. Adicionalmente, o manejo adequado de

espécimes de *P. argenteus* torna-se extremamente relevante para a pesca comercial e de subsistência no médio São Francisco.

Padrões genético-populacionais em *Prochilodus costatus*

A variabilidade genética encontrada nas cinco amostragens de *Prochilodus costatus* do médio São Francisco apresentou-se bastante elevada. O número total de alelos (112) e sua média geral (12,96) foram superiores aos encontrados em populações da mesma espécie por Carvalho-Costa et al. (2008). A explicação baseia-se na utilização de diferentes loci, possivelmente devido aos loci utilizados no presente estudo possuírem taxas de polimorfismos maiores que aqueles utilizados no estudo supracitado. Os índices de fixação (F_{IS}) encontrados para *P. costatus* foram positivos em 80% das estimativas, indicando deficiência de heterozigotos, assim como observado por Carvalho-Costa et al. (2008) e por Silva (2011). Causas prováveis para a deficiência de heterozigotos em nosso estudo são a endogamia e a presença de alelos nulos, estes encontrados em 26,6% das estimativas. Os alelos nulos também justificam as rejeições significantes de HWE ($P > 0,008$, após correção de Bonferroni) encontradas no presente estudo, assim como encontrados por Silva (2011).

Carvalho-Costa et al. (2008) foram os primeiros a estudar populações de *Prochilodus costatus* e encontraram níveis baixos de estruturação par-a-par (F_{ST} = -0,009 – 0,006) em populações coletadas à jusante da UHE Três Marias, no rio Abaeté e na confluência entre os dois rios, todas no período reprodutivo. Adicionalmente, os resultados de Silva (2011) corroboram os baixos índices par-a-par encontrados por Carvalho-Costa et al. (2008), sugerindo a existência de um único *pool* gênico nos rios do alto São Francisco. Nossos resultados são condizentes com os encontrados

anteriormente. Os índices F_{ST} e R_{ST} apresentaram valores significativamente baixos (F_{ST} = 0,031, P < 0,05; R_{ST} = 0,044, P < 0,05) (Tabela 8) com um alto índice de *Nm* (10,2 migrantes por geração) confirmando a hipótese nula de ausência de estruturação populacional. Esta hipótese evidenciada pelos índices de fixação é corroborada pela distância genética homogênea (Tabela 10) e pela análise bayesiana (Fig. 10).

Resultados interessantes referem-se às comparações par-a-par com o índice $R_{ST,}$ as quais apresentaram níveis moderados de estruturação (Tabela 9). Esses valores foram detectados entre a os indivíduos de SFR e ABAr (0,054, P > 0,008), entre SFR e TMDd (0,113, P < 0,008) e entre SFR e TMDr (0,064, P > 0,008), enquanto que entre SFR e PAR, as quais possuem uma menor distância geográfica, esses valores são menores (0,011, P > 0,008). Podemos sugerir então que a amostragem das lagoas marginais do próprio São Francisco (SFR) possui uma moderada estruturação baseada em valores R_{ST}, em relação às amostragens da região de Três Marias (ABAr, TMDd e TMDr). Adicionalmente, PAR apresenta um índice R_{ST} significativamente moderado apenas em comparação com TMDd (0,062, P < 0,008), sugerindo que os peixes das lagoas do rio Paracatu (PAR) tendem a migrar para a região de Três Marias na estação chuvosa. Os valores de R_{ST} para AMOVA corroboram a moderada diferenciação entre os grupos, evidenciando valores um pouco mais elevados de variação genética entre o grupo da região de Três Marias (grupo 1 – ABAr, TMDd e TMDr) e o das lagoas marginais (grupo 2 – PAR e SFR). A distância genética de *chord* revela valores mais altos nas comparações entre SFR e as demais populações, corroborando os valores de R_{ST} par-a-par e sugerindo um isolamento dessa população no médio São Francisco. Com isso, podemos aceitar a segunda hipótese, em que os exemplares de *P. costatus* que são recrutados nas lagoas marginais dos tributários (rio Paracatu) migram preferencialmente para o leito do São Francisco no período de alimentação e, no período reprodutivo

migram para a região de Três Marias ou às cabeceiras dos tributários aleatoriamente, diferentemente dos indivíduos recrutados nas lagoas do próprio São Francisco.

Juvenis de *P. costatus* provenientes das lagoas do Paracatu (PAR) apresentam índices baixos de R_{ST} e de distância genética em comparação com indivíduos à jusante da TMDr (-0,010 e 32,6%, respectivamente), evidenciando a provável migração de indivíduos do rio Paracatu para a região de Três Marias na época chuvosa, como visto em *Prochilodus argenteus* no presente estudo (Tabela 5). Adicionalmente, valores medianos de R_{ST} foram detectados entre ABAr e TMDd (0,052, $P > 0,008$) e baixos valores entre ABAr e TMDr (0,001, $P > 0,008$) e entre TMDd e TMDr revelando o mesmo padrão verificado para *P. argenteus.* Em suma, os indivíduos que alcançam as águas à jusante da UHE Três Marias permanecem instalados devido à ausência de acesso à montante da barragem, tornando-se então residentes.

Considerando que *Prochilodus costatus* representa um importante recurso para a pesca profissional e artesanal como um dos mais capturados da região (Camargo & Petrere 2001), nossos resultados podem fornecer bases para o manejo adequado da pesca desta espécie no médio São Francisco. Como mostrado em nossos resultados, lagoas marginais do rio Paracatu são de extrema importância para o recrutamento de *P. costatus* e, medidas de conservação destas áreas, as quais possuem fortes pressões da agricultura de cerrado (Godinho & Godinho 2003), podem contribuir para a manutenção dos recursos pesqueiros para esta espécie no médio São Francisco.

4.5. Considerações finais

Os resultados obtidos para as duas espécies de *Prochilodus* endêmicas do São Francisco são similares quando nos referimos em diferenciação genético-populacional. Baseando-se em índices estatisticamente significantes de fixação, AMOVA, níveis de fluxo gênico, distância genética e análise bayesiana, podemos sugerir para as duas espécies, o "modelo panmítico" de estruturação. Indivíduos de ambas as espécies são representados por apenas uma unidade reprodutiva panmítica em todo o médio São Francisco, desde a jusante da barragem de Três Marias até o rio Carinhanha. O "modelo panmítico" pressupõe que todos os indivíduos amostrados podem consistir em uma única unidade panmítica com livre troca de genes (May & Kruger 1990; Baverstock & Moritz 1996). Além disso, a similaridade entre as populações aumenta quando existem altos níveis de migração e fluxo gênico (Neigel 1997). Os índices de fluxo gênico encontrados no presente estudo foram bastante elevados, reforçando a hipótese de existência de uma única população.

Comparativamente, os índices de fixação par-a-par para *Prochilodus costatus* apresentaram-se mais elevados em relação à *P. argenteus*, podendo ser explicado pela maior distância geográfica entre as amostragens. Amostras de *P. argenteus* foram coletadas em todos os grandes afluentes da porção média da bacia, enquanto que amostras de *P. costatus* foram coletadas em pontos mais isolados, possivelmente tornando o índice mais elevado entre as amostragens mais distantes. Entretanto, essas discrepâncias não alteraram os índices totais, permanecendo baixos e sem poder de estruturação.

Essas espécies, conhecidamente, possuem grande importância para a pesca industrial e de subsistência devido à sua elevada abundância em toda a bacia do São

Francisco. São conhecidos por realizar grandes migrações na piracema, como outros peixes migradores. Suas rotas migratórias, detectadas no presente trabalho, indicam a vinda de peixes de diversas lagoas presentes na porção média da bacia, principalmente localizadas nos tributários. Além disso, nossos resultados mostram que a barragem de Três Marias já possui influência na frequência gênica de indivíduos de ambas as espécies, responsável pela mediana diferenciação genética em relação aos demais. A evidência da estreita relação entre indivíduos da região de Três Marias com indivíduos recrutados em lagoas dos tributários pode contribuir para a manutenção dos estoques viventes hoje, através de medidas de conservação desses sítios de recrutamento de suma importância no médio São Francisco.

5. CONCLUSÕES

As análises deste trabalho permitem concluir que:

I. Os loci microssatélites utilizados possuem altos níveis de polimorfismos em ambas as espécies analisadas;

II. *Prochilodus argenteus* é representado por apenas uma unidade populacional, panmítica, em todo o médio São Francisco;

III. Os exemplares de *Prochilodus argenteus* que são recrutados nas lagoas marginais dos tributários migram preferencialmente para o leito do São Francisco no período de alimentação e, em seguida, migram para a região de Três Marias ou para os tributários no período reprodutivo.

IV. Como sugerido por estudos prévios, *Prochilodus costatus* não apresenta padrão de estruturação populacional no médio São Francisco;

V. Alguns cardumes de *Prochilodus costatus* que são recrutados nas lagoas marginais do rio Paracatu, assim como *P. argenteus*, tendem a migrar para a região de Três Marias na época reprodutiva;

VI. Foi verificado, tanto em *Prochilodus argenteus* como em *P. costatus*, a existência de grupos residentes, imediatamente à jusante da UHE Três Marias, possivelmente devido à obstrução da migração causada pela barragem;

VII. Medidas de conservação das áreas de recrutamento de indivíduos de ambas as espécies devem ser realizadas, principalmente em lagoas marginais dos tributários que drenam o médio São Francisco.

6. REFERÊNCIAS

Abreu MM, Pereira LHG, Vila VB, Foresti F & Oliveira C (2009) Genetic variability of two populations of *Pseudoplatystoma reticulatum* from the Upper Paraguay River Basin, *Genetics and Molecular Biology*, 32 (4): 868-873.

Agostinho AA, Mendes VP, Suzuki HI & Canzi C (1993) Avaliação da atividade reprodutiva da comunidade de peixes dos primeiros quilômetros a jusante do reservatório de Itaipu. *Revista Unimar*, 15: 175-189.

Alam MS & Islam MS (2005) Population genetic structure of *Catla catla* (Hamilton) revealed by microsatellite DNA markers. *Aquaculture*, 246: 151-160.

Aljanabi SM & Martinez I (1997) Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research*, 25 (22) 4692-4693.

Almeida FS, Sodré LMK, Contel EPB (2003) Population structure analysis of *Pimelodus maculatus* (Pisces, Siluriformes) from the Tietê and Paranapanema Rivers (Pisces). *Genetics and Molecular Biology*, 26: 301-305.

Alves CBM (2007) Evaluation of fish passage through the Igarapé Dam fish ladder (rio Paraopeba, Brazil), using marking and recapture. *Neotropical Ichthyology*, 5 (2): 233-236.

Araújo-Lima CARM, Forsberg BR, Victoria R & Martinelli L (1986) Energy sources for detritivorous fishes in the Amazon. *Science*, 234: 1256-1258.

Avise JC, Giblin-Davidson C, Laern J, Patton JC, Lansman RA (1979) Mitochondrial DNA clones and matriarchal phylogeny within and among geographic populations of

the pocket gopher, *Geomys pinetis*. *Proceedings of National Academy of Science,* 76: 6694-6698.

Banks MA, Blouin MS, Baldwin BA, Rashbrook VK, Fitzgerald HA, Blankenship SM & Hedgecock D (1999) Isolation and iheritance of novel microsatellites in chinook salmon (*Oncorhynchus tschawytscha*). *Journal of Heredity*, 90 (2): 281-288.

Barbosa ACDR, Galzerani F, Corrêa TC, Galetti PM & Hatanaka T (2008) Description of novel microsatellite loci in the Neotropical fish *Prochilodus argenteus* and cross-amplification in *P. costatus* and *P. lineatus*. *Genetics and Molecular Biology,* 31 (1. suppl.): 357-360.

Barroso RM, Hilsdorf AWS, Moreira HLM, Cabello PH & Traub-Cseko YM (2005) Genetic diversity of wild and cultured populations of *Brycon opalinus* (Cuvier, 1819) (Characiforme, Characidae, Bryconiae) using microssatellites. *Aquaculture*, 247: 51-65.

Bassam BJ, Caetano-Anolles G & Greesshoff PM (1991) Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrilamide gels. *Analytical Biochemistry*, 196: 80-83.

Baverstock PR & Moritz C (1996) Sampling: Project Design. Hillis DM, Moritz C & Mable B (eds) Molecular Systematics, 2nd edition, Massachusetts: Sinauer Associates: 17-28.

Beheregaray LB & Levy JA (2000) Population genetics of the silverside *Odontheses argentinensis* (Teleostei, Atherinopsidae): evidence for speciation in an estuary of southern Brazil. *Copeia,* 2: 441-447.

Bonetto AA (1986) Fish of the Paraná system. In: Davies BR, Walker KF (Eds.) *The Ecology of River Systems*, Dr W. Junk, Dordrecht, The Netherlands. pp. 573–588.

Bowen SH (1984) Detrivory in Neotropical fish communities. In: Zaret TM, *Evolutionary ecology of Neotropical fresh water fishes*, The Hague: W. Junk Publishers, p. 59-66

Bowen SH, Bonetto AA & Ahlgren MO (1984) Microorganisms and detritus in the diet of a typical Neotropical riverine dentritivore, *Prochilodus platensis* (Pisces, Prochilodontidae). *Limnology and Oceanography*, 29 (5): 1120-1122.

Britski HA, Sato Y & Rosa ABS (1988) *Manual de identificação de peixes da região de Três Marias*, Brasília, CODEVASF. 115pp.

Brookfield JFY (1996) A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. *Molecular Ecology*, 5: 453-455.

Buckup PA (1998) Relationships of the Characidiinae and phylogeny of characiform fishes (Teleostei: Ostariophysi). p. 123-144. In: Malabarba LR, Reis RE, Vari RP, Lucena ZM & Lucena CA (Eds.). *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes,* Porto Alegre: EDIPUCRS, p. 279-330.

Calcagnotto D & DeSalle R (2009) Population genetic structuring in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) across the Paraná-Paraguay basin: evidence from microsatellites. *Neotropical Ichthyology*, 7 (4): 607-616.

Caldeira FC, Sato Y, Rizzo E & Bazzoli N (2002) Atividade reprodutiva de *Prochilodus marggravii* (Pisces: Prochilodontidae) no rio São Francisco, à jusante do reservatório de Três Marias, MG. *Bios*, 10: 81.

Callen DF, Thompson AD, Shen Y, Phillips HA, Richards RI, Mulley JC & Sutherland GR (1993) Incidence and origin of null alleles in the (AC)*n* microsatellite markers. *American Journal of Human Genetics*, 52: 922-927.

Camargo SAF & Petrere M (2001) Social and financial aspects of the artisanal fisheries of Middle São Francisco River, Minas Gerais, Brazil. *Fish Management and Ecology*, 8: 163-171.

Campos WN (2009) Análise comparativa da variação genética entre os estoques cultivado e natural de *Prochilodus argenteus*: implicações para o repovoamento de rios. Dissertação de mestrado não publicada. Universidade Federal de São Carlos, 52 pp.

Carvalho-Costa LF, Hatanaka T & Galetti PM (2008) Evidence of lack of population substructuring in the Brazilian freshwater fish *Prochilodus costatus*. *Genetics and Molecular Biology*, 31 (1): 377-380.

Carreras-Carbonell J, Macpherson E & Pascual M (2006) Population structure within and between subspecies of the Mediterranean triplefin fish *Tripterygion delaisi* revealed by highly polymorphic microsatellite loci. *Molecular Ecology*, 15: 3527-3539.

Castro RMC & Vari RP (2003) Family Prochilodontidae. In: Reis RE, Kullander SO & Ferraris Jr. CJ. *Check List of the Freshwaters of South and Central America*, Porto Alegre, EDIPUCRS, p. 65-70.

Castro RMC & Vari RP (2004) Detritivores of the South American Fish Family Prochilodontidae (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes): A Phylogenetic and revisionary study. *Smithsonian Contributions to Zoology*, n. 622. Smithsonian Books.

Cavalli-Sforza LL & Edwards AWF (1967) Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *American Journal of Human Genetics*, 19: 233-257.

CETEC (1983) Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais. *Diagnóstico ambiental do estado de Minas Gerais*, Belo Horizonte. 158p.

Chevolot M, Ellis JR, Hoarau G, Rijnsdorp AD, Stam WT & Olsen JL (2006) Population structure of the thornback ray (*Raja clavata* L.) in British waters. *Journal of Sea Research*, 56: 305-316.

Chistiakov DA, Hellemans B, Volckaert FAM (2006) Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. *Aquaculture*, 255: 1-29.

CODEVASF (2003) Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e do Parnaíba, Estados, áreas e municípios.

Costa CMR, Hermann G, Martins CS, Lins LV & Lamas IR (1998) *Biodiversidade em Minas Gerais: um atlas para sua conservação*. Belo Horizonte, Fundação Biodiversitas, 94p.

Crollius HR, Jaillon O, Dasilva C, Ozouf-Costaz C, Fizames C, Fisher C, Bouneau L, Billault A, Quetier F, Saurin W, Bernot A, Weissenbach J (2000) Characterization and repeat analysis of the compact genome of the freshwater putterfish *Tetraodon nigroviridis*. *Genome research*, 10: 939-949.

Dergam JA, Suzuki HI, Shibatta OA, Duboc LF, Júlio-Jr HF, Giuliano-Caetano L, Black IV WC (1998) Molecular biogeography of the Neotropical fish *Hoplias malabaricus* (Erythrinidae: Characiformes) in the Iguaçu, Tibagi, and Paraná Rivers. *Genetics and Molecular Biology*, 21(4): 493-496.

DeWoody JA, Avise JC (2000) Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *Journal of Fish Biology*, 56: 461-473.

Edwards YJ, Elgar G, Clark MS, Bishop MJ (1998) The identification and characterization of microsatellites in the compact genome of the Japanese putterfish, *Fugu rubripes*: perspectives in functional and comparative genomic analysis. *Journal of Molecular Biology*, 278: 843-854.

Excoffier L, Smouse P & Quattro J (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131: 479-491.

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

Flecker AS (1996) Ecosystem engineering by a dominant detritivore in a diverse tropical stream. *Ecology*, 77: 1845–1854.

Freitas FE, Araújo ME & Solé-Cava AM (2003) Estruturação genética das populações de duas espécies de peixes recifais do Atol das Rocas e da costa do Ceará. *Tropical Oceanography*, 31: 171-180.

Garcez-Silva R (2006) Análise da estrutura genética populacional do curimbatá (*Prochilodus lineatus*, Characiformes: Prochilodontidae) na região da bacia do Rio Grande, SP. Tese de doutorado não publicada. Universidade de São Paulo. 112 pp.

Géry J (1977) *Characoids of the World*. T. F. H. Publications, Neptune City, New Jersey.

Godinho AL & Godinho HP (2003) Breve visão do São Francisco. p. 15-24. In: Godinho HP & Godinho AL (Org.) *Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais.* Belo Horizonte, PUC Minas. 468p.

Godinho AL, Brito MFG & Godinho HP (2003) Pesca nas corredeiras de Buritizeiro: da ilegalidade à gestão participativa. In: Godinho HP & Godinho AL. *Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais*. Pontifícia Universidade Católica, Belo Horizonte, Brazil. Pp. 347-360.

Godinho AL & Kynard B (2006) Migration and spawning of radio-tagged zulega *Prochilodus argenteus* in a dammed Brazilian river. *Transactions of the American Fisheries Society*, 135: 811-824.

Godinho AL & Kynard B (2008) Migratory fishes of Brazil: life history and fish passage needs. *River Research and Applications*, 25 (6): 702-712.

Godinho HP & Godinho AL (1994) Fish communities in southeastern Brazilian rivers basins submitted to hydroelectric impoundments. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 5:187-197.

Goulding M (1981) *Man and fisheries on an Amazon frontier*. Kluwer Academic Publishers. 137p.

Goulding M, Leal-Carvalho M & Ferreira EG (1988) *Rio Negro, Rich Life in Poor Water: Amazonian Diversity and Foodchain Ecology as Seen Through Fish Communities*. The Hague: SPB Academy Publishing, 200p.

Greenwood PH, Rosen DE, Weitzman SH & Myers GS (1996) Phyletic studies of teleostean fishes with a provisional classification of living forms. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 131: 339-456.

Grizzle JM (1981) Effects of hypolimnetic discharge on fish health bellow a reservoir. *Transactions of the American Fisheries Society*, 110: 29-43.

Guo S & Thomson E (1992) Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics*, 144: 1933-1940.

Hatanaka T & Galetti PM (2003) RAPD markers indicate the occurrence of structured populations in a migratory freshwater fish species. *Genetics and Molecular Biology*, 26 (1): 19-25.

Hatanaka T, Henrique-Silva F, Galetti PM (2006) Population substructuring in a migratory freshwater fish *Prochilodus argenteus* (Characiformes, Prochilodontidae) from the São Francisco River. *Genetica*, 126: 153-159.

Hauge WY & Litt M (1993) A study of origin of 'shadow bands' seen when typing dinucleotide repeat polymorphisms by PCR. *Human Molecular Genetics*, 2: 411-415.

Hausdorf B, Wilkens H & Strecker U (2011) Population genetic patterns revealed by microsatellite data challenge the mitochondrial DNA based taxonomy of *Astyanax* in Mexico (Characidae, Teleostei). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 60: 89-97.

Hickman GD & Hevel KW (1986) Effect of a hypolimnetic discharge on reproductive success and growth of warmwater fish in a downstream impoundment. In: Hall GE & Avyle MJVD (eds.) *Reservoir Fisheries Management: Strategies for the 80's*. American Fisheries Society. Bethesda, 286-293.

Hrbek T, Crossa M & Farias IP (2007) Conservation strategies for *Arapaima gigas* (Schinz, 1822) and the Amazonian várzea ecosystem. *Brazilian Journal of Biology*, 67(4, suppl.): 909-917.

IBAMA, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (2007). *Programa de Revitalização da Bacia Hidrográfica do Rio São Francisco – Estatística de Desembarque Pesqueiro, Brasília, DF*. Dísponível em: http://www.sfrancisco.bio.br/arquivos/IBAMA001.pdf. Acesso em 21 Jul. 2009.

Iervolino F, Resende EK & Hilsdorf ALS (2010) The lack of genetic differentiation of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) populations in the Upper-Paraguay Basin revealed by the mitochondrial DNA D-loop region: Implications for fishery management. *Fisheries Research*, 101: 27-31.

Jarne P & Lagoda JL (1996) Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends in Ecology & Evolution*, 11: 424-429.

Kimura M & Crow JF (1964) The number of alleles that can maintained in a finite populations. *Genetics*, 49: 725-738.

Kimura M & Otha T (1978) Stepwise mutation model and distribution of allelic frequencies in a finite populations. *Proceedings of Natural Academy of Sciences of the USA*, 75: 2868-2872.

Kohler HC (2003) Aspectos Geoecológicos da Bacia Hidrográfica do São Francisco (Primeira Aproximação na Escala 1:1 000 000) In: Godinho HP & Godinho AL (Org.), *Águas, Peixes e Pescadores do São Francisco das Minas Gerais*. Belo Horizonte, PUC-MG. p.25-35,

Levy JA, Maggioni R, Conceição MB (1998) Close genetic similarity among populations of the white croacker (*Micropogonias furnieri*) in the south and south-eastern Brazilian coast. I. Allozyme studies. *Fish Research*, 39: 87-94.

Lins LV, Machado ABM, Costa CMR & Hermann G (1997) *Roteiro metodológico para elaboração de listas de espécies ameaçadas de extinção: contendo a lista oficial de fauna ameaçada de Minas Gerais*, Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, 55p.

Lopes CM, Almeida FS, Orsi ML, Britto SGC, Sirol RN, Sodré LMK (2007) Fish passage ladders from Canoas Complex – Paranapanema River: evaluation of genetic structure maintenance of *Salminus brasiliensis* (Teleostei: Characiformes). *Neotropical Ichthyology*, 5 (2): 131-138.

Lowe-McConell R (1975) *Fish communities in tropical freshwaters*. New York, Longman Publishing. 337p.

Matsumoto CK & Hilsdorf AWS (2009) Microsatellite variation and population genetic structure of a neotropical endangered Bryconinae species *Brycon insignis* Steindachner, 1877: implications for its conservation and sustainable management. *Neotropical Ichthyology*, 7 (3): 395-402.

May B & Krueger CC (1990) Use of allozyme data for population analysis. Withmore DH (ed) Electrophoretic and isoelectric focusing techniques in fisheries management. Boston: CRC Pres: 157-171.

Menezes NA (1996) Methods for assessing freshwaters fish diversity. In: Bicudo CEM, Menezes NA (Eds.) *Biodiversity in Brazil: a first approach*. São Paulo, CNPq, 326p.

Moojen J (1940) Aspectos ecológicos do alto São Francisco: o pescador. *O Campo*, 11 (124): 22-24.

Moreira-Filho O & Buckup PA (2005) A poorly known case of watershed transposition between the São Francisco and upper Paraná river basins. *Neotropical Ichthyology*, 3 (3): 449-452.

Morelli KA (2008) Migração do curimbatá (*Prochilodus lineatus*, Prochilodontidae, Characiformes) no rio Mogi-Guaçu: aspectos genético-populacionais. Tese de doutorado não publicada, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 141 pp.

Nei M (1987) *Molecular evolutionary genetics*. NY Columbia University Press, 512 pp.

Neigel JE (1997) A comparison of alternative strategies for estimating gene flow from genetic markers. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 28: 105-128.

Nelson JS (2006) *Fishes of the World* (4ª ed.) John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, 601 p.

Ngan PV, Vazzoler AEA (1976) Serological and biochemical studies. *Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes*, 40: 681-682.

O'Connell M & Wright (1997) Microsatellite DNA in fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 7: 700-704.

Oliveira C, Foresti F, Hilsdorf AWS (2009) Genetics of neotropical fish: from chromosomes to populations. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35: 81-100,

van Oosterhout C, Hutchinson WF, Wills DPM & Shipley P (2004) MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4: 535-538.

Ortí G & Meyer A (1997) The radiation of characiform fishes and the limits of resolution of mitochondrial ribosomal DNA sequences. *Systematic Biology*, 46 (1): 75-100.

Oyarzún C, Monsalves J, Galleguillos R, Sandoval J (2000) Variabilidad genética en el pejerrata *Caelorinchus fasciatus* (Günther, 1878), (Pisces, Gadiformes, Macrouridae). *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 35 (2): 147-152.

Paiva MP (1982) *Grandes represas do Brasil*. Brasília, Editerra, 304p.

Paiva MP & Bastos SA (1982) Marcações de peixes nas regiões do alto e médio São Francisco (Brasil). *Ciência e Cultura*, 34: 1362-1365.

Pauls E & Bertollo LAC (1990) Distribution of a supernumerary chromosome system and aspects of karyotipic evolution in the genus *Prochilodus* (Pisces, Prochilodontidae). *Genetica*, 81: 117-123.

Peakall R & Smouse PE (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6: 288-295.

Pereira-Arantes F, Batista-dos-Santos H, Rizzo E, Sato Y & Bazzoli N (2011) Collapse of the reproductive process of two migratory fish (*Prochilodus argenteus* and *Prochilodus costatus*) in the Três Marias Reservoir, São Francisco River, Brazil. *Journal of Applied Ichhyology*, 27: 847-853.

Pereira LHG, Foresti F & Oliveira C (2009) Genetic structure of the migratory catfish *Pseudoplatystoma corruscans* (Siluriformes: Pimelodidae) suggest homing behavior. *Ecology of Freshwater Fish*, 18: 215-225.

Pinheiro CVL (1981) *Relatório de pesca no lago de Sobradinho para o ano de 1980*. SUDEPE: Juazeiro, Brasil.

Piry S, Alapetite A, Cornuet JM, Paetkau D, Baudouin L & Estoup A (2004) GeneClass2: A software for genetic assignment and first-generation migrant detection. *Journal of Heredity*, 95: 536-539.

PLANVASF (1989) Plano Diretor para o Desenvolvimento do Vale do São Francisco. *Programa para o desenvolvimento da pesca e da aquicultura*, Brasília, Planvasf, 192p.

Pritchard JK, Stephens M & Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945-959.

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

Reis RE, Kullander SO & Ferraris Jr. CJ (2003) *Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America*. EDIPUCRS, Porto Alegre, 729 p.

Renno J-F, Berrebi P, Boujard T, Guyomard R (1990) Intraspecific genetic differentiation of *Leporinus friderici* (Anostomidae, Pisces) in French Guyana and Brazil: a genetic approach to the refuge theory. *Journal of Fish Biology*, 36: 83-95.

Revaldaves E, Renesto E, Machado MFPS (1997) Genetic variability of *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae) in the upper Paraná river. *Brazilian Journal of Genetics*, 20 (3): 381-388.

Rice WR (1989) Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*, 43: 223-225.

Rojas TCG (2008) Utilização de AFLP para estudos genéticos em *Prochilodus argenteus* (Pisces, Prochilodontidae). Dissertação de mestrado não publicada. Universidade Federal de São Carlos, 69 pp.

Rosa RS & Menezes NA (1996) Relação preliminar das espécies de peixes (Pisces, Elasmobranchi, Actinopterygii) ameaçadas no Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 13 (3): 647-667.

Santos MCF, Ruffino ML & Farias IP (2007) High levels of genetic variability and panmixia of the tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816) in the main channel of the Amazon River. *Journal of Fish Biology*, 71 (A): 33-44.

Saitou N & Nei M (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4(4): 406-425.

Sato Y, Cardoso EL & Amorim JCC (1987) *Peixes das lagoas marginais do rio São Francisco a montante da represa de Três Marias (Minas Gerais)*. Brasília: CODEVASF, 42p.

Sato Y, Cardoso EL, Godinho AL, Godinho HP (1996a) Hypophysation parameters of the fish *Prochilodus marggravvi* obtained in routine hatchery station conditions. *Revista Brasileira de Biologia*, 56: 59–64.

Sato Y, Cardoso EL, Godinho AL, Godinho HP (1996b) Hypophysation of the fish *Prochilodus affinis* from the Rio São Francisco basin, Brazil. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 48 (1): 55-62.

Sato Y & Godinho HP (1999) Peixes da bacia do rio São Francisco. p. 401-413. In: Lowe-McConnell RH. *Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais*. São Paulo, Edusp, 534p.

Sato Y & Godinho HP (2003) Migratory fishes of the São Francisco river. In: Carolsfeld J, Harvey B, Ross C & Baer A. *Migratory fishes of South America: biology, fisheries and ecological status*. Victoria, Canadian: IDRC, p. 195-232.

Sato Y, Bazzoli N, Rizzo E, Boschi MB & Miranda MOT (2005) Influence of the Abaeté River on the reproductive success of the neotropical migratory teleost *Prochilodus argenteus* in the São Francisco River, downstream from the Três Marias Dam, southeastern Brazil. *River Research and Applications*, 21: 939-950.

Schlotterer C & Tautz D (1992) Slippage synthesis of simple sequence DNA. *Nucleic Acids Research*, 20: 211-215.

Sekine ES, Prioli AJ, Prioli SMAP, Júlio-Jr HF (2002) Genetic differentiation among population of *Pseudoplatystoma corruscans* (Agassiz, 1829) (Osteichthyes, Pimelodidae) isolated by Guaíra falls in the Paraná River. *Acta Scienctarum.* 24: 507-512.

Silva AB (2011) Estrutura genética populacional de *Prochilodus costatus*, Valenciennes 1850 (Characiformes, Prochilodontidae) no Alto São Francisco. Dissertação de mestrado não publicada. Universidade Federal de São Carlos. 48 pp.

Sivasundar A, Bermingham E & Ortí G (2001) Population structure and biogeography of migratory freshwater fishes (*Prochilodus*: Characiformes) in major South American rivers. *Molecular Ecology*, 10: 407-417.

Slatkin M (1985) Rare alleles as indicators of gene flow. *Evolution*, 39: 53-65.

Slatkin M (1995) A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, 139: 457-462.

Sunnucks P (2000) Efficient genetic markers for population biology. *Tree*, 15: 199-203.

Suzuki H, Vazzoler AEAM & Phan VN (1983a) Estudo eletroforético de proteínas de músculo esquelético de *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) da costa SE-S do Brasil. I. Considerações técnicas. *Boletim do Instituto Oceanográfico*, 32: 153-165.

Suzuki H, Vazzoler AEAM & Phan VN (1983b) Estudo eletroforético de proteínas de músculo esquelético de *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) da costa SE-S do Brasil. II. Variação ontogenética e estudo populacional. *Boletim do Instituto Oceanográfico*, 32: 167-176.

Swofford DL (2003) PAUP*: Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Version 4. Massachusetts: Sinauer Associates; 2003.

Toth G, Gaspari Z & Jurka J (2000) Microsatellites in different eukaryotic genomes: survey and analysis. *Genome Research*, 10: 967-981.

Turner TF, McPhee MV, Campbell P & Winemiller KO (2004) Phylogeography and intraspecific genetic variation of prochilodontid fishes endemic to rivers of northern South America. *Journal of Fish Biology*

Vari RP (1983) *Phylogenetic relationships of the families Curimatidae, Prochilodontidae, Anostomidae and Chilodontidae (Pisces, Characiformes).* Smithsonian Contributions to Zoology, 378: 1-60.

Vazzoler AEAM & Ngan PV (1976) Electrophoretic patterns of eye-lens proteins of *Sardinella brasiliensis* (Steindadner, 1897) of Brazilian coast. *Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes*, 40: 781-786.

Vazzoler AEAM & Ngan PV (1989) Padrões eletroforéticos de proteínas gerais do cristalino de *Micropogonias furnieri* (Desmaret, 1823) da costa sudeste-sul do Brasil: Estudo populacional. *Boletim do Instituto Oceanográfico*, 37: 21-28.

Wasko AP & Galetti PM (2002) RAPD analysis in the Neotropical fish *Brycon lundii*: genetic diversity and its implications for the conservation of the species. *Hydrobiologia*, 474: 131-137.

Weir BS & Cockerham CC (1984) Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38: 1358-1370.

Welcomme RL (1979) *Fisheries Ecology of Floodplain Rivers*. Longman, London.

Wright S (1951) The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics*, 15: 323-354.

Yeh FC & Boyle TJB (1997) Population genetics analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. *Belgian Journal of Botany*, 129: 157.

Zhang DX & Hewitt GM (2003) Nuclear DNA analyses in genetic studies of populations: practice, problems and prospects. *Molecular Ecology*, 12: 563-584.