

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 02/03/2022.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Estudos de variabilidade genética em lotes
cultivados de tambaqui (*Colossoma
macropomum*) na América do Sul**

John Fredy Gomez Agudelo

Jaboticabal, São Paulo

2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Estudos de variabilidade genética em lotes
cultivados de tambaqui (*Colossoma
macropomum*) na América do Sul**

John Fredy Gomez Agudelo

Orientador: Prof. Dr. Diogo Teruo Hashimoto

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Aquicultura do Centro de
Aquicultura da UNESP-
CAUNESP, como parte dos
requisitos para obtenção do título
de Mestre em Aquicultura.

Jaboticabal, São Paulo
2020

Gómez Agudelo, John Fredy
G633e Estudos de variabilidade genética em lotes cultivados de tambaqui
(Colossoma macropomum) / John Fredy Gómez Agudelo. -- Jaboticabal,
2020
ix, 61 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de
Aquicultura, 2020
Orientador: Diogo Hashimoto
Banca examinadora: Márcio Leite de Oliveira, Milthon H. Muñoz Berrocal
Bibliografia

1. Melhoramento genético. 2. Variabilidade genética. 3. Gargalo
genético. 4. Marcadores moleculares. I. Título. II. Jaboticabal-Centro de
Aquicultura.

CDU 639.3:636.082

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP
Campus de Jaboticabal/SP - Karina Gimenes Fernandes - CRB 8/7418

John Fredy Gomez Agudelo

Estudos de variabilidade genética em lotes cultivados de tambaqui
(*Colossoma macropomum*) na América do Sul.

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Aquicultura,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de
Jaboticabal, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Diogo Teruo Hashimoto

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Diogo Teruo Hashimoto - UNESP

Prof. Dr. Márcio Leite de Oliveira- NUPECCE

Prof. Dr. Milthon Honorio Muñoz Berrocal –
Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo Maria, Peru

Jaboticabal, _____ de _____ de _____.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Estudos de variabilidade genética em lotes cultivados de tambaqui
(*Colossoma macropomum*) na América do Sul

AUTOR: JOHN FREDY GOMEZ AGUDELO

ORIENTADOR: DIOGO TERUO HASHIMOTO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AQUICULTURA, pela
Comissão Examinadora:


Prof. Dr. DIOGO TERUO HASHIMOTO

Laboratório de Genética de Peixes / Centro de Aquicultura - CAUNESP, Jaboticabal-SP


Prof. Dr. MARCIO LEITE DE OLIVEIRA

Departamento de Zootecnia / UNESP/Câmpus de Jaboticabal


Prof. Dr. MILTHON HONORIO MUÑOZ BERROCAL

. / Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María, Peru

Jaboticabal, 02 de março de 2020

AGRADECIMENTOS

Agradeço às circunstâncias da vida por ter tido a oportunidade de aprender e trabalhar em uma área tão empolgante quanto a genética, de conhecer e compartilhar com pessoas cujo conhecimento é inspirador, além de ter a experiência de estudar e fazer parte de um centro de pesquisa e universidade tão importantes.

A minha mãe e irmão que sempre me ajudaram e me apoiaram. Muito obrigado por tudo.

A minha namorada e meu filho que se esforçaram de longe para que eu pudesse fazer meus estudos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Diogo Teruo Hashimoto, por ter confiado em mim, por toda a ajuda e apoio durante o desenvolvimento do trabalho. Muito obrigado por tudo.

A todos os meus amigos e colegas do LaGeAC (Carol, Milena, Natalia, Raquel, Rubens, Valéria e Vito) muito obrigado pela ajuda e apoio prestado,

Ao Prof. Dr. Gustavo Adolfo Lenis Sucerquia por ajudar a vir para Brasil a fazer o estágio, e ajudar na coleta de amostras na Colômbia, para o projeto de mestrado.

Ao Prof. Dr. Milthon Muñoz Berrocal muito obrigado por ajudar nas coletas no Peru, e fazer parte da comissão examinadora, com apoio financeiro da FAPESP Processo 19/08972-8.

Ao CNPq pelo apoio financeiro para desenvolver o projeto, sem essa ajuda, seria impossível realizar este estudo.

As pisciculturas da Colômbia e Peru que colaboraram com as informações e a coleta de amostras. Muito obrigado pela colaboração.

Muito obrigado a todos

RESUMO

John F.G. Agudelo. **Estudos de variabilidade genética em lotes cultivados de tambaqui (*Colossoma macropomum*) na América do Sul**. 2020. Dissertação de mestrado – Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista, CAUNESP, Jaboticabal, 2020.

Atualmente, os estoques de peixes têm sofrido altos níveis de sobreexploração pela pesca e estão ameaçados de extinção devido às alterações dos habitats naturais. Portanto, a produção de pescado oriunda de uma aquicultura sustentável certamente poderá auxiliar a suprir a demanda de proteína animal. Programas de melhoramento genético podem garantir a maximização do desempenho produtivo nos sistemas de cultivo, pois são capazes de otimizar o rendimento da produção da espécie-alvo. Entretanto, é fundamental que se realize primeiramente estudos de variabilidade genética por meio de marcadores moleculares, de maneira a evitar o gargalo genético e depressão endogâmica. Para esta finalidade, SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*) são considerados os marcadores moleculares mais apropriados, uma vez que constituem o polimorfismo mais abundante em qualquer organismo. O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é um dos peixes de maior valor comercial e de potencial para a piscicultura da América do Sul, portanto, uma espécie-alvo para programas de melhoramento genético. O presente trabalho teve como objetivo analisar a variabilidade genética de estoques de tambaqui na América do Sul, utilizando marcadores SNPs obtidos por sequenciamento de nova geração. Inicialmente, foram sequenciados cerca de 350 reprodutores de tambaqui, sendo oriundos de pisciculturas de diferentes localidades: Sul e Norte do Brasil, Colômbia, Peru; e uma população selvagem (rio Amazonas) e a população base do núcleo de melhoramento do CAUNESP (Jaboticabal, SP). A estratégia de sequenciamento/genotipagem dos SNPs foi por meio da técnica ddRAD-seq (*Double-digest RAD-sequencing*). Após os filtros de qualidade, foram selecionados cerca de 1.440 SNPs de 220 amostras de tambaqui para os estudos de genômica populacional. Os valores de H_o variaram de 0.081 a 0.248; enquanto de H_e foram de 0.206 a 0.270. Os resultados da análise hierárquica de variância molecular (AMOVA) mostraram que a maior proporção da variância esteve presente dentro das populações (75.2%). Uma baixa diferenciação genética entre todas as populações foi detectada por análises de F_{st} global sobre os loci de SNPs ($F_{st} = 0,05$). A análise de estruturação genética identificou dois agrupamentos genéticos nas populações comerciais de tambaqui da América do Sul. Estudos genéticos enfocando um maior conhecimento do genoma dos estoques cultivados de tambaqui são considerados essenciais para aquicultura, principalmente no sentido de fornecer subsídios para o desenvolvimento de programas de manejo e melhoramento desta espécie.

ABSTRACT

John F.G. Agudelo. Genetic variability studies in cultivated tambaqui (*Colossoma macropomum*) lots in South America. 2020. Master's dissertation - Aquaculture Center at Universidade Estadual Paulista, CAUNESP, Jaboticabal, 2020.

Currently, fish stocks have suffered from high levels of overexploitation by fishing and are threatened with extinction due to changes in natural habitats. Therefore, the production of fish from sustainable aquaculture can certainly help to meet the demand for animal protein. Genetic improvement programs can guarantee the maximization of productive performance in cultivation systems, because they are able to optimize the production yield of the target species. However, it is essential that genetic variability studies be carried out first through molecular markers, in order to avoid the genetic bottleneck and inbreeding depression. For this purpose, SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) are considered the most appropriate molecular markers, since they constitute the most abundant polymorphism in any organism. Tambaqui (*Colossoma macropomum*) is one of the fish with the greatest commercial value and potential for fish farming in South America, therefore, a target species for breeding programs. The present work aimed to analyze the genetic variability of tambaqui stocks in South America, using SNPs markers obtained by new generation sequencing. Initially, about 350 tambaqui breeders were sequenced, coming from fish farms in different locations: South and North of Brazil, Colombia, Peru; and a wild population (Amazon River) and the base population of the CAUNESP improvement center (Jaboticabal, SP). The SNP sequencing / genotyping strategy was through the ddRAD-seq (Double-digest RAD-sequencing) technique. After the quality filters, about 1,440 SNPs from 220 tambaqui samples were selected for population genomics studies. H_o values ranged from 0.081 to 0.248; while from H_e they were 0.206 to 0.270. The results of the hierarchical analysis of molecular variance (AMOVA) showed that the highest proportion of variance was present within populations (75.2%). Low genetic differentiation among all populations was detected by global F_{st} analyzes on SNP loci ($F_{st} = 0.05$). The analysis of genetic structure identified two genetic groups in the commercial populations of tambaqui in South America. Genetic studies focusing on greater knowledge of the genome of cultivated stocks of tambaqui are considered essential for aquaculture, mainly in the sense of providing subsidies for the development of management and improvement programs for this species.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Mapa Localidade e número de amostras de tambaqui <i>Colossoma macropomum</i> coletadas para o estudo de variabilidade genética.	30
Figura 2 – Distribuição dos valores de parentesco (r_{xy}).	40
Figura 3 – Gráfico Delta K.....	43
Figura 4 – Análise de estruturação genética dos estoques de tambaqui <i>Colossoma macropomum</i>	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Localidade e número de amostras de tambaqui <i>Colossoma macropomum</i> coletadas para o estudo de variabilidade genética.....	24
Tabela 2 – Dados dos SNPs e loci após os filtros de qualidade, resultantes do sequenciamento de nova geração das oito bibliotecas de ddRADseq dos estoques de tambaqui <i>Colossoma macropomum</i>	32
Tabela 3 – Dados dos SNPs e loci após os filtros de qualidade do plink, resultantes do sequenciamento de nova geração das oito bibliotecas de ddRADseq dos estoques de tambaqui <i>Colossoma macropomum</i>	33
Tabela 4 – Dados das sequências iniciais e após os filtros de qualidade, resultantes do sequenciamento de nova geração das oito bibliotecas de ddRADseq dos estoques de tambaqui <i>Colossoma macropomum</i>	34
Tabela 5 – Média dos parâmetros de diversidade genética dos estoques de tambaqui <i>Colossoma macropomum</i> . n: número amostral analisado; Ho: heterozigosidade observada; He: heterozigosidade esperada; MAF: frequência alélica mínima; e Fis: coeficiente de endogamia.....	36
Tabela 6 – Tamanho efetivo da população (Ne) parâmetro baseado no excesso de heterozigosidade, coeficiente de endogamia ($\Delta F = 1/2Ne$).....	37
Tabela 7 – Análise de parentesco para os 16 locais em populações de tambaqui (<i>Colossoma macropomun</i>) de acordo com o coeficiente rxy de Wang. Os valores são representados em porcentagem.....	38
Tabela 8 – Análise de variância molecular (AMOVA).....	39
Tabela 9 – Pairwise Fst dos estoques de tambaqui <i>Colossoma macropomum</i>	40

SUMÁRIO

1. Introdução geral	12
1.2 Aspectos gerais.....	12
1.2 Caracterização da espécie <i>Colossoma macropomum</i>	17
1.3 Problemas decorrentes da endogamia	21
1.4 Marcadores SNPs para análise de variabilidade genética.....	23
2. Objetivos	29
2.1 Geral	29
2.2 Específicos	29
3. Material e Métodos.....	29
3.1 Material.....	29
3.2 Caracterização dos locais de coleta.....	31
Colombia	31
Perú	32
Brasil	33
3.3 Construção de bibliotecas ddRADseq	34
3.4 Identificação e filtro dos SNPs.....	37
3.5 Análises de genética populacional	39
4. Resultados	40
4.1 Análises de bioinformática para seleção dos SNPs	40
4.2 Análises genético-populacionais	41
5. Discussão	48
6. Conclusão	53
7. Recomendações	53
8. Anexos	56
9. Referências.....	59

1. Introdução geral

1.2 Aspectos gerais

A demanda global por proteínas derivadas de pescado tem aumentado ao longo das últimas décadas, principalmente devido ao crescimento da população e preferência por alimentos saudáveis (Bacher, 2015). De acordo com o relatório da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO, 2018), a produção pesqueira mundial atingiu aproximadamente 170,9 milhões de toneladas em 2016; 151,2 milhões de toneladas correspondem ao consumo humano e 19,7 milhões de toneladas representam usos não alimentares, como farinhas e óleos (FAO, 2018). Globalmente, em 2016, a produção aquícola a nível continental foi de 51,4 milhões de toneladas (30%) da produção total, e a atividade de pesca e captura de espécies continentais alcançou 11,6 milhões de toneladas (6,8%) da produção mundial. (FAO, 2018),

Em termos de consumo *per capita* de peixe mundialmente, houve um aumento de 9,0 kg (1961) para 20,2 kg em 2015, uma taxa média de crescimento de 1,5% ao ano. Os aumentos no consumo não se devem apenas ao aumento da produção, mas também a fatores relacionados à redução de resíduos e os desperdícios (FAO, 2018).

Enquanto isso, as principais populações de peixes estão sendo sobreexploradas pela pesca. As Nações Unidas através de objetivos de desenvolvimento sustentável (ODS), prospectam uma meta de 14.4% para regulamentar a exploração pesqueira e, desta forma, diminuir a pesca excessiva e por conseguinte reestabelecer as populações de peixes, para conseguir níveis que possam chegar ao máximo rendimento sustentável (MRS). Porém, a situação parece ser difícil para que as produções pesqueiras possam chegar a reestabelecer em um curto prazo o 33.1% das populações que estão sendo sobreexploradas na atualidade, devido ao fato de que para o reestabelecimento se necessita de tempo, podendo levar a vários ciclos de vida do animal (FAO, 2018).

A estagnação da pesca por captura começou a ser observada no final da década de 1980. Neste momento, houve um aumento significativo na aquicultura, e um aumento contínuo na oferta de pescado para o consumo humano. De acordo com as últimas estatísticas disponíveis, em 2016, a produção de peixes pela aquicultura continental e marinha apresentou acelerado crescimento e já representa 47% da produção total de pescado (FAO, 2018).

Neste contexto da estagnação da pesca, a aquicultura terá que suprir a maior parte do aumento na demanda por pescado, de maneira correta e sustentável. Esta importância da aquicultura ocorre em um momento em que o mundo se tornou mais consciente sobre as questões ambientais, e consumidores passaram a exigir produtos mais seguros (Bacher, 2015).

No âmbito da produção aquícola regional na América do Sul, a atividade da aquicultura é liderada pelo Chile, seguido pelo Brasil e Equador, que juntos representaram 90% da produção da América Latina em 2015 e atingiram uma produção de 2,1 milhões toneladas. O Peru, com 4% da produção, ocupa o quarto lugar e o restante dos países juntos produz 6% (Regalado, 2017). Segundo estatísticas da FAO, a produção no Brasil em 2017 foi de 595.000 toneladas, das quais 514.070 toneladas são de espécies de água doce e 80.930 toneladas são de espécies marinhas (FAO Fish Stat, 2018). Em 2018, com um crescimento de 4,5%, 722.560 toneladas de peixe foram produzidas (Peixebr, 2019). No Peru, no ano 2017 a produção atingiu 100.453 toneladas, 61.028 toneladas de espécies de água doce e 39.425 de espécies marinhas (FAO Fish Stat, 2018). Por outro lado, a produção na Colômbia atingiu 100.000 toneladas, sendo 97.600 toneladas em espécies de água doce e 2.400 toneladas de espécies marinhas (FAO Fish Stat, 2018). A produção da aquicultura na América Latina

e no Caribe deve passar de 2,7 milhões de toneladas (2016) a 4 milhões de toneladas em 2030, com uma meta de crescimento prevista de 49,2% (FAO, 2018).

Existem basicamente duas alternativas para aquicultores melhorarem o desempenho produtivo nos sistemas de cultivo. O primeiro é por meio de uma ampliação em suas instalações, o que frequentemente é inviável, pois nem sempre existem áreas ou volume de água disponíveis, além da ampliação quase sempre resultar em elevação nos custos de produção. O segundo é maximizar sua produtividade, ou seja, melhorar o rendimento da produção por peixe produzido por unidade de área cultivada, tanto através de melhorias ambientais realizadas na propriedade, tais como a prática de um manejo adequado, com equilibrada taxa de arrazoamento e controle da qualidade da água, quanto por meio de um programa de melhoramento genético com o objetivo de aumentar o ganho genético nos peixes que estão sendo cultivados (Tave, 1995).

Programas de melhoramento genético são cruciais para o desenvolvimento da piscicultura, não só com o objetivo de aumentar as taxas de crescimento e o desempenho produtivo das espécies cultivadas, mas também para reduzir os custos de produção, melhorar a resistência dos organismos cultivados a doenças, melhorar a qualidade dos produtos e, assim, garantir a utilização mais eficiente de alimento, água, e áreas de cultivo disponíveis (Gjedren, 1997).

Entre as técnicas utilizadas no Brasil para obtenção de material genético mais produtivo, a hibridação interespecífica é responsável pela produção de milhares de toneladas de peixes ao ano (Ibge, 2016). O tambaqui (*Colossoma macropomum*) junto com duas espécies de peixes amplamente utilizadas na aquicultura, que também pertencem à família Serrasalminidae, a pirapitinga (*Piaractus brachipomus* Cuvier, 1818) e o pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887), três espécies muito importantes

comercialmente na aquicultura.(FAO, 2019). Porém, apesar do aparente bom resultado zootécnico da hibridação como método de melhoramento entre espécies nativas, existe uma séria preocupação com a possibilidade de escape e introgressão genética desses híbridos sobre as populações selvagens (Hashimoto *et al.*, 2012, 2014), além do risco da implementação enganosa de híbridos não férteis no plantel de reprodutores, pela dificuldade de se diferenciar híbridos de espécies puras, principalmente nos estágios iniciais de vida (Hashimoto *et al.*, 2011). Portanto, para evitar possíveis impactos, a aplicação de técnicas como a seleção e cruzamento dirigido entre indivíduos de uma mesma espécie com maior variabilidade genética se faz necessário, usando a variabilidade genética presente nestas populações é uma alternativa mais sustentável (Hilsdorf e Orfão, 2011).

Vários fatores são importantes para que os programas de melhoramento por seleção conduzam a ganhos genéticos expressivos e duradouros. Dentre eles, é fundamental realizar um adequado programa de pré-melhoramento, principalmente por meio da avaliação da variabilidade genética inicial, que irá evitar os problemas decorrentes do estreitamento da base genética de certas espécies ou estoques (Ponzoni, 2006). Estudos de variabilidade genética por meio de marcadores moleculares efetivos são necessários para a organização de uma estrutura de geração e análise de dados genéticos em longo prazo. A avaliação genética torna-se ainda mais importante diante das alterações nas frequências gênicas, e possibilidade de redução da variabilidade genética no processo de seleção de organismos geneticamente superiores, o que pode resultar no aumento da probabilidade de acasalamento de indivíduos aparentados e surgimento de genes deletérios, dizimando o potencial de linhagem da produção piscícola (Oliveira *et al.*, 2011).

A piscicultura de água doce no Brasil é dividida em dois setores: a produção de alevinos e o cultivo de peixes engorda (Suplicy, 2007). Na década de 1980, a indústria do comércio de alevinos foi fortemente focada para fornecer peixes a empreendimentos de lazer ou repovoamento de represas. A produção de alevinos para a piscicultura comercial visando o abastecimento de restaurantes, supermercados e fábricas de processamento e filetagem só foram estabelecidos na década de 1990, o que trouxe consideráveis mudanças na demanda do consumidor (Suplicy, 2007). *C. macropomun* é um peixe com características muito particulares que a tornam adequada para a aquicultura, os avanços obtidos em sua reprodução, a facilidade de manejo, o rápido crescimento e a qualidade de sua carne, fizeram desta espécie uma das mais demandadas pelos mercados locais e regionais (BACA, 2015). Devido à sobreexploração do tambaqui, a população selvagem diminuiu consideravelmente entre 1976 e 1996. Essa foi uma das razões para aumentar os esforços e desenvolver técnicas confiáveis de propagação dessa espécie para a produção de alevinos tanto para repovoamento quanto aquicultura (FAO, 2019).

O tambaqui foi introduzido em locais fora de sua distribuição nativa, o que levou a um aumento na produção. Atualmente, o tambaqui e outras espécies de Serrasalminidae foram estendidas para a maioria dos países da América do Sul e Central e em alguns países do Caribe e vários países da Ásia, particularmente China, Indonésia, Malásia, Mianmar e Vietnã. (FAO, 2019). No Brasil há uma crescente exigência por peixes de melhor qualidade, o que mostra a necessidade do estabelecimento de estratégias de manejo genético para as pisciculturas nacionais, principalmente para os produtores de alevinos, que é considerado a base deste setor.

6. Conclusão

A prospecção de recursos genéticos em programas de pré-melhoramento do tambaqui é um dos temas prioritários para ser focada na aquicultura nacional, pois esta espécie tem alta importância econômica para piscicultura nacional e mundial e, atualmente, há uma crescente demanda do consumidor por produtos de melhor qualidade. A identificação de SNPs por NGS são fundamentais para conhecimento da estrutura genética de populações naturais e cultivadas, e realização de análises de diversidade genética das espécies não modelo, fornecendo melhor controle sobre o direcionamento das famílias nos acasalamentos em programas de manejo genético.

De maneira geral, os resultados deste estudo permitem conhecer um contexto de como os recursos genéticos do tambaqui são encontrados em diferentes locais da América do Sul, com o objetivo de fornecer informações úteis para a realização da prática produtiva e torná-la mais eficiente e rentável a produção, além de ajudar a reduzir a pressão da pesca sofrida por esta espécie, ajudando sua conservação.

Em conclusão, será possível orientar um programa de melhoramento genético adequado para o tambaqui, como tem sido feito para outras espécies da piscicultura mundial, como salmão, catfish, carpa e tilápia.

9. Referências

- Araújo-Lima CARM, Ruffino ML (2003) Migratory fishes of the Brazilian Amazon. In: Migratory fishes of South America (eds Carolsfeld J, Harvey B, Ross C, Baer A). World Fisheries Trust/The World Bank/International Development Research Centre, Ottawa.
- Aguiar, J. da P.; Gomes, P. F. F.; Hamoy, I. G.; Santos, S. E. B. Dos; Schneider, H.; Sampaio, I. (2018). Loss of genetic variability in the captive stocks of tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818), at breeding centres in Brazil, and their divergence from wild populations. *Aquaculture Research*, [s. l.], v. 49, n. 5, p. 1914–1925,
- Aguiar J, Schneider H, Gomes F, *et al.* (2013) Genetic variation in native and farmed populations of Tambaqui (*Colossoma macropomum*) in the Brazilian Amazon: Regional discrepancies in farming systems. *An Acad Bras Ciênc.* **85**: 1439–1447.
- Andolfatto P, Davison D, Erezyilmaz D, *et al.* (2011) Multiplexed shotgun genotyping for rapid and efficient genetic mapping. *Genome Res* **21**: 610–617.
- Andrews KR, Good JM, Miller MR, *et al.* (2016) Harnessing the power of RADseq for ecological and evolutionary genomics. *Nature Reviews Genetics* **17**: 81-92.
- Ariede, R. B.; Freitas, M. V.; Hata, M. E.; Mastrochirico-Filho, V. A.; Pilarski, F.; Batlouni, S. R.; Porto-Foresti, F.; Hashimoto, D. T. (2018); Microsatellites associated with growth performance and analysis of resistance to *Aeromonas hydrophila* in tambaqui *Colossoma macropomum*. *Frontiers in Genetics*, [s. l.], v. 9, n. JAN, p. 1–8, a.
- Ariede, R. B.; Freitas, M. V.; Hata, M. E.; Matrochirico-filho, V. A.; Utsunomia, R.; Mendonça, F. F.; ForestI, F.; Porto-foresti, F.; Hashimoto, D. T. (2018); Development of microsatellite markers using next-generation sequencing for the fish *Colossoma macropomum*. *Molecular Biology Reports*, [s. l.], v. 45, n. 1, p. 9–18, 2018. b. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s11033-017-4134-z>
- Baca, L. C. De. El cultivo de la gamitana en latinoamérica. [s.l: s.n.].
- Bacher K (2015) Perceptions and Misconceptions of Aquaculture: A Global Overview. *Globefish Research Programme*, vol.120; FAO: Rome, Italy, 35 pp.
- Baird NA, Etter PD, Atwood TS, *et al.* (2008) Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. *PLoS One* **3**: e3376.
- Brander, KM (2015) Global fish production and climate change.
- Calcagnotto, D.; De Almeida Toledo-Filho, S. (2000). Loss of genetic variability at the transferrin locus in five hatchery stocks of tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Genetics and Molecular Biology*, [s. l.], v. 23, n. 1, p. 127–130,

- Caribe, A. L. Y. Potencial Acuicola General De America Latina. [s. l.], n. Sofia 2010, 2011.
- Catchen JM, Amores A, Hohenlohe P, *et al.* (2011) Stacks: building and genotyping loci *de novo* from short-read sequences. *G3* 1: 171-182.
- De Queiroz, C. A.; Sousa, N. R.; DA Silva, G. F.; Inoue, L. A. K. A. (2016). Impacts of stocking on the genetic diversity of *Colossoma macropomum* in central Amazon, Brazil. *Genetics and Molecular Research*, [s. l.], v. 15, n. 2, p. 1–9,
- Excoffier L, Laval G, Schneider S (2005) Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinform.* 1: 47-50.
- Estado Mundial, E. Fao 2018 De La Pesca Y La Acuicultura. [s.l: s.n.]. Organization of the United Nations – FAO Fisheries and Aquaculture Department, Roma.
- Evangelista-Barreto, N. S. (2019). Genetic diversity in natural populations of *Colossomamacropomum* in the Brazilian Amazon region and in populations farmed in Northeast Brazil based on ISSR markers. *Aquaculture International*, [s. l.], p. 1423–1434,
- FAO. Field guide to the culture of tambaqui (*Colossoma macropomum*. [s.l: s.n.].
- FAO - Fisheries and Aquaculture Information and Statistics Branch - 16/10/2019.
- Farias IP, Torrico JP, García-Dávila C, *et al.* (2010) Are rapids a barrier for floodplain fishes of the Amazon basin? A demographic study of the keystone floodplain species *Colossoma macropomum* (Teleostei: Characiformes). *Mol. Phylogenet. Evol.* 56: 1129-1135.
- Fazzi-Gomes, P.; Guerreiro, S.; Palheta, G. D. A.; De Melo, N. F. A. C.; Santos, S.; Hamoy, I. High. (2017) Genetic diversity and connectivity in *Colossoma macropomum* in the Amazon basin revealed by microsatellite markers. *Genetics and Molecular Biology*, [s. l.], v. 40, n. 1, p. 142–146.
- Ferreira, L. de A.; Fazzi-Gomes, P. F.; Guerreiro, S.; Rodrigues, M. D. N.; Ribeiro-Dos-Santos, Â. K.; Santos, S.; Hamoy, I. (2019) Genetic variability of tambaqui broodstocks in the Brazilian state of Pará. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [s. l.], v. 48, n. 0
- Gjedren, T (1997) Selective breeding to improve aquaculture production. *World Aquaculture-Baton Rouge* 28: 33-46.
- Gomes LC, Simões LN, Araujo-Lima CARM (2010) Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: *Espécies nativas para a piscicultura no Brasil* (eds Baldisserotto B, Gomes LC). UFSM, Santa Maria.
- Gomes, F, Schneider, H, Barros, C, *et al.* (2012) Innovative molecular approach to the identification of *Colossoma macropomum* and its hybrids. *An Acad Bras Ciênc.* 84(2): 517-526.
- Hardie DC, Hebert PDN (2003) The nucleotypic effects of cellular DNA content in cartilaginous and ray-finned fishes. *Genome* 46: 683-706.
- Hardy OJ, Vekemans X (2002) SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Mol. Ecol. Notes* 2: 618-620.

- Hashimoto DT, Senhorini JA, Foresti F, *et al.* (2012) Interspecific fish hybrids in Brazil: management of genetic resources for sustainable use. *Rev. Aquaculture* **4**: 108-118.
- Hashimoto DT, Alves AL, Varela ES, *et al.* (2012) Genética na Piscicultura: Importância da variabilidade genética, marcação e coleta para análise de DNA. 1. ed. Brasília: Embrapa, 32p.
- Hashimoto DT, Senhorini JA, Foresti F, *et al.* (2014) Genetic identification of F1 and post-F1 Serrasalmid juvenile hybrids in Brazilian aquaculture. *Plos One* **9**:e89902.
- Hiltsdorf, AWS, Orfão, LH (2011) Aspectos gerais do melhoramento genético no Brasil. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.40, p. 317-324.
- IBGE (2016) Produção da Pecuária Municipal 2015. Rio de Janeiro, 43, 1-47.
- Imsland AK, Foss A, Naevdal G, *et al.* (2001) Selection or adaptation: differences in growth performance of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* Rafinesque) from two close-by localities o Norway. *Sarsia* **86**: 43-51.
- Jacometo, C. B.; Barrero, N. M. L.; Rodriguez-Rodriguez, M. D. P.; Gomes, P. C.; Povh, J. A.; Junior, D. P. S.; Vargas, L.; De Resende, E. K.; Ribeiro, R. P. (2010). Variabilidade genética em tambaquis (Teleostei: Characidae) de diferentes regiões do Brasil. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, [s. l.], v. 45, n. 5, p. 481–487,
- Jégu, M (2003) Subfamily Serrasalminae (Pacus and piranhas). In: Check list of the freshwater fishes of South and Central America (eds Reis RE, Kullander SO, Ferraris CJ). Edipucrs, Porto Alegre.
- Jorge PH (2016) Sequenciamento do transcriptoma e caracterização de microssatélites na pirapitinga *Piaractus brachypomus* para análises de variabilidade genética. Dissertação de Mestrado. Instituto de Biociências de Botucatu, Unesp.
- Koljonen ML, Tahtinen J, Saisa M, *et al.* (2002) Maintenance of genetic diversity of Atlantic salmon (*Salmo salar*) by captive breeding programmes and the geographic distribution of microsatellite variation. *Aquaculture* **212**: 69-92.
- Liu ZJ, Cordes JF (2004) DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture* **238**: 1-37.
- Lopes, T. S.; Streit Júnior, D. P.; Ribeiro, R. P.; Povh, J. A.; Lopera-Barrero, N. M.; Vargas, L.; Pinto Filho, C.; Queiroz, J. R. (2009). Diversidade genética de estoques de reprodutores de. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, [s. l.], v. 61, n. 3, p. 728–735,
- Machado-Schiaffino G, Dopico E, Garcia-Vazquez E (2007) Genetic variation losses in Atlantic salmon stocks created for supportive breeding. *Aquaculture* **264**: 59-65.
- Mastrochirico-Filho, 2016 Análise de parentesco e variabilidade genética de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) por meio de marcadores SNPs: subsídios para o melhoramento genético. Dissertação de Mestrado. Centro de Aquicultura da Unesp.

- Mastrochirico-Filho, V. A Del Pazo, F.; Hata, M. E.; Villanova, G. V.; Foresti, F.; Vera, M.; Martínez, P.; Porto, Foresti, F.; Hashimoto, D.T, et al. (2019) Assessing Genetic Diversity for a Pre-Breeding Program in *Piaractus mesopotamicus* by SNPs and SSRs. *Genes*, [s. l.], v. 10, n. 9, p. 668.
- Mastrochirico-Filho, V.A; Ariede, R. B.; Freitas, M, V.; Lira, L. V.G.; Agudelo. J. F.G.; Pilarski, F.; Reis Neto, R. V.; Yañez, J, M.; Hashimoto, D. T. (2019) Genetic parameters for resistance to *Aeromonas hydrophila* in the Neotropical fish pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Aquaculture**, [s. l.], v. 513, n. June, p. 734442, Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734442>
- Merino, M.; Bonilla, S.; Bages, F. Diagnóstico del estado de la Acuicultura en Colombia. Autoridad Nacional de Pesca y Acuicultura – AUNAP. [s.l: s.n.].
- MMA. **Caderno da Região Hidrográfica Amazônica**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/estruturas/161/_publicacao/161_publicacao03032011024106.pdf>
- MPA (2010) Produção pesqueira e aquícola – Estatística 2008 e 2009. Ministério da Pesca e Aquicultura.
- MPA (2012) Boletim estatístico da pesca e aquicultura – Brasil 2010. Ministério da Pesca e Aquicultura.
- Mutz KO, Heilkenbrinker A, Lönne M, et al. (2013) Transcriptome analysis using next-generation sequencing. *Curr. Opin. Biotechnol.* **24**: 22-30.
- Narum SR, Buerkle CA, Davey JW, et al. (2013) Genotyping-by-sequencing in ecological and conservation genomics. *Mol Ecol* **22**: 2841-2847.
- Oliveira, C. de S. T.; Moreira, R. F. C.; Soares Filho, A. A.; Fonteles, S. B. A.; Evangelista-Barreto, N. S. (2019). Genetic diversity in natural populations of *Colossomamacropomum* in the Brazilian Amazon region and in populations farmed in Northeast Brazil based on ISSR markers. *Aquaculture International*, [s. l.], p. 1423–1434,
- Oliveira ACB, Miranda E, Correa R (2012) Exigências nutricionais e alimentação do tambaqui. In: Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira (eds Fracalossi DM, Cyrino JEP). Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, Florianópolis.
- PEIXEBR. Anunário PeixeBr da Piscicultura. (2019). **Associação Brasileira de Piscicultura**, [s. l.], p. 138.
- Peterson BK, Weber JN, Kay EH, et al. (2012) Double digest RADseq: an inexpensive method for de novo snp discovery and genotyping in model and non-model species. *PLoS One* **7**: e37135.
- Pineda Santis, H.; Restrepo Betancur, L.; Olivera Ángel, M. (2004) Comparación morfológica entre machos y hembras de Cachama Negra (*Colossoma macropomum*, Cuvier 1818) mantenidos en estanque. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, [s. l.], v. 17, n. 4, p. 24–29.

- Ponzoni, RW (2006) Genetic improvement effective dissemination: Keys to prosperous and sustainable aquaculture industries. WorldFish Center, Penang.
- Raymond M, Rousset F (1995) GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Heredity* **86**: 248-249.
- Recknagel H, Elmer KR, Meyer A (2013) A hybrid genetic linkage map of two ecologically and morphologically divergent midas cichlid fishes (*Amphilophus* spp.) obtained by massively parallel DNA sequencing (ddRADSeq). *G3* **3**: 65-74.
- Regalado, F. (2017) Potencial acuícola en el Perú. [s. l.], p. 34–39.
- Renaut S, Nolte AW, Bernatchez L (2010) Mining transcriptoma sequences towards identifying adaptive single nucleotide polymorphisms in lake whitefish species pairs (*Coregonus* spp. Salmonidae). *Mol. Ecol.* **19**: 115-131.
- 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. *J. Fish Biol.* **71**: 33-44.
- Santos, CHA, Santana, GX, Sá Leitão, CS, *et al.* (2016) Loss of genetic diversity in farmed populations of *Colossoma macropomum* estimated by microsatellites. *Anim. Genet.* **47**: 373-376.
- Sarropoulou E, Nousdili D, Magoulas AGK (2008) Linking the genomes of nonmodel teleosts through comparative genomics. *Mar. Biotechnol.* **10**: 227-233.
- Seeb JE, Carvalho G, Hauser L, *et al.* (2011) Single-nucleotide polymorphism (SNP) discovery and applications of SNP genotyping in nonmodel organisms. *Mol. Ecol. Res.* **11**: 1-8.
- Su GS, Liljedahl LE, Gall GAE (1996) Effects of inbreeding on growth and reproductive traits in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* **142**: 139-148.
- Suplicy FM (2007) Freshwater fish seed resources in Brazil. FAO Fisheries Technical Paper. No. 501. FAO, Rome.
- Tave, D (1995) Selective breeding programmes or medium-sized fish farms. FAO Fisheries Technical Paper. N°352, FAO, Roma.
- Tave D (1999) Inbreeding and brood stock management. *Fisheries Technical Paper. n° 392*. Roma, FAO.
- Toledo-Filho SA, Almeida-Toledo LF, Foresti F, *et al.* (1998) Programas genéticos de seleção, hibridação e endocruzamento aplicados à piscicultura. Cadernos de Ictiogenética 4, CCS/USP, São Paulo. **Molecular Ecology Resources**, [s. l.], v. 11, n. SUPPL. 1, p. 1–8, 2011.
- Torati, L. S.; Taggart, J. B.; Varela, E. S.; Araripe, J.; Wehner, S.; Migaud, H. Genetic diversity and structure in *Arapaima gigas* populations from Amazon and Araguaia-Tocantins river basins. *BMC Genetics*, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 1–13, 2019.

- Valladão, G. M. R.; Gallani, S. U.; Pilarski, F. (2018) South American fish for continental aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, [s. l.], v. 10, n. 2, p. 351–369.
- Valladão GMR, Gallani SU, Pilarski F (2016) South American fish for continental aquaculture. *Rev Aquacult.* doi:10.1111/raq.12164
- Vera M, Alvarez-Dios JA, Fernandez C, *et al.* (2013) Development and validation of single nucleotide polymorphisms (SNPs) markers from two transcriptome 454-runs of turbot (*Scophthalmus maximus*) using high-throughput genotyping. *Int. J. Mol. Sci.* **14**: 5694-711.
- . The genetical structure of populations. *Ann. Hum. Genet.* 1951, 15(1), 323-354.
- Vignal A, Milan D, SanCristobal M, *et al.* (2002) A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genet. Sel. Evol.* **34**: 275-305.
- Yue GH (2013) Recent advances of genome mapping and marker-assisted selection in aquaculture. *Fish Fish.* doi: 10.1111/faf.12020
- Zhou X, Ren L, Meng Q, *et al.* (2010) The next-generation sequencing technology and application. *Protein Cell* 1: 520-536.