

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 21/06/2023.



INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ESTRUTURAL E FUNCIONAL

Laboratório de Biologia e Genética de Peixes

Dissertação de Mestrado

**Diversidade genética de *Parancistrus aurantiacus* (Siluriformes,
Loricariidae) em corredeiras do rio Tocantins**

Fernanda Américo

Botucatu, SP

2022



INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ESTRUTURAL E FUNCIONAL

Laboratório de Biologia e Genética de Peixes

Dissertação de Mestrado

Diversidade genética de *Parancistrus aurantiacus* (Siluriformes, Loricariidae) em corredeiras do rio Tocantins

Aluna: Fernanda Américo

Orientador: Prof. Dr. Claudio de Oliveira

Co-orientadora: Prof. Dra. Vanessa Paes da Cruz

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia) do Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

Botucatu, SP

2022

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

Americo, Fernanda.

Diversidade genética de *Parancistrus aurantiacus*
(Siluriformes, Loricariidae) em corredeiras do rio Tocantins
/ Fernanda Americo. - Botucatu, 2022

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

Orientador: Claudio de Oliveira
Coorientador: Vanessa Paes da Cruz
Capes: 20400004

1. Cascudo (Peixe). 2. Polimorfismo de nucleotídeo único.
3. Dinâmica populacional. 4. Sequenciamento de nucleotídeos
em larga escala. 5. Genômica.

Palavras-chave: Cascudo-borracha; Genômica populacional;
SNPs; Sequenciamento de nova geração.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus familiares, especialmente meu avô José, por me incentivar nos estudos com todo suporte necessário, além de toda confiança. Aos meus tios Marcos e Mônica, minhas referências no caminho da educação. Aos meus pais Adriana e André e aos meus irmãos mais novos, Ramon e Mariana, por todo amor e carinho. À minha irmã e amiga Juliana, que vive muitos dos momentos mais felizes comigo. Amo todos vocês e sem apoio não teria concluído esse período incrível.

Aos meus melhores amigos Arlene, Erick, Érik, Cesar, Beatriz, Rafael, Leonardo, Tainá e Igor, obrigada por toda palavra de incentivo, risada, carinho e afeto. Amo muito vocês e cada momento que vivemos. Aos demais, que não conseguirei citar sem deixar tudo muito extenso, agradeço os momentos importantes que já compartilhamos.

Ao meu orientador Claudio, por me acolher desde a graduação. Agradeço todo conselho, conversa, ensinamento e por fazer parte da minha vida científica. Tenho muita admiração por sua pessoa e profissional. Guardarei todo aprendizado com muito carinho.

À minha co-orientadora Vanessa, por toda paciência, disponibilidade, acolhimento e ensinamento passado com a maior dedicação e amor a ciência. Guardarei com muito carinho toda palavra de incentivo e a capacidade de acreditar no potencial de seus alunos.

Aos companheiros de laboratório, mesmo que a pandemia tenha nos retirado algumas experiências presenciais, saibam que os admiro e seus trabalhos. Me senti acolhida nas disciplinas, bancadas, dúvidas e em tantas outras situações. Agradeço principalmente à May, Bia, Gi, Ailton, Sil, Najila, Lari, Mari, Bia D. e Pablo pelo suporte e ensinamentos. E ao Iann, que trouxe os tecidos do projeto pessoalmente e viveu comigo semanas de prática no laboratório. Obrigada a todos.

Agradeço ainda ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológica (Zoologia), da UNESP de Botucatu e aos funcionários do Instituto de Biociências. E finalmente, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento recebido, sem o qual não seria possível a realização do meu mestrado.

RESUMO

A região Neotropical possui a mais rica e diversificada ictiofauna de água doce do mundo. Entre a grande diversidade de peixes dessa bacia a ordem Siluriformes se destaca. Nessa ordem a família Loricariidae e a subfamília Hypostominae possuem a maioria dos seus espécimes restritos à América do Sul tropical e subtropical. A espécie *Parancistrus aurantiacus* se encontra presente neste grupo e a sua distribuição ocorre nos rios Araguaia, baixo Tocantins, alto Xingu, Iriri e Ucayali. As informações sobre as populações na região Norte do Brasil são escassas, o que nos impede de avaliar o seu real estado de conservação. Este estudo teve como objetivo caracterizar geneticamente indivíduos da espécie que ocorrem no rio Tocantins, avaliar a distribuição e conexões existentes entre elas, através do uso dos marcadores genéticos de polimorfismos únicos (SNPs), utilizando sequenciamento de nova geração (NGS). Analisamos 36 amostras de *P. aurantiacus* distribuídas em cinco pontos na bacia do rio Tocantins. Após o rastreamento de marcadores, foram obtidos 4.214 *SNPs* para análise genética da espécie. As análises revelaram um valor de F_{ST} mínimo de 0,0058 e máximo de 0,0883 (valor $P < 0,050$), apontando uma única unidade panmítica entre os pontos amostrados. Para todas as localidades, as heterozigosidades foram altas e a heterozigosidade observada (H_o) apresentou valor superior à heterozigosidade esperada (H_e), associado ao coeficiente de endogamia (F_{IS}) negativo, que indica a ausência de endogamia nos espécimes analisados. Através das análises de DAPC e do *software* STRUCTURE identificamos uma só população. Portanto, os resultados obtidos evidenciam que existe estruturação genética nas regiões analisadas e uma única população. Essas informações são importantes para futuras ações de manejo das populações naturais.

ABSTRACT

The Neotropical region has the richest and most diverse freshwater ichthyofauna in the world. Among the great diversity of fish in this basin, the order Siluriformes stands out. In this order, the Loricariidae family and the Hypostominae subfamily have most of their specimens restricted to tropical and subtropical South America. The species *Parancistrus aurantiacus* is present in this group and its distribution occurs in the Araguaia, lower Tocantins, upper Xingu, Iriiri and Ucayali rivers. Information about populations in the North region of Brazil is scarce, which prevents us from assessing their real conservation status. This study aimed to genetically characterize individuals of the species that occur in the Tocantins River, evaluate the distribution and existing connections between them, through the use of genetic markers of unique polymorphisms (SNPs), using next generation sequencing (NGS). We analyzed 36 samples of *P. aurantiacus* distributed in five points in the Tocantins river basin. After marker screening, 4,214 SNPs were obtained for genetic analysis of the species. The analyzes revealed a minimum F_{ST} value of 0.0058 and a maximum of 0.0883 (P value <0.050), indicating a single panmitic unit among the sampled points. For all locations, heterozygosity was high and the observed heterozygosity (H_o) was higher than the expected heterozygosity (H_e), associated with a negative inbreeding coefficient (FIS), which indicates the absence of inbreeding in the analyzed specimens. Through DAPC analysis and STRUCTURE software we identified a single population. Therefore, the results obtained show that there is genetic structure in the analyzed regions and a single population. This information is important for future actions to manage natural populations.

Sumário

1. Introdução	8
1.1. <i>Bacia Tocantins-Araguaia</i>	9
1.2. <i>Marcadores moleculares</i>	10
1.3. <i>Parancistrus aurantiacus</i>	11
1.4. <i>Informações genéticas</i>	12
2. Objetivos	14
3. Materiais e métodos	14
3.1. <i>Obtenção do material genético e extração de DNA</i>	14
3.2. <i>Elaboração das bibliotecas de SNPs</i>	15
3.3. <i>Análises dos dados</i>	17
4. Resultados	19
4.1. <i>Diversidade genética e estrutura populacional</i>	19
4.2. <i>Análises de relacionamento</i>	22
5. Discussão	23
6. Referências	24

Existe um trabalho de acompanhamento das comunidades de peixes (Barbosa et al., 2015), no entanto, sempre que possível, é preciso implantar estratégias de monitoramento não-invasivo (Schmid et al., 2017). Os programas de reprodução em cativeiro para várias espécies, como por exemplo, o cascudo zebra (em estado crítico de ameaça), também são importantes, no entanto ainda falta incluir a preservação de habitats críticos para as espécies remanescentes (Fitzgerald, *et al.*, 2018).

6. REFERÊNCIAS

Agostinho, A. A., Gomes, L. C., Pelicice, F. M. (2007). Estocagem. Ecologia e manejo de recursos pesqueiros em reservatórios do Brasil, p. 253–274.

Agostinho, A. A., Thomaz, S. M., Minte-Vera, C. V., & Winemiller, K. O. (2018). Biodiversity in the high Paraná River floodplain.

Akama, A. Sousa, L. (2020). IctioXingu: Expedição Tocantins - Peixes das profundezas do rio Tocantins (disponível em: https://www.youtube.com/watch?v=kjxoLB-2N7c&ab_channel=MuseuParaenseEm%C3%ADlioGoeldi). Acesso em dez2022.

Albert, J. S., Tagliacollo, V. A., & Dagosta, F. (2020). Diversification of Neotropical freshwater fishes. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 51, 27-53.

Andrews S (2010). FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. Available online at: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>

Andrews KR, Good JM, Miller MR, Luikart G & Hohenlohe PA (2016). Harnessing the power of RADseq for ecological and evolutionary genomics. *Nature Reviews Genetics*, 17(2), 81.

dos ANJOS, H. D. B., de Souza AMORIM, R. M., SIQUEIRA, J. A., & dos ANJOS, C. R. (2009). Exportação de peixes ornamentais do estado do Amazonas, Bacia Amazônica, Brasil. *Boletim do instituto de Pesca*, 35(2), 259-274.

Arantes, C. C., Fitzgerald, D. B., Hoeinghaus, D. J., & Winemiller, K. O. (2019). Impacts of hydroelectric dams on fishes and fisheries in tropical rivers through the lens of functional traits. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 37, 28-40.

- Atkinson, C. L., Alexiades, A. V., MacNeill, K. L., Encalada, A. C., Thomas, S. A., & Flecker, A. S. (2019). Nutrient recycling by insect and fish communities in high-elevation tropical streams. *Hydrobiologia*, 838(1), 13-28.
- Awise JC, Haig SM, Ryder OA, Lynch M & Geyer CJ (1995). Descriptive genetic studies: applications in population management and conservation biology. In: Ballou, J.D. & Fose, T.J. (Ed.) Population management for survival and recovery. Columbia University Press, New York, p.183-244.
- Azevedo-Santos, V. M., Daga, V. S., Pelicice, F. M., & Henry, R. (2021b). Drifting in a free-flowing river: Distribution of fish eggs and larvae in a small tributary of a Neotropical reservoir. *Biota Neotropica*, 21.
- Azevedo-Santos, V. M., Rodrigues-Filho, J. L., Fearnside, P. M., Lovejoy, T. E., & Brito, M. F. (2021a). Conservation of Brazilian freshwater biodiversity: Thinking about the next 10 years and beyond. *Biodiversity and Conservation*, 30(1), 235-241.
- Baird NA, Etter PD, Atwood TS, Currey MC, Shiver AL, Lewis ZA & Johnson EA (2008). Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. *PloS one*, 3(10), e3376.
- Bartoň, D., Brabec, M., Sajdlová, Z., Souza, A. T., Duras, J., Kortan, D., ... & Šmejkal, M. (2022). Hydropeaking causes spatial shifts in a reproducing rheophilic fish. *Science of The Total Environment*, 806, 150649.
- Baxter SW, Davey JW, Johnston JS, Shelton AM, Heckel DG, Jiggins CD & Blaxter ML (2011). Linkage mapping and comparative genomics using next-generation RAD sequencing of a non-model organism. *PloS one*, 6(4), e19315.
- Berra, MT (2001) *Freshwater fish distribution*. Academic Press.
- Birnie-Gauvin, K., Aarestrup, K., Riis, T. M., Jepsen, N., & Koed, A. (2017). Shining a light on the loss of rheophilic fish habitat in lowland rivers as a forgotten consequence of barriers, and its implications for management. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 27(6), 1345-1349.
- Bolger AM, Lohse M, Usael B (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30(15), 2114–2120.

Bruno MC, Casciotta JR, Almirón AE, Ricillio FL, Lizarrade MS (2015) Quaternary refugia and secondary contact in the southern boundary of the Brazilian subregion: comparative phylogeography of freshwater fish. *Vertebr Zool* 65:45-55.

Buckup PA, Menezes NA e Ghazzi MS (2007) Catálogo das Espécies de Peixes de Água Doce do Brasil. Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 290pp.

Buckup, P. A., Sant, M., Ghazzi, A. Chapter · January 2007. n. January 2007, 2016.

Catchen JM, Amores A, Hohenlohe P, Cresko W & Postlethwait JH (2011). Stacks: building and genotyping loci de novo from short-read sequences. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 1(3), 171-182.

Chamon, C. C., Serra, J. P., Camelier, P., Zanata, A. M., Fichberg, I., & Marinho, M. M. F. (2022). Building knowledge to save species: 20 years of ichthyological studies in the Tocantins-Araguaia River basin. *Biota Neotropica*, 22.

Cooke, S. J., Martins, E. G., Struthers, D. P., Gutowsky, L. F., Power, M., Doka, S. E., & Krueger, C. C. (2016). A moving target - incorporating knowledge of the spatial ecology of fish into the assessment and management of freshwater fish populations. *Environmental Monitoring and Assessment*, 188(4), 1-18.

Cruz VP, Vera M, Pardo BG, Taggart J, Martinez P, Oliveira C & Foresti F (2016). Identification and validation of single nucleotide polymorphisms as tools to detect hybridization and population structure in freshwater stingrays. *Molecular Ecology Resources*. Doi 10.1111/1755-0998.12564.

DiBattista JD, Saenz-Agudelo P, Piatek MJ, Wang X, Aranda M & Berumen ML (2017). Using a butterflyfish genome as a general tool for RAD Seq studies in specialized reef fish. *Molecular Ecology Resources*. Doi 10.1111/1755-0998.12662

Driller M, Vilaca ST, Arantes LS, Carrasco-Valenzuela T, Heeger F, Chevallier D, ... & Mazzoni CJ (2020). Optimization of ddRAD-like data leads to high quality sets of reduced representation single copy orthologs (R2SCOs) in a sea turtle multi-species analysis. *bioRxiv*. Available online <https://doi.org/10.1101/2020.04.03.024331>.

Drummond AJ (2009). *Genetics* 4.8.5 (www.geneious.com).

- Drummond AJ & Rambaut A (2007). BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evol. Biol.* 7:1. 214. doi: 10.1186/1471-2148-7-214.
- Elmer KR & Meyer A (2011). Adaptation in the age of ecological genomics: Insights from parallelism and convergence. *Trends in Ecology & Evolution* 26(6), 298-306.
- Etter PD, Bassham S, Hohenlohe PA, Johnson EA & Cresko WA (2011). SNP discovery and genotyping for evolutionary genetics using RAD sequencing. *Molecular methods for evolutionary genetics*, 157-178.
- Ewels P, Magnusson M, Lundin S, Käller M (2016). MultiQC: summarize analysis results for multiple tools and samples in a single report, *Bioinformatics*, 32(19), 3047–3048. Available online <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw354>.
- Excoffier L, Laval G, & Schneider S (2005). Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics*, 1, 47-50.
- Fitzgerald, D. B., Perez, M. H. S., Sousa, L. M., Gonçalves, A. P., Py-Daniel, L. R., Lujan, N. K., ... & Lundberg, J. G. (2018). Diversidade e estrutura das comunidades de peixes que habitam as corredeiras do Rio Xingu: implicações para a conservação diante do desenvolvimento de uma hidrelétrica de grande escala.
- Foll M & Gaggiotti O (2008). A genome-scan method to identify selected loci appropriate for both dominant and codominant markers: A Bayesian perspective. *Genetics*, 180(2), 977–993.
- Fu YX (1996). New statistical tests of neutrality for DNA samples from a population. *Genetics*. 43,557–570.
- Funk WC, McKay JK, Hohenlohe PA & Allendorf FW (2012). Harnessing genomics for delineating conservation units. *Trends in ecology & evolution*, 27 (9), 489-96.
- Ganassin, M. J. M., Muñoz-Mas, R., de Oliveira, F. J. M., Muniz, C. M., Dos Santos, N. C. L., García-Berthou, E., & Gomes, L. C. (2021). Effects of reservoir cascades on diversity, distribution, and abundance of fish assemblages in three Neotropical basins. *Science of the Total Environment*, 778, 146246.

- Houston RD, Davey JW, Bishop SC, Lowe NR, Mota-Velasco JC, Hamilton A., ... & Gharbi K (2012). Characterization of QTL-linked and genome-wide restriction site-associated DNA (RAD) markers in farmed Atlantic salmon. *BMC genomics*, 13(1), 244.
- Khalili Tilami, S., & Sampels, S. (2018). Nutritional value of fish: lipids, proteins, vitamins, and minerals. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 26(2), 243-253.
- Kimura M (1980). A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of molecular evolution*, 16(2), 111-120
- Lennox, R. J., Crook, D. A., Moyle, P. B., Struthers, D. P., & Cooke, S. J. (2019). Toward a better understanding of freshwater fish responses to an increasingly drought-stricken world. *Reviews in fish biology and fisheries*, 29(1), 71-92.
- Lewinsonh TM & Prado PI (2005). How many species are there in Brazil? *Conservation Biology* 19, 619-624.
- Miller OS (1995). Selective breeding programs for rare alleles: examples from the Przewalski's horse and California condor pedigrees. *Conserv. Biology*. 9: 1262-1273.
- Montoya-Burgos JI (2003) Historical biogeography of the catfish genus *Hypostomus* (Siluriformes: Loricariidae), with implications on the diversification of Neotropical ichthyofauna. *Mol Ecol* 12:1855-1867.
- Morin PA, Matien KK & Taylor BL (2009). Assessing statistical power of SNPs for population structure and conservation studies. *Molecular Ecology Resources*, 9 (1) 66-73.
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Fonseca GAB & Kent J (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403:853-858.
- Ning Z, Cox AJ & Mullikin JC (2001). SSAHA: A fast search method for large DNA databases. *Genome Research*, 11, 1725–1729.
- Oliveira, J. F., de Oliveira, J. C. D., Nascimento, L., Fernandes, R. T. V., Novaes, J. L. C., & Peretti, D. (2020). Feeding patterns, trophic structure and damming rivers effect: studies applied in freshwater environments in the Brazilian semi-arid region. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, 6(2), 41-47.

- Oomen, R. A., & Hutchings, J. A. (2022). Genomic reaction norms inform predictions of plastic and adaptive responses to climate change. *Journal of Animal Ecology*, 91(6), 1073-1087.
- Paris JR, Stevens JR, & Catchen JM (2017). Lost in parameter space: a road map for stacks. *Methods in Ecology and Evolution*, 8(10), 1360-1373.
- Pereira A.R., Akama A. (2022) Diversidade dos cascudos da subfamília Hypostominae das corredeiras do baixo rio Tocantins com a utilização de DNA barcode. *Biblioteca do Museu Domingos Soares Ferreira Penna. Caderno de resumos e a pluralidade da pesquisa no Museu Paraense Emílio Goeldi*, 67.
- Peterson BK, Weber JN, Kay EH, Fisher HS & Hoekstra HE (2012). Double digest RADseq: an inexpensive method for de novo SNPs discovery and genotyping in model and non-model species. *PloS one*, 7(5), e37135.
- Primmer CR (2009). From conservation genetics to conservation genomics. *Annals of the New York Academy of Sciences*, (1162) 357-68.
- Pritchard JK, Stephens M & Donnelly P (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155, 945-959.
- Rambaut A, Suchard MA Xie D, Drummond AJ (2014). Tracer v1.6. Available at: <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>
- Reis, R. E., Albert, J. S., Di Dario, F., Mincarone, M. M., Petry, P., & Rocha, L. A. (2016). Fish biodiversity and conservation in South America. *Journal of fish biology*, 89(1), 12-47.
- Rudke, A. P., Xavier, A. C. F., Fujita, T., Abou Rafee, S. A., Martins, L. D., Morais, M. V. B., ... & Martins, J. A. (2021). Mapping past landscapes using landsat data: Upper Paraná River Basin in 1985. *Remote Sensing Applications: Society and Environment*, 21, 100436.
- Saitou N & Nei M (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular biology and evolution*, 4(4), 406-425.
- Silveira, E. L. D., Ballester, E. L. C., Costa, K. A. D., Scheffer, E. W. D. O., & Vaz-dos-Santos, A. M. (2018). Fish community response to environmental variations in an impacted Neotropical basin. *Ecology of Freshwater Fish*, 27(4), 1126-1139.

Slaby, S., Le Cor, F., Dufour, V., Auger, L., Pasquini, L., Cardoso, O., ... & Banas, D. (2022). Distribution of pesticides and some of their transformation products in a small lentic waterbody: Fish, water, and sediment contamination in an agricultural watershed. *Environmental Pollution*, 292, 118403.

Sousa, L. (2022). IctioXingu: Um Parancistrus LINDO do rio Araguaia (disponível em: https://www.youtube.com/watch?v=Z8Rtj16mlbs&ab_channel=LeandroSousa). Acesso: dez2022.

Tacon, A. G., Lemos, D., & Metian, M. (2020). Fish for health: improved nutritional quality of cultured fish for human consumption. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 28(4), 449-458.

Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipinski A & Kumar S (2013). MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular biology and evolution*, 30(12), 2725-2729.

Tang J, Vosman B, Voorrips RE, Van der Linden CG & Leunissen JA (2006). QualitySNP: a pipeline for detecting single nucleotide polymorphisms and insertions/deletions in EST data from diploid and polyploid species. *BMC bioinformatics*, 7(1), 438.

Tomczyk, P., & Wiatkowski, M. (2020). Shaping changes in the ecological status of watercourses within barrages with hydropower schemes: literature review. *Archives of Environmental Protection*, 46(4).

Xia X & Xie Z (2001). DAMBE: software package for data analysis in molecular biology and evolution. *Journal of Heredity*, 92(4), 371-373.

Walpole JM, Morgan-Davis M, Bett P & Leader-Williams N (2001). Population dynamics and future conservation of a free-ranging black rhinoceros (*Diceros bicornis*) population in Kenya. *Biology. Conserv.* 99, 237-243.

Weir BS & Cockerham CC (1984). Estimating F statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38(6), 1358-1370.

Wright S (1965). The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 19(3), 395-420.

Yeh FC & Boyle T (1996). Popgene v1.32 Microsoft Windows based software for population genetic analysis. Edmonton: University of Alberta.

Zhang HW, Yin SW, Zhang LJ, Hou XY, Wang YY (2015). Development and validation of single nucleotide polymorphism markers in *Odontobutis potamophila* from transcriptomic sequencing. *Genetics and Molecular Research*, 14 (1), 2.

Zolet, A. C. T., Turchetto, C., Zanella, C. M., & Passaia, G. (2017). Marcadores moleculares na era genômica: metodologias e aplicações.