

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 21/07/2019.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO” –

UNESP

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS- IBB

Milena Vieira de Freitas

**Análise do DNA mitocondrial como subsídio para o pré-
melhoramento genético do pacu *Piaractus mesopotamicus***

Botucatu, São Paulo

2017

Milena Vieira de Freitas

**Análise do DNA mitocondrial como subsídio para o pré-
melhoramento genético do pacu *Piaractus mesopotamicus***

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (A.C. Zoologia), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Dr. Diogo Teruo Hashimoto

Botucatu, São Paulo

2017

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

Freitas, Milena Vieira de.

Análise do DNA mitocondrial como subsídio para
pré-melhoramento genético do pacu *Piaractus mesopotamicus*
/ Milena Vieira de Freitas. - Botucatu, 2017

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

Orientador: Diogo Teruo Hashimoto

Capes: 20406002

1. Pacu (Peixe). 2. Análise de DNA. 3. Aquicultura.
4. Melhoramento genético.

Palavras-chave: Aquicultura; Conservação; Região
controladora; Variabilidade genética.

Milena Vieira de Freitas

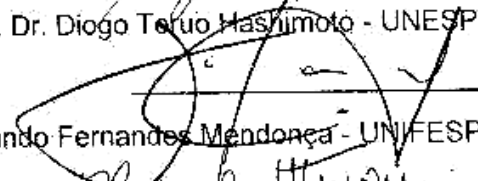
Análise do DNA mitocondrial como subsídio para o pré-
melhoramento genético do pacu *Piaractus mesopotamicus*

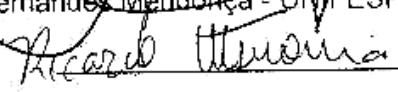
Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências
Biológicas (A.C. Zoologia), Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita
Filho", Campus de Botucatu, como parte dos requisitos para obtenção do título
de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Diogo Teruo Hashimoto

Comissão Examinadora:


Prof. Dr. Diogo Teruo Hashimoto - UNESP


Prof. Dr. Fernando Fernandes Mendonça - UNIFESP


Prof. Dr. Ricardo Utsunomia - UNESP

Botucatu, 21 de Julho de 2017.

Aos meus pais, Tereza F. Vieira e Luiz Paulo de Freitas.

A minha irmã Fabiana V. de Freitas

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter ajudado a trilhar todo o meu caminho e por ter sido a minha âncora nos momentos mais difíceis.

A minha mãe Tereza, que sempre esteve ao meu lado, me apoiando me encorajando e sempre sendo positiva, agrago a Deus por ter colocado uma mãe tão maravilhosa em meu caminho.

A minha irmã e todos os meus familiares que sempre ajudaram com incentivos e orações, muito obrigada!!

Ao meu orientador, Prof. Dr. Diogo Teruo Hashimoto pelo mestrado, por ter confiado em mim, e por todo o apoio durante o desenvolvimento do trabalho.

Ao grupo de pesquisa da Dr. Silvia Arranz (Vanina, Felipe e Juan), pela contribuição no trabalho e por toda a ajuda quando estive na Argentina.

Ao professor Fábio Porto Foresti por ter me aceitado em seu laboratório como aluna de iniciação. E a Rosangela por ter se dedicado a ensinar tudo o que eu sei hoje.

A todos os meus colegas do LaGeAC (Natália, Raquel, Ricardo, Valéria e Vito) muito obrigada por todos os momentos de descontração, pela companhia nos experimentos, e por terem feito parte deste momento da minha vida.

As minhas eternas amigas de faculdade Júlia e Giovana, que mesmo estando longe me ajudaram muito com conselhos, risadas e acima de tudo com a amizade!! Adoro vocês!!

Aos meus amigos, Xina, Thiago, Raquel, Mari, Laiza e Bruna muito obrigada pela companhia nestes anos, pelas festas, churrascos, açaís, e outras gordices deliciosas!!

Muito obrigada a todos !!!!

Nossas dúvidas são traidoras e nos fazem perder o que, com frequência, poderíamos ganhar, por simples medo de arriscar.

William Shakespeare

APOIO FINANCEIRO

A FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo auxílio da bolsa concebida (Proc. FAPESP 2015/14185-8).

RESUMO

FREITAS, M.V. **Análise do DNA mitocondrial como subsídio para o pré-melhoramento genético do pacu *Piaractus mesopotamicus***. 2017. Dissertação de mestrado – Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2017.

A aquicultura brasileira tem passado por um crescimento significativo nos últimos anos. Entretanto, o potencial de produção do país certamente será mais bem aproveitado com a utilização de produtos resultantes de melhoramento genético. O pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Characiformes, Serrasalminidae), é um peixe de ocorrência na bacia do rio Paraná-Paraguai e uma das principais espécies nativas utilizadas para a produção em aquicultura. A utilização de marcadores moleculares na piscicultura tem se mostrado fundamental, pois podem auxiliar no monitoramento genético das populações e em programas de pré-melhoramento. O objetivo deste trabalho foi realizar a análise da variabilidade genética de lotes selvagens e cultivados de *Piaractus mesopotamicus*, utilizando marcador molecular mitocondrial (Região Controladora - CR). De forma geral, os índices de diversidade se apresentaram com valores moderados ($H_{d_{sel}} = 0,692$ e $H_{d_{pisc}} = 0,711$; $\pi_{sel} = 0,0045845$ e $\pi_{pisc} = 0,00660$) e foi observada similaridade entre esses valores nas populações selvagens e cultivadas. Além disso, foi observada alta estruturação genética entre as populações selvagens e cultivadas ($F_{ST} = 0,14404$). Os baixos valores de diversidade encontrados em algumas das populações selvagens juntamente com os desvios de equilíbrio (D Tajima $p < 0,05$) podem estar relacionados a diversos fatores antrópicos que vêm influenciando as populações de pacu ao longo dos anos, tais como pressões de pesca e barramentos para geração de energia elétrica. Em relação aos lotes cultivados, alguns estoques apresentaram índices inferiores de variabilidade, que podem estar associados às diferentes técnicas de manejo nas pisciculturas, muitas vezes utilizando poucos indivíduos e endogâmicos para a formação dos plantéis. Os resultados obtidos neste trabalho aumentam as informações acerca das populações de pacu, sendo fundamentais para o desenvolvimento de futuros programas de melhoramento genético para esta espécie.

Palavras-chave: Região Controladora, Variabilidade genética, Aquicultura, Conservação

ABSTRACT

FREITAS, M.V. **Analysis of the mitochondrial DNA as subsidy for genetic pre-breeding of pacu *Piaractus mesopotamicus***. 2017. Master's dissertation - Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2017.

The Brazilian aquaculture has experienced significant growth in recent years. However, the national potential of production will certainly be better explored with the use of products resulting from breeding programs. The pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Characiformes, Serrasalminidae), is a fish of occurrence in the Paraná-Paraguay River Basin and it is one of the main native species used for production in aquaculture. The use of molecular markers in fish farming has been shown to be essential, especially for genetic monitoring of populations and pre-breeding programs. The mitochondrial molecular markers (mtDNA) have a higher rate of mutations and exclusively maternal inheritance, being useful for monitoring the genetic variability of a population and generate information about the founder stock. The objective of this study was to analyze the genetic variability of wild and cultivated stocks of *Piaractus mesopotamicus* using mitochondrial molecular marker (Control Region). In general, the diversity indexes presented moderate values ($Hd_{wild} = 0.692$ and $Hd_{farm} = 0.711$; $\pi_{wild} = 0.0045845$ and $\pi_{farm} = 0.00660$) and similarity was observed between these values in the wild and cultivated populations. In addition, high genetic structuring was observed among wild and cultivated populations ($F_{ST} = 0.14404$). The low values of diversity found in some of the wild populations together with the equilibrium deviations (D Tajima $p < 0.05$) may be related to several anthropic factors that have been influencing pacu populations over the years, such as fishing pressures and hydroelectric power dams. In relation to cultivated stocks, the lower indices of variability may be associated with different management techniques in fish farms, often using few and inbreeding individuals for the formation of the broodstock. The results obtained in this work increase the information about the populations of pacu and they are fundamental for the development of future breeding programs for this species.

Key Word: Control Region, genetic variability, aquaculture, conservation

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo 1 - Análise da diversidade e estruturação genética em populações selvagens de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) utilizando o DNA mitocondrial

Figura 1 – Áreas das populações de *Piaractus mesopotamicus*29

Figura 2 – Rede de haplótipos das populações selvagens de *P. mesopotamicus*.....33

Figura 3 – Árvore *Neighbor Joining* ao longo dos haplótipos de *Piaractus mesopotamicus*.....34

Capítulo 2 – Análise da diversidade genética em estoques cultivados de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) utilizando a região controle do DNA mitocondrial

Figura 1 – Rede de haplótipos das populações cultivadas de *P. mesopotamicus*.....57

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1 - Análise da diversidade e estruturação genética em populações selvagens de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) utilizando o DNA mitocondrial

Tabela 1 – Amostragem e parâmetros de diversidade dos indivíduos selvagens de *Piaractus mesopotamicus* 31

Tabela 2 – Matriz de F_{ST} par-a-par32

Capítulo 2 – Análise da diversidade genética em estoques cultivados de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) utilizando a região controle do DNA mitocondrial

Tabela 1 – Número amostral dos indivíduos cultivados de *P. mesopotamicus*.....51

Tabela 2 – Distribuição haplotípica ao longo dos indivíduos cultivados.....54

Tabela 3 – Índices de diversidade genética.....55

Tabela 4 – Análise de variância molecular (AMOVA)56

Tabela 5 – Matriz de F_{ST} entre os estoques cultivados.....56

Tabela 6 – Tabela de F_{ST} entre estoques cultivados e localidades selvagens57

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
1.1	Aquicultura e produção do pacu <i>Piaractus mesopotamicus</i>	11
1.2	Caracterização da espécie <i>Piaractus mesopotamicus</i>	12
1.3	Marcadores moleculares	14
1.3.1	Marcadores mitocondriais	14
1.4	Referências.....	17
2	OBJETIVOS.....	22
2.1	Objetivo Geral.....	22
2.2	Objetivos Específicos	22
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
3.1	Capítulo 1.....	24
3.1.1	INTRODUCTION	26
3.1.2	MATERIAL AND METHODS.....	28
3.1.3	RESULTS	31
3.1.4	DISCUSSION.....	35
3.1.5	REFERENCES	38
3.2	Capítulo 2.....	46
3.2.1	INTRODUÇÃO.....	48
3.2.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	50
3.2.3	RESULTADOS	52
3.2.4	DISCUSSÃO	58
3.2.5	REFERÊNCIAS	61
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	66

1 INTRODUÇÃO

1.1 Aquicultura e produção do pacu *Piaractus mesopotamicus*

Durante as últimas cinco décadas, a oferta mundial de pescado para o consumo humano teve um aumento de 3,2% (FAO, 2016). No Brasil, a média de consumo em 2013 foi em torno de 14,4 kg/ha/ano, o que já atende a recomendação da *Food and Agriculture Organization* (FAO). O aumento do consumo de pescado pode estar relacionado ao aumento da produção, redução de desperdício, melhor utilização, melhor distribuição do comércio internacional, aumento da renda e urbanização (FAO, 2016).

Em 2015, o país teve a estimativa de produção de pescado de 483.241 kg, aumento de 1,88% em relação ao ano de 2014 (IBGE, 2016). Atualmente, o Brasil conta com mais de um milhão de pescadores. Entretanto, é na aquicultura que tem mostrado sua alta capacidade e potencialidade. Segundo a FAO, a produção do Brasil poderá atingir 20 milhões kg em 2030, o que faz do país um dos maiores produtores do mundo. A fim de consolidar o Brasil como um potencial produtor de pescado, uma série de políticas públicas e investimentos foi adotada pelo extinto Ministério da Pesca e Aquicultura, como o Plano Safra da Pesca e Aquicultura, com investimento de aproximadamente 4 bilhões no setor (MPA, 2014).

No Brasil, cada região possui a sua tendência produtiva de mercado. Por exemplo, a região Norte tem como foco o tambaqui *Colossoma macropomum* e pirarucu *Arapaima gigas*; a região Nordeste, a tilápia *Oreochromis ssp.* e o camarão marinho *Litopenaeus vannamei*; o Sudeste, a tilápia e pacu *Piaractus mesopotamicus*; o Sul, carpas *Cyprinus ssp.*, tilápias e mexilhões; e, por fim, a região Centro Oeste, o tambaqui, pacu e pintado *Pseudoplatystoma ssp.* (MPA, 2015). Dentre as espécies mais cultivadas, destaca-se a tilápia e o tambaqui, que somam 73.5% da produção do país.

Porém, o cultivo de outras espécies merece destaque na produção, como é o caso do tambacu, das carpas e do pacu, que juntos representam 18.5% do total produzido.

O pacu, juntamente com o seu híbrido com a piraptinga (*Piaractus brachypomus*) (patinga), ocupam a sexta posição no *ranking* de produção brasileira e tiveram uma produção de 13. 276 kg em 2015 (IBG 2016). O pacu é a segunda espécie nativa mais representativa nas unidades produtivas, com 2.212 ocorrências. Na região Sul, a sua produção representou 92% do total de peixes redondos (tambaqui, pacu, pirapitinga e híbridos) (MPA, 2008). O destaque desta espécie não se limita no cenário nacional, pois em outros países da América Latina (Argentina) e Ásia (China, Mianmar, Tailândia e Vietnã) também possuem uma parcela significativa na produção desta espécie (Flores Nava, 2007; Honglang, 2007; FAO 2010). Na Argentina o pacu é a principal espécie produzida, correspondendo a 50% da produção total do país, onde o cultivo ocorre principalmente em regiões de clima subtropical, que inclui as províncias de *Misiones*, *Chaco*, *Formosa*, *Corrientes*, *Santa Fe*, *Entre Ríos* e *Tucumán* (Schenone *et al.*, 2011; Panné Huidobro, 2015; Valladão *et al.*, 2016)

Os principais incentivos para a produção desta espécie estão relacionados ao seu valor comercial e também a sobrepesca dos estoques naturais. O pacu foi considerado como uma espécie criticamente em perigo no Estado SP do Brasil (Decreto Estadual – Nº 56.031). Na Argentina, a pesca do pacu está proibida no rio Paraná e nas províncias de Santa Fe e *Entre Ríos* devido ao declínio da pesca. Logo, o cultivo desta espécie pela piscicultura tem sido uma alternativa para suprir a demanda do mercado e reduzir o impacto nas populações naturais devido ao alto nível de exploração pela pesca.

1.2 Caracterização da espécie *Piaractus mesopotamicus*

A espécie *Piaractus mesopotamicus*, popularmente conhecida como pacu, pacu-caranha, pacu-guaçu (Britski *et al.*, 2007), é um serrasalmídeo de importância comercial (Severi *et al.*, 1999) que está distribuído nas bacias do rio Paraná, Paraguai e Uruguai (Godoy, 1975), principalmente nas planícies do Pantanal (Petrere, 1989). É um peixe de ambientes lóticos e semi-lóticos (Agostinho *et al.*, 2004), que alcança a sua maturidade sexual em cerca de três anos e que necessita percorrer grandes distâncias migratórias para a reprodução, com a sua desova ocorrendo geralmente no mês de novembro (Ferraz de Lima *et al.*, 1984). Apresenta corpo ovulado e robusto, com a região dorsal cinza escura e a ventral amarelada (Britski *et al.*, 2007).

O pacu pode alcançar 7 kg e atingir entre 60 a 80 cm de comprimento (Vazzoler *et al.*, 1997; Britski *et al.*, 2007). Esta espécie ocupa uma posição de destaque na pesca comercial e esportiva (Catella *et al.*, 2001; Resende, 2003). Entretanto, seus estoques naturais vêm diminuindo devido principalmente a sobrepesca e as destruições no habitat (Resende 2003). Devido ao seu manejo facilitado e fácil adaptabilidade a alimentação artificial (Carneiro *et al.*, 1995), o pacu é extensivamente utilizado em programas de aquicultura, sendo uma das espécies mais cultivadas no Brasil (IBGE, 2016).

O pacu é considerado um dos peixes nativos mais estudados da aquicultura brasileira, principalmente sob aspectos de reprodução, larvicultura, engorda, nutrição e parasitologia (Urbinati *et al.*, 2005). Entretanto, com relação ao melhoramento e genética, há poucos dados disponíveis e limitados a aspectos de hibridação interespecífica. Desta forma, a aplicação de ferramentas genéticas para o pacu poderá acelerar e maximizar a produção sustentável deste pescado, principalmente se estas tecnologias forem desenvolvidas e direcionadas para aplicação rotineira em programas de manejo, conservação e melhoramento genético.

1.3 Marcadores moleculares

A utilização de caracteres morfológicos associados com o uso de marcadores moleculares tem uma aplicabilidade eficiente na genética de peixes. Os marcadores moleculares têm sido amplamente utilizados na caracterização da biodiversidade e no estudo de estruturação genética da ictiofauna. Além disso, análises relacionadas a diversidade genética em populações de cultivo também tem sido realizadas com o uso de marcadores (Portela & Huerta, 2007). Dentre os marcadores moleculares, as sequências de DNA mitocondrial são destaques e se mostram uma poderosa metodologia para estudos de variação genética inter e intra-espécies (Avisé, 2004).

O uso dos marcadores moleculares, tanto mitocondrial como nuclear, começou na caracterização de bancos genéticos de peixes na década de 80 (Avisé, 1994; Avisé & Hamrick, 1996; Smith & Wayne, 1996; Calcagnotto, 1998). As principais vantagens deste método estão relacionadas ao menor número de indivíduos necessários para a realização das análises, maior poder de resolução e obtenção de amostras por meio de técnicas não invasivas, tais como sangue, escamas e pedaços de nadadeiras, além da obtenção de informações genéticas de materiais preservados em álcool há muitos anos (Avisé 1994; Avisé & Hamrick, 1996; Smith & Wayne, 1996). Outra vantagem é a possibilidade de amplificação de fragmentos de DNA por meio do método de reação em cadeia da polimerase (*Polymerase Chain Reaction* - PCR).

1.3.1 Marcadores mitocondriais

O DNA mitocondrial (mtDNA) consiste em uma fita pequena, dupla e circular, responsável pela codificação de 5% do funcionamento mitocondrial (Nahum, 2012). Nos animais vertebrados, o mtDNA é composto por aproximadamente 16.500 pb, com 37 genes codificantes (Meyer, 1993) e 2 regiões não codificantes, sendo elas a Região

Controladora (CR) e OriL (Portela & Huerta, 2007). Além de estar presente em praticamente todos os eucariotos, o DNA mitocondrial apresenta herança exclusivamente materna e uma taxa de mutação superior a de genes nucleares, que pode ser em até quatro vezes. Por isso, têm demonstrado serem marcadores eficientes em estudos evolutivos e filogenéticos (Margulis, 1996).

Nas regiões não codificadoras, presentes nos extremos da região controle, as taxas de evolução são superiores se comparadas as que ocorrem no restante da molécula. Estas alterações fazem com que ocorra a formação de múltiplos alelos, denominados de haplótipos, que podem ser ordenados filogeneticamente dentro de uma mesma população, auxiliando nas relações filogenéticas intrapopulacionais ou genealogias (Awise, 1994). A região D-loop, também conhecida como região controle, está localizada entre dois genes de RNAs transportadores. Esta região apresenta uma elevada taxa mutacional em relação a outras regiões do próprio DNA mitocondrial e em relação ao DNA nuclear (Meyer, 1993). Por possuir uma alta variação em seu tamanho, é responsável pela maior parte das variações que ocorrem no genoma mitocondrial, característica que torna o seu uso eficaz em estudos populacionais (Aquadro & Greenberg, 1983; Harrison *et al.*, 1985; Brown *et al.*, 1993).

A sua transmissão materna disponibiliza informações sobre as linhagens maternas fundadoras de estoques de peixes, o que o torna um marcador único, quando comparado com os marcadores tipicamente nucleares SSR (*simple sequence repeats*) e SNP (*Single nucleotide polymorphism*). As principais vantagens do mtDNA estão relacionadas a sua herança predominantemente materna, frequência baixa de rearranjo por recombinação, inversões ou transposições e taxas altas de substituições, inserções e deleções, que fazem com que as modificações neste genoma ocorram de cinco a dez

vezes mais rapidamente do que as modificações que ocorrem no DNA nuclear (Taberlet, 1996).

Vários são os estudos relacionados com peixes Neotropicais que utilizaram a região controle (CR) do mtDNA. Em Martins *et al.* (2003), foram estudadas populações de *Leporinus elongatus* pertencentes a bacia do Paraná, observando uma alta variabilidade genética intrapopulacional, bem como a presença de haplótipos exclusivos. Sivasunder *et al.* (2001), no estudo de populações de *Prochilodus lineatus* da bacia do Paraná, concluíram uma alta homogeneidade genética entre as populações e a presença de haplótipos similares distantes.

Em relação aos estudos do mtDNA em pacu, por meio de RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), Calcagnotto (1998) utilizou fragmentos aleatórios do mtDNA para a caracterização de estoques selvagens, observando uma baixa variabilidade genética nos estoques selvagens analisados. Sobre estudos da região controle, Iervolino *et al.* (2010) utilizaram este marcador para identificar a distribuição e a variação genética dentro de populações de pacu na Bacia do Alto Paraguai. Neste último estudo, foi verificada uma falta de estrutura genética do pacu em estoques selvagens do Pantanal, o que dá indício de ser uma população panmítica. A respeito de estoques cultivados, aplicação deste tipo de marcador ainda não está disponível, o que mostra a necessidade de se realizar estudos dirigidos para o melhoramento genético.

Vários fatores são importantes para que os programas de melhoramento conduzam a ganhos genéticos expressivos e duradouros. Dentre eles, é fundamental realizar um adequado programa de pré-melhoramento, por meio da avaliação da variabilidade genética inicial, que evitará os problemas do estreitamento da base genética de certos estoques (Ponzoni, 2006). Estudos de variabilidade por meio de marcadores moleculares efetivos, como o mtDNA, 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).

1.4 Referências

- AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C.; VERÍSSIMO S.; OKADA, E. K. Flood regime, dam regulation and fish in the Upper Paraná River: effects on assemblage attributes, reproduction and recruitment. Reviews in **Fish Biology and Fisheries.**, v.14, p.11–19. 2004.
- AQUADRO, C.F.; GREENBERG. B.D. Human mitochondrial DNA variation and evolution: Analysis of nucleotide sequences from seven individuals. **Genetics.**, v.103, p.287-312, 1983.
- AVISE, J. C. **Molecular markers, natural history and evolution.** Chapman & Hall., New York, 1994.
- AVISE, J.C.; HAMRICK, J.L. **Conservation genetics.** Chapman & Hall., New York, p.502, 1996.
- BRITSKI, H.A.; SILIMON, K.Z.S.; LOPES, B.S. **Peixes do Pantanal: Manual de identificação.** Brasília. EMBRAPA, 2007. 227p.
- BROWN, J.R.; ANDREW, T.B.; SMITH, M.J. Intraespecific DNA sequence variation of the mitochondrial control region of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). **Molecular Biology and Evolution.**, v.10, n.2, p.326-341, 1993.

- CALCAGNOTTO, D. **Caracterização de Bancos Genéticos Selvagens de Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e de Tambaqui (*Colossoma macropomum*) Através da Análise do DNA Mitocondrial**. 1998. Tese (Doutorado) - Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.
- CARNEIRO, D.J., WAGNER, P.M., DIAS, T.C.R. Efeito da densidade de estocagem e do nível de proteína bruta da dieta, no desempenho de produção do pacu, (*Piaractus mesopotamicus*). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 7, 1992, Peruíbe. *Anais...*Jaboticabal: CAUNESP, 1995. p.52-61.
- CATELLA, A.C. **Pesca no pantanal do Mato Grosso do Sul, Brasil: descrição, nível de exploração e manejo (1994-1999)**. 2001. Tese (Doutorado) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Universidade do Amazonas, Manaus, 2001.
- FAO, 2010. The State of World Fisheries and Aquaculture 2010. FAO. Rome, Italy.
- FAO. Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação. **The state of world fisheries and aquaculture**, 2016. Disponível em: <<http://www.fao.org/fishery/sofia/en>>. Acesso em 26 de Janeiro 2017.
- FERRAZ DE LIMA, J. A.; BARBIERI, G.; VERANI, J.R. Período de reprodução e idade da primeira maturação gonadal do pacu (*Colossoma mitrei*) em ambiente natural, (Rio Cuiabá, - Pantanal de Mato Grosso). *Anais do III Simpósio Brasileiro de Aquicultura*, São Carlos, SP, 1984
- FLORES NAVA, A. Aquaculture seed resources in Latin America: a regional synthesis. In: FAO Fisheries Technical Paper No 501. Assessment of freshwater fish resources for sustainable aquaculture. Bondad-Reantaso MG (ed). 2007
- GODOY, M. P. Dez anos de observações sobre periodicidade migratória de peixes do Rio Mogi-Guaçu. **Revista Brasileira de Biologia**, n. 27, p. 1-12, 1967.

- HONGLANG, H., 2007. Freshwater fish seed resources in China. In: Bondad-Reantaso, M.G., FAO Fisheries Technical Paper. Assessment of freshwater fish seed resources for sustainable aquaculture. Rome, Italy, p. 628.
- IBGE (2016) Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rio de Janeiro: **Produção da Pecuária Municipal**, 2015. v. 43
- IERVOLINO, F.; RESENDER, E.K.; HILSDORF, A.W.S. 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.**, v.101, p.27–31. 2010.
- MARGULIS, L. Archenal-eubacterial mergens in the origin of Eukarya: phylogenetic classification of life. **Proceedings of national academy of sciences: USA**, 1996. v.93, n.3, p.1071-6.
- MARTINS, C.; WASKO, A. P.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Mitochondrial DNA variation in wild populations of *Leporinus elongatus* from the Paraná River basin. **Genetics and Molecular Biology.**, v.26, n.1, p. 33 – 38, 2003.
- MEYER, A. Evolution of mitochondrial DNA in fishes. In: HOCHACHKA & MOMMSEN, **Biochemistry and molecular biology of fishes**, Elsevier., v.2., 1993.
- MPA - Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura**, 2011.
- MPA – Ministério da Pesca e Aquicultura. **Censo Aquícola Nacional**. 2008.
- MPA - Ministério da Pesca e Aquicultura. **Potencial brasileiro**, 2014. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/aquicultura/potencial-brasileiro>>. Acesso em: Jun. 2015.
- NAHUM, L.A. Evolução dos genomas. In: MATIOLI. **Biologia Molecular e Evolução**. Ribeirão Preto: Ed. Holos, 2012.

PANNÉ HUIDOBRO, S. 2015. Producción por Acuicultura en Argentina en el 2015.

Informe de la Dirección de Acuicultura Dirección Nacional de Planificación
Pesquera Subsecretaría de Pesca y Acuicultura Ministerio de Agroindustria.

Disponível em

<http://www.agroindustria.gob.ar/site/pesca/acuicultura/06_Publicaciones/_archivo/s/160526_Producci%C3%B3n%20por%20Acuicultura%20en%20Argentina%20durante%20el%20a%C3%B1o%202015.pdf>

PONZONI, R.W. Genetic improvement effective dissemination: Keys to prosperous and sustainable aquaculture industries. In: PONZONI, R.W.; ACOSTA, B.O.; PONNIAH, A.G. **Development of Aquatic Animal Genetic Improvement and Dissemination Programs: current status and action plans**. Penang: WorldFish Center, 2006.

PORTELA, P.M. & HUERTA, A.F. **Genética y Genómica**. Madrid, 2007.

RESENDE, E.K. Migratory fishes of the Paraguay-Paraná Basin Excluding the Upper Paraná River. In. CAROLSFELD J., HARVEY B., ROSS C., BAERS A. **Migratory fishes of South America: biology, fisheries and conservation states**. Victoria: World Bank, 2003. p. 99-155.

SÃO PAULO. 2010. Decreto nº 56.031, Lista das Espécies da Fauna Silvestre Ameaçadas de Extinção do Estado de São Paulo. Assembléia Legislativa do Estado de São Paulo.

SIVASUNDAR, A.; BERMINGHAM, E.; GUILHERMO, O. Population structure and biogeography of migratory freshwater fishes (Prochilodus: Characiformes) in major south american rivers. **Molecular Ecology**., v.10, p.407-417. 2001.

SMITH, T.B. e WAYNE, F.W. **Molecular genetic approaches in Conservation**. New York: Oxford University Press, 1996. p.483

- TABERLET, P. The use of mitochondrial DNA control region sequencing in conservation genetics. In: SMITH, T. B. & WAYNE, R. K. **Molecular Genetic Approaches in Conservation**, Oxford University Press, 1996. p. 125-142,
- URBINATI, E.C.; GONÇALVES, F. D. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). In: BALDISSEROTTO B. & GOMES L.C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: ED. da UFSM. 2005. p. 468.
- VALLADÃO, G.M.R.; GALLANI, S.U.; PILARSKI, F. South American fish for continental aquaculture. **Reviews in Aquaculture**. 2016
- VAZZOLER, A.E.A.M.; SUZUKI, H.I.; MARQUES, E.E.; LIZAMA, M. DE. LOS. A. Primeira maturação gonadal, períodos e áreas de reprodução. In: VAZZOLER, A. A. AGOSTINHO, N. S. **A planície de inundação do alto rio Paraná: aspectos físicos, biológicos e sócio econômicos**. Paraná: Hahn, 1997. p. 249-265.

4 **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

- A região controle (CR) do DNA mitocondrial se mostrou eficiente para avaliar os níveis de diversidade do pacu nas populações selvagens e cultivadas
- As populações selvagens se apresentaram estruturadas e com diversidade genética moderada
- As barragens hidrelétricas e a sobrepesca podem ser fatores que estejam influenciando a diversidade genética desta espécie na Bacia do rio Paraná
- Antigas barreiras naturais (*Salto del Guaira*) pode ter influenciado a estrutura genética do pacu na bacia do Rio Paraná
- As populações cultivadas de pacu apresentaram diferentes padrões de diversidade genética
- De forma geral as populações cultivadas e as matrizes de melhoramento apresentaram valores próximos de diversidades às populações naturais
- Os plantéis se encontraram com alta estruturação genética entre eles, e entre as populações selvagens
- As diferentes práticas de manejo podem estar influenciando a diversidade genética dos lotes cultivados do pacu

