



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

Padrões de migração de *Salminus brasiliensis* (Characiformes,
Characidae, Salmininae) no rio Mogi Guaçu utilizando
marcadores genéticos moleculares

Ronald Ribeiro Alves

Botucatu - SP

2018



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU
Departamento de Morfologia
Laboratório de Biologia e Genética de Peixes

Padrões de migração de *Salminus brasiliensis* (Characiformes,
Characidae, Salmininae) no Rio Mogi Guaçu utilizando
marcadores genéticos moleculares

Doutorando: Ronald Ribeiro Alves

Orientador: Prof. Dr. Fausto Foresti

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Genética) do Instituto de Biociências de Botucatu da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do título de doutor.

Botucatu - SP

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Alves, Ronald Ribeiro.

Padrões de migração de *Salminus brasiliensis* no Rio Mogi Guaçu utilizando marcadores genéticos moleculares / Ronald Ribeiro Alves. - Botucatu, 2018

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu
Orientador: Fausto Foresti
Capes: 20204000

1. Peixe - Genética. 2. Marcadores genéticos. 3. Peixe - Migração. 4. Microssatélites (Genética). 5. Moji-Guaçu, Rio (MG e SP).

Palavras-chave: Mogi Guaçu; *Salminus*; marcadores moleculares; microssatélites; migração.

“Educação é como uma moeda de ouro. É válida em todo o mundo”

Padre Antônio Vieira

*Essa tese é dedicada aos meus pais e aos professores que atuaram na minha
formação educacional.*

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Fausto Foresti, pela confiança e oportunidade de trabalhar ao lado de um pesquisador único.

Ao Prof. Dr. Claudio de Oliveira, pela oportunidade e colaboração.

Aos colegas do Laboratório de Biologia e Genética de Peixes de Botucatu, pelos momentos divertidos e pelos ensinamentos teóricos e práticos.

Ao programa de Pós-Graduação em genética pela excelência em nossa formação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela concessão pelo suporte financeiro do projeto.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela concessão da bolsa.

Aos colegas do IFSP que se dispuseram a ajudar no cumprimento do meu trabalho.

À toda equipe do Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Peixes Continentais -ICMBio de Pirassununga, pela colaboração e doação das amostras utilizadas neste estudo.

À Ivana F. Da Rosa, pela enorme contribuição na bancada.

À Daniela Oliveira, sempre me incentivando e dedicando seu tempo às minhas dúvidas e dificuldades, é inenarrável o seu auxílio na produção desta tese.

À minha esposa Soraia, pela compreensão, carinho e dedicação.

Resumo

Os processos migratórios realizados por diferentes espécies animais com finalidades tróficas ou reprodutivas tem despertado grande interesse por parte dos pesquisadores há várias décadas. Entre as espécies de grande importância nestes ambientes, *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816) se caracteriza como um peixe migrador de ampla distribuição em território brasileiro, principalmente na bacia do Prata, constituída pelos rios Paraná, Paraguai e Uruguai, onde pode atingir grande tamanho. Assim, estudos que visam proporcionar melhores condições de manejo e sua conservação são muito importantes. Neste contexto, as alterações antropogênicas que afetam a espécie *S. brasiliensis* e a falta de informação que dificultam estratégias eficazes de manejo e conservação, o presente estudo teve como objetivo investigar a variabilidade genética e a estrutura genética das populações migratórias e residentes de *S. brasiliensis* da bacia do Rio Mogi Guaçu, a partir de amostragem realizada no período de 2008, 2009, 2010 e 2015, tendo como ferramenta a aplicação de técnicas de genética molecular. Os resultados obtidos indicaram altos níveis de variabilidade genética em todos os grupos amostrados, sendo que a heterozigosidade observada (H_o) variou de 0,59 a 0,67 e a heterozigosidade esperada (H_e) variou de 0,70 a 0,74. A Análise da Variância Molecular (AMOVA) revelou baixa estruturação genética em todos os grupos ($F_{ST} = 0,0072$), nas quais a maior fonte de variabilidade genética foi verificada entre os indivíduos (85,98%). No entanto, a análise de F_{ST} em pares mostrou diferenças sutis na variabilidade genética, uma vez que foi verificada uma variação de $F_{ST} = 0,025$; $p < 0,05$ entre os grupos residentes (2008/2015) e de $F_{ST} = 0,026$; $p < 0,05$ entre os grupos migratórios (2009/2010) e o grupo residente (2015). Embora os estoques analisados desta espécie apresentem altos níveis de variabilidade genética, por conta do número de alelos, não pode ser descartada a possibilidade de que mudanças ambientais possam afetar essa variabilidade genética existente. Assim, a possibilidade de uma redução populacional não pode ser excluída devido à perda de alelos e ao aumento da pressão seletiva, em decorrência da instalação de novos projetos nestes ambientes e caso venham a interferir negativamente na dinâmica reprodutiva da espécie, poderá ocorrer a perda do fluxo gênico, com consequente aumento da endogamia, fatores que são prejudiciais ao equilíbrio genético populacional. Neste sentido, considera-se que estudos aprofundados e continuados sobre a estrutura e a dinâmica das populações desta espécie são necessários neste ambiente, visando adicionar informações que possam estimar e prever condições para sua sustentação, podendo, do mesmo modo, contribuir, assim, para a conservação de outras espécies de peixes deste ecossistema.

Abstract

The migratory processes carried out by different animal species for trophic or reproductive purposes have aroused great interest on the part of researchers for several decades. Among the species of great importance in these environments, *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816) is characterized as a migratory fish of wide distribution in Brazilian territory, mainly in the Prata basin, constituted by the rivers Paraná, Paraguay and Uruguay, where it can reach large size. Thus, studies aimed at providing better management conditions and its conservation is important and well received. In this context, considering the anthropogenic changes that affect the *S. brasiliensis* species and the lack of information that allow effective management and conservation strategies, this study aimed to investigate the genetic variability and genetic structure of the migratory and resident populations of *S. brasiliensis* from the Mogi Guaçu River basin, based on sampling carried out from 2008 to 2015 using as a tool the application of molecular genetic techniques. The results indicated high levels of genetic variability in all the sampled groups and the observed heterozygosity (H_o) varied from 0.59 to 0.67 while the expected heterozygosity (H_e) ranged from 0.70 to 0.74. Molecular Variance Analysis (AMOVA) revealed low genetic structure in all groups analyzed ($F_{ST} = 0.0072$), in which the greatest source of genetic variability was observed in comparisons among individuals (85.98%). However, the analysis of F_{ST} in pairs showed subtle differences in genetic variability, since it was found a variation of $F_{ST} = 0.025$; $P < 0.05$ between the resident groups (2008/2015), and of $F_{ST} = 0.026$; $P < 0.05$ between the migratory groups (2009/2010) and the resident group (2015). Although the analyzed stocks of this species showed high levels of genetic variability, the possibility that environmental changes can affect this genetic variability cannot be ruled out. Thus, the possibility of a population reduction cannot be excluded due to loss of alleles and selective pressure increase, due to the installation of new projects in these environments. These facts certainly will negatively interfere in the reproductive dynamics of the species, gene flow, with a consequent increase in inbreeding, factors that are detrimental to the population genetic balance. In this sense, it is considered that in-depth and continuous studies on the structure and dynamics of the populations of this species are necessary in this environment, aiming at adding information that can estimate and predict conditions for being able its sustentation, and in the same way contributing to the conservation of other species in the ecosystem.

Sumário

| | |
|---|------|
| Resumo..... | vii |
| Abstract..... | viii |
| Lista de figuras..... | x |
| Lista de tabelas..... | xi |
| 1 Introdução | 1 |
| 1.1 A migração como um fenômeno biológico e comportamental | 1 |
| 1.2 Estudos genéticos populacionais em peixes migradores | 4 |
| 1.3 A espécie <i>Salminus brasiliensis</i> (Cuvier, 1816) | 8 |
| 1.4 O Rio Mogi Guaçu e sua importância para manutenção da ictiofauna do Alto Paraná..... | 11 |
| 2 Objetivos | 14 |
| 3 Materiais e Métodos..... | 16 |
| 3.1 Área de estudo e coleta do material biológico..... | 16 |
| 3.2 Amplificação dos locus microssatélites e análise..... | 18 |
| 4 Resultados..... | 22 |
| 5 Discussão | 28 |
| 5.1 Diversidade genética de migradores e residentes de <i>Salminus brasiliensis</i> | 28 |
| 5.2 Análises genético-populacionais de <i>S. brasiliensis</i> | 32 |
| 5.3 F_{ST} par a par..... | 33 |
| 6 Conclusões..... | 39 |
| 7 Referências..... | 42 |

Lista de Figuras

- Figura 1: Foto de exemplar adulto de *Salminus brasiliensis* Cuvier, 1816 (Fonte: Garcia 2006)9
- Figura 2: Localização da bacia do Rio Mogi Guaçu no Estado de São Paulo, com a área de pesca na região da Cachoeira de Emas, destacada em vermelho. Os triângulos representam as principais usinas hidroelétricas deste sistema hidrográfico (Fonte: CBH-Mogi e CREUP)17

Lista de Tabelas

| | | |
|-----------|---|----|
| Tabela 1: | Primers utilizados para genotipagem dos loci microssatélites do dourado, <i>S. brasiliensis</i> | 19 |
| Tabela 2: | Dados de genéticos de nove loci microssatélites utilizados nas análises de cada grupo de <i>S. brasiliensis</i> . N = número de indivíduos; Na = número de alelos; Ho = heterozigosidade observada; He = heterozigosidade esperada; FIS = índice de fixação (endogamia); HWE = valores probabilísticos de concordância com o equilíbrio de Hardy-Weinberg; * = $P \leq 0,005$ ajustados com a correção de Bonferroni..... | 23 |
| Tabela 3: | Dados de médias de nove loci microssatélites utilizados nas análises de cada grupo de <i>S. brasilienses</i> . N = número de indivíduos; Na = número de alelos; Ho = heterozigosidade observada; He = heterozigosidade esperada; FIS = índice de fixação (endogamia); HWE = valores probabilísticos de concordância com o equilíbrio de Hardy-Weinberg; * = $P \leq 0,005$ ajustados com a correção de Bonferroni..... | 25 |
| Tabela 4: | Dados de médias de nove loci microssatélites utilizados para análises de <i>S. brasilienses</i> ; FIS = índice de fixação (endogamia); * = $P \leq 0,005$ ajustados com a correção de Bonferroni..... | 26 |
| Tabela 5: | Análise de variância molecular (AMOVA) para os diferentes cardumes de <i>S. brasiliensis</i> , através de marcadores microssatélites..... | 27 |
| Tabela 6: | Índices de diferenciação genética R_{ST} total entre populações migradoras e residentes de <i>S. brasiliensis</i> identificados com base no modelo SMM, método de distância calculado pelo quadrado da soma da diferença de tamanho (R_{ST})..... | 27 |
| Tabela 7: | Resultados das comparações do F_{ST} par a par entre as populações de <i>S. brasiliensis</i> amostradas utilizando os loci microssatélites..... | 27 |

1 Introdução

1.1 A migração como um fenômeno biológico e comportamental

A migração é um fenômeno generalizado em todo o reino animal, permitindo que as populações tirem proveito de condições forrageáveis e condições de reprodução temporariamente previsíveis em habitats discretos que não podem ser usados simultaneamente (Dingle, 2014). Sendo assim, este processo reúne um conjunto complexo de características fisiológicas, morfológicas e comportamentais que atuam em conjunto com estímulos ambientais, promovendo o deslocamento de animais ao longo de grandes distâncias com diferentes objetivos biológicos (Dingle, 2006; Dingle e Drake, 2007), traduzidos em eventos relacionados à alimentação, reprodução, entre outros. No entanto, como muitas espécies migradoras enfrentam desafios fisiológicos e ambientais semelhantes na realização deste processo ao longo de sua história de vida, é suposto que vários dos traços associados tenham surgido através de mecanismos evolucionários convergentes (Dingle, 2006).

Dada à complexidade do processo migratório e seu importante papel na manutenção e equilíbrio de uma comunidade, simplesmente documentar a presença e a duração desse processo é insuficiente (Cooke et al. 2008). Sendo assim, ressalta-se a importância de sanar dúvidas referentes aos processos de migração, entre as quais podem ser relacionadas informações sobre a compreensão dos mecanismos fundamentais que permitem que algumas espécies de peixes migrem grandes distâncias, quais os fatores que estimulam o comportamento migratório e porque as espécies denominadas “migradoras” apresentam grupos residentes (Cooke et al. 2008), tendo como ponto importante neste contexto a discussão sobre como os indivíduos se agrupam para realizar os processos migratórios.

Apesar do interesse que as espécies migradoras despertam há várias décadas e das pesquisas já realizadas, aspectos básicos deste comportamento, da ecologia e da genética de muitas espécies ainda permanecem desconhecidos e independentes. Portanto, pode ser considerado que a compreensão dos mecanismos de migração, sob um ponto de vista genético, poderá fornecer informações que certamente também irão contribuir para um melhor conhecimento sobre as bases deste importante processo em diversos táxons (Dingle, 2006).

Espécies migradoras geralmente possuem grande porte, reproduzem-se em intervalos discretos, realizam desova total (Vazoller 1996; Lowe-McConnell 1999) e são alvos preferenciais da pesca comercial e desportiva (Zaniboni-Filho & Schutz 2003). Estes movimentos das populações e espécies no ambiente produzem efeitos ecológicos e genéticos nas comunidades aquáticas e em suas populações (Melo et al. 2013; Ribolli et al. 2017). Ao se moverem, os cardumes de peixes modificam o ambiente, pois transportam energia e nutrientes ao longo de regiões com diferentes condições tróficas em uma mesma bacia (Taylor et al. 2006), proporcionam expressivas alterações sazonais nas densidades populacionais (Berdahl et al. 2017), bem como podem alterar o equilíbrio das frequências gênicas de populações geograficamente separadas (Ridley, Begon, 2006). Sendo assim, compreender a estrutura populacional de peixes que desenvolvem tais processos de migração pode trazer informações importantes para a determinação de formas de manejo e de estratégias de conservação de diferentes espécies nos rios e bacias hidrográficas (Shaklee & Bentzen 1998).

Em ecossistemas com populações espacialmente estruturadas e com altos níveis de regiões de fidelidade, a degradação e a exploração do habitat em uma única área pode acarretar fortes efeitos sobre a população local. Entretanto, esses efeitos

também afetam as populações adjacentes (Kell et al. 2009). No que se refere às populações que possuem a estratégia de realizar amplos deslocamentos e desenvolvem o processo de reprodução em larga escala, os efeitos das alterações ambientais podem ocorrer em uma única população, em um determinado tempo ou período. No entanto, outras populações podem ser prejudicadas por expressivas alterações devido a perdas na capacidade de realizar efetivamente a promoção do fluxo gênico. Assim, pode ser considerado que o entendimento de fatores como a complexidade das características de cada população, as variações existentes nas características de cada população e entre as populações, bem como a sua dinâmica, podem ser a chave e atuarem como instrumentos determinantes para manter a função do ecossistema (Hilborn et al. 2003; Schindler et al. 2010).

Numa população podem existir características que diferenciem os indivíduos migradores dos indivíduos residentes e fazer com que eles exibam estratégias específicas que variam de acordo com o tempo (Pulido et al. 2001), velocidade (Hanson et al. 2008), distância (Hess et al. 2014) e destino da migração (Lyons et al. 2012). Os atributos do comportamento da migração provavelmente estão ajustados dentro das populações para conferir a melhor forma física para cada habitat em particular (Hess et al. 2016). Os mecanismos genéticos podem operar e gerar variações neste comportamento migratório e, sendo assim, estudos desta arquitetura certamente poderiam melhorar nossa compreensão de uma variedade de diferentes peixes migradores que constituem a grande biodiversidade encontrada na região Neotropical (Hess et al. 2016). Deste modo, um grupo de peixes anádromos representa uma excelente oportunidade para expandir esse entendimento, tendo em vista a diversidade de traços migratórios da história da vida (Bronmark et al. 2013) e

a disponibilidade de recursos para estudo dessas espécies devido ao seu alto valor cultural e econômico (Hess et al. 2016).

Uma alta variação tem sido encontrada entre os grupos que formam a biologia populacional dos peixes migradores sendo, então, importante identificar se nos esforços de gestão e conservação a serem realizados, as populações locais devem ser tratadas como unidades discretas ou simplesmente como uma única população regional. Neste sentido, a aplicação de técnicas de genética molecular pode se constituir numa importante ferramenta de identificação dos estoques e das características particulares de cada população.

1.2 Estudos genéticos populacionais em peixes migradores

A descrição da existência de variações genéticas no DNA mitocondrial ocorrida a partir do início de 1980 lançou as bases para o campo da filogeografia, que proporcionou um olhar mais profundo nas relações e conectividades entre as populações (Avice et al. 1987). O desenvolvimento de marcadores moleculares do tipo microssatélite na década de 1990 forneceu meios muito mais poderosos para descrever a variação genética em loci nucleares, incluindo a capacidade de detectar gargalos ocorridos no passado e estimar o tamanho efetivo populacional atual a partir de uma única amostra temporal. Na primeira década de 2000, a introdução de metodologias que permitiram a identificação de polimorfismos de nucleotídeo único apresentou um novo salto qualitativo e quantitativo nas análises, expondo uma riqueza de loci que melhoraram acintosamente a capacidade de estimar as características genéticas e populacionais em diferentes espécies, que se constituem em parâmetros importantes para o estabelecimento de estratégias de conservação. Atualmente, os estudos em genética de populações permitem detectar regiões do

genoma que são afetadas pela seleção natural, como por exemplo certas características referentes às adaptações ao ambiente, depressão demográfica e endogamia (Allendorf, 2017).

O estudo da genética de peixes é relevante em diversas situações, sobretudo em relação aos processos reprodutivos, tendo papel fundamental na conservação de populações selvagens onde pode ser avaliado o impacto determinado por mudanças no ambiente sobre as populações naturais (Allendorf, 2017). Dentre os diversos marcadores moleculares existentes, os microssatélites, também chamados de SSR (Simple Sequence Repeats) apresentam uma série de características desejáveis em estudos genéticos por serem de característica codominante, ou seja, permitem a distinção entre indivíduos homocigotos e heterocigotos numa amostra, o que os torna, portanto, altamente informativos (Christiakov et al. 2006; Allendorf, 2017).

Apesar da grande quantidade de estudos já publicados sobre os processos de migração em peixes realizados nos últimos 70 anos, na maior parte deles têm sido abordados principalmente dados ecológicos, fisiológicos e comportamentais (Agostinho et al. 2003; Cooke et al. 2008; Ramenofsky e Wingfield, 2017). Aspectos genéticos das espécies e populações começaram a ser referidos somente a partir da utilização de diferentes marcadores genéticos que foram desenvolvidos nos últimos anos e, dentre as aplicações destes marcadores, ressalta-se sua utilização nos estudos de genética de populações (Sivasundar et al. 2001; Okazaki et al. 2017), fornecendo dados de variabilidade e estrutura genética populacional, taxas de fluxo gênico e números efetivos relativos aos complexos populacionais envolvidos nos processos de migração (Ferreira et al. 2017; Ribolli et al. 2017). Embora o avanço na obtenção de informações neste tipo de pesquisa que utiliza a genética molecular como ferramenta seja cada vez mais rápido, estudos populacionais que esclareçam a dinâmica

comportamental entre peixes migradores e residentes nas espécies da região Neotropical ainda são escassos. Devido a esse fato, tal fenômeno ainda não está totalmente esclarecido, faltando, portanto, dados robustos sob o ponto de vista genético-populacional.

A grande aplicabilidade dos marcadores microssatélites em estudos com peixes vem sendo evidenciada pelo aumento da quantidade de artigos disponíveis na literatura referentes ao isolamento e caracterização desses marcadores (Hiltsdorf e Hallerman, 2017). Trabalhos utilizando este tipo de marcador em peixes têm abordado aspectos da variabilidade genética e da estrutura de populações, com inferências sobre conservação e manejo das espécies, estudos de padrões de migração, diferenciação de estoques cultivados, evidências de introgressão genética, sistemas reprodutivos, efeitos de fragmentação de ambientes, relações filogenéticas entre táxons relacionados, entre outros (Hiltsdorf et al. 2011; Barroca et al. 2012; Sanches et al. 2012; Ashikaga et al. 2015; Ferreira et al. 2017; Ribolli et al. 2017).

Utilizando tais marcadores genéticos, Lane e colaboradores (2016) obtiveram um dado importante na definição de estoques pesqueiros, pois identificaram cada caráter herdado que é compartilhado entre os indivíduos que fazem parte do mesmo processo reprodutivo. Marcadores de DNA do tipo microssatélite nuclear também são usados para a identificação das variações promovidas pelas ações antrópicas, por serem bilateralmente herdados, permitindo que múltiplos loci independente sejam amostrados e analisados, o que lhes dá altos níveis de poder estatístico para elucidar padrões genéticos de escalas populacionais (Bentzen et al. 1996). Além disso, utilizando esses marcadores no manejo e preservação das populações, é possível manter ou controlar os níveis de variação genética e preservar a elasticidade

evolutiva de uma espécie, visando sua conservação (Kenchington et al. 2003; Kardos et al. 2016).

O uso de genótipos individuais como unidades de análise, realizado de modo inverso àquele de estimar as frequências de uma 'população' em grupos arbitrários de indivíduos coletados na mesma área geográfica, deu origem ao campo da genética da paisagem (Manel et al. 2003). Essa abordagem usa genótipos e tem por base o indivíduo para descrever padrões genéticos, como por exemplo, a existência de certas discontinuidades espaciais, para identificar os limites da população ou dos indivíduos do grupo em subpopulações, usando softwares apropriados (Pritchard et al. 2000). Isso é feito por meio de análises específicas que utilizam indivíduos com genótipos semelhantes de cluster juntos, minimizando as partidas de proporções de desequilíbrio gamético de Hardy-Weinberg dentro de grupos considerados menores, subpopulações. Esta abordagem tem sido usada de modo eficaz para identificar populações crípticas, bem como identificar os padrões e o fluxo gênico entre as populações (Allendorf, 2017).

A genotipagem de muitos loci microssatélite torna possível a identificação de indivíduos com base em seus genótipos de múltiplos-locus, metodologia esta que teve uma variedade de aplicações valiosas em programas de conservação. Neste sentido, testes de atribuição têm sido usados para detectar a dispersão de indivíduos entre populações (Berry et al. 2004). Estes testes de genotipagem foram utilizados para identificar a origem geográfica dos elefantes escalfados com base em amostras resultantes de capturas de marfim ilegal (Wasser et al. 2015). Além destes, outros métodos foram desenvolvidos, como o do censo para estimar o tamanho das populações com base na identificação de indivíduos a partir do seu genótipo de múltiplos-locus (Allendorf, 2017).

O monitoramento genético de amostras ao longo do tempo torna possível avaliar alterações genéticas associadas com efeitos antropogênicos (Allendorf, 2017). Além disso, a capacidade de amostragem ao longo do tempo fornece subsídios para entender como as alterações climáticas e outros fenômenos antropogênicos têm afetado as populações.

Assim, pode ser considerado que as modernas técnicas moleculares fornecem um poder sem precedentes para possibilitar a compreensão da variação genética existente em populações naturais. No entanto, a aplicação destas informações requer boa compreensão da teoria genética populacional (Allendorf, 2017). Descrever e compreender a distribuição da variação genética dentro de populações constituem elementos fundamentais para o desenvolvimento de práticas adequadas de manejo das espécies, especialmente em um mundo em rápida mudança, no qual expressivas alterações ambientais têm ocorrido de maneira crescente e, muitas vezes, de modo irreversível (Allendorf & Luikart 2007).

1.3 A espécie *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816)

A espécie *S. brasiliensis* (Cuvier, 1816), pertencente ao gênero *Salminus* (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes: Characidae), já foi classificada taxonomicamente como *S. maxillosus*, *S. cuvieri* e também como *S. orbignyanus*. Conhecida popularmente como dourado (Lima, 2006), a espécie *S. brasiliensis* (Figura 1) apresenta ampla distribuição geográfica na região Neotropical, podendo ser encontrada nos componentes das bacias dos rios Paraná, Paraguai, Uruguai, alto Rio Chaparé e Mamoré, ambos na Bolívia, bem como nas bacias ligadas ao sistema lagunar da Lagoa dos Patos (Morais Filho & Schubart, 1955; Froese; Pauly, 2017).



Figura 1 – Foto de exemplar adulto de *Salminus brasiliensis* Cuvier, 1816 (Fonte: Garcia 2006).

Apresenta-se como a espécie de maior porte entre os componentes da família Bryconidae (citada como Characidae), destacando-se por desempenhar importante papel ecológico por ser um dos maiores predadores dos ambientes em que ocorre (Zaniboni-Filho et al. 2017). Além disso, a espécie tem uma posição de destaque na pesca comercial e recreativa. (Zaniboni-Filho & Schutz, 2003; Zaniboni-Filho et al. 2017), sendo que, por sua agressividade e voracidade, é altamente apreciada, constituindo-se numa das espécies mais procuradas pelos pescadores (Godoy 1975; Zaniboni-Filho & Schutz, 2003). Segundo Morais-Filho e Schubart (1975), os machos desta espécie podem atingir até 5 kg e as fêmeas até 26 kg. Habita preferencialmente ambientes lóticos e encachoeirados, sendo que durante a maior parte de sua vida têm vida solitária (Zaniboni Filho & Schutz, 2003). Caracteriza-se ainda pela capacidade migratória, principalmente durante o período reprodutivo, com relatos de movimentos ascendentes de 51,4 km por dia no alto Rio Uruguai (Hahn et al., 2011; Schutz et al. 2008, Zaniboni Filho et al., 2017).

Alguns aspectos relacionados à reprodução podem ser ressaltados nesta espécie de grande porte, uma vez que *S. brasiliensis* apresenta características de desova total

(Vazoller, 1996; Isaac Jr, 1999), elevados valores de fecundidade absoluta (Sato et al. 2003) e produção de ovos livres (Vazoller, 1996; Godinho, 2003), que em conjunto a associam às suas peculiaridades de grande migrador.

Estudos realizados com o dourado no Rio Mogi Guaçu, bacia componente do conjunto hidrográfico do alto Rio Paraná, indicaram que a desova ocorre geralmente no período de novembro a janeiro, com o ápice da atividade reprodutiva em dezembro (Barbieri et al., 2000). A maior frequência de indivíduos maduros, tanto para fêmeas quanto para machos de *S. brasiliensis* foi verificada ocorrer entre meses de outubro e fevereiro (Machado, 2003). Segundo este autor, o início do aumento da relação gonadosomática no mês de outubro e o expressivo número de indivíduos desovados/esgotados após o mês de fevereiro, concomitante à ocorrência de ovos e larvas de *S. brasiliensis* no ambiente, confirmam a ocorrência do período de reprodução entre os meses de novembro a janeiro também nos componentes da bacia do Rio Uruguai (Reynalte-Tataje et al., 2008).

A migração dos cardumes que ocorre durante o período de reprodução em direção às cabeceiras dos rios é fundamental para o sucesso reprodutivo deste peixe, pois possibilita a busca por locais mais adequados para a fertilização dos ovos e o desenvolvimento das formas jovens que ocorre principalmente nas lagoas marginais, como uma forma eficaz de proteção que possibilita uma menor taxa de predação (Agostinho et al. 2007). Estudos de marcação e recaptura indicam que estoques de curimatá (*Prochilodus sp.*) e de dourado (*Salminus sp.*) seriam compostos por “ecótipos” distintos, ou seja, alguns grupos de indivíduos precisariam realizar processos mais extensos de migração para efetuarem a reprodução, enquanto que outros grupos poderiam desenvolver o processo reprodutivo em áreas mais restritas e ali permaneceriam por longos períodos, sugerindo, com isto, uma hipótese

explicativa para a presença de populações residentes ao longo do percurso dos rios (Agostinho et al., 2007).

1.4 O Rio Mogi Guaçu e sua importância para manutenção da ictiofauna do Alto Paraná.

A bacia do alto Rio Paraná constitui-se na região que conta com a maior concentração de represamentos construídos para fins de aproveitamento na geração de energia elétrica do Brasil, respondendo por cerca de 70% de toda energia produzida no país. Seus afluentes de grande porte são os rios Tietê, Paranapanema e Iguaçu, bem como seus formadores, o Rio Grande e o Rio Paranaíba que também se encontram quase totalmente represados. O próprio Rio Paraná, que apresenta uma extensão de 809 km no território brasileiro, ficou com cerca de apenas 200 km de trecho lótico após o completo enchimento do reservatório de Porto Primavera (Agostinho et al. 2007). As implicações adversas destes empreendimentos recaíram decisivamente sobre a fauna e flora das regiões inundadas e, de forma acentuada, sobre a ictiofauna, principalmente em relação às espécies dos grandes peixes migradores. A alteração na estrutura das comunidades de peixes, com o concomitante crescimento das populações de peixes sedentários e a redução ou mesmo eliminação de muitas espécies migradoras, constitui-se um fato comum a todos os represamentos estabelecidos (Paiva, 1982; Torloni, 1993; Agostinho et al. 2007).

O ecossistema formado pelos rios Mogi Guaçu, Pardo e Grande constitui, sem dúvidas, um dos grandes contribuintes para a manutenção da biodiversidade da bacia do alto Paraná e as modificações ocorridas neste ecossistema acentuaram-se principalmente a partir da década de 1950, em decorrência do aumento da densidade demográfica na região, pressionando a exploração de seus recursos naturais. Dentre os principais eventos que contribuíram para estas alterações ambientais, podem-se

destacar o uso do solo para a agricultura, intensificando o processo de assoreamento do leito dos rios, o desmatamento ciliar, a destruição de lagoas marginais, o lançamento de efluentes urbanos e industriais e a construção dos grandes barramentos para fins de geração de energia elétrica realizados no Rio Grande. Tais processos excluíram significativas áreas do ecossistema original que compreendiam os sistemas denominados rios de planícies de inundação (Junk, 1993), anteriormente utilizados pelas espécies reofilicas de peixes para a realização das migrações tróficas e reprodutivas.

Do ecossistema original da bacia do alto Paraná restaram apenas alguns tributários com curso livre em extensão suficiente para a realização das migrações tróficas e reprodutivas das espécies de peixes deste ecossistema, com trechos propícios à manutenção da vida dos peixes reofilicos. Os rios Mogi Guaçu e Pardo, dois afluentes importantes do Rio Grande, vêm sofrendo constantes e crescentes agressões aos seus ecossistemas, provocados pela ação antrópica e também pela ocorrência recente de acidentes ecológicos, determinantes de expressiva mortalidade de peixe em período reprodutivo. A ampla distribuição apresentada pela espécie *S. brasiliensis* e sua expressiva representatividade em toda a bacia hidrográfica determina seu alto valor comercial para a pesca, tanto profissional como de subsistência, com representatividade na biomassa total de peixes capturados nas porções baixas do rio e nas regiões de inundação (Bonetto, 1986; Flecker, 1996).

Estimar os níveis de movimento individual entre as populações de espécies em risco de extinção é de grande interesse aos ecologistas e geneticistas que monitoram essas populações, sendo que os geneticistas focam sua preocupação principalmente em aspectos relacionados à existência e valores de fluxo gênico entre as populações, à possibilidade de modificações ou perda da diversidade genética e à conservação

populacional (Samarasin et al 2017). O processo da circulação de indivíduos entre populações é geralmente chamado "dispersão" na literatura ecológica, constituindo-se essencialmente no mesmo processo denominado "migração" em genética evolucionária (Samarasin et al 2017). Estudos que visam proporcionar informações sobre a biologia de espécies migradoras e que tragam implicações para a sua conservação são de extrema importância para a maior parte dos componentes da biodiversidade aquática, sendo que a espécie em estudo pode ser considerada uma espécie chave para a aplicação das informações no manejo das demais (Agostinho et al. 2005).

2 Objetivos

O objetivo principal do presente estudo foi investigar os processos envolvidos na dinâmica genético-populacional estabelecida entre exemplares migradores e formas residentes de *Salminus brasiliensis*, a partir de amostragens realizadas nos períodos de 2008 a 2015 (2008, 2009, 2010 e 2015) na região da Cachoeira de Emas, no Rio Mogi Guaçu, com vistas a identificar se os padrões de organização dos cardumes ocorrem por proximidade genética e determinar os fatores determinantes na estruturação dos agrupamentos dos indivíduos durante o ciclo de vida da espécie nesse ecossistema. Considera-se que o entendimento sobre o processo de migração, distribuição e de reprodução que ocorre no Rio Mogi Guaçu poderia resultar em alternativas mais eficientes de manejo e de conservação da espécie, quando se refere aos períodos e locais de fiscalização da pesca, bem como à mitigação de impactos causados pela construção de represas nas usinas de geração de eletricidade e à identificação de habitats essenciais para ciclo de vida da espécie.

Para responder a estas questões foram estabelecidos objetivos específicos para a realização das investigações:

- caracterizar geneticamente os indivíduos componentes de cada agrupamento ou cardume com o uso de marcadores genéticos do tipo microssatélite, com vistas a identificar os padrões de variabilidade e diversidade genéticas;
- identificar os mecanismos envolvidos no processo de estruturação dos cardumes de indivíduos migradores e dos residentes por meio da análise da homologia ou diversidade genética dos agrupamentos formados, inferindo sobre uma possível origem familiar na característica migradora;

- identificar, se possível, prováveis sítios de reprodução desta espécie neste ambiente, com vistas a gerar informações que possam servir de subsídios a programas de manejo e de conservação da espécie.

3 Materiais e Métodos

3.1 Área de estudo e coleta do material biológico

A confluência de três grandes rios, Mogi Guaçu, Pardo e Grande, constitui um sistema denominado “Ecossistema dos rios Mogi, Pardo e Grande”, que drena cerca de 60 mil km² numa área que envolve localidades situadas nos Estados de São Paulo e Minas Gerais, em uma das regiões mais urbanizadas e populosas do país que conta com aproximadamente quatro milhões de habitantes.

O Rio Grande nasce na Serra da Mantiqueira, entre os municípios de Bias Fortes e de Pedro Teixeira, Estado de Minas Gerais, a uma altitude de 1.250 metros. Sua extensão é de 1.301 km até se encontrar com o Rio Paranaíba, quando passam a formar o Rio Paraná. Seu desnível é de 960 m. A bacia hidrográfica do Rio Grande possui uma área total de drenagem de 161.000 km² e seus maiores afluentes são o Rio Pardo e o Rio Mogi Guaçu (Godoy, 1957).

A bacia hidrográfica do Rio Mogi Guaçu pertence à Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos 9 (UGRHI 09) e abrange 38 municípios. Possui uma área de drenagem total de 17.460 km², sendo 2.650 km² localizados no Estado de Minas Gerais e 14.810 km² no Estado de São Paulo (Brigante et al. 2003). Apresenta uma extensão de 320 km, estando localizada na região Sudoeste do Estado de Minas Gerais e Nordeste do Estado de São Paulo (Cetesb, 1999).

A bacia hidrográfica do Rio Pardo pertence à Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos-04, situando-se na porção Norte do Estado de São Paulo. Possui uma área de drenagem de 8.818 km², apresentando uma extensão de 240 km desde a sua nascente até a foz do Rio Mogi Guaçu, mas continuando com a denominação de Rio Pardo até sua desembocadura no Rio Grande.

As coletas de amostras referentes aos exemplares analisados foram realizadas em apenas uma localidade situada no distrito de Cachoeira de Emas, Pirassununga, SP, conforme consta da Figura 2, sendo que em todas as coletas foram tomadas as devidas providências e cuidados para a manutenção da integridade e sobrevivência dos peixes, que eram devolvidos vivos ao ambiente após a retirada das amostras.

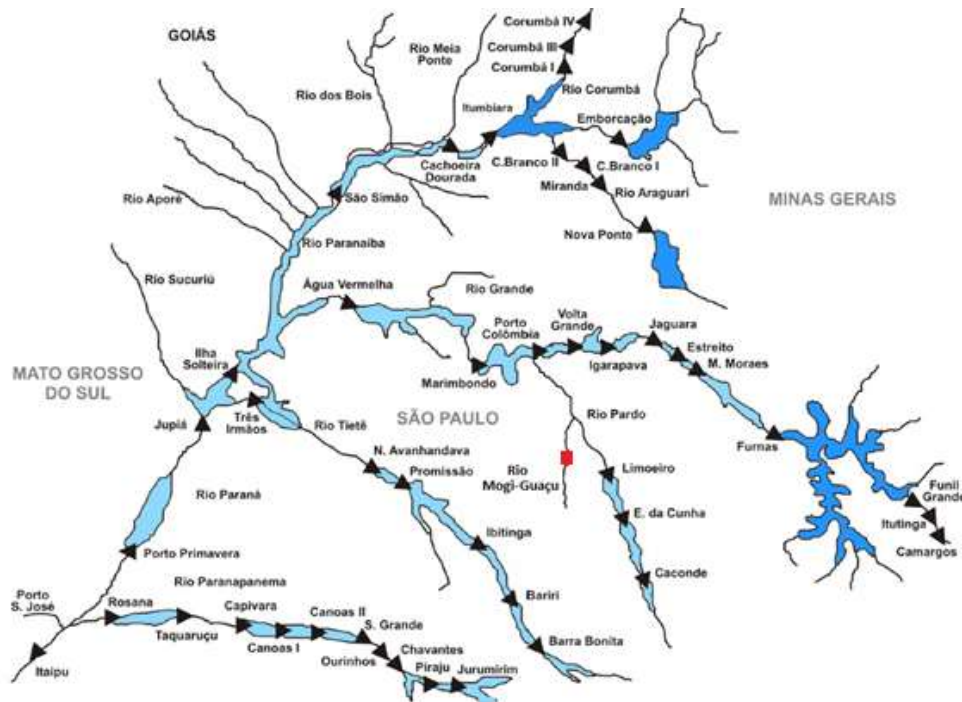


Figura 2 - Localização da bacia do Rio Mogi Guaçu no Estado de São Paulo, com a área de pesca na região da Cachoeira de Emas, destacada em vermelho. Os triângulos representam as principais usinas hidroelétricas deste sistema hidrográfico(Fonte: CBH-Mogi e CREUP).

Durante as atividades de captura dos exemplares foram usadas tarrafas de malha 8, 9, 10, 11 e 12 cm entre nós adjacentes, lançadas em diferentes pontos da Cachoeira de Emas. Os indivíduos foram colocados em caixas plásticas com a água do próprio rio, onde permaneciam somente o tempo necessário para a retirada dos fragmentos de tecidos

da nadadeira (tecido sólido). Com a finalidade de facilitar as atividades de coleta das amostras, foi montado um pequeno laboratório de campo na margem do rio, nas proximidades do local das coletas, dispondo dos equipamentos necessários.

Para as análises genéticas foram utilizados pequenos fragmentos de tecido da nadadeira adiposa de cada indivíduo, que foram armazenados em tubos criogênicos contendo álcool 95° para serem levados ao laboratório.

As coletas dos exemplares foram realizadas durante um período de quatro anos (2008, 2009, 2010 e 2015), com o propósito de abranger períodos de reprodução, que ocorre de outubro a março e de crescimento, que se estende de abril a setembro para esta espécie neste ambiente. A execução dos trabalhos de análises genéticas e laboratoriais foi realizada ao longo de dois anos (2016 e 2017).

3.2 Amplificação dos locus microssatélites e análise.

Para a realização dos estudos genéticos populacionais, o DNA total foi obtido a partir da extração de amostras de fragmentos de nadadeiras dos indivíduos capturados em cada período, utilizando o kit de extração NucleoSpin® Tissue XS (USB/Affimetrix). Para a genotipagem dos microssatélites foram utilizados os primers para os loci descritos nos trabalhos de Rossini et al., 2010 Rueda et al. (2011) , conforme consta da Tabela 1.

A amplificação do material genético foi realizada em ciclador térmico de PCR utilizando-se 25µl de solução contendo 0,8mM de dNTP, 1,5 mM de MgCl₂, tampão de enzima Taq DNA polimerase (Tris-HCl 20 mM pH 8,4 e KCl 50 mM), 100 ng de primers), utilizados por Rossini (2010) e 1 unidade de enzima Taq Polymerase (Invitrogen). Cada ciclo de PCR foi constituído basicamente na denaturação a 95°C por 1 minuto, hibridação de 50°C a 60°C (variando conforme o primer utilizado,

demonstrado na tabela 1), por 30 segundos e extensão a 72°C por 1 minuto, com 35 repetições.

Tabela 1 - Primers utilizados para genotipagem dos loci microssatélites do dourado, *S. brasiliensis*.

| Locus | Primer Sequence (5'–3') | Na | Size range (bp) | Ta(°C) |
|---------|---|----|-----------------|--------|
| Sm17 | TCAACTGATGAGCATTTTT GGTCAGTGTTTTCTCTCA | 14 | 196–234 | 52 |
| Sm23 | GGATCTGCTTTTACTCAC ACATTCACGACAGACCAC | 8 | 109–168 | 52 |
| Sm25 | CCTGATTCTGCTTCTCT AAGTAATGTCATCCACAA | 13 | 167–215 | 52 |
| Sm37 | GGTCTACTGGTGTGTAAT GATATGTGGGAGAACTTT | 7 | 168–189 | 52 |
| Sm10 | TCTGACGCTCTAAAGGTG TCAGCAGTGTTTACATGG | 8 | 196–244 | 52 |
| Sm33 | TGTCACACACTGCTCATC GGCAAGAAACACACAAC | 9 | 140–167 | 53 |
| Sfra 14 | GAAATCTCCAAGCCTGAG GAAAGAACTCGTTTTCTCAG | 21 | 230–290 | 56 |
| Sfra 03 | GCATAGGAGCATTCACTC GACACCCAGACTCCAAAC | 8 | 180–210 | 58 |
| Sfra 02 | GCAGTCCTCACTACGTATAGT CTCGCTTCACAACCTGAC | 16 | 256–296 | 58 |
| Sfra 13 | GACGTTCTGCCTTGAATG GACGTCATGTCAGGTTTCA | 16 | 254–310 | 58 |

Os segmentos de DNA amplificados foram visualizados sob luz azul em gel de agarose a 1% corado com Gelgreen. A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi realizada em duas corridas separadas, para cada multiplex, de acordo com Beheregaray et al. (2004), utilizando-se dez *primers* específicos em cada multiplex, levando em consideração as características de cada marcador (Applied Biosystems, EUA). Formamida e *size standard* Rox (Applied Biosystems) foram combinados

com o produto amplificado e submetidos eletroforese por capilar utilizando-se um sequenciador automático da Applied Biosystems ABI 3130 segundo a metodologia proposta por Schulke (2000).

Os perfis dos microssatélites foram analisados manualmente utilizando-se o programa GENEMAPPER 4.3 (Applied Biosystems). Para a análise de possíveis artefatos da genotipagem, como stuttering, drop-out e ocorrência de alelos nulos foi utilizado o programa Microchecker 2.2.1 (Van Oosterhout et al. 2004).

O software Genalex (Goudet, 1995) foi utilizado para a determinação do número total de alelos (N_a), alelos privados (N_p) e para a exportação das matrizes utilizadas em outros programas. A riqueza alélica que permite normalizar o número de alelos para comparar amostras de tamanhos distintos foi obtida usando o método de rarefação (Kalinowski, 2004) implementado no mesmo software.

O programa Arlequin foi também utilizado para estimar os valores de heterozigosidade esperada (H_e), heterozigosidade observada (H_o) e da média do número de alelos por loco, que foram calculados para estimar a diversidade genética (Nei, 1979).

Os eventuais desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) foram verificados pela aplicação do teste exato e a magnitude do sinal de desvios em cada loco foi obtida através da estatística F_{is} . Estas análises foram realizadas utilizando o software Arlequin (Excoieffer, 2015), sendo que os valores de significância dos testes múltiplos foram também ajustados, considerando a correção de Bonferroni ($P=0,05/\text{número de combinações}$).

Para a estimativa de diferenciação populacional foram utilizados índices, sendo que os valores para o F_{ST} de Wright (1951) foram estimados por alelo, por loco e pelo valor total utilizando o programa Arlequin (Goudet, 1995).

O fluxo gênico entre as populações foi estimado com a utilização de dois métodos, Nm e MR . Nm foi calculado pela aplicação da fórmula $F_{ST} = 1 / (1 + 4\alpha Nm)$. Nesta fórmula, o valor do F_{ST} é estimado a partir de θ (Weir e Cockerham, 1984) e de $\alpha = (n / n - 1)^2$, onde n é o número de subpopulações, com a operação sendo realizada pela aplicação do software Nestimator (Do et al., 2014).

4 Resultados

De forma geral, as análises estatísticas foram realizadas com o intuito de averiguar tanto a variabilidade genética dentro dos cardumes quanto sua distribuição dentro de uma população durante os anos de coleta, visando identificar indícios de possível estruturação populacional entre os cardumes migradores e os indivíduos residentes.

Foram analisados 262 indivíduos de *S. brasiliensis* distribuídos em seis grupos (Tabela 2) com a utilização de nove loci marcadores de microssatélites. Todos os loci analisados se mostraram polimórficos e, em grande parte deles a heterozigosidade observada (H_o) apresentou valores inferiores ou próximos dos valores da heterozigosidade esperada (H_e) (Tabela 2). Somente os loci Sfra13 (cardume Mig_2008_2009), Sfra03 e Sm23 (cardume Mig_2009_2010), Sm17 (cardume Res_2008), Sm23 (cardume Res_2009), Sfra14 (cardume Res_2010), Sfra13 e Sm37 (cardume Res_2015) apresentaram valores superiores de heterozigosidade observada.

O número de alelos (N_a) foi estimado para cada locus e para cada população amostrada, sendo que as populações que apresentaram o maior número de alelos foram identificadas com a utilização do marcador Sfra02, sobressaindo para os cardumes de Mig_2008_2009 (31 alelos) e Res_2008 (29) (Tabela 2).

A hipótese nula (H_0) de equilíbrio de Hardy-Weinberg foi aceita em 33 das 54 estimativas, considerando-se valores significantes de $P > 0,005$ após correção de Bonferroni. Assim, foi verificada significância de desvio em 21 estimativas.

Todas as amostras analisadas apresentaram valores de H_o inferiores aos de H_e nas médias por população, mas as populações Mig_2008_2009 ($H_o = 0,617/H_e = 0,748$), Mig_2009_2010 ($H_o = 0,595/H_e = 0,701$); Res_2008 ($H_o = 0,614/H_e = 0,738$)

Tabela 2 - Dados de genéticos de nove loci microssatélites utilizados nas análises de cada grupo de *S. brasiliensis*. N = número de indivíduos; Na = número de alelos; Ho = heterozigosidade observada; He = heterozigosidade esperada; FIS = índice de fixação (endogamia); HWE = valores probabilísticos de concordância com o equilíbrio de Hardy-Weinberg; * = $P \leq 0,005$ ajustados com a correção de Bonferroni.

| Pop | Locus | N | Na | Ne | Ho | He | Fis | HWE |
|---|---------------|----|----|--------|-------|-------|--------|--------|
| Mig_2008_2009 (54 indivíduos) | Sfra02 | 50 | 31 | 22,321 | 0,640 | 0,955 | 0,330 | 0,000* |
| | Sfra03 | 49 | 16 | 5,737 | 0,735 | 0,826 | 0,110 | 0,000* |
| | Sfra13 | 53 | 23 | 13,505 | 0,962 | 0,926 | -0,039 | 0,061 |
| | Sfra14 | 42 | 25 | 13,945 | 0,524 | 0,928 | 0,436 | 0,000* |
| | Sm17 | 45 | 4 | 2,166 | 0,533 | 0,538 | 0,009 | 0,000* |
| | Sm23 | 38 | 3 | 1,591 | 0,132 | 0,372 | 0,646 | 0,000* |
| | Sm25 | 46 | 11 | 5,518 | 0,630 | 0,819 | 0,230 | 0,000* |
| | Sm33 | 52 | 8 | 3,814 | 0,827 | 0,738 | -0,121 | 0,561 |
| | Sm37 | 47 | 5 | 2,702 | 0,574 | 0,630 | 0,088 | 0,000* |
| Mig_2009_2010 (49 indivíduos) | Sfra02 | 20 | 18 | 12,698 | 0,550 | 0,921 | 0,403 | 0,001* |
| | Sfra03 | 40 | 14 | 4,156 | 0,900 | 0,759 | -0,185 | 0,039 |
| | Sfra13 | 22 | 15 | 9,398 | 0,500 | 0,894 | 0,440 | 0,000* |
| | Sfra14 | 40 | 18 | 8,466 | 0,875 | 0,882 | 0,008 | 0,221 |
| | Sm17 | 22 | 3 | 1,847 | 0,364 | 0,459 | 0,207 | 0,446 |
| | Sm23 | 43 | 4 | 1,239 | 0,209 | 0,193 | -0,086 | 0,997 |
| | Sm25 | 48 | 10 | 5,340 | 0,708 | 0,813 | 0,128 | 0,278 |
| | Sm33 | 49 | 6 | 3,839 | 0,653 | 0,739 | 0,117 | 0,412 |
| | Sm37 | 49 | 5 | 2,838 | 0,592 | 0,648 | 0,086 | 0,480 |
| Res_2008 (48 indivíduos) | Sfra02 | 41 | 29 | 18,575 | 0,683 | 0,946 | 0,278 | 0,051 |
| | Sfra03 | 44 | 18 | 5,957 | 0,682 | 0,832 | 0,181 | 0,136 |
| | Sfra13 | 45 | 23 | 13,023 | 0,844 | 0,923 | 0,085 | 0,000* |
| | Sfra14 | 40 | 23 | 10,159 | 0,500 | 0,902 | 0,445 | 0,000* |
| | Sm17 | 36 | 4 | 1,910 | 0,500 | 0,476 | -0,049 | 0,816 |
| | Sm23 | 31 | 6 | 1,686 | 0,290 | 0,407 | 0,286 | 0,000* |
| | Sm25 | 44 | 14 | 6,286 | 0,727 | 0,841 | 0,135 | 0,000* |
| | Sm33 | 47 | 7 | 3,162 | 0,702 | 0,684 | -0,027 | 0,035 |
| | Sm37 | 45 | 9 | 2,700 | 0,600 | 0,630 | 0,047 | 0,000* |

| | | | | | | | | |
|------------------------|---------------|----|----|--------|-------|-------|--------|--------|
| Res_2009 | Sfra02 | 10 | 14 | 12,500 | 0,400 | 0,920 | 0,565 | 0,005* |
| (38 indivíduos) | Sfra03 | 36 | 18 | 8,025 | 0,778 | 0,875 | 0,112 | 0,402 |
| | Sfra13 | 9 | 13 | 10,800 | 0,778 | 0,907 | 0,143 | 0,356 |
| | Sfra14 | 36 | 17 | 8,443 | 0,861 | 0,882 | 0,023 | 0,394 |
| | Sm17 | 15 | 2 | 1,965 | 0,467 | 0,491 | 0,050 | 0,847 |
| | Sm23 | 17 | 4 | 1,449 | 0,353 | 0,310 | -0,140 | 0,993 |
| | Sm25 | 36 | 10 | 5,586 | 0,778 | 0,821 | 0,053 | 0,477 |
| | Sm33 | 38 | 8 | 4,022 | 0,868 | 0,751 | -0,156 | 0,929 |
| | Sm37 | 37 | 4 | 2,346 | 0,649 | 0,574 | -0,130 | 0,073 |
| Res_2010 | Sfra02 | 46 | 30 | 20,249 | 0,826 | 0,951 | 0,131 | 0,032 |
| (48 indivíduos) | Sfra03 | 48 | 12 | 4,509 | 0,625 | 0,778 | 0,197 | 0,004* |
| | Sfra13 | 48 | 22 | 14,582 | 0,917 | 0,931 | 0,016 | 0,859 |
| | Sfra14 | 45 | 16 | 6,221 | 0,844 | 0,839 | -0,006 | 0,287 |
| | Sm17 | 11 | 4 | 2,396 | 0,455 | 0,583 | 0,220 | 0,001* |
| | Sm23 | 47 | 4 | 1,771 | 0,553 | 0,435 | -0,270 | 0,333 |
| | Sm25 | 48 | 10 | 7,223 | 0,771 | 0,862 | 0,105 | 0,031 |
| | Sm33 | 48 | 7 | 3,719 | 0,583 | 0,731 | 0,202 | 0,303 |
| | Sm37 | 48 | 4 | 2,357 | 0,500 | 0,576 | 0,132 | 0,333 |
| Res_2015 | Sfra02 | 18 | 17 | 12,706 | 0,611 | 0,921 | 0,337 | 0,056 |
| (25 indivíduos) | Sfra03 | 21 | 9 | 4,900 | 0,619 | 0,796 | 0,222 | 0,000* |
| | Sfra13 | 19 | 15 | 10,464 | 0,947 | 0,904 | -0,047 | 0,488 |
| | Sfra14 | 21 | 14 | 7,113 | 0,857 | 0,859 | 0,003 | 0,006 |
| | Sm17 | 5 | 3 | 2,381 | 0,400 | 0,580 | 0,310 | 0,484 |
| | Sm23 | 25 | 7 | 2,621 | 0,520 | 0,618 | 0,159 | 0,005* |
| | Sm25 | 25 | 11 | 4,699 | 0,760 | 0,787 | 0,035 | 0,000* |
| | Sm33 | 25 | 5 | 3,968 | 0,640 | 0,748 | 0,144 | 0,112 |
| | Sm37 | 25 | 4 | 1,997 | 0,640 | 0,499 | -0,282 | 0,524 |

Revelaram resultados mais acentuados em relação àqueles identificados em outros cardumes (Tabela 3).

Os valores médios do índice de fixação populacional (Fis), que avalia e fornece uma estimativa em relação à ocorrência de endogamia nas amostras analisadas também foi estimado, sendo observado que os maiores valores absolutos

obtidos foram para os cardumes Mig 2008_2009 (0,188) e Res_2008 (0,154), conforme apresentado na Tabela 3.

Tabela 3 - Dados de médias de nove *loci* microssatélites utilizados nas análises de cada grupo de *S. brasilienses*. *N* = número de indivíduos; *Na* = número de alelos; *Ho* = heterozigosidade observada; *He* = heterozigosidade esperada; *F_{IS}* = índice de fixação (endogamia); HWE = valores probabilísticos de concordância com o equilíbrio de Hardy-Weinberg; * = $P \leq 0,005$ ajustados com a correção de Bonferroni.

| Pop | N | Na | Ne | Ho | He | Fis |
|----------------------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|
| Mig_2008_2009 | 46,8 | 14 | 7,9 | 0,618 | 0,748 | 0,188 |
| Mig_2009_2010 | 37 | 10,3 | 5,5 | 0,595 | 0,701 | 0,124 |
| Res_2008 | 41,4 | 14,7 | 7,0 | 0,614 | 0,738 | 0,154 |
| Res_2009 | 26 | 10 | 6,1 | 0,659 | 0,726 | 0,058 |
| Res_2010 | 43,2 | 12,1 | 7,0 | 0,675 | 0,743 | 0,081 |
| Res_2015 | 20,4 | 9,4 | 5,6 | 0,666 | 0,746 | 0,098 |
| Total | 35,833 | 11,778 | 6,548 | 0,638 | 0,734 | 0,117 |

O fluxo gênico para todos os *loci* foi estimado em 12,388 migrantes por geração (*Nm*). Não foram observadas evidências de desequilíbrio de ligação em quaisquer dos *loci* analisados ($P > 0,005$), permitindo, assim, que a variação alélica fosse tratada como independente.

Na comparação entre os marcadores utilizados, o maior valor de *Fis* foi obtido para o marcador Sfra02 (0,339) e o menor valor para o marcador Sm37 (0,0) (Tabela 4). Todos os grupos analisados apresentaram valores positivos para o *Fis*, ou seja, os grupos apresentaram deficiência de heterozigotos, representados por um valor médio final de 0,122 para todos os *loci* e grupos analisados.

Tabela 4 - Dados de médias de nove *loci* microssatélites utilizados para análises de *S. brasiliensis*; FIS = índice de fixação (endogamia); * = $P \leq 0,005$ ajustados com a correção de Bonferroni.

| Locus | Fis | Fit | F_{ST} | Nm |
|---------------|------------|------------|----------------------------|-----------|
| Sfra02 | 0,339 | 0,353 | 0,021 | 11,807 |
| Sfra03 | 0,109 | 0,124 | 0,018 | 14,031 |
| Sfra13 | 0,098 | 0,119 | 0,023 | 10,469 |
| Sfra14 | 0,157 | 0,183 | 0,030 | 7,964 |
| Sm17 | 0,131 | 0,168 | 0,043 | 5,560 |
| Sm23 | 0,119* | 0,170 | 0,058 | 4,085 |
| Sm25 | 0,115 | 0,123 | 0,009 | 26,665 |
| Sm33 | 0,027* | 0,041 | 0,015 | 16,882 |
| Sm37 | 0* | 0,018 | 0,018 | 14,028 |
| Mean | 0,122 | 0,144 | 0,026 | 12,388 |

A Tabela 5 mostra os resultados da análise de variância molecular (AMOVA) onde é possível identificar que a maior fonte de variação está presente entre os indivíduos (85,98%). O valor atribuído ao índice de fixação interpopulacional ($F_{ST} = 0,0072$) foi considerado baixo, indicando pequenos valores de estruturação genética ou sua inexistência com relação aos seis cardumes analisados.

Por outro lado, o índice de diferenciação genética total R_{ST} calculado com base no modelo SMM, evidenciou valores relativamente mais elevados apenas nas avaliações de dois cardumes (Res_2008) e (Res_2015), sendo $*P < 0,005$, conforme observado na Tabela 6.

O índice de diferenciação genética F_{ST} entre os cardumes residentes e migradores de *S. brasiliensis* para todos os *loci*, apresentou valores baixos, que foram corroborados pela análise do F_{ST} par a par (Tabela 7). Na relação apresentada verifica-se que os valores de maior e menor divergência obtidos entre grupos estão nas comparações entre os grupos Mig_2009_2010 e Res_2015 (0,02639) e Res 2015 e Res 2008 (0,02551), respectivamente. Contudo, nenhum valor obtido apresentou significância.

Tabela 5 - Análise de variância molecular (AMOVA) para os diferentes cardumes de *S. brasiliensis*, através de marcadores microsatélites.

| Fonte de variação | Soma dos quadrados | Componentes de Variação | Porcentagem de Variação | |
|------------------------------------|--------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------|
| Entre Populações | 13.321 | 0.00714 | 0.21062 | FIS: 0.13388 |
| Entre os indivíduos das populações | 813.665 | 0.45073 | 13.29027 | F_{ST} : 0.00727 |
| Entre todos os indivíduos | 636.500 | 2.91605 | 85.98294 | FIT 0.14017 |
| Total | 1463.486 | 3.39143 | | |

Tabela 6 - Índices de diferenciação genética R_{ST} total entre populações migradoras e residentes de *S. brasiliensis* identificados com base no modelo SMM, método de distância calculado pelo quadrado da soma da diferença de tamanho (R_{ST}).

| | Mig_2008_2009 | Mig_2009_2010 | Res_2008 | Res_2009 | Res_2010 |
|----------------------|---------------|---------------|-----------|----------|----------|
| Mig_2008_2009 | * | | | | |
| Mig_2009_2010 | -0.00619 | * | | | |
| Res_2008 | -0.01139 | -0.00130 | * | | |
| Res_2009 | -0.00001 | 0.02103 | 0.00653 | * | |
| Res_2010 | -0.01349 | -0.00011 | -0.00939 | 0.00079 | * |
| Res_2015 | -0.02017 | -0.00319 | -0.01335* | -0.00979 | -0.01474 |

Tabela 7 – Resultados das comparações do F_{ST} par a par entre as populações de *S. brasiliensis* amostradas utilizando os loci microsatélites.

| | Mig_2008_2009 | Mig_2009_2010 | Res_2008 | Res_2009 | Res_2010 | Res_2015 |
|----------------------|---------------|---------------|----------|----------|----------|----------|
| Mig_2008_2009 | 0.00000 | | | | | |
| Mig_2009_2010 | 0.00327 | 0.00000 | | | | |
| Res_2008 | -0.00216 | 0.01981 | 0.00000 | | | |
| Res_2009 | -0.00323 | 0.01617 | -0.00495 | 0.00000 | | |
| Res_2010 | -0.00350 | 0.00415 | 0.00017 | -0.00683 | 0.00000 | |
| Res_2015 | 0.01153 | 0.02639 | 0.02551 | 0.00473 | 0.00303 | 0.00000 |

5 Discussão

5.1 Diversidade genética de migradores e residentes de *Salminus brasiliensis*.

O conhecimento da variabilidade genética e da estrutura genética das populações, segundo a IUCN (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources), tem papel importante para a proposição e implementação de programas de manejo e de conservação das espécies dos diferentes conjuntos biológicos, bem como a manutenção da diversidade é essencial para que os organismos possam responder às modificações ambientais, que têm atuado de forma crescente e permanente em diferentes sistemas ecológicos. Neste sentido, deve ser considerado que os níveis de heterozigosidade que caracterizam as populações estão ligados aos processos de adaptação das espécies, níveis estes que podem ser diminuídos com o aumento da endogamia (Frankhan et al. 2008). Os padrões de variação genética existente no genoma dos indivíduos que compõem as populações podem sofrer mudanças ao longo do tempo (Hiltsdorf e Hallerman 2017), de tal modo que situações de isolamento podem se constituir em fatores determinantes de mudanças das frequências alélicas nas populações, do mesmo modo que situações de acúmulo de novas variações podem não ser compartilhadas através do fluxo gênico.

Dessa forma, os níveis de variabilidade genética dos cardumes de *S. brasiliensis* analisados pela utilização de 9 *loci* microssatélites resultaram em uma média de 11,7 alelos na população, sendo este valor considerado próximo ao encontrado por Ribolli et al. (2016), que identificou um valor médio de 12,9 alelos também para *S. brasiliensis*. Por outro lado, estes valores mostraram-se inferiores aos relatados por Silva et al., (2015) para a espécie *S. hilarii*, que apresentou valor médio de 13,8 alelos, sendo estes todos significativamente inferiores ao valor relatado por

Rossini (2010) para o dourado, considerando a mesma região e mesma localidade de amostragem, com um total de 21 alelos identificados.

Os índices de heterozigosidade esperada encontrados no presente estudo, com valores de 0,193 a 0,955, mostraram uma grande variação, diferentemente dos dados encontrados por Ribolli et. al., (2016) que relatara variações entre 0,760 a 0,846. Tal variação nos valores encontrados poderia ser decorrente da amplitude temporal da amostragem utilizada, bem como um efeito da escolha dos loci utilizados, os quais apresentam níveis elevados de polimorfismo para esta espécie (Rueda e tal 2011; Silva 2015; Ribolli et al; 2016). Estudos da diversidade genética têm sido realizados em diversas espécies de peixes utilizando diferentes classes de marcadores moleculares e os resultados obtidos têm indicado diferentes níveis de variabilidade entre os marcadores, refletindo, contudo, um equilíbrio entre as taxas de mutação e de deriva genética (Allendorf 2017; Hilsdorf e Hallerman 2017).

Embora a alta diversidade de alelos possa parecer uma ocorrência comum em diversas espécies de peixes Neotropicais, a deficiência de heterozigotos e os níveis significativos de endogamia encontrados nas populações analisadas de *S. brasiliensis* sugerem a baixa ocorrência de eventos de inclusão de indivíduos provenientes de populações portadoras de diferentes frequências alélicas, conforme sugerido por Hartl e Clark (2007). Em 42 (77,7%) das estimativas realizadas no presente trabalho, os valores de heterozigosidade observada (H_o) foram inferiores àqueles identificados de heterozigosidade esperada (H_e) (F_{IS} positivo), evidenciando, assim, uma deficiência de heterozigotos nas populações.

Fazendo uma relação entre os resultados anteriormente descritos no presente estudo com os aspectos da biologia trófica da espécie, conforme Esteves & Pinto Lobo (2001) o dourado é um peixe que ocupa o topo da cadeia alimentar e é sabido

que animais que ocupam esse nível trófico estão mais propensos a sofrerem perdas de variabilidade genética devido às alterações ambientais, especialmente com respeito a efeitos antrópicos, pois são geralmente representados por populações menores em relação aos outros níveis da pirâmide trófica e estão mais susceptíveis a apresentarem algum grau de endogamia. A conclusão disso é que os efeitos da endogamia podem levar à diminuição da heterozigosidade, fragilizando as populações, com consequências sensíveis para o ambiente, inclusive podendo levá-las à extinção. Assim, altos índices de diversidade genética são primordiais para proporcionar às populações a viabilidade biológica e a adaptação às alterações ambientais necessárias à sua manutenção no ambiente (Allendorf; Ryman, 2002; Laikre et al. 2005).

A deficiência de heterozigotos é bastante comum ocorrer em populações de peixes e geralmente está associada a eventos de subdivisão populacional e endogamia (Allendorf et al. 2017). Rossini (2010) encontrou déficit de heterozigotos em 80% de sua amostragem para a espécie em estudo. Considerando que nossos resultados não dão indicações da ocorrência de subdivisão populacional, a deficiência de heterozigotos identificada poderia, então, ser decorrente do efeito de endogamia, ocasionada por eventual isolamento reprodutivo e/ou redução do tamanho populacional. Tendo em vista que a espécie *S. brasiliensis* é altamente apreciada pelos pescadores da região, essa ação antrópica poderia levar à diminuição do número de indivíduos na época de reprodução e, conseqüentemente, favorecer a ocorrência de cruzamentos consanguíneos. Morais-Filho e Schubart (1955) já mencionavam problemas decorrentes da pesca excessiva de espécimes jovens de dourados na Cachoeira de Emas (Pirassununga-SP), bem como do aumento de ações antrópicas causadas pelo crescimento urbano identificado naquela localidade. Neste

sentido, pode ser considerado que o quadro atual que se apresenta a médio e longo prazo com a intensificação deste tipo de ações, poderia determinar a escassez e mesmo a extinção do dourado neste ambiente.

A hipótese nula (H_0) de equilíbrio de Hardy-Weinberg foi aceita em 33 das 54 estimativas com valores significantes de $P < 0,005$ após correção de Bonferroni. A significância de desvio foi verificada em 21 das estimativas realizadas, mostrando que a grande maioria das populações (61,1%) está em equilíbrio; porém, nenhuma população apresentou todos os loci em equilíbrio. Desvios de HWE são comuns em regiões genômicas representadas por microssatélites (Allendorf 2017, Meirmans et al 2015). Para esta mesma espécie, Ribolli et al. (2016) encontraram populações com desvios significativos de HWE em dois dos quatro loci utilizados nas análises. Neste sentido, deve ser reportado que diferentes fatores podem ser apontados como causa de desvios de HWE, que podem estar associados ao alto número de alelos existente por locus, à ocorrência de alelos nulos, efeitos de *stuttering* ou *drop-out*, efeito Wahlund, seleção de alelos específicos e endocruzamento (Pereira et al. 2009)

A deficiência de heterozigotos, como já apresentado, constitui-se em evento bastante comum em peixes Neotropicais e tem sido comumente relatada ocorrer em populações naturais. Entre os diversos fatores que têm sido relacionados a este evento genômico, podem ser incluídos o efeito de Wahlund, a existência de endogamia, a presença de alelos nulos e alelos drop-out, além da possibilidade da ocorrência de erros amostrais e de genotipagem, além da possibilidade da ocorrência de acasalamentos não aleatórios (Ashikaga et al 2015; Ribolli et al 2017). Contudo, os resultados aqui obtidos, quando revisados pela aplicação do programa Microchecker (Van Oosterhout et al. 2004) que testa a genotipagem de dados de

microsatélites de populações diploides, não confirmaram erros que possam ter ocorrido em decorrência das análises realizadas.

5.2 Análises genético-populacionais de *S. brasiliensis*

Em uma subpopulação, o F_{ST} está relacionado à redução da heterozigosidade em razão da deriva genética e este parâmetro é utilizado para avaliar a diferenciação total entre várias subpopulações existentes. A medida de divergência gerada pelo F_{ST} é sempre positiva e vai de 0 a 1, onde 0 referencia à ausência de diferenciação (panmixia), enquanto o valor máximo 1 corresponde ao completo isolamento da população. De acordo com Wright (1978), índices F_{ST} com valores abaixo de 0,05 seriam indicativos de pequena diferenciação genética; entre 0,05 e 0,15, de diferenciação moderada; entre 0,15 e 0,25, de grande diferenciação; e valores acima de 0,25, de diferenciação muito elevada.

Na realização de análises genéticas de nove grupos de *S. brasiliensis* da bacia do Rio Uruguai, Ribolli et al. (2016) detectaram índices significativamente baixos de diferenciação populacional espacial, mas moderada diferenciação temporal. A aplicação dos mesmos tipos de análise, porém, não resultou nas mesmas informações obtidas no presente trabalho. Do mesmo modo, realizando amostragem temporal, Rossini et al. (2010) também não encontraram estruturação populacional em *S. brasiliensis*, característica esta que, segundo os autores, poderia estar relacionada à presença de representantes destas populações nos mesmos locais no período reprodutivo, possibilitando a realização de fluxo gênico. Deve ser considerado que no Rio Mogi Guaçu, a região da Cachoeira de Emas se constitui numa zona de contenção de peixes, o que facilitaria a mistura de representantes das diferentes populações e o aumento da variabilidade genética em diferentes momentos. Tal informação parece ser confirmada com os dados obtidos no presente trabalho, onde é

possível identificar baixos valores de estruturação, sendo que apenas uma população, a de maior distância temporal entre elas, se distingue das demais nos valores do F_{ST} .

Em outro estudo sobre a caracterização genética populacional do *S. brasiliensis*, Ribolli (2014) constata nas análises de parentesco que múltiplos machos e fêmeas participam efetivamente durante a reprodução, sendo que a desova dos dourados foi avaliada em ambiente natural. Esse sistema de acasalamento e modo de organização do cardume durante o processo de reprodução, com a presença de acasalamentos múltiplos, aumenta a miscigenação genética e pode promover a ausência de estruturação populacional.

As taxas de fluxo gênico e a estrutura das populações são fatores que podem ser influenciados pela presença de barreiras físicas ou ecológicas e, entre estas podem ser relacionados traços comportamentais como a filopatria, a história de vida das espécies, a ocorrência de fluxo gênico ligado ao sexo e processos de dispersão, no caso de marcadores genéticos de transmissão uniparental. Do mesmo modo, processos bióticos e abióticos podem determinar mudanças micro evolutivas dentro de uma mesma espécie, levando-a à especiação (Albert 2010). A migração é uma das principais características que está diretamente ligada à estruturação das populações em peixes (Bergner et al 2016), pois os representantes deste grupo se organizam dinamicamente em cardumes e desenvolvem processos de reprodução formando *pools* gênicos ao longo dos anos.

5.3 F_{ST} par a par

O índice F_{ST} não revelou a existência de distância genética significativas entre os cardumes analisados, quando comparado ao do R_{ST} . Esses índices são baseados em distintos modelos de mutações, sendo o F_{ST} associado ao IAM (*Infinite Allele Model*) e o R_{ST} associado ao SMM (*Stepwise Mutation Model*). É esperado que os

valores de R_{ST} , sob o modelo SMM, sejam maiores que os valores de F_{ST} (Slatkin 1995). No presente caso, apenas através do R_{ST} foi possível identificar diferença significativa entre os cardumes residentes de 2008 e de 2015. Tal informação mais uma vez reforça os dados levantados por Rossini (2010), quando considera que em algum momento os indivíduos das populações se misturam.

É reconhecido que os peixes teleósteos possuem as mais diversas estratégias reprodutivas entre os vertebrados, as quais muitas vezes são sujeitas a intensos processos de seleção natural, em que o tempo e as características ambientais para a reprodução representam as mais importantes variáveis relacionadas à história de vida das espécies, bem como para o sucesso da próxima geração (Ribolli et al. 2017).

A hipótese da ocorrência do fenômeno de ondas migratórias entre componentes de populações residentes e migradoras poderia se apresentar como um evento promotor de mixagem e ser responsável pela geração de diferenciação populacional (Sanches e Galleti, 2012). Porém, a partir da análise dos dados obtidos no presente trabalho, pode-se afirmar claramente que isso não ocorre para a espécie *S. brasiliensis* nas bacias dos rios Mogi Guaçu, Pardo e Grande. Tal constatação é decorrente das características do processo reprodutivo que constitui a base do ciclo de vida da espécie (Vazzoler, 1996) e pode apresentar variações sazonais, dependendo das características do ambiente (Winemiller, 1993), fazendo com que indivíduos que encontrassem características favoráveis permanecessem na região até a chegada do próximo ciclo reprodutivo.

Diferenças no momento da migração entre indivíduos dentro de uma população foram observadas e muitas vezes estão associadas com o tamanho individual ou com as condições das características relacionadas ao nicho ecológico do indivíduo (Brodersen et al. 2008; Heim et al. 2016). Indivíduos que são maiores ou têm

melhores condições corporais, por exemplo, com reservas superiores de lipídeos, poderiam iniciar o processo de migração mais cedo do que indivíduos menores ou menos preparados da mesma população (Ribolli et al. 2017). Sendo assim, é plausível inferir que indivíduos que ainda não atingiram os requisitos básicos para enfrentarem as barreiras impostas pelo processo migratório, sendo estas proporcionadas por fatores bióticos ou abióticos, acabem por se comportar como indivíduos residentes, até que surja uma oportunidade e se sintam capazes de participar da jornada que os levará ao processo normal de reprodução da espécie. Desta forma a hipótese de que a migração de espécies que fazem parte da dieta do dourado se torne um atrativo para que os espécimes de *S. brasiliensis* que ainda não sejam pertencentes a um grupo migrador, se agreguem e busquem a quantidade de nutrientes e energia necessária para que possam iniciar o processo de migração e consequentemente dar início ao ciclo seu reprodutivo.

Embora não se tenha todos os dados de tamanho corporal ou condições fisiológicas dos indivíduos coletados neste estudo que permitam testar um efeito potencial da estrutura corporal neste padrão de migração sugerido, é provável que os indivíduos que obtenham as melhores condições corporais de deslocamento durante o período de crescimento, se agreguem na fase inicial, criando um amplo grupo com características uniformes, pois o processo de migração exige reservas energéticas para vencer a distância e o fluxo intenso das águas nas corredeiras.

Neste sentido, trabalhando com densidades diferentes de *Oncorhynchus nerka*, Berdahl et al. (2017) observaram que quando os estoques são representados por grande número de indivíduos, esta espécie tende a empreender processos migratórios mais intensos; contudo, quando os cardumes apresentam menor quantidade de componentes, estes não tendem a migrar sozinhos, preferindo ficar onde estão, talvez

por proteção ou usufruindo características favoráveis do ambiente, justificando, assim a existência de peixes “residentes” na região e a ausência de estruturação genética nestes estoques. Deste modo, poderia ser considerado que quando o cardume de migradores chega aos locais onde se encontram os residentes, a densidade populacional aumenta e aqueles indivíduos que estavam isolados e sozinhos se misturam novamente aos demais das populações, mantendo os níveis de estruturação baixos através deste processo.

Uma situação semelhante poderia estar ocorrendo com a espécie *S. brasiliensis* no ambiente analisado. Como uma proposta alternativa para explicar a identificação de valores expressivamente baixos de estruturação genética ou até a ausência de diferenciação encontrada na análise de indivíduos pertencentes a diferentes agrupamentos temporais, as características comportamentais da espécie podem sugerir uma visão diferenciada do problema. Neste sentido, poderia ser considerado que o processo de migração realizado pela espécie se apresentaria mais como uma movimentação oportunista que ocorreria na sua época de reprodução, quando a movimentação ascendente no rio dos indivíduos que se deslocaram em associação com processos migratórios reprodutivos realizados por outras espécies migradoras neste ambiente.

O dourado se caracteriza como uma espécie de vida solitária durante a maior parte do ano Rossini et al (2010), sendo um dos maiores predadores piscívoros do Rio Paraná (Agostinho et al. 2007). Alimenta-se primariamente de uma grande variedade de peixes, tendo como presas favoritas os curimatás, piavas e lambaris. Espécies destes grupos são comumente encontradas no Rio Mogi Guaçu, especificamente na região da Cachoeira de Emas, onde se apresentam em grandes cardumes migradores principalmente nos meses de novembro a março, quando

realizam seus processos reprodutivos. Como esta região se constitui numa importante zona de contenção de peixes, conforme apontado por Rossini et al (2010), principalmente no período que coincide com as migrações reprodutivas de diferentes espécies, também é previsível visualizar um grande número de dourados no local neste período, provavelmente atraídos inicialmente pela disponibilidade de alimento. Neste sentido, os componentes do estoque desta espécie seriam então, todos “residentes”, no seu hábito de vida solitário e ocupando nichos específicos no ambiente. O agrupamento de indivíduos provenientes de diferentes localidades em sua jornada perseguindo e buscando o alimento farto encontrado nos cardumes das espécies forrageiras migradoras neste local na época de reprodução, proporcionaria a existência de indivíduos prontos para realizar o processo reprodutivo, uma vez que, como um peixes que se reproduzem de novembro a fevereiro, estariam passando pelo mesmo processo de desenvolvimento e amadurecimento das gônadas que as demais espécies do ecossistema. Tal fato possibilitaria a ocorrência de cruzamentos aleatórios, promovendo amplas associações genótípicas e intenso fluxo gênico, o que poderia explicar a ausência de estruturação populacional na espécie *S. brasiliensis* neste ambiente.

Segundo esta proposta, não haveria populações “migradoras” e “residentes” de *S. brasiliensis*, mas sim a movimentação oportunista de indivíduos de vida independente para regiões de convergência com cardumes formados pelas espécies migradoras forrageiras abundantes nos locais nesta época, sendo que este fenômeno ocorreria em coincidência com a época de reprodução da maioria das espécies de peixes do ecossistema. Tal fato facilitaria a mistura de indivíduos de vida independente da espécie *S. brasiliensis* de diferentes localidades ao longo do sistema e que, por também estarem no período reprodutivo, poderiam realizar cruzamentos.

A constante mixagem genômica promovida teria como decorrência a alta variação haplotípica identificada neste grupo neste trabalho, bem como à ausência de estruturação populacional entre cardumes e estoques anuais, dando suporte à hipótese formulada.

6 Conclusões

A variabilidade genética encontrada no estoque de *S. brasiliensis* analisado a partir de amostras coletadas durante quatro anos no Rio Mogi Guaçu, na Cachoeira de Emas, em Pirassununga, SP, foi representada por uma média de 11,7 alelos na população, sendo este um valor inferior aos relatados para esta espécie em estudos anteriores realizados na mesma área. Os resultados desta análise, portanto, revelaram indícios de possível perda de variabilidade genética para a espécie no ambiente em questão.

A ocorrência crescente de ações antrópicas que tem sido identificada durante muitos anos ao longo do Rio Mogi Guaçu está provavelmente interferindo de modo expressivo na diversidade genética das populações de peixes deste ambiente e, de modo específico, das espécies migradoras como o dourado. Os resultados encontrados não apontam para a existência de subdivisão populacional para a espécie em estudo, mas mostram uma deficiência de heterozigotos que poderia estar relacionada com a ocorrência de processos de endogamia.

Os dados obtidos identificaram uma baixa estruturação populacional nos grupos estudados neste estoque e apenas uma população se distingue das outras no F_{ST} par a par. A região da Cachoeira de Emas constitui uma área de contenção ao processo migratório, fator que favorece o fluxo gênico entre os indivíduos presentes no mesmo período e área, atuando como um fator de contenção e impedindo a segregação populacional.

A baixa estruturação encontrada é resultado da frequente miscigenação entre os indivíduos durante o ciclo reprodutivo, proporcionada pelo encontro dos peixes durante o processo de movimentação conjunta com cardumes de peixes forrageiros,

que ocorre em coincidência com a época de reprodução da espécie. Assim, a alta concentração de indivíduos que têm vida independente durante a maior parte do ano, as condições ambientais específicas do ecossistema e a época de reprodução da espécie possibilitam a realização de cruzamentos aleatórios neste local de agrupamento, favorecendo a troca e dispersão de alelos e a manutenção da variabilidade dos estoques existentes.

Uma hipótese alternativa é proposta para explicar a baixa ou inexistente estruturação populacional evidenciada na análise realizada envolvendo indivíduos pertencentes a diferentes agrupamentos temporais da espécie. Tais evidências resultantes das análises genéticas realizadas parecem sugerir que esta característica apresentada pelo estoque de *S. brasiliensis* existente neste ecossistema poderia estar relacionada mais a características comportamentais da espécie do que à existência de populações “migradoras” e “residentes” bem estabelecidas e definidas, conforme ocorre com outras espécies de peixes neste ambiente. Por ser uma espécie de vida solitária durante a maior parte do ano e ser um predador piscívoro, *S. brasiliensis* tem como alimento primário uma grande variedade de peixes e como presas favoritas os curimatás, piavas e lambaris, espécies bastante comuns no ambiente, que desenvolvem processos migratórios reprodutivos coincidentes com movimentações aglomerativas dos dourados que se movimentariam em busca de alimento. Tal evento comportamental aproxima indivíduos antes isolados e que também se encontrariam na época de reprodução, o que certamente possibilitaria a ocorrência de cruzamentos aleatórios, resultando em ampla mistura genômica nos locais de convergência. Tais condições poderiam explicar a ausência de estruturação populacional e a amplitude de haplótipos observada.

A espécie de peixe *S. brasiliensis* tem passado por recorrente diminuição dos estoques naturais devido à ação de fatores antrópicos representados principalmente pela pesca e por crescente e expressiva modificação dos ecossistemas. Porém, nos últimos anos, devido ao estabelecimento de programas de conservação e de proteção da biodiversidade, a espécie vem se recuperando lentamente, com boas possibilidades de sua manutenção nos ecossistemas da Bacia do Rio Paraná. Contudo, a proposição da construção de novas barragens, além do contínuo processo de modificação dos ambientes aquáticos, têm resultado em condições de maior pressão seletiva sobre as espécies deste ecossistema, interferindo na dinâmica biológica que ainda mantém o fluxo de genes nos estoques existentes, que podem interferir na dinâmica das populações, determinado a elevação dos índices de endogamia e a perda de alelos, causando modificações da variabilidade genética, o que poderia levar a espécie a níveis sem precedentes de redução populacional.

7 Referências

- Agostinho, A.A., Gomes, L.C., Suzuk, H.I. & Júlio-Jr, H.F. (2003). Migratory fishes of the upper Paraná River basin, Brazil. In: Carolsfeld J, Harvey B, Ross C & Baer A. *Migratory fishes of South America: biology, fisheries and conservation status*. Alaris Design, Victoria, Canada.
- Agostinho, A,A, Thomaz SM & Gomes LC. (2005). Conservação da biodiversidade em águas continentais do Brasil. *Megadiversidade*, 1(1), 70-78.
- Agostinho, A. A., Gomes, L. C. & Pelicice, F. M. (2007). *Ecologia e manejo de recurso pesqueiro em reservatórios do Brasil*. Maringá: Eduem.
- Albert, J. S. & Crampton, W. G. R. (2010). The geography and ecology of diversification in Neotropical freshwaters. *Nature Education Knowledge*, 1(10), 13.
- Allendorf, F. W. & Ryman, N. (2002). The role of genetics in population viability analysis. *Population viability analysis*. University of Chicago press, Chicago, 50-85.
- Allendorf, F.W. & Luikart, G. (2007). Conserving global biodiversity. *Conservation and the genetics of populations*. Blackwell, Oxford.
- Allendorf, F. W. (2017). Genetics and the conservation of natural populations: allozymes to genomes. *Molecular Ecology*, 26(2), 420-430.
- Ashikaga, F. Y., Orsi, M. L., Oliveira, C., Senhorini, J. A. & Foresti, F. (2015). The endangered species *Brycon orbignyanus*: genetic analysis and definition of priority areas for conservation. *Environmental Biology of Fishes*, 98(7), 1845-1855.
- Avise, J.C., Arnold, J., Ball, R.M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J.E., Reeb, C.A. & Sauders, N.C. (1987) Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 489-522.

- Barbieri, G., Salles, F. A. & Cestarolli, M. A. (2000). Influência de fatores abióticos na reprodução do dourado, *Salminus maxillosus* e do curimatá, *Prochilodus lineatus* do Rio Mogi Guaçu (Cachoeira de Emas, Pirassununga/SP). *Acta Limnologica Brasiliensia*, 12(2), 85-91.
- Barroca, T.M., Arantes, F.P., Magalhães, B.F., Siqueira, F.F., Horta, C.C.R., Pena, I.F., Dergam, J.A. & Kalapothakis, E. (2012). Genetic diversity and population structure of *Prochilodus costatus* and *Prochilodus argenteus* preceding dam construction in the Paraopeba River, São Francisco River Basin, Minas Gerais, Brazil. *Open Journal of Genetics*. 2: 121-130.
- Begon, M., Townsend, C. R. H., John, L., Colin, R. T. & John, L. H. (2006). Ecology: from individuals to ecosystems (No. Sirsi) i9781405111171).
- Beheregaray L. B., Möller L. M., Schwartz T. S., Chao N. L. & Caccone G. 2004. Microsatellite markers for the cardinal tetra *Paracheirodon axelrodi*, a commercially important fish from central Amazonia. *Molecular Ecology Notes* 4: 330–332
- Bentzen, P., Taggart, C. T., Ruzzante, D. E. & Cook, D. (1996). Microsatellite polymorphism and the population structure of Atlantic cod (*Gadus morhua*) in the northwest Atlantic. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53(12), 2706-2721.
- Berdahl, A., Westley, P. A. & Quinn, T. P. (2017). Social interactions shape the timing of spawning migrations in an anadromous fish. *Animal Behaviour*, 126, 221-229.
- Bergner, L. M., Dussex, N., Jamieson, I. G. & Robertson, B. C. (2016). European colonization, not Polynesian arrival, impacted population size and genetic diversity in the critically endangered New Zealand kākāpō. *Journal of Heredity*, 107(7), 593-602.
- Berry, O., Tocher, M. D. & Sarre, S. D. (2004). Can assignment tests measure dispersal? *Molecular Ecology*, 13(3), 551-561.

- Bonetto, A.A. (1986). Fish of the Paraná system. In: Davies, B.R. & Walker, K.F. (Eds.) *The Ecology of River Systems*, Dr W. Junk, Dordrecht, The Netherlands. pp. 573–588.
- Brigante, J. & Espíndola, E. L. G. (2003). A bacia hidrográfica: aspectos conceituais e caracterização geral da bacia do Rio Mogi Guaçu. *Limnologia fluvial: um estudo no Rio Mogi Guaçu* (J. Brigante & ELG Espíndola, eds.). RIMA, São Carlos, 1-13.
- Brodersen, J., Nilsson, P.A. & Hansson, L.A. (2008). Condition-dependent individual decision-making determines cyprinid partial migration. *Ecology*, 89:1195–1200
- Bronmark, C., Hulthén, K., Nilsson, P.A., Skov, C., Hansson, L. A., Brodersen, J. & Chapman, B.B. (2013). There and back again: Migration in freshwater fishes. *Canadian Journal of Zoology*, 92(6), 467-479.
- Christiakov, D.A., Hellemans, B.E. & Volckaert, F.A.M. (2006). Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. *Aquaculture* 255:1–29.
- Comite, D. & Guaçu, M. (1999). Diagnóstico da Bacia Hidrográfica do Rio Mogi Guaçu: Relatório Zero. São Paulo: CBH-MOGI.
- Companhia, D.T.D.S.A. (1999). CETESB. Diagnóstico da Bacia Hidrográfica do Rio Mogi Guaçu. São Paulo: Cetesb, 219.
- Cooke, S.J., Hinch, S.G., Farrell, A.P. et al. (2008). Developing a mechanistic understanding of fish migrations by linking telemetry with physiology, behavior, genomics and experimental biology: an interdisciplinary case study on adult Fraser River sockeye salmon. *Fisheries*, 33, 321-338.
- Dingle, H. (2006). Animal migration: is there a common migratory syndrome? *Journal of Ornithology*, 147, 212–220.
- Dingle, H. & Drake, A. V. (2007). What is migration? *BioScience*, 57, 113–121.

- Dingle, H. (2014). *Migration: the Biology of Life on the Move*, Ed 2. Oxford University Press, USA, 2014.
- Do, C., Waples, R. S., Peel, D., Macbeth, G. M., Tillett, B. J. & Ovenden, J. R. (2014). NeEstimator v2: re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size (N_e) from genetic data. *Molecular Ecology Resources*, 14(1), 209-214.
- Esteves, K. E. & Pinto Lôbo, A. V. (2001). Feeding pattern of *Salminus maxillosus* (Pisces, Characidae) at Cachoeira das Emas, Mogi-Guaçu River (São Paulo State, Southeast Brazil). *Revista Brasileira de Biologia* 61.2: 267-276.
- Excoffier, L. & Lischer, H. (2015). Arlequin (Version 3.5). Swiss Institute of Bioinformatics.
- Ferreira, D. G., Souza-Shibatta, L., Shibatta, O. A., Sofia, S. H., Carlsson, J., Dias, J. H. P.; ... & Makrakis, M. C. (2017). Genetic structure and diversity of migratory freshwater fish in a fragmented Neotropical river system. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 27(1), 209-231.
- Flecker, A.S. (1996). Ecosystem engineering by a dominant detritivore in a diverse tropical stream. *Ecology*, 77: 1845–1854.
- Froese, R. & D. Pauly. Editors. 2017. FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org
- Garcia, I.C.B.D. (2006). Influência da pesca seletiva sobre o comprimento médio de maturação em populações de dourado (*Salminus brasiliensis*), piraputanga (*Brycon hilarii*) e curimbatá (*Prochilodus lineatus*) no Rio Miranda, Mato Grosso do Sul (Master thesis).
- Godinho, A.L. & Godinho, H.P. (2003). Breve visão do São Francisco. Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais. Belo Horizonte: PUC Minas, 468, 15-23.
- Godoy, M. D. (1957). Marcação de peixes no Rio Mogi Guaçu. *Revista Brasileira de Biologia*, 17(4), 479-490.

- Godoy, M. P. (1975). *Peixes do Brasil, subordem Characoidei: bacia do rio Mogi Guassú* (Vol. 1). Editora Franciscana. p. 219-397.
- Goudet, J. (1995) FSTAT (Version 1.2): A computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity*, 86(6):485-486.
- Hahn, L., Agostinho, A.A., English, K.K., Carosfeld, J., da Câmara, L. F. & Cooke, S.J. (2011). Use of radiotelemetry to track threatened dorados *Salminus brasiliensis* in the upper Uruguay River, Brazil. *Endangered Species Research*, 15(2), 103-114.
- Hanson, K. C., Cooke, S. J., Hinch, S. G., Crossin, G. T., Patterson, D. A., English, K. K., ... & Farrell, A. P. (2008). Individual variation in migration speed of upriver-migrating sockeye salmon in the Fraser River in relation to their physiological and energetic status at marine approach. *Physiological and Biochemical Zoology*, 81(3), 255-268.
- Hartl, D.L. & Clark, A.G. (2007). Principles of population genetics. *Sunderland, Massachusetts: Fourth Edition Sinauer Associates Google Scholar*.
- Heim, K.C., Wipfli, M.S., Whitman, M.S. & Seitz, A.C. (2016). Body size and condition influence migration timing of juvenile Arctic grayling. *Ecology of Freshwater Fish*, 25:156–166
- Hess, J.E., Caudill, C.C., Keefer, M. L., McIlraith, B.J., Moser, M.L. & Narum, S.R. (2014). Genes predict long distance migration and large body size in a migratory fish, Pacific lamprey. *Evolutionary Applications*, 7(10), 1192-1208.
- Hess, J.E., Zendt, J.S., Matala, A.R. & Narum, S.R. (2016). Genetic basis of adult migration timing in anadromous steelhead discovered through multivariate association testing. *Proceedings of the Royal Society B* (Vol. 283, No. 1830, p. 20153064).
- Hilborn, R., Quinn, T.P., Schindler, D.E. & Rogers, D.E. (2003). Biocomplexity and fisheries sustainability. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(11), 6564-6568.

- Hilsdorf, A.W.S. & Orfão, L.H. (2011). Aspectos gerais do melhoramento genético em peixes no Brasil. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40, 317-324.
- Hilsdorf, A.W.S. & Hallerman, E. M. (2017). Genetic Resources of Neotropical Fishes. Springer International Publishing. 258 pp. DOI 10.1007/978-3-319-55838-7_5
- IUCN. (1995). International Union for Conservation of Nature & Natural Resources. Species Survival Commission. IUCN Red list categories.
- Junk, W.J. (1993). Wetlands of tropical South America. In: D.F. Whigham, D.F., Hejny, S. & Dykyjova, D. (eds). *Wetlands of the World. Kluwer Publishers*, The Netherlands. pp. 679-739.
- Kalinowski, S.T. (2004). Counting alleles with rarefaction: private alleles and hierarchical sampling designs. *Conservation genetics*, 5(4), 539-543.
- Kardos, M., Taylor, H.R., Ellegren, H., Luikart, G. & Allendorf, F.W. (2016). Genomics advances the study of inbreeding depression in the wild. *Evolutionary Applications*, 9(10), 1205-1218.
- Kell, L.T., Dickey-Collas, M., Hintzen, N.T., Nash, R.D., Pilling, G.M. & Roel, B.A. (2009). Lumpers or splitters? Evaluating recovery and management plans for metapopulations of herring. ICES. *Journal of Marine Science*, 66(8), 1776-1783.
- Kenchington, E.L. (2003). The Effects of fishing on species and genetic diversity. *Responsible fisheries in the marine ecosystem*, 235.
- Laikre, L., Palm, S. & Ryman, N. (2005). Genetic population structure of fishes: Implications for coastal zone management. *AMBIO. Journal of the Human Environment*, 34(2), 111-119.
- Lane, H.S., Symonds, J.E. & Ritchie, P.A. (2016). The phylogeography and population genetics of *Polyprion oxygeneios* based on mitochondrial DNA sequences and microsatellite DNA markers. *Fisheries Research*, 174, 19-29.
- Lima, F.C.T. (2006). Revisão taxonômica e relações filogenéticas do gênero *Salminus* (Teleostei: Ostariophysii: Characiformes: Characidae). (Doctoral dissertation).

- Lowe-McConnell, R.H. (1999). Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais. São Paulo, EDUSP, 584p.
- Lyons, J.I., Pierce, A.A., Barribeau, S.M., Sternberg, E.D., Mongue, A.J., Roode, D. & Jacobus, C. (2012). Lack of genetic differentiation between monarch butterflies with divergent migration destinations. *Molecular Ecology*, 21(14), 3433-3444.
- Machado, C. (2003). Aspectos reprodutivos do dourado *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816) (Teleostei, Characidae) na região do alto Rio Uruguai, Brasil. 61p. Dissertação (Mestrado em aquicultura). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- Manel, S., Schwartz, M.K., Luikart, G. & Taberlet, P. (2003). Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in ecology & evolution*, 18(4), 189-197.
- Meirmans, P.G. (2015). Seven common mistakes in population genetics and how to avoid them. *Molecular Ecology*, 24(13), 3223-3231.
- Melo, B F., Sato, Y., Foresti, F. & Oliveira, C. (2013). The roles of marginal lagoons in the maintenance of genetic diversity in the Brazilian migratory fishes *Prochilodus argenteus* and *P. costatus*. *Neotropical Ichthyology*, 11(3), 625-636.
- Morais Filho, M.B.; Schubart, O. & Morais Filho, O.M.B. (1955). Contribuição ao estudo do dourado (*Salminus maxillosus* Val.) do rio Mogi Guassu (Pisces, Characidae). *Ministério da Agricultura. Divisão de Caça e Pesca*, São Paulo, Brasil, 131 pp.
- Nei, M. & Li, W.H. (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 76:5269–5273.
- Okazaki, T.I., Hallerman, E.M., Resende, E.K. & Hilsdorf, A.W.S. (2017). Genetic characterization of *Brycon hilarii* (Characiformes) populations within the Pantanal: Aspects of their conservation within a globally important Neotropical wetland. *Journal of Ichthyology*, 57(3), 434-444.

- Paiva, M. P. (1982). *Grandes Represas do Brasil*. Brasília, DF, Editerra, 304pp.
- Pereira, L.H.G., 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.
- Pritchard, J.K., Stephens, M. & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945-959.
- Pulido, F., Berthold, P., Mohr, G. & Querner, U. (2001). Heritability of the timing of autumn migration in a natural bird population. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 268(1470), 953-959.
- Ramenofsky, M. & Wingfield, J.C. (2017). Regulation of complex behavioral transitions: migration to breeding. *Animal Behaviour*, 124, 299-306.
- Reynalte-Tataje, D.A. & Zaniboni-Filho, E. (2008). Biologia e identificação de ovos e larvas de peixes do alto rio Uruguai. In: Zaniboni-Filho, E. & Nuñez, A.P.O. (ed.). *Reservatório de Itá: estudos ambientais, desenvolvimento de tecnologias de cultivo e conservação da ictiofauna*. Florianópolis: UFSC, 229-255.
- Ribolli, J. (2014). Caracterização genética populacional do dourado, *Salminus brasiliensis* (Pisces, Characidae, Salmininae) na Bacia do alto e médio rio Uruguai. Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos, UFSCar.
- Ribolli, J., Miño, C.I., Zaniboni-Filho, E., Souza Guerreiro, T.C., Reynalte-Tataje, D. A., Freitas, P. D. & Galetti, P. M. (2016). Preliminary insights into the genetic mating system of Neotropical *Salminus brasiliensis*: kinship assignment and parental reconstruction reveal polygynandry. *Ichthyological Research*, 63(1), 187-191.
- Ribolli, J., Hoeninghaus, D.J., Johnson, J.A., Zaniboni-Filho, E., de Freitas, P.D. & Galetti, P. M. (2017). Isolation-by-time population structure in potamodromous dourado, *Salminus brasiliensis* in southern Brazil. *Conservation Genetics*, 18(1), 67-76.
- Ridley, M. (2006). *Evolução*. 3ª edição. Porto Alegre: Artmed.

- Rossini, B.C. (2010). Caracterização da estrutura genética de populações residentes e migradoras da espécie *Salminus brasiliensis* da Bacia do Rio Mogi Guaçu. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de São Carlos, UFSCar.
- Rossini, B.C., Nunes, A.G., Freitas, P.D. & Galetti Jr, P.M. (2010). Isolation and characterization of microsatellite loci of the freshwater fish *Salminus franciscanus*. *Molecular Ecology Resources*.
- Rueda, E.C., Amavet, P., Brancolini, F., Sommer, J. & Ortí, G. (2011). Isolation and characterization of eight polymorphic microsatellite markers for the migratory characiform fish, *Salminus brasiliensis*. *Journal of Fish Biology*, 79(5), 1370-1375.
- Sanches, A., Galetti Jr, P.M., Galzerani, F., Derazo, J., Cutilak-Bianchi, B. & Hatanaka, T. (2012). Genetic population structure of two migratory freshwater fish species (*Brycon orthotaenia* and *Prochilodus argenteus*) from the São Francisco River in Brazil and its significance for conservation. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 40(1), 177-186.
- Samarasin, P., Shuter, B.J., Wright, S.I. & Rodd, F.H. (2017). The problem of estimating recent genetic connectivity in a changing world. *Conservation Biology*, 31(1), 126-135.
- Sato, Y., Fenerich-Verani, N. & Godinho, H. P. (2003). Reprodução induzida de peixes da bacia do São Francisco. Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais. PUC Minas, Belo Horizonte, 275-289.
- Schindler, D.E., Hilborn, R., Chasco, B., Boatright, C.P., Quinn, T.P., Rogers, L.A. & Webster, M.S. (2010). Population diversity and the portfolio effect in an exploited species. *Nature*, 465(7298), 609.
- Schutz, J.H., Weingartner, M., Zaniboni-Filho, E. & Nuñez, A.P.O. (2008). Crescimento e sobrevivência de larvas de surubim *Steindachneridion scriptum* nos primeiros dias de vida: influência de diferentes alimentos e fotoperíodos. *Boletim do Instituto de Pesca*, 34(3), 443-451.

- Shaklee, J.B. & Bentzen, P. (1998). Genetic identification of stocks of marine fish and shellfish. *Bulletin of Marine Science*, 62(2), 589-621.
- Silva, J.V.D., Hallerman, E.M., Orfão, L.H.; Hilsdorf, A.W.S. (2015). Genetic structuring of *Salminus hilarii* Valenciennes, 1850 (Teleostei: Characiformes) in the Rio Paraná basin as revealed by microsatellite and mitochondrial DNA markers. *Neotropical Ichthyology*, 13(3), 547-556.
- Sivasundar, A.; Bermingham, E. & Ortí, G. (2001). Population structure and biogeography of migratory freshwater fishes (Prochilodontidae, Characiformes) in major South American rivers. *Molecular Ecology*, 10: 407-417.
- Slatkin M. (1995). A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, 139:457–462.
- Taylor, B.W., Flecker, A.S.; Hall, R.O. (2006). Loss of a harvested fish species disrupts carbon flow in a diverse tropical river. *Science*, 313(5788), 833-836.
- Torloni, C.E.C., Corrêa, A.R.A., Carvalho-Jr., A.A.D., Santos, J.J.D., Gonçalves, J.L., Gereto, E.J., Cruz, J.A., Moreira, J.A., Silva, D.C., Deus, E.F. & Ferreira, A.S. (1993). Produção pesqueira e composição das capturas em reservatórios sob concessão da CESP nos rios Tietê, Paraná e Grande, no período de 1986 a 1991. São Paulo, CESP, *Série Produção Pesqueira*, 001: 73p.
- Van Oosterhout, C., Hutchinson, W.F., Wills, D.P.M. & Shipley, P. (2004). Micro-checker: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4:535-538.
- Vazzoler, A.E.A.M. (1996). Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática. Maringá, PR: EDUEM.
- Wasser, S.K., Brown, L., Mailand, C., Mondol, S., Clark, W., Laurie, C.; Weir, B.S. (2015). Genetic assignment of large seizures of elephant ivory reveals Africa's major poaching hotspots. *Science*, 349(6243), 84-87.
- Weir, B.S. & Cockerham, C.C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38:1358-1370.

- Winemiller, K.O. (1993). Seasonality of reproduction by liver bearing fishes in tropical rainforest streams. *Oecologia*, 95(2), 266-276.
- Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. *Ann. Eugen*, 15:323–354.
- Wright, S. (1978). *Evolution and the genetics of populations*, vol. 4. Variability within and among populations.
- Zaniboni-Filho, E. & Schulz, U.H. (2003). Migratory fishes of the Uruguay River. In: *Migratory fishes of the South America: Biology, social importance and conservation status*. World Fisheries Trust, Victoria, 135-168.
- Zaniboni-Filho, E., Ribolli, J., Hermes-Silva, S. & Nuñez, A.P. (2017). Wide reproductive period of a long-distance migratory fish in a subtropical river, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 15(1). (online) e160135[1].