



O USO DE MARCADORES MOLECULARES COMO FERRAMENTA NO MELHORAMENTO GENÉTICO DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*): UMA REVISÃO

<https://doi.org/10.33872/puxirum.v2n1.e0015>

Eric Costa Campos ¹, Karla Miky Tsujii ²

¹ Doutor, Pesquisador do Grupo Peixegen – UEM/PR.

² Doutora, Pesquisadora do Grupo Peixegen – UEM/PR.

RESUMO: O objetivo com o presente trabalho foi a elaboração de uma revisão que compilasse os principais pontos importantes sobre os marcadores microssatélites a variabilidade genética de Tambaqui (*Colossoma macropomum*), abordando os tópicos relativos ao cenário da aquicultura e à tecnologia da reprodução de peixes nativos. O tambaqui é um dos peixes nativos mais consumidos no Brasil e, conseqüentemente um dos mais produzidos em cativeiro da mesma categoria. Para a produção em larga escala, conhecer os hábitos reprodutivos e estratégias de manejo se tornam uma parte essencial do processo. O uso de microssatélites se apresenta como alternativa eficiente para os programas de melhoramento genético na piscicultura a nível mundial e, executar a técnica com peixes nativos se torna uma excelente prática, aumentando o desempenho de animais, visando a seleção de exemplares superiores com mais facilidade, proporcionando ao programa de melhoramento uma ferramenta robusta de produção de dados.

Palavras-chave: Tambaqui, melhoramento genético, marcadores moleculares.

ABSTRACT: The objective of this work was to prepare a review that compiled the main important points about microsatellite markers and the genetic variability of Tambaqui (*Colossoma macropomum*), addressing topics related to the aquaculture scenario and the technology for reproducing native fish. Tambaqui is one of the most consumed native fish in Brazil and, consequently, one of the most produced in captivity in the same category. For large-scale production, knowing reproductive habits and management strategies becomes an essential part of the process. The use of microsatellites presents itself as an efficient alternative for genetic improvement programs in fish farming worldwide and, performing the technique with native fish becomes an excellent practice, increasing animal performance, aiming to select superior specimens more easily, providing the breeding program with a robust data production tool.

Keywords: Tambaqui, genetic improvement, molecular markers.



1. INTRODUÇÃO

Dentre as diversas espécies de peixe cultivadas no Brasil, o tambaqui (*Colossoma macropomum*) se destaca por sua expressiva contribuição econômica, visto que representou 29,3% da produção total de peixes no país no ano de 2014, valor 6,7% superior ao ano de 2013 (BRASIL, 2014), sendo assim, considerada a maior espécie nativa cultivada no Brasil.

Pertencente à família Serrasalminae, nativa da bacia do Rio Amazonas, de hábito alimentar onívoro e rusticidade em cativeiro, essa espécie é muito apreciada pelos produtores, devido a facilidade de cultivo e características favoráveis de sabor e consistência de sua carne, que garantem o escoamento do produto ao mercado consumidor.

Para garantir o sucesso em um sistema de cultivo de peixes é fundamental o conhecimento sobre as características e necessidades de cada espécie. Neste sentido, uma precisa investigação genética que contribua para a identificação populacional e, ainda, com a seleção de animais de maior potencial produtivo, é fundamental para determinar a direção a ser tomada, no intuito de se maximizar a produtividade junto a qualidade do produto.

A seleção de animais geneticamente superiores para reprodução das gerações seguintes, constitui a base da maioria dos programas de melhoramento em peixes. Em contrapartida, o ganho genético é sustentável se a variabilidade genética for preservada ao longo das gerações.

O maior desafio para o progresso de um programa de melhoramento genético em peixes está relacionado ao manejo reprodutivo inadequado. As características reprodutivas do Tambaqui, como a alta fecundidade e desova total motivam a diminuição do número de fêmeas destinadas a reprodução, e, aliado ao número efetivo inferior, devido à redução de espaço para uma maior produção de alevinos, pode acarretar incremento da endogamia.

A redução da heterozigose afeta diretamente a produção, seja no ganho de peso, na reprodução, ou na adaptabilidade e sobrevivência das progênes. Manter a diversidade genética em estoques de reprodutores é um trabalho primordial, que pode ser auxiliado por meio do uso de marcadores moleculares. Baseado no uso da multiplicação de um fragmento de DNA, pela metodologia de reação em cadeia de polimerase (PCR), os marcadores microssatélite tem demonstrado grande eficiência na detecção de polimorfismos em peixes, que se torna mais interessante devido à facilidade de manuseio da técnica. Assim, o presente artigo tem como objetivo apresentar uma revisão consistente com o melhoramento genético do Tambaqui utilizando técnicas de marcadores genéticos moleculares.

2. PANORAMA DA AQUICULTURA

A criação ou cultivo de organismos que tenham todo, ou parte, do seu ciclo de vida



ocorrendo no meio aquático recebe o nome de aquicultura. A mesma é considerada uma arte milenar, uma vez que registros encontrados apontam para a existência de conhecimento e utilização de tais técnicas de cultivo pelos chineses há muitos séculos.

De acordo com dados oficiais da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO, 2016), a produção mundial conquistada com a aquicultura no período de 2014, foi de 101.090.700 de toneladas. Deste montante, a China deteve mais da metade da produção com 58.795.300t (58,16%), seguida da Indonésia com 14.330.900t (14,17%) e Índia com 4.884.000t (4,83%), enquanto o Brasil ocupou a 14^o posição, com uma produção correspondente a pouco mais que 0,5%. Ao se comparar o crescimento produtivo entre diferentes culturas alimentícias, durante o período de 2000 a 2012, é possível enxergar o grande potencial da aquicultura, que apresentou crescimento de 6,7% no mundo, enquanto no mesmo período a produção do milho cresceu 4,7%; a avicultura cresceu 3,3%; o trigo, 1,4%; a bovinocultura e o cultivo do arroz, 1,2%; a suinocultura, 1%; enquanto a pesca, de caráter extrativista, decresceu 0,2% (BRASIL, 2015). Assim, tem-se um mercado em plena expansão mundial.

No Brasil, segundo dados oficiais da Produção da Pecuária Municipal (PPM) do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (BRASIL, 2014), a aquicultura brasileira movimentou em 2014 R\$ 820 milhões a mais em relação ao ano de 2013, onde dos R\$ 3,87 bilhões movimentados, 70,2% são provenientes da criação de peixes e 20,5% referentes a criação de camarões. A produção total da piscicultura brasileira foi de 473.330 toneladas, representando um aumento de 20,9% em relação à registrada no ano de 2013, com 392.493 toneladas.

O estado de Mato Grosso, que no ano de 2013 ocupava a 1^o posição do ranking de maiores produtores de peixes nativos, com 75.629 toneladas, apresentou queda de produção no ano de 2014, com a produção de 60.946 toneladas de pescado, que correspondeu a 12,8% da produção nacional, ficando atrás do estado de Rondônia, que atualmente produz quase 16% do pescado nacional. A perda de posição do estado de Mato Grosso no ranking nacional de produtores de peixes possivelmente ocorreu devido ao município de Sorriso ter despescado 2,4% a menos em relação ao ano de 2013. Mesmo com o declínio na produção, Sorriso continua sendo o principal município produtor de peixes do Brasil, assim, demonstrados nos dados oficiais do IBGE referente a PPM (BRASIL, 2014).

O Plano de Desenvolvimento da Aquicultura Brasileira – 2015/2020, apresentado pelo extinto Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA), mostra que o setor representa uma nova fronteira para o crescimento do agronegócio brasileiro. Esse plano possui 15 ações a serem realizadas visando um único objetivo: alcançar a meta de 2 milhões de toneladas de carne provenientes da aquicultura até o final de 2020. Deste total é esperado que 1.750.000 toneladas sejam provenientes da criação de peixes, quase 4 vezes mais do que é produzido atualmente no



país, sendo um valor realmente alto para um curto período de tempo, mas não impossível.

O Brasil tem um enorme potencial hídrico, com 12% da água doce disponível do planeta e um litoral de mais de oito mil quilômetros. Além disso o consumo de peixe vem crescendo no país a uma média de 12% ao ano, sendo registrado 14,5 kg/habitante/ano em 2013 (MPA, 2013), valor superior à média recomendada pela Organização Mundial da Saúde, de 12kg/habitante/ano. Esse aumento observado provavelmente ocorreu devido a procura por alimentos mais saudáveis para consumo, sendo o pescado uma excelente opção, como afirma Araújo (2013).

3. TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)

Entre as 54.700 espécies de vertebrados conhecidas, 28.500 são peixes e, destes, 11.952 são espécies de água doce (Nelson, 2006). Assim, constituindo cerca de 50% de todas as espécies de animais vertebrados descritas, destaca-se como o grupo de maior diversidade dentre os vertebrados. Na região Neotropical, que compreende toda a América Central e América do Sul, são descritas aproximadamente 4.500 espécies de peixes de água doce (Reis et al., 2003), mostrando a diversidade de espécies, com as mais variadas adaptações fisiológicas, morfológicas e comportamentais. (Moro, et.al 2013)

Das espécies nativas do Brasil se destacam 4 famílias: *Pimelodidae*, agrupando as espécies de corpo fusiforme, com ausências de escamas, os bagres em geral. *Anostomidae*, peixes com corpo alongado e porte médio, de grande adaptabilidade ao manejo. *Characidae*, de corpo alongado e robusto, de grande potencial para produção em cativeiro devido ao excelente sabor da carne, e, a família *Serrasalminidae*, que agrupa, popularmente os “peixes rendondos”, por exemplo, o Tambaqui (*Colossoma macropomum*), nativo da bacia do rio Amazonas.

O Tambaqui (Figura 1) é uma espécie de suma importância para o cenário nacional, principalmente para o Mato Grosso, onde é a maior espécie produzida no estado e também havendo grande aceitação de mercado, correspondendo a 27% da preferência do consumidor, segundo dados da Federação da Agricultura e Pecuária do Estado de Mato Grosso (2014).



Figura 1. Exemplar de Tambaqui (*Colossoma macropomum*).

Fonte: Canal do Produtor (2012)

Considerado o segundo maior peixe produzido no Brasil, e a maior espécie nativa cultivada, a produção de Tambaquis representa 29,3% do total de pescado da piscicultura nacional e movimentou cerca de 755 milhões de reais no ano de 2014, um aumento de 6,7% em relação ao ano anterior, conforme dados da PPM (BRASIL, 2014). Seu potencial se deve à grande rusticidade, boas taxas de crescimento e uma conversão alimentar baixa, de aproximadamente entre 0,09 (Silva et al, 2015) a 2,09 (Izelet.al, 2002) dependendo do sistema de criação. Considerada uma carne magra (4,9% de lipídeos), de boa quantidade proteica, cerca de 14,7% (Mesquita, 2013), é uma das espécies de peixes mais apreciadas pela população amazônica, caracterizado como alimento de alta qualidade nutricional, apresenta-se como uma referência na culinária amazônica e com ascendente destaque nacional e internacional, dada a grande aceitação da carne quanto ao sabor e sua consistência (Santos, 2010). Além disso, a morfologia desta espécie contribui para o aproveitamento de cortes cárneos, pois o corpo robusto com formato arredondado, dorso alto e região das costelas ampla, possibilita bons cortes para a indústria (Moro, et.al 2013).

De reprodução reofílica, nome dado ao processo migratório durante o período de reprodução, apresenta hábito alimentar onívoro, com rastros brânquiais desenvolvidos e capazes de realizar a captura de plâncton como fonte alimentar. Dentro das espécies nativas, o Tambaqui possui a cadeia produtiva mais desenvolvida, porém com algumas dificuldades como, por exemplo, no processamento, devido a presença de espinhos intramusculares, fator que dificulta o aumento de consumo. Neste quesito difere da principal espécie cultivada no Brasil, Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), que já possui um pacote tecnológico consolidado. Alguns



parâmetros para a produção do tambaqui em cativeiro nas fases de terminação e recria já foram estudados, mas, ainda havendo um certo desacordo entre os resultados (Rodrigues, 2014) como, por exemplo, o nível proteico bruto na dieta, entre 22% (Macedo, 1979) a 30% (Oshi, 2010), energia de 2700 (Gutiérrez et al., 2010) a 4589 kcal/kg (Van Der Meer et al., 1995), lipídios, em torno de 7% e inclusão de no máximo 40% de carboidratos (Moro, et.al 2013). Na fase de larvicultura, há uma exigência de proteína bruta variando de 40-50% (Lima et al., 2013) e conforme se dá o aumento da idade dos animais no processo produtivo, ocorre o declínio do nível de proteína na ração (Moro, et.al 2013), assim, contribuindo aos custos com alimentação, que representam 62,3% da produção, conforme descrito por Castro et.al (2002).

4. MELHORAMENTO GENÉTICO

O melhoramento genético é a utilização dos conhecimentos da genética animal com o intuito de aumentar a média de produção dos animais, utilizando-se o fundamento da seleção e dos sistemas de acasalamento (Eler, 2014). Essa técnica, em peixes, mesmo que de modo empírico, teve início a mais de 2000 anos, onde os chineses, que dominavam as técnicas de reprodução da Carpa-comum (*Cyprinus carpio*), passaram a observar variações fenotípicas de interesse, como, por exemplo, a coloração e forma do corpo, iniciando os processos de seleção (Alves; Varela; Hashimoto, 2013). Apesar do grande potencial da piscicultura brasileira, o melhoramento genético para espécies nativas ainda é pouco expressivo, embora crescente, quando comparado a outros animais de produção, como os suínos e as aves, em que o melhoramento já é aplicado e consolidado.

A utilização de métodos de melhoramento em peixes é recente no país. A primeira tentativa ocorreu em 1980, em parceria com a Hungria, onde utilizou-se a ginogênese para obtenção de carpas húngaras altamente produtivas (Resende et al. 2010). Porém, somente em 2005, com a introdução da Tilápia do Nilo, variedade GIFT (Genetically Improved Farming Tilapia), sendo a instituição nucleadora à Universidade Estadual de Maringá, iniciaram-se programas de melhoramento de peixes no Brasil por meio de desenvolvimento tecnológico neste setor de pesquisa (Albuquerque, 2014).

O melhoramento genético de espécies nativas no Brasil apresenta-se em etapa inicial, com o estabelecimento de programas e primeiros resultados. Assim, ainda se faz necessário encorajar a formação de técnicos que tenham a capacidade de administrar programas de melhoramento genético, além de estimular o desenvolvimento de estruturas apropriadas a distribuir material genético de qualidade, conforme afirma Resende et al. (2010). Segundo Gjedren (2005), a inexistência de programas de melhoramento no setor está relacionada com as poucas informações do ciclo reprodutivo de várias espécies cultivadas; a captura irregular de



espécimes selvagens para reposição de reprodutores, que compromete a domesticação da espécie, e por último, aos técnicos (extensionistas e piscicultores) com pouco conhecimento teórico sobre genética quantitativa e melhoramento animal. Conhecer a genética quantitativa, o estudo de características hereditárias e de variação quantitativa, é de grande importância para a piscicultura, pois, sendo a maior parte das características de importância econômica controladas por muitos genes e fortemente influenciadas pelo ambiente, faz-se necessário o delineamento de um programa de melhoramento e avaliação genética para ganhos genéticos satisfatórios sejam obtidos.

Ainda pouco explorados, os peixes apresentam vantagens para programas de melhoramento quando comparados a outros animais de produção como, por exemplo, a alta fertilidade; fertilização externa, que garante flexibilidade na definição de acasalamentos com a formação de grupos, além de diferentes cruzamentos, assim, facilitando hibridizações, e, baixo custo do núcleo de melhoramento, devido, o menor custo de manutenção de reprodutores e engorda dos animais candidatos (Turra; Fernandes; Alvarenga, 2013.)

5. VARIABILIDADE GENÉTICA

A busca por uma alimentação mais saudável contribuiu para o crescimento da aquicultura em todo o mundo. Apesar dos seus aspectos positivos, esta atividade representa certos riscos, como potenciais ameaças à integridade genética das populações selvagens e depressão endogâmica em populações cultivadas. O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é uma das espécies nativas mais importantes para a piscicultura nacional, e, o conhecimento da variabilidade genética deve ser uma prioridade para o desenvolvimento de estratégias de gerenciamento, capazes de moderar a perda da diversidade genética de populações e, assim, diminuir os potenciais riscos genéticos (Aguiar et al., 2013). Os efeitos da endogamia afetam diretamente a produção, seja no ganho de peso, na reprodução, ou deixando a espécie susceptível às doenças no ambiente de cultivo. Entretanto estes ainda são problemas que não tem recebido muita atenção por parte dos criadores comerciais de peixes (Hilsdorf & Dergam, 1999)

Segundo Resende et.al. (2010), um dos grandes desafios para implantação de um programa de melhoramento é o manejo reprodutivo e a forma de acasalamento a ser adotado, de forma que evite ao máximo elevar os índices endogâmicos, permitindo-se assim, o ganho genético nas próximas gerações. Espécies que apresentam como característica a desova total, possuem alta fecundidade, fator que motiva o produtor a deixar de preocupa-se com o número de fêmeas destinadas à reprodução, facilitando o aumento dos índices de endogamia no plantel. Na maioria das vezes, devido à redução de espaço para maximização da produção de alevinos, mantem-se um número efetivo menor, ocorrendo a utilização do sêmen de um mesmo macho



várias vezes. Portanto, as características reprodutivas dos peixes, juntamente com o manejo reprodutivo adotado, acabam auxiliando o aumento da endogamia no plantel. (Hilsdorf; Dergam, 1999).

Manter a variabilidade genética é uma tarefa primordial, tanto para preservação das espécies no habitat quanto para seleção de reprodutores. Uma alternativa para gerencia-la é a utilização de marcadores moleculares, ferramenta bastante utilizada e de grande destaque (Wasko et al., 2004; Barroso et al., 2005; Hilsdorf et al., 2006) que pode ser utilizada o auxílio na manutenção da variabilidade genética, assim, permitindo a seleção e novos cruzamentos em uma mesma geração, portanto, aumentando a eficiência do programa de melhoramento (Albuquerque, 2014).

6. MARCADORES GENÉTICOS

Para a introdução de uma espécie em um programa de melhoramento genético, é importante o conhecimento, bem como o controle de informações genéticas do indivíduo, sejam elas realizadas por marcadores individuais de forma eletrônica, morfológica, ou, genético.

Existem diversos marcadores genéticos que podem ser aplicados na piscicultura, sendo eles bioquímicos, cromossômicos ou moleculares, variando apenas o seu custo de implantação e desenvolvimento, mas todos com o mesmo princípio de identificar uma característica do DNA que seja representativa do indivíduo, com frequência identificável na população ou até mesmo entre espécies (ALVES; VARELA; HASHIMOTO, 2013).

7. MARCADOR CROMOSSÔMICO

Pode se dizer que a citogenética em peixes, área que estuda os cromossomos, iniciou na década de 1970 com o início dos primeiros grupos de pesquisa na área, e, os primeiros trabalhos publicados sobre o cariótipo de peixes neotropicais, creditadas a Jim e Toledo (1975) com espécies de *Astyanax*, e, Toledo e Ferrari (1976) em família *Pimelodidae*. (Artoni; Vicari; Bertollo, 2000).

Após a metáfase, fase que sucede a prófase, durante o ciclo celular, se torna possível a visualização através de microscopia óptica o DNA na forma de cromossomo, que são unidades de armazenamento e transmissão do material genético dos indivíduos, de geração a geração. Com a aplicação de metodologias de análise e bandamento cromossômico, é possível identificar; número diploide de cromossomos da espécie, ocorrência de triploidia ou tetraploidia, presença de cromossomos supranumerários, cromossomos sexuais, estrutura dos cromossomos localizando as regiões de heterocromatina e os genes responsáveis pela organização (Alves; Varela; Hashimoto, 2013), além, da identificação de híbridos, por exemplo, o Tambacu, resultado do cruzamento entre a fêmea de Tambaqui (*Colossoma macropomum*) e o macho Pacu



(*Piaractus mesopotamicus*) (Almeida-Toledo et.al, 1993).

Alguns estudos revelam que a ordem Characiformes apresentam uma grande variação no número diploide, por exemplo em *Hemigrammus* com $2n = 28$ (Scheel, 1973) e, *Potamorhina altamazonica*, com $2n = 102$ (Feldberg et.al., 1993), além de vários cromossomos supranumerários em algumas espécies (Falcão et.al 1984; Pastori et.al 2002). Mas ainda sem dúvida, a sua maior aplicabilidade é referente a estudos evolutivos, considerada uma ótima ferramenta para o auxiliar a taxonomia (Artoni; Vicari; Bertollo, 2000).

8. MARCADORES MOLECULARES

Desde a descoberta da estrutura de DNA por Watson e Crick (1953), a genética vem progredido significativamente e contribuindo para a compreensão de processos biológicos referentes à evolução de espécies. Um dos principais fatores que proporcionou o desenvolvimento de marcadores moleculares, foi devido à grande complexidade de interação genótipo, fenótipo e ambiente, onde fatores ambientais influenciam características fenotípicas, assim a variação genética pode ser subestimada, ou superestimada, caso fosse baseada somente em dados fenotípicos. (Bueno-Silva, 2012).

O desenvolvimento da biologia molecular nos últimos 30 anos, aliada ao surgimento de novas ferramentas moleculares, tem auxiliado na melhoria da produção aquícola mundial. Neste contexto, através do uso de marcadores moleculares tornou possível observar e explorar a variação genética, por exemplo, polimorfismos no genoma inteiro, entre indivíduos (Diniz, 2015).

O uso de marcadores moleculares que empregam técnica de reação em cadeia da enzima polimerase (PCR), permitem a observação da diversidade genética através da amplificação seletiva em uma região específica do genoma, a partir de uma pequena amostra de DNA. O uso de marcadores RAPD, RFLP e microssatélites, que empregam a técnica de PCR, possuem a vantagem de redução no tempo para a identificação do genótipo, além de necessitar de uma extração mínima de material biológico (Lupchinsky-Junior, 2007).

Os marcadores moleculares baseados em DNA, podem ser classificados em dois grupos, sendo, os dominantes (RAPD, AFLP) que permitem obter dados de diversos loci do genoma, e os codominantes (RFLP e microssatélites) que revelam alelos de um loci específico do genoma, e no caso dos microssatélites, permitem verificar a frequência alélica e heterozigosidade (Bueno-Silva, 2012). A escolha de um marcador molecular mais adequado em uma piscicultura se torna uma tarefa complicada devido as inúmeras opções disponíveis, portanto, muitos fatores devem ser considerados para a escolha, sejam eles os custos de implantação e desenvolvimento, e os números de animais a serem analisados, assim, não prejudicando o seu objetivo (Alves; Varela; Hashimoto, 2013).



PCR-RFLP (PCR de Polimorfismo no tamanho de fragmento de restrição)

Esse marcador foi desenvolvido por Botstein et.al (1980), técnica bastante utilizada nesse período. A técnica consiste na fragmentação do DNA, obtidos através de uso de enzimas de restrição que tem o princípio de cortar os sítios de restrição, gerando fragmentos de diferentes tamanhos que posteriormente são marcados com radioatividade, ou compostos que reagem com luminescência, assim identificando o polimorfismo (Bered; Barbosa-Neto; Carvalho, 1997). Apesar do seu custo moderado, apresentam baixo polimorfismo, as regiões hipervariáveis são de difícil identificação, além de muita perda de informação genética (Alves; Varela; Hashimoto, 2013).

Visando o maior conhecimento da columnariose, enfermidade de grande importância na piscicultura, responsável por elevado número de mortes em sistemas intensivos de criação, Sebastião (2010) isolou, caracterizou bioquimicamente e molecularmente meio de PCR-RFLP o agente causador da doença, a *Flavobacterium columnare*. Devido à escassez de dados sobre genética molecular referentes ao gênero *Astyanax* e a dificuldade na identificação taxonômica, Honna (2010) estudou por meio da técnica de RFLP a caracterização de espécies desse gênero com base em análises de DNA. Com a dificuldade de identificação de espécies do gênero *Brachyplatystoma* (SILURIFORMES: PIMELODIDAE) nas feiras, frigoríficos e portos, além do fato desses peixes chegarem descabeçados e impossibilitando a identificação, Macedo (2013) propôs diferenciar geneticamente indivíduos de piraíba (*B. filamentosum*), piraíba preta (*B. capapretum*) e dourada (*B. rousseauxii*) de cinco localidades da Amazônia Brasileira (Belém, Tabatinga, Rio Madeira, Rio Branco) por meio de análise de DNA mitocondrial através da técnica de PCR de Polimorfismo no tamanho de fragmento de restrição. São poucos os estudos em peixes por meio dessa técnica, devido a existência de outras superiores, por exemplo, as análises por meio de RAPD e microssatélites.

9. RAPD (Polimorfismo de DNA amplificado ao acaso)

Este marcador surgiu em meados dos anos 1990, quando pesquisadores norteamericanos (Williams et. al., 1990; Welsh e McClelland, 1990) propuseram o uso de pequenos primers, ou sequência de DNA com até 10 pares de bases utilizada para iniciar a amplificação, como um método de geração de marcadores moleculares polimórficos (Lopera-Barrero, 2007).

A técnica de Polimorfismos de DNA amplificado ao acaso (RAPD) baseia-se na repetição cíclica da extensão enzimática de um único primer, que se anela nos dois extremos opostos de uma fita de DNA. Esse iniciador tem sua sequência arbitrária, desta maneira, sua sequência alvo é desconhecida (Araujo, et.al., 2003), assim sendo necessário o conhecimento prévio da sequência de nucleotídeos, ou no mínimo a extremidade da região (Reginato, 2001). As vantagens de encontrar um alto polimorfismo associado com a rapidez nas análises, além da alta acessibilidade e necessidade de uma pequena quantidade de material biológico, fizeram



dessa técnica bastante difundida. Entretanto, possui algumas desvantagens, por exemplo, são de característica dominante, apresenta sensibilidade a pequenas alterações de concentração dos componentes da reação podendo produzir modificações no padrão dos marcadores e baixo grau de reprodutibilidade que é afetada através da concentração de magnésio e do DNA, além da dificuldade de assumir homologia entre dois fragmentos (Povh, 2007).

Jacometo (2010) avaliou por meio da técnica de RAPD a diversidade genética em quatro estoques de *Colossoma macropomum* de diferentes regiões do Brasil; Rondônia, Sergipe e Mato Grosso. Onde utilizou-se dez primers para analisar 116 indivíduos, que apresentaram alta variabilidade e baixa diferenciação e distância genética entre si. Utilizando seis iniciadores para avaliar a diversidade genética da população base do programa de melhoramento genético de Tambaqui do estado de Mato Grosso, Bignardi (2012) observou a presença de 83 fragmentos polimórficos e variabilidade genética moderada a alta na devida população. Lopera-Barrero (2015) com a utilização de oito primers, verificou em três estoques de *Colossoma macropomum* a frequência de 88 fragmentos com altos valores de polimorfismos (54,38 a 64,38%), apresentando baixa a alta diferenciação genética ($F_{st} = 0,03$ a $0,0178$).

10. MICROSSATÉLITES

Os microssatélites, ferramenta molecular descrita por Litt & Luty (1989), busca a manutenção da variabilidade genética entre e dentro dos grupos ou populações, derivação genética e migração onde está sendo utilizada a seleção, sendo assim, uma ferramenta útil para escolha de medidas a serem tomadas (Albuquerque, 2014). Esta técnica tem sido bastante utilizada para o monitoramento genético em peixes, especificamente; o sistema de cruzamento, fluxo gênico e estrutura genética dos estoques (Yue; Orban, 2002) e na conservação da biodiversidade (Povh, 2007).

Conhecido como sequência simples repetida (SSR) ou repetições curtas em tandem (STR), são compostos por sequências de um a oito nucleotídeos repetidos em sequência, sendo cada bloco de repetição menor que 100 pares de base. Esse tipo de marcador é muito mais frequente e distribuído ao acaso, permitindo a mais completa cobertura de qualquer genoma eucarioto (Castro, 2015).

Os microssatélites são marcadores codominantes, ou seja, revelam alelos de um loci específico do genoma (Lopera-Barrero, 2007), assim, possibilitando a identificação de indivíduos homozigotos e heterozigotos. Esta característica de codominância permite que os dados obtidos sejam analisados por métodos estatísticos da genética populacional. Esse marcador molecular possui um elevado conteúdo de informações de polimorfismos, e tem sido de grande eficiência, sendo útil para análises de variabilidade genética, tornando assim, o manejo dirigido e minimizando qualquer efeito negativo na estrutura gênica (Alves et al., 2013), ou seja, quando se usa um manejo reprodutivo adequado associado com esta ferramenta, pode



haver uma grande contribuição para a redução dos índices endogâmicos em programas de melhoramento genético de espécies aquícolas (Bentsen; Olesen, 2002).

Devido sua facilidade e ampla finalidade, os microssatélites são bastante utilizados em peixes neotropicais, como forma de caracterização de material genético, seleção de reprodutores, construção de mapas genéticos e mapeando importantes genes de interesse econômico quantitativos aplicados em programas de melhoramento (Albuquerque, 2014). Com a preocupação da perda de estoque natural de *Colossoma macropomum*, espécie que corresponde 70% da piscicultura local, Santos (2010) avaliou por meio de 14 microssatélites a diversidade genética dessa espécie, constatando uma alta variabilidade genética em Tambaquis pertencentes da bacia do Rio Amazonas. Santana (2011), por meio de 11 loci microssatélites verificou a variabilidade genética em quatro diferentes populações de *Colossoma macropomum* a partir de populações de cativeiro e natural, e observou que a população em criação é que mais sofre com a redução da perda de diversidade genética, enquanto a população natural tem uma alta variabilidade, mas, existe uma moderada perda de diversidade genética devido ao déficit de heterozigotos, fator que pode estar relacionado com a constante captura de indivíduos, assim impedindo a troca de genes entre as populações. Com o objetivo de estimar o parentesco genético em reprodutores de tambaqui de uma piscicultura comercial, sem as informações de procedência e pedigree, utilizando seis marcadores microssatélites, Varela et.al. (2015) verificaram um polimorfismo moderado e parentesco médio estimado de -0,015 a 0,02 que, de modo geral, não mostraram vínculo genético entre si, assim assegurando amplas possibilidades de acasalamento de reprodutores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, J.; SCHNEIDER, H.; GOMES, F.; SANTOS, S.; RODRIGUES, L. R.; SAMPAIO, I. Genetic variation in native and farmed populations of Tambaqui (*Colossoma macropomum*) in the Brazilian Amazon: regional discrepancies in farming systems. **Anais Da Academia Brasileira De Ciências**. Rio de Janeiro, v. 85, n. 4, p. 1439-1447, 2013. Disponível em: <<http://goo.gl/WDczS0>>. Acessado em: 24 de maio de 2023.

ALBUQUERQUE, D. M. **Variabilidade genética de *Pseudoplatystoma reticulatum* do programa de melhoramento genético**. 2014. 69 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 2014. Disponível em: <<http://goo.gl/KpPKg5>>. Acessado em: 20 de mai. de 2024.

ALMEIDA-TOLEDO, L. F.; COUTINHO-BARBOSA, A. C.; ROSENBERG, C.; DANIEL, M. F. Z.; TOLEDO-FILHO, S. A. Hibridação in situ com sondas de rDNA em cromossomos de *Piaractus mesopotamicus*, *Colossoma macropomum* e de seus



híbridos. **Brazilian Journal Genetic**. Ribeirão Preto, v. 16, p. 141, 2003. Disponível em: <<http://goo.gl/aEvvdv>>. Acessado em: 20 de maio de 2024.

ALVES, A. L.; VARELA, E. S.; HASHIMOTO, D. T. Genética aplicada a piscicultura. In: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Brasília. **Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos**. Embrapa, 2013. p. 273-300.

ARAUJO, E. L.; SANTOS, M. E.; AREIAS, G. B. M.; SOUZA, S. R.; FERNANDES, M. S. Uso de RAPD para Análise de Diversidade Genética em Arroz. **Agronomia**. Rio de Janeiro, v. 37, n°. 1, p. 33-37, 2003. Disponível em: <http://www.ia.ufrj.br/revista/artigos/2003-1/22_37.pdf>. Acessado em: 28 de jun. de 2023.

ARTONI, R.F.; VICARI, M.R.; BERTOLLO L.A.C.; CABELLO, P.H.; Citogenética de peixes neotropicais: métodos, resultados e perspectivas. **Biological and Health Sciences**. Texas, v.6, p.43-60, 2000. Disponível em: <<http://goo.gl/tQrFsQ>>. Acessado em: 20 de maio de 2024.

BARROSO, R.M.; HILSDORF, A.W.S.; MOREIRA, H.L.M.; CABELLO, P.H.; Traub-Csekod, M. Genetic diversity of wild and cultured populations of *Brycon opalinus* (Cuvier, 1819) (Characiforme, Characidae, Bryconiae) using microsatellites. **Aquaculture**. Nova York, v.247, p.51-65, 2005. Disponível em: <<http://goo.gl/yWfGWH>>. Acessado em: 24 de maio de 2023.

BENTSEN, H.B.; OLESEN, I. Designing aquaculture mass selection programs to avoid high inbreeding rates. **Aquaculture**. Amsterdã, v. 204, p. 349-359, 2002. Disponível em: <<http://goo.gl/TrQhrC>>. Acessado em: 23 de mai. de 2024.

BERED, F.; BARBOSA-NETO, J. F.; CARVALHO, F. I. F. Marcadores moleculares e suas aplicações no melhoramento genético de plantas. **Ciência Rural**. Santa Maria, v. 27, n. 3, p. 513-520, 1997. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v27n3/a26v27n3>>. Acessado em: 28 de maio de 2023



BIGNARDI, A. B., LOPERA-BARRERO, N. M., RIBEIRO, R. P., KELLEN G., BASSI, M. S. A., SANTANA-JÚNIOR, M. L. S.; POVH, J. A. **Variabilidade genética de estoques de Colossoma macropomum, utilizando RAPD1**. X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal. João Pessoa, PB – 20 a 22 de junho de 2012. Disponível em: <<http://sbmaonline.org.br/anais/ix/trabalhos/pdf/4NMF.pdf>>. Acessado em: 06 de jun de 2023.

BRASIL. MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. **Consumo de pescado no Brasil aumenta 23,7% em dois anos**. [Página web]. 2013. Disponível em: <<https://goo.gl/dqRs3d>>. Acessado em: 19 de abri. 2024.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Plano de Desenvolvimento da Aquicultura Brasileira – 2015/2020**. Brasília, v. 1, p. 1-64, 2015. Disponível em: <<http://goo.gl/4Yt1Tm>>. Acessado em: 19 de abril de 2024.

BRASIL. MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. **Semana do Peixe populariza consumo de pescado no País**. [Página web]. 2013. Disponível em: <<https://goo.gl/8HtM44>>. Acessado em: 19 de abri. 2024.

BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Produção da Pecuária Municipal**. Rio de Janeiro, v. 42, p.1-108, 2013. Disponível em: <<http://goo.gl/TBxdFf>> Acessado em: 19 de abril de 2016.

BOTSTEIN D.; WHITE, R.L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R. W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**. v. 32(3), p. 314-331, 1980. Disponível em: <<http://goo.gl/k2JgJf>> Acessado em: 20 de maio de 2024.

BUENO-SILVA, M. Genética molecular e sistemática animal: Um breve histórico, contribuições e desafios. **Estudo de Biologia: Ambiente e Diversidade**. Paraná, v. 34(83), p. 157-163, 2012. Disponível em: <<http://goo.gl/IF4In4>>. Acessado em: 20 de maio de 2024.



CASTRO, A. L.; SOUZA, N. H.; BARROS, L. C. G. Avaliação do sistema de produção de Tambaqui intensivo em viveiro de terra com aeração. **Comunicado Técnico**. Aracaju. Embrapa Tambuleiros Costeiros. Comunicado Técnico 09. 4 f. 2002. Disponível em: <<http://goo.gl/847Ktq>> Acessado em: 20 de maio de 2024.

CASTRO, P. L. **Contribuição Genética e Reprodutiva de Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) submetidos aos sistemas de reprodução seminatural e extrusão**. 2015. 56f. Dissertação (Mestre em Zootecnia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 2015. Disponível em: <<http://goo.gl/cPwvH0>>. Acessado em: 15 de jul. de 2024.

DINIZ, M. F. **Marcadores moleculares e suas aplicações na aquicultura**. In: **Aquicultura no Brasil: novas perspectivas**. São Carlos: Pedro & João Editores, 2015, v. 1, f. 75-84. Disponível em: <<http://goo.gl/WC6qwG>>. Acessado em: 28 de maio de 2023.

ELER, J. P. **Teoria e Métodos em Melhoramento Genético Animal: Bases do melhoramento genéticos animal**. Pirassununga. USP: Departamento de Medicina Veterinária, 2014. 249p. Apostila. Disponível em: <<http://www.usp.br/gmab/discip/apos1.pdf>>. Acessado em: 22 de maio de 2024.

FALCÃO, J. N.; MOREIRA-FILHO, O.; BERTOLLO, A. C. An additional chromosome in two fish species. **Brazilian Journal Genetic**. Ribeirão Preto, v. 7, n.1, p. 109-118, 1984. Disponível em: <<http://goo.gl/28kAQV>>. Acessado em: 26 de maio de 2023.

FELDBERG, E.; PORTO, J. I. R.; NAKAYAMA, C. M.; BERTOLLO, L. A. C. Karyotype evolution in Curimatidae (Teleostei, Characiformes) from the Amazon region. II. Centric fissions in the genus Portamorhina. **Genome**. New York, V. 36, p. 372-376, 1993. <<http://goo.gl/giupCk>>. Acessado em: 20 de maio de 2024.

GJEDREM, T. Genetic improvement for the development of efficient global aquaculture: A personal opinion review. **Aquaculture**. Amsterdã, v.344-349, p.12-22, 2012. Disponível em: <<http://goo.gl/EGC4IR>>. Acessado em: 22 de maio de 2024.



GUTIÉRREZ, F.W.; QUISPE, M.; VALENZUELA, L.; CONTRERAS, G.; ZALDÍVAR, J. Utilización de la proteína dietaria por alevinos de la gamitana, *Colossoma macropomum*, alimentados com dietas isocalóricas. **Revista Peruana de Biología. Peru**, v. 17, p. 219-223, 2010. Disponível em: <<http://goo.gl/OwX3zP>>. Acessado em: 20 de maio de 2024.

HILSDORF, A. W. S & DERGAM, J. A. Depressão por endogamia: somente uma terminologia genética ou um fato na aquicultura. **Panorama da Aquicultura**. Rio de Janeiro, v.9, p.34-36, 1999. Disponível em: <<http://goo.gl/ksxKig>>. Acessado em: 20 de maio de 2024.

HILSDORF, A. W. S.; RESENDE, E. K.; MARQUES, D. K. S. Genética e conservação de estoques pesqueiros de águas continentais no Brasil: situação atual e perspectivas. **Folheto: Documentos**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2006. v. 82, 44p. Disponível em: <<http://goo.gl/IpPSDy>>. Acessado em: 20 de maio de 2024.

HONNA, C. Y. **Diversidade gênica no gênero *Astyanax* (Teleostei : Characidae) através da análise de PCR-RFLP de DNA mitocondrial**. 2010. 39 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado e Licenciatura - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, 2010. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/119429>>. Acessado em: 28 de maio de 2023.

ITÁLIA. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). **The State of World Fisheries and Agriculture (SOFIA): Contributing to food security and nutrition for all.** Roma, v. 8, p.1-204, 2016. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a-i5555e.pdf>>. Acessado em: 06 de ago. de 2023.

IZEL, A. C. U.; CRESCÊNIO, R.; O'SULLIVAN, F. F. L.; CHAGAS, E. C.; BOIJINK, C. L.; SILVA, J. I. Produção intensiva de tambaqui em tanques escavados com aeração. Circular técnica. Manaus. Embrapa Amazônia Ocidental. **Circular Técnica 39**. 4 f. 2013. Disponível em: <<http://goo.gl/JYLM7p>>. Acessado em: 20 de maio de 2024.



JACOMETO, C. B.; LOPERA-BARRERO, N. M.; RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, M. P.; GOMES, P. C.; POVH, J. A.; STREIT-JUNIOR, D. P.; VARGAS, L.; RESENDE, E. K.; RIBEIRO, R. P. Variabilidade genética em tambaquis (Teleostei: Characidae) de diferentes regiões do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, vol. 45, n. 5, p. 481-487, 2010. Disponível em: <<http://goo.gl/VEhkzu>>. Acessado em: 06 de jun de 2023.

JIM, S. M.; TOLEDO, V. Citogenética de *Astyanax fasciatus* e *Astyanax bimaculatus* (Characidae, Tetragonopterinae). **Ciência e Cultura**, v.27, p. 1122-1124. 1975.

LIMA, A. F.; MORO, G. V.; KIRSCHINIK, L. N. G; BARROSO, R. M. Reprodução, larvicultura e alevinagem de peixes IN: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Brasília. **Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos**. Embrapa, 2013. p. 301-346.

LITT, M. & LUTY, J.A.M. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. **The American Journal of Human Genetics**. 1989. v. 44(3), p. 397–401. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2563634>>. Acessado em: 15 de mai de 2024.

LOPERA-BARRERO, N. M; POVH, J. A; RIBEIRO, R. P.; GOMES, P. C.; JACOMETO, C. B.; LOPES, T. S. Comparación de protocolos de extracción de ADN con muestras de aleta y larva de peces: extracción modificada con cloruro de sodio. **Ciencia e Investigación Agraria**, Santiago, v. 35, n. 1, p. 77-86, abr. 2008a. Disponível em: < <http://goo.gl/LzyoV4> >. Acessado em: 20 de jul. 2023.

LOPERA-BARRERO, N. M.; RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, M. P., FORNARIA, D. C.; RESENDE, E. K.; POVEDA-PARRA, A. R.; BRACCINI, G.; SOUZA, F. P.; FURLAN, P. J.; POVH, J. A.; RIBEIRO, R. P. Variabilidade genética de Tambaqui (Teleostei – Characidae) da região nordeste do Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**. Londrina, v. 36, n. 6, 2015. Disponível em: <<http://goo.gl/25IQbK>>. Acessado em: 06 de jun de 2023.



LUPCHINSKI-JUNIOR, E. **Avaliação da composição genética de linhagens de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e das Gerações Go e F1 da linhagem GIFT.** 2007. 76 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 2007. Disponível em: <<http://goo.gl/QJqxuK>>. Acessado em: 20 de maio de 2024.

MACEDO, R. G. Identificação Molecular de Espécies do Gênero *Brachyplatystoma* (SILURIFORMES: PIMELODIDAE) com base em PCR-RLFP da região controle do DNA Mitocondrial. **II Congresso de Iniciação Científica PIBIC/CNPq - PAIC/FAPEAM.** Manaus, f. 1-3, 2013. Disponível em: <<http://goo.gl/gfgf5e>>. Acessado em: 20 de maio de 2024.

MATO GROSSO. Federação da Agricultura e Pecuária do Estado do Mato Grosso. **Diagnóstico da Piscicultura em Mato Grosso.** Cuiabá, p.1-204, 2016. Disponível em: <<http://goo.gl/DQBFx0>>. Acessado em: 15 de maio de 2024.

MESQUITA, R. C. T. **Características corporais e composição centesimal entre machos e fêmeas de tambaqui (*Colossoma macropomum*).** 2013. 60 f. Dissertação (Mestre em Zootecnia) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2013. Disponível em: <<http://goo.gl/xasRxU>>. Acessado em: 20 de maio de 2024.

MORO, G. V.; REZENDE, F. P.; ALVES, A. L.; HASHIMOTO, D. T.; VARELA, E. S.; TORATI, L. S. Espécies de peixe para piscicultura. In: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Brasília. **Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos.** Embrapa, 2013. p 29-68.

NELSON, J. S. **Fishes of the world.** Nova jersey, EUA: John Wiley e Sons, IN., 2006. n.4, 600p.

OISHI, C.A.; NWANNA, L.C.; PEREIRA-FILHO, M. Optimum dietary protein requirement for Amazonian tambaqui, *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818, fed fishmeal free diets. **Acta Amazonica.** Manaus, v. 40, p. 757-762, 2010. Disponível em: <<http://goo.gl/kZpUe9>>. Acessado em: 20 de maio de 2024.



PASTORI, M. C.; FENOCCHIO, A. S.; LOPEZ, P. A. First description of microchromosome in the Anostomidae fish *Schizodon nasutus* from Argentina. **Brazilian Journal Genetic**. Ribeirão Preto, v. 20, p. 425-427, 1997. Disponível em: <<http://goo.gl/28kAQV>>. Acessado em: 26 de maio de 2023.

POVH, J. A. **Avaliação da diversidade genética e do manejo reprodutivo em pacu, *Piaractus mesopotamicus***. 2007. 97 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 2007. Disponível em: <<http://goo.gl/GFhAEW>>. Acessado em: 06 de jun de 2016.

REGINATO, L. C. A. Introdução à análise de marcadores moleculares. IN: Reginato, L. C. A & Coutinho, L. L (ED.). **Biologia molecular aplicada à produção animal**. Brasília: EMBRAPA. pp. 25-39. Disponível em: <<http://goo.gl/xWSqGz>>. Acessado em: 28 de jun. de 2023.

RESENDE, E. K.; OLIVEIRA, C. A. L.; LEGAT, A. P.; RIBEIRO, R. P. Melhoramento animal no Brasil: uma visão crítica. Palestra. In: **Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal**, 8., SBMA, 2010. 11p. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/871211>>. Acessado em: 22 de maio de 2024.

RODRIGUES, A. P. O. NUTRIÇÃO E ALIMENTAÇÃO DO TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*). **Boletim do Instituto da Pesca**. São Paulo, 40(1): 135 – 145, 2014. Disponível em: <ftp://ftp.sp.gov.br/ftppesca/40_1_135-145.pdf>. Acessado em: 20 de maio de 2024.

SANTANA, G. V. **Marcadores microsatélites: ferramentas para manejo e conservação da variabilidade genética em populações de tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier 1818)**. 2011. 139 f. Tese (Genética, Conservação e Biologia Evolutiva - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Manaus, 2011. Disponível em: <<http://bdtd.inpa.gov.br/handle/tede/2107>>. Acesso em: 20 de jul. de 2023.

SANTOS, M. C. F. **Caracterização da diversidade genética de populações naturais de tambaqui (*Colossoma macropomum*) através de marcadores moleculares: uma contribuição para conservação da espécie**. 2010. 175 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Programa Multi-Institucional de Pós-graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Amazonas. Manaus, 2010. Disponível em: <<http://tede.ufam.edu.br/handle/tede/2243>>. Acessado em: 20 de maio de 2023.



SCHEEL, J. J. Cromossomos em peixes e sua evolução. **Internal Report of Denmark's Akvarium**. Dinamarca, 22p. 1973.

SEBASTIÃO, F. A. **Isolamento, caracterização bioquímica e molecular por PCR-RFLP e análise dos polissacarídeos produzidos na formação de biofilme de Flavobacterium columnare em peixes**. 2007. 71 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2010. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/94921>>. Acessado em: 20 de maio de 2024.

TURRA, E. M.; FERNDANDES, A. F. A.; ALVARENGA, E. R. **Ferramentas para o melhoramento genético de peixes em água interiores**. Palestra. In: Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal, 10., SBMA, 2013. 12p. Disponível em: <<http://sbmaonline.org.br/anais/x/palestras/pdfs/EduardoTurraV2.pdf>>. Acessado em: 22 de maio de 2024.

VAN DER MEER, M.B.; MACHIELS, M.A.M.; VERDEGEM, M.C.J. The effect of dietary protein level on growth, protein utilization and body composition of *Colossoma macropomum* (Cuvier). **Aquaculture Research**. Nova York, v. 26, p. 901–909, 1995. Disponível em: <<http://goo.gl/jRSuh4>>. Acessado em: 20 de maio de 2024.

VARELA, E. S.; ALVES, A. L.; BARROSO, A. S.; TARDIVO, T. F.; Parentesco genético em reprodutores de tambaqui (*Colossoma macropomum*) baseado em marcadores de DNA: perspectivas de manejo genético na ausência de pedigree. **Embrapa Pesca e Aquicultura-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. Palmas, v. 8, p. 1- 32, 2015. Disponível em: <<http://goo.gl/zfNLGt>>. Acesso em: 20 de jul. de 2024.

WASKO, A.P.; MARTINS, C.; OLIVEIRA, C. et al. Genetic monitoring of the Amazonian fish matrinhã (*Brycon cephalus*) using RAPD markers: insights into supportive breeding and conservation programmes. **Journal of Applied Ichthyology**. New Jersey, v.20, p.48-52, 2004. Disponível em: <<http://goo.gl/DvEvIu>>. Acessado em: 22 de maio de 2024.

WATSON, J. D. & CRICK, F. H. A structure for deoxyribose nucleic acid. **Nature**. Reino Unido, v. 171(4356), p. 737-738, 1953. Disponível em: <<http://goo.gl/o9zJ8p>>. Acessado em: 20 de maio de 2024.



WELSH, J. & McCLELLAND, M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. **Nucleic Acids Research**. Oxford, v. 18, p. 7213-7218, 1990. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2259619> >. Acessado em: 06 de jun. de 2023.

WILLIAMS, J. G. K.; KBELIK, A. R.; LIVAK, K. J.; RAFALSKI, J. A; TINGEY, S. V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acis Research**. Oxford, v. 18 (22), p. 6531-6535, 1990. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1979162>>. Acessado em: 06 de jun. de 2023.

YUE, G.H.; ORBAN, L. Microsatellites from genes show polymorphism in two related *Oreochromis* species. **Molecular Ecology Notes**. Nova Jersey, v. 2, p. 99-100, 2002. Disponível em: <<https://goo.gl/Y1mtZ3>>. Acessado em: 15 de jun de 2023.