

**FREDERICO BELEI DE ALMEIDA**

**DIVERSIDADE MOLECULAR EM ESPÉCIES DE TRAIRÕES DO  
COMPLEXO *Hoplias lacerdae* (Teleostei: Erythrinidae)**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Biologia Animal, para obtenção do  
título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2010

**FREDERICO BELEI DE ALMEIDA**

**DIVERSIDADE MOLECULAR EM ESPÉCIES DE TRAIRÕES DO  
COMPLEXO *Hoplias lacerdae* (Teleostei: Erythrinidae)**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa, como  
parte das exigências do Programa de  
Pós-Graduação em Biologia Animal,  
para obtenção do título de *Magister  
Scientiae*.

**APROVADA: 11 de junho de 2010.**

---

Prof. Rubens Pazza  
(Co-orientador)

---

Prof<sup>a</sup>. Karine Frehner Kavalco

---

Prof Sérgio Luis Pinto da Matta

---

Prof. Renato Neves Feio

---

Prof. Jorge Abdala Dergam dos Santos  
(Orientador)

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço em primeiro lugar aos meus pais, Angelo e Marta, e meus irmãos, Rômulo e Ione por se fazerem presentes durante toda a minha formação e por sempre apoiar minhas decisões.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Biologia Animal, pela oportunidade de realização desse estudo e pelo incremento a minha formação.

Ao meu orientador, Jorge Dergam por ter me oferecido estágio desde a época da graduação e por ter me fornecido o material para a dissertação, que sem o qual eu não teria meios de concluir o mestrado.

Aos professores doutores Rubens Pazza e Karla Yotoko pela co-orientação e a prof. Dr. Karine Kavalco, ao prof. Dr. Renato Neves Feio e ao prof. Dr. Sérgio Luis Pinto da Matta pela participação na argüição.

Aos colegas do Beagle que tornaram as práticas no laboratório mais agradáveis, mesmo em finais de semana e feriados. Em especial ao Udson Santos pelas ajudas nas análises e discussão do trabalho.

A minha namorada Luana Perin que sempre soube me cativar com um sorriso ou uma palavra amigável. Sem você a conclusão desse trabalho seria muito mais difícil.

Ao Henrique Caldeira Costa, meu querido amigo, que deu uns pequeninos pitacos e me ajudou com o inglês.

Aos meus amigos viçosenses e capixabas, obrigado pela força e por todos os momentos agradáveis que vocês me proporcionaram. Todos vocês estão no meu coração.

Aos pesquisadores que coletaram tecidos de trairão mesmo antes de eu começar o estudo.

Aos trairões que deram a vida pela minha formação.

A todos aqueles que contribuíram de alguma forma para meu crescimento pessoal e elaboração desta dissertação.

## **BIOGRAFIA**

Frederico Belei de Almeida, filho de Angelo Botelho de Almeida e Marta Elena Belei de Almeida, nasceu em Vila Velha, Espírito Santo, em 19 de Março de 1985.

Residente em Vila Velha, concluiu o Ensino Médio em dezembro de 2002, no Colégio Nacional. Em fevereiro de 2004 ingressou no curso de Ciências Biológicas na Faculdades Integradas São Pedro. Em 08 de Agosto de 2007 graduou-se Licenciatura e Bacharelado em Ciências Biológicas.

Em fevereiro de 2008 ingressou no curso de mestrado do programa de pós-graduação em Biologia Animal, na Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos em genética de peixes neotropicais e conservação de trairão (Teleostei: Erythrinidae).

## ÍNDICE

|   |     |
|---|-----|
| RESUMO .....  | v   |
| ABSTRACT .....  | vii |
| INTRODUÇÃO GERAL .....                                    | 1   |
| OBJETIVO .....  | 15  |
| REFERÊNCIAS .....   | 16  |
| DIVERSIDADE MOLECULAR EM ESPÉCIES DE TRAIRÕES DO COMPLEXO |     |
| <i>Hoplias lacerdae</i> (Teleostei: Erythrinidae) .....   | 23  |
| INTRODUÇÃO .....  | 24  |
| MATERIAL E MÉTODOS .....                                  | 28  |
| RESULTADOS .....  | 31  |
| DISCUSSÃO .....   | 35  |
| CONCLUSÕES .....  | 41  |
| REFERÊNCIAS .....   | 42  |

## RESUMO

ALMEIDA, Frederico Belei de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2010. **Diversidade molecular em espécies de trairões do complexo *Hoplias lacerdae* (Teleostei: Erythrinidae)**. Orientador: Jorge Abdala Dergam dos Santos. Coorientadores: Rubens Pazza e Karla Suemy Clemente Yotoko.

O trairão é um caraciforme do complexo *Hoplias lacerdae* e é conhecido pelo seu potencial para piscicultura. Por esse motivo, esta espécie foi introduzida em diversas bacias hidrográficas no Brasil por órgãos governamentais e por particulares. Considerando que a introdução de espécies exóticas é reconhecida como a segunda maior causa de extinção de espécies do mundo e que a introdução de espécies de piscicultura pode ser uma ameaça às populações naturais à introgressão e hibridação do genoma selvagem, buscou-se estudar a diversidade molecular de populações do grupo *Hoplias lacerdae* no sudeste e no sul do Brasil. Setenta espécimes coletados em 16 localidades provenientes de 8 bacias tiveram seu gene adenosina trifosfato (ATPase 6) do DNA mitocondrial sequenciado. O fragmento obtido foi de 688 bases e apresentou 118 sítios filogeneticamente informativos para a análise de máxima parcimônia. Utilizando o Modeltest, o modelo de evolução molecular que mais se ajustou aos dados foi GTR+I+G. Todas as análises realizadas resultaram na mesma topologia, com a identificação de 2 haplogrupos (haplogrupos I e II), com forte apoio estatístico. O haplogrupo I foi formado por dois subgrupos, o haplogrupo IA (amostras do Atlântico Leste, São Francisco e Paraná Superior) e o haplogrupo IB (2 amostras do Paraná Superior). O haplogrupo IA incluiu as espécies *H. intermedius* e *H. brasiliensis*, enquanto o haplogrupo IB foi composto apenas por espécimes de *H. intermedius*, sugerindo uma relação de parafilia entre as duas espécies. O haplogrupo II apresentou as espécies *Hoplias australis* (haplogrupo IIA) e *Hoplias lacerdae* (haplogrupo IIB). O haplogrupo IIA incluiu espécimes restritos à bacia do alto Uruguai. O haplogrupo IIB apresentou maior distribuição, incluindo indivíduos da bacia do Alto Uruguai, do Paraná Superior (Mogi-Guaçú) e do rio Santo Antônio (rio Doce). O haplogrupo I apresentou variação interna aproximadamente 4 vezes menor que a variação interna do haplogrupo II. Este baixo grau de variação genética pode ser reflexo da

introdução do trairão realizada desde a década de 80 no Estado de Minas Gerais. Com base nos dados, conclui-se que o status taxonômico de *H. brasiliensis* e *H. intermedius* deve ser reavaliado, além de salientar a necessidade de um estudo mais detalhado da composição genética dos estoques de piscicultura, os quais podem incluir material genético de *H. lacerdae*.

## ABSTRACT

ALMEIDA, Frederico Belei de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, April, 2010.  
**Molecular diversity in the giant trahira of the *Hoplias lacerdae* complex (Teleostei: Erythrinidae).** Advisor: Jorge Abdala Dergam dos Santos. Co-advisors: Rubens Pazza and Karla Suemy Clemente Yotoko.

The giant trahira of the *Hoplias lacerdae* group has been used in aquaculture for some decades in some regions of Brazil, where it has been spread as part of government policies. Because these activities may represent inadvertent introduction of exotic species, introgression and hybrid formation with natural populations, we carried out a molecular analysis using a fragment of ATP synthase (ATPase 6) on 70 specimens collected in 8 basins in southern and southeastern Brazil. The obtained fragment was 688 base-long and had 118 phylogenetically informative sites for maximum parsimony analysis. Best fit with molecular evolution models was GTR+I+G. Bayesian, maximum parsimony and maximum likelihood analyses yielded the same topology, indicating the existence of 2 well-supported haplogroups (haplogroups I e II). Haplogroup I included two subgroups, haplogroup IA with samples from eastern coastal, São Francisco and Upper Paraná basins and haplogroup IB with samples from Upper Paraná. Haplogroup IA also included the species *Hoplias intermedius* and *Hoplias brasiliensis*, while haplogroup IB was represented by specimens of *H. intermedius*, suggesting a paraphyletic relationship between these two species. Haplogroup II included *Hoplias australis* (haplogroup IIA) restricted to the upper Uruguay Basin and *Hoplias lacerdae* (haplogroup IIB) from the Doce, upper Paraná and upper Uruguay basins. Haplogroup I had 4 times less internal variation than haplogroup II. Low levels of genetic variation in the first haplogroup may reflect intense fish stocking in Minas Gerais state since the 80's. The data underscores the need of a revision of the taxonomic status of *H. brasiliensis* and *H. intermedius* and a more thorough analysis of the genetic makeup of aquaculture stocks, which may include *H. lacerdae* genetic material.



## INTRODUÇÃO GERAL

Os peixes ocupam habitats variados e apresentam grande diversidade em sua morfologia, biologia e comportamento. Esta diversidade é, em parte, o que torna a classificação e a compreensão da sua história evolutiva tão complexa. Estimativas consideram 27.977 espécies válidas de peixes no mundo, o que representa um pouco mais que a metade de espécies de vertebrados conhecidos. Mesmo assim esses números são considerados subestimados, e podem chegar a 35.500 peixes (Nelson, 2006).

A ictiofauna neotropical destaca-se por ser a maior e mais diversificada do mundo (Böhlke *et al.*, 1978; Schaefer, 1998). Reis *et al.* (2003) estimam que 4.500 espécies de peixes sejam conhecidas. Para Vari & Malabarba (1998), um percentual de 30 a 40% de toda a diversidade existente na ictiofauna neotropical pode estar inexplorado. O Brasil possui uma significativa parcela dessa biodiversidade por apresentar a maior parte dos sistemas fluviais da América do Sul (Lundberg *et al.*, 1998; Lovejoy *et al.*, 2005).

Dentre as ordens mais abundantes na América do Sul, os Characiformes representam a maior porção dos teleósteos da região neotropical e apresentam ampla distribuição geográfica, estendendo desde os Estados Unidos até a Patagônia. Os Characiformes apresentam alto grau de diversidade morfológica, fisiológica e um grande número de características adaptativas (Lemos *et al.*, 2002).

A família Erythrinidae representa um pequeno táxon dentro dos Characiformes. Estes peixes são reconhecidos por apresentarem hábito alimentar piscívoro, corpo cilíndrico, nadadeira caudal arredondada, dentes cônicos e ausência da nadadeira adiposa (Oyakawa, 1998). Atualmente sua distribuição é restrita à região neotropical e estende-se desde a Costa Rica até o rio Colorado na Argentina. Apenas três gêneros são reconhecidos na família Erythrinidae: *Erythrinus* Scopoli, 1777, *Hoplerythrinus* Gill, 1895 e *Hoplias* Gill, 1903 (Oyakawa 2003).

O gênero *Hoplias* difere-se dos demais gêneros da família Erythrinidae por apresentar animais de médio a grande porte, possuir maior riqueza em número de

espécies e apresentar distribuição mais ampla dentro da família. Outra característica que difere o gênero é a presença de caninos no maxilar e nadadeira dorsal com 15 a 16 raios (Oyakawa, 2003). O gênero apresenta taxonomia ainda não esclarecida. Por exemplo, *H. malabaricus* (Bloch, 1794) e *H. lacerdae* Miranda Ribeiro, 1908, pertencem a dois grupos de espécies distintas, do complexo *H. malabaricus* e o complexo *H. lacerdae*, respectivamente. Esses grupos apresentam espécies com definições taxonômicas imprecisas (Oyakawa, 1990, 2003).

Apesar de existir algumas semelhanças morfológicas, os complexos de espécies *H. lacerdae* e *H. malabaricus* diferenciam-se em aspectos biológicos, citotaxonômicos e ecológicos. Por exemplo, *H. malabaricus*, apresenta cariomorfos com variações no número estrutural, padrões de bandamento e sistemas sexuais (Bertollo, 2007), enquanto que o complexo *H. lacerdae* apresenta estrutura cromossômica estável,  $2n=50$  (Bertollo *et al.*, 1978; Morelli *et al.*, 2007). Rantin *et al.* (1992, 1993) ressaltam que as duas espécies também apresentam diferentes tolerâncias a hipóxia. *H. lacerdae*, por habitar ambientes lóticos, apresenta menor tolerância à falta de oxigênio dissolvido na água ( $P_cO_2 = 20\text{mmHg}$ ) em relação a *H. malabaricus*, que por habitar ambientes preferencialmente lênticos, apresentam maior tolerância a falta de oxigênio ( $P_cO_2 = 35\text{mmHg}$ ). Apesar de apresentarem essas diferenças, os grupos assemelham-se no comportamento de construção de ninho, hábitos não migratórios e de cuidados parentais (Caramaschi, *et al.*, 1982).

As espécies do complexo *H. lacerdae* são reconhecidas por apresentar 4 a 8 poros no sistema látero-sensorial cefálico. As bordas da margem inferior do dentário dispõem-se de forma paralela, apresentando, em vista ventral, as bordas marginais do dentário em forma de U, sem convergir na forma característica do *H. malabaricus* (bordas do dentário em forma de V) (Oyakawa, 2003). Características anatômicas como lábios delgados e aderidos às maxilas, dentição oral constituída de dentes caninos e cônicos implantados no pré-maxilar, maxilar e dentário, e dentes cônicos nos ectopterigóide e ectopterigóide acessório, língua lisa, com ápice livre e outras características buco-faringiana, determinam os hábitos carnívoros da espécie (Maciel *et al.*, 2009)

Oyakawa & Mattox (2009) propõem a existência de 5 espécies para o complexo *H. lacerdae*: *Hoplias lacerdae* Miranda-Ribeiro, 1908 apresenta de 6 a 8

poros no sistema látero-sensorial, 43 a 48 escamas na linha lateral e, é distribuída nos rios Ribeira de Iguape e Uruguai; *H. intermedius* (Günther, 1864) que apresenta o perfil lateral da cabeça no formato angular, em vista lateral, 4 a 6 poros, coloração do corpo e da cabeça castanho escuro para o claro e 42 a 46 escamas na linha lateral, normalmente é distribuída no rio São Francisco, alto rio Paraná e rio Doce; *H. brasiliensis* (Spix, 1829) que distribui-se nos rios costeiros da drenagem atlântica, desde o rio Paraguaçu até o rio Jequitinhonha, e apresenta o perfil lateral da cabeça no formato angular, em vista lateral, 4 a 6 poros, coloração do corpo e da cabeça castanho escuro para o claro e 38 a 43 escamas na linha lateral; *H. australis* Oyakawa & Mattox, 2009, espécie descrita recentemente para a bacia do rio Uruguai, apresenta perfil anterior da cabeça arredondado em vista lateral; sistema latero-sensorial sempre com 5 poros, coloração da cabeça e do corpo cinza escuro ou castanho escuro e, finalmente, *H. curupira* Oyakawa & Mattox, 2009, espécie recém descrita para a bacia amazônica (rios Negro, Trombetas, Tapajós, Xingu, Tocantins e Capim), alto rio Orinoco próximo ao rio Casiquiare (Venezuela) e rios costeiros da Guiana e Suriname. Esta espécie apresenta variação morfológica entre os indivíduos. Os indivíduos juvenis com o comprimento padrão acima de 60 mm apresentam 4 manchas e vários poros no sistema látero-sensorial e os indivíduos juvenis, menores que 60 mm apresentam 4 poros e 34 a 39 escamas na linha lateral.

Segundo aspectos citogenéticos, o grupo do trairão apresenta uma tendência diferente dos demais representantes da família Erythrinidae. As espécies *Erythrinus erythrinus*, *Hoplerythrinus unitaeniatus* e *Hoplias malabaricus* apresentam cariomorfos com variações no número estrutural, padrões de bandamento e alguns casos nas espécies *E. erythrinus* e *H. malabaricus*, sistemas de cromossomos sexuais (Bertollo, 2007). Apesar de estudos citogenéticos analisarem apenas algumas populações de trairões, o complexo *H. lacerdae* demonstra estrutura cromossômica estável,  $2n=50$  cromossomos meta e submetacêntricos. Pequenas diferenças são observadas na posição do centrômero do par 20 em populações do rio São Francisco (região Três Marias, Minas Gerais) e da Estação de piscicultura da Universidade Federal de Uberlândia (Uberlândia, Minas Gerais) e também no par 23 para populações do rio Pitinga (Uatumã, Amazonas) e da Estação piscicultura da

Universidade Estadual Paulista – UNESP (Jaboticabal, São Paulo) (Morelli *et al.*, 2007). Outras características como heterocromatina constitutiva no braço longo do par 5 e variações na localização das regiões organizadoras do nucléolo (Ag-NOR) nos pares 4, 6, 15 e 19 (Bertollo *et al.*, 1978; Morelli *et al.*, 2007) são reconhecidas para o complexo. Padrões semelhantes foram encontrados por Bertollo *et al.* (1978) e Bertollo & Moreira-Filho (1983) em populações da Estação de Piscicultura da Usina do Limoeiro (São José do Rio Pardo, São Paulo) e do rio Aripuanã (Aripuanã, Mato Grosso).

O trairão é considerado uma espécie de grande potencial para a piscicultura devido a diversos fatores, como capacidade de se adaptar bem às condições de cativeiro, se desenvolver em água em temperatura na faixa de 24 °C a 32 °C (Andrade *et al.*, 1998), comportamento atrativo para pesca esportiva (Luz *et al.*, 2000), facilidade na desova em criatórios, elevado ganho de peso, podendo atingir o peso de 26 Kg (Britski *et al.*, 1988), rusticidade e baixa atividade em tanques de criação (Gontijo, 1984), apresentar boa aceitação de dietas artificiais (Luz *et al.*, 2000; Luz *et al.*, 2002) e alto valor comercial em todos estágios de vida (Neves, 1996; Luz, 2002). Atualmente diversos inventários de ictiofauna detectaram a presença do trairão em reservatórios no Brasil. Vários inventários consideram essa espécie como exótica ou alóctone, como apontado nos estudos de Luis *et al.*, (2003) na represa Ponte Nova (Estado do Paraná), Giamas *et al.* (2004) na Bacia do alto Tietê-SP, FUNDEP (2007) e na represa de Três Marias, Minas Gerais, Silva *et al.* (2006) no reservatório Juramento (rio São Francisco) e Leal *et al.* (2009) na bacia do rio dos Sinos, Sul do Brasil.

Nos últimos 20 anos pesquisas buscam melhorar o condicionamento do trairão para piscicultura, como estudos sobre o efeito da inanição de larvas em estágio inicial (Sirol, 1995), morfologia do tubo digestório de larvas e juvenis (Neves, 1996), anatomia funcional e morfometria do tubo digestório em diferentes classes de tamanho (Gomide, 1996) e potencialidade para localizar e selecionar o alimento em estágios larvais (Maciel, 1997). Nos últimos 10 anos os estudos realizados buscaram avaliar se os indivíduos juvenis se adaptavam a dietas artificiais em condições de laboratório e em tanques de criação (Salaro *et al.*, 2003; Luz *et al.*, 2002). Outros estudos analisaram o manejo homogêneo de peixes para evitar o canibalismo entre

larvas (Luz *et al.*, 2000), também buscando potencializar a capacidade dos trairões para a piscicultura. Contudo, esses estudos não avaliam os danos que a introdução de espécies exóticas ou alóctone pode acarretar sobre as populações naturais.

A piscicultura é o ramo da aquicultura especializado no manejo e cultivo de peixes (Pillay & Kutty, 2005). O comércio mundial de pescados atingiu um valor recorde de 71,5 bilhões dólares em 2004, representando um crescimento de 23% em relação ao ano de 2000 (FAO, 2007). O crescimento da piscicultura se deve em parte à utilização de espécies exóticas, principalmente peixes de águas continentais (De Silva *et al.*, 2006; Gozlan, 2008). Atualmente é relatada a existência de 3.072 registros de introduções de peixes entre países, e destes, 2.904 são de espécies de água doce (Froese & Pauly, 2007).

A introdução de espécies exóticas é considerada a segunda maior causa de extinção de espécies do mundo (Sala *et al.*, 2000; Novak, 2002; Clavero & García-Berthou, 2005). Atualmente a introdução de peixes de cultivo é responsável pela modificação da estrutura da ictiofauna nativa podendo acarretar uma série de alterações, problemas ecológicos e sócio-ambientais (Vitule *et al.*, 2006). Esse fato é considerado um problema global responsável por prejuízos relacionados à redução ou a perda diversidade ecológica, tais como:

1. Contaminação química através do excesso de antibióticos utilizados para prevenir doenças no cultivo (Cabello 2006);
2. Competição, predação, veiculação de patógenos, doenças e parasitas (Smith *et al.*, 2005; Tundisi, 2006) e;
3. Redução da taxa de fecundidade das espécies nativas; alteração das condições limnológicas, prejuízos econômicos, sociais, hibridação, introgressão de genoma e a extinção de espécies (Novak 2002; Alves *et al.*, 2007; Salmenkova, 2008).

Os termos referentes à espécie introduzida, como exótica, alienígena, não nativa e alóctone possuem o mesmo significado biológico e, correspondem a “toda e qualquer espécie transportada e solta pelo homem, fora de sua área de distribuição natural, intencional ou acidentalmente” (FAO, 2006). Outra definição é sugerida pela IUCN: “espécie, subespécie ou o menor nível taxonômico identificável, encontrado fora de sua área de distribuição natural (atual ou precedente) que apresenta

potencial de dispersão incluindo qualquer parte, gameta ou propágulo da espécie que possa sobreviver e posteriormente reproduzir com sucesso” (IUCN, 2006).

A partir da década de 70, a introdução de espécies não-nativas tem gerado o interesse crescente entre a comunidade científica, com uma visão geral de que estes geram efeitos negativos para a biodiversidade (Vitule *et al.*, 2006; Gozlan, 2008). Por outro lado as espécies de peixes introduzidas são consideradas a base da nutrição e economia de alguns países (Dill & Cordone, 1997).

O Brasil possui diversos atrativos à piscicultura por ser constituído por 8.400 km de costa marítima e 5.500.000 hectares de reservatórios de águas doces (Zaniboni-Filho *et al.*, 2005). Entre 1997 e 2005 o Brasil apresentou maior crescimento na aquicultura do que na pesca extrativista. No ano de 2005 a pesca extrativista continental atingiu 243.434,5 mil toneladas o que representa um crescimento de 26.5% em relação ao ano de 1997, enquanto a aquicultura obteve 179.746,0 mil de toneladas de pesca continental representando um crescimento de aproximadamente 57%. (IBAMA 2007). Teoricamente, este aumento na produção pode ser uma possível solução para o suprimento alimentício humano, porém pode conduzir a vida selvagem a um colapso (Naylor *et al.*, 2000).

Mesmo com esse desenvolvimento, o Brasil tem apresentado números modestos em comparação com outros países que possuem práticas em aquicultura. A China produziu 30.6 milhões, a Índia 2.427 milhões e o Vietnã 1.199 milhões dos 45,5 milhões de toneladas de pescado produzidos em todo mundo (FAO, 2007). Castagnolli (1992) ressalta que os grandes problemas da aquicultura brasileira são a falta de organização do sistema de transferência de tecnologia, e a carência de pesquisa aplicada, do ordenamento e desenvolvimento, bem como a distribuição dos produtos pesqueiros. Espécies exóticas como a tilápia e a carpa e espécies nativas como o tambaqui e a curimatã, foram consideradas as principais espécies na piscicultura brasileira em 2005 (IBAMA, 2007).

Um peixe exótico considerado modelo para a piscicultura brasileira é a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Atualmente ela encontra-se difundida por toda América (Agostinho *et al.*, 2007). É notória uma produção crescente desde a década de 70, atingindo 300 mil toneladas em 2006 (Vitule *et al.*, 2009). Os efeitos negativos do cultivo da tilápia do Nilo sobre a fauna nativa brasileira e no mundo são

reconhecidos em vários estudos. As pesquisas revelam que a tilápia altera a estrutura das comunidades nativas, reduz a abundância de microcrustáceos plânctons, diminui a transparência da água, e aumenta a abundância de microalgas (Attayde *et al.*, 2007; Okun *et al.*, 2008). Outros organismos exóticos difundidos no Brasil são os bagres *Clarias gariepinus* e *Ictalurus punctatus*. Juntos, esses organismos atingiram a produção de 250 mil toneladas no ano de 2006 no Brasil. A introdução desses organismos em áreas que contêm fauna rica em espécies endêmicas de peixes de água doce como é o caso dos rios contidos na região da Mata Atlântica brasileira, resulta no declínio e simplificação da fauna nativa (Vitule *et al.*, 2009).

A curvina *Plagioscion squamosissimus* e o tucunaré *Cichla* spp. são alguns exemplos de peixes nativos do Brasil que foram amplamente introduzidos. A curvina acarretou problemas ao ser introduzida no reservatório de Itaipu, onde passou a ocupar o local de algumas espécies que eram importantes para a subsistência da população local (Agostinho & Gomes 2002; Agostinho *et al.*, 2007). O tucunaré foi introduzido na região das lagoas do rio Doce (Estado de Minas Gerais, entre vários outros Estados) (Latini *et al.*, 2004; Latini & Petrere, 2004; Latini & Petrere, 2007). A introdução do tucunaré altera a composição da ictiofauna local, desestruturando inicialmente as populações de peixes de pequeno porte e macrocrustáceos (Latini & Petrere 2004; Agostinho *et al.*, 2007). No Panamá, o tucunaré extinguiu de 6 a 8 espécies nativas e causou a redução na abundância de outros peixes (revisado em Delariva & Agostinho, 1999).

As introduções de espécies exóticas ocorreram devido a algumas falhas da legislação brasileira em relação à normalização das práticas de piscicultura que há poucos anos era regida por um decreto desatualizado (Decreto 221 de 1967) (BRASIL, 1967) quanto às leis atuais de preservação ambiental (MPA, 2003). Atualmente, a fiscalização e implantação da piscicultura são regulamentadas pela portaria 145/98 de 1998 do IBAMA (BRASIL, 1998) e O Código de Conduta para o Desenvolvimento Sustentável e Responsável da Piscicultura Brasileira (SEAP, 2004). Essas leis determinaram parâmetros como regulação da ocorrência de introduções, reintroduções e transferências de espécies aquáticas exóticas ou alóctones nas águas continentais e marítimas brasileiras e as regras para a

avaliação e seleção de locais para projetos de construção das pisciculturas. Outro problema encontrado na prática da piscicultura são leis federais como as Instruções Normativas Interministeriais nº 08 de 2003 (BRASIL, 2003b), nº 06 de 2004 (BRASIL, 2004) e o Decreto nº 4.895 de 2003 (BRASIL, 2003a), que permitem o aproveitamento de até 1% da área superficial dos corpos d'água dos reservatórios para atividades de aquicultura no Brasil. Essa situação segue a tendência de crescimento da piscicultura em tanques artificiais já observadas na África (Bubnoff, 2005). O impacto global dessas políticas aumenta o risco de extinção da ictiofauna nativa das regiões afetadas (Naylor, 2000).

Além das falhas na legislação, as introduções de espécies exóticas têm contado com o apoio de instituições governamentais, de ensino e pesquisa. O Departamento Nacional de Obras Contra a Seca (DNOCS) introduziu o tucunaré (*Cichla ocellaris*) em açudes da região Nordeste (Magalhães *et al.*, 2005). A Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) foi responsável pela introdução de peixes exóticos com auxílio de aviões tanque no rio Paraíba do Sul (Bizerril & Primo, 2001). Agostinho *et al.* (2007) apontam que a SUDEPE (Superintendência para o Desenvolvimento da Pesca) é responsável pela introdução de espécies exóticas em 77 grandes reservatórios nacionais e destaca os impactos potenciais e o papel das espécies introduzidas na população nativa de peixes nos reservatórios. As companhias do setor energético também são responsáveis pela introdução de peixes em diversas bacias hidrográficas. A Companhia Energética do Estado de São Paulo (CESP) foi responsável pela introdução da curvina *P. squamosissimus*, em diversos reservatórios de São Paulo (Magalhães *et al.*, 2005).

No final do século XX, a CEMIG introduziu 1.166.923 trairões em algumas bacias hidrográficas mineiras. Desse total de trairões introduzidos, 45% foram destinados à EMATER e 41% foram introduzidos na represa de Volta Grande. As vendas, doações e introduções em outros reservatórios representaram 14% (Fernanda Oliveira, CEMIG, comunicação pessoal) (Figura XX). Esse número pode estar subestimado já que os registros se referem apenas às atividades da Estação de Piscicultura da CEMIG em Volta Grande. Em 2006 e 2007, a CEMIG introduziu 580 mil alevinos de diversas espécies nativas a cada drenagem, nos reservatórios da empresa (CEMIG, 2007).



**Tabela 1** - Introdução de trairão em reservatórios da CEMIG no final do século XX (Fernanda Oliveira, CEMIG, Comunicação pessoal).

| Localidades/bacia                                     | Número de trairões introduzidos | Anos  |
|---|---------------------------------|---|
| EMATER  | 531.030                         | 1986/1987/1988/1989/1990/1991/<br>1992/1993/1994/1995/1996/1997 |
| Represa de Volta Grande/Alto Paraná                   | 475.735                         | 1986/1987/1988/1989/1990/1991/<br>1992/1993/1994/1995/1996/1997 |
| Doação  | 64.422                          | 1986/1987/1988/1989/1990/1993/<br>1994                          |
| Represa Jaguará/Rio Grande                            | 36.829                          | 1986/1987/1992/1993   |
| Represa de São Simão/Rio Paranaíba                    | 12.427                          | 1986/1987   |
| Represa Emborcação/Rio Paranaíba                      | 9.129                           | 1986/1987   |
| Reservatório Poções/ Bacia do Paranaíba               | 8.478                           | 1992  |
| Represa Pai Joaquim/Rio Araguari-Paranaíba            | 5.246                           | 1992  |
| Represa Cajuru/Rio Pará-São Francisco                 | 4.850                           | 1986  |
| Represa Igarapé/Rio Grande                            | 4.026                           | 1987  |
| Represa Peti/Rio Doce                                 | 3.000                           | 1986  |
| Represa Rio das Pedras/Rio das Velhas - São Francisco | 2.971                           | 1987  |
| Venda   | 2.858                           | 1995/1998   |
| Represa de Salto Grande/Bacia do Doce                 | 2.400                           | 1986  |
| Outros  | 1.764                           | 1990  |
| Represa Tronqueiras/Rio Doce                          | 1.450                           | 1986  |
| Lago I/ Lago de decantação da Piscicultura            | 250                             | 1989/1990   |
| Lago II/Lago de decantação da Piscicultura            | 54                              | 1993  |
| Fomento Furnas (Doação de matriz)                     | 4                               | 1998  |
| <b>Total</b>  | <b>1.166.923</b>                |   |

As falhas apresentadas pela legislação e o incentivo do governo podem aumentar o risco de introgressão e hibridação entre indivíduos de cativo e naturais. Sérios problemas práticos podem acontecer em ambientes que permitem atividades de hibridação artificial (Toledo-Filho *et al.*, 1994). Em estoques cultivados, a grande semelhança morfológica dos híbridos com os seus parentais podem causar misturas ocasionais e resultar na formação de plantéis de reprodutores contendo indivíduos portadores de esterilidade zigótica ou gamética. Os híbridos parcialmente

férteis ou que apresentam fertilidade total são os que oferecem maiores riscos às populações selvagens, aumentando o risco de introgressões, podendo acarretar “contaminação genética”, e desta forma, até causar a extinção de um dos parentais (Rhymer & Simberloff, 1996; Rosenfield *et al.*, 2004; Konishi & Tanaka, 2004). Os efeitos nocivos da hibridação, principalmente devido à introgressão, têm causado a extinção de muitas populações e espécies de plantas e animais (Rhymer & Simberloff, 1996).

Hibridação é um evento natural e, é mais comum em peixes do que em qualquer outro vertebrado. Nos ecossistemas não perturbados, na maioria dos casos o isolamento reprodutivo pode ser mantido por mecanismos pré e pós zigóticos. No entanto, os entraves ao cruzamento de espécies isoladas podem ser perdidos devido à perturbação do habitat e introdução de espécies não-nativas (Allendorf *et al.*, 2001).

Existem exemplos bem conhecidos de casos onde os híbridos causaram prejuízos à fauna nativa. Tal é o caso dos cruzamentos artificiais entre esturjões (Ryman & Utter, 1987). O cruzamento entre populações selvagens e populações de criadores provoca alta incidência de híbridos na natureza. Esses híbridos, na natureza, podem levar espécies à extinção devido à alta similaridade genética. Outro caso de introgressão conhecido envolve as trutas arco-íris *Oncorhynchus mykiss* e a espécie nativa do rio Colorado *Oncorhynchus clarki*. *O. mykiss* é reconhecida como o salmonídeo mais introduzido do mundo (Lever, 1996). Em ambientes naturais as duas espécies podem produzir descendentes férteis. O cruzamento entre a espécie nativa e a introduzida reduz o vigor da espécie nativa produzindo híbridos que podem assimilar o genoma do parental híbrido (Allendorf & Leary, 1988). Atualmente a introgressão constitui uma ameaça a todas as 14 subespécies de trutas nativas conhecidas na América do Norte, devido à lotação generalizada e invasão de trutas não-nativas. De uma forma geral, duas subespécies foram extintas, cinco se enquadram nos parâmetros do Endangered Species Act (ESA) e sete apresentam características determinadas pelo ESA (Trotter, 2008).

Os problemas derivados de introdução de espécies ou estoques pesqueiros são objeto de intenso estudo. Nos Estados Unidos, a truta arco-íris tem sido considerada como responsável pelo declínio e extinção local de populações nativas

da cutthroat-trout (*Oncorhynchus clarkii*) (Allendorf & Leary, 1988; Trotter, 2008). Por outro lado, em Salmão do Atlântico, um estudo entre 4 categorias de cruzamentos, envolvendo salmão selvagens e cultivados, através de marcadores microssatélites, demonstrou que as progênies descendentes salmão selvagens apresentam maior sobrevivência em relação aos cruzamentos entre progênies cultivadas e progênies selvagens *versus* cultivado (McGinnity *et al.*, 1997). Outros estudos com marcadores moleculares polimórficos, envolvendo salmonídeos, buscaram avaliar as interações e o grau de introgressão genética entre populações selvagens e cultivadas e, em todos eles o valor adaptativo dos indivíduos cultivados em ambientes naturais foi menor do que o esperado (Fleming *et al.*, 2000 - *Salmo salar*; Hansen, 2002 - *Salmo trutta*).

Na região neotropical, a introdução de espécies pode ocorrer como parte de políticas nacionais e estaduais. O Departamento Nacional de Obras Contra a Seca (DNOCS) (Magalhães *et al.*, 2005), a SUDEPE (Agostinho *et al.*, 2007), a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) (Bizerril & Primo, 2001) foram responsáveis pela introdução de peixes em diversos locais do Brasil. Como estratégia de repovoamento, a Companhia Energética do Estado de São Paulo (CESP) introduziu a curvina *Plagioscion squamosissimus* em alguns reservatórios do Estado (Magalhães *et al.*, 2005). Contudo, esses programas podem agravar a situação das populações nativas quando os peixes introduzidos escapam na natureza. Esse fato ocorre principalmente a partir de manejo inadequado de pisciculturas ou por arrombamento de barragens na época das chuvas (Agostinho & Julio, 1996; Orsi & Agostinho, 1999; Naylor *et al.*, 2000).

A Companhia Energética de Minas Gerais (CEMIG), no final do século XX, introduziu 1.166.923,00 trairões em algumas bacias hidrográficas mineiras (Fernanda Oliveira, CEMIG comunicação pessoal). Contudo, esse número pode estar subestimado já que os registros se referem apenas às atividades da Estação de Piscicultura da CEMIG em Volta Grande. Recentemente, nos anos de 2006 e 2007, a CEMIG introduziu 580 mil alevinos de diversas espécies nativas a cada drenagem, nos reservatórios da empresa (CEMIG, 2007). Contudo, é desconhecido o efeito dos peixes estocados com as populações selvagens. Estudos anteriores comprovam que os indivíduos provenientes de criatórios podem retrocruzar com os

parentais nativos oferecendo risco a diversidade ecológica das populações (Almeida-Toledo *et al.*, 1996).

A identificação da hibridação e introgressão podem ser realizadas com a utilização de ferramentas moleculares. As pesquisas em genética de populações de peixes têm sido largamente utilizadas para a elucidação de questões relativas à estruturação de populações de diversas espécies, de sua origem e características peculiares, divergências genéticas entre populações, migração e eventos históricos (Parker *et al.*, 1998). Estudos morfológicos e citogenéticos, em algumas ocasiões, não são suficientes para elucidar questões evolutivas de espécies em populações de peixes. Assim, as técnicas moleculares são ferramentas importantes nos casos em que a identificação de espécies com base em características morfológicas e citogenéticas são difíceis (Marques, 2002).

A partir dos problemas citados que foram gerados pela introdução de espécies, e considerando a tendência do aumento em intensidade e expansão da utilização de espécies exóticas em projetos de piscicultura, faz-se necessária a caracterização molecular das populações de trairões na região neotropical. Neste sentido, as ferramentas moleculares buscam avaliar o impacto genético da introdução de peixes cultivados em populações naturais, especialmente no relativo à determinação do grau de introgressão genética em peixes (Fleming *et al.*, 2000; Koskinen *et al.*, 2002; Hansen, 2002).

Quando associados às características fenotípicas, os marcadores moleculares são eficientes para estudos de composição de estoques pesqueiros. Dentre os marcadores moleculares, o DNA mitocondrial (mtDNA) é largamente utilizado para a caracterização de espécies, devido à sua herança materna, taxa elevada de substituição de bases e falta de recombinação (Moritz *et al.*, 1987; Saccone, 1994).

Os eventos de hibridação e introgressão são mais bem identificados com a utilização de ferramentas em estudos genéticos. As pesquisas em genética de populações de peixes têm sido largamente utilizadas para elucidar questões relativas à estruturação de populações de diversas espécies, de sua origem e características peculiares, divergências genéticas entre populações, migração e eventos históricos (Parker *et al.*, 1998). Estudos morfológicos e citogenéticos, em

algumas ocasiões, não são suficientes para elucidar questões evolutivas de espécies e populações de peixes. Assim, as técnicas moleculares são ferramentas importantes nos casos em que a identificação de espécies com base em características morfológicas e citogenéticas são difíceis (Marques, 2002).

As ferramentas moleculares são rotineiramente utilizadas na piscicultura visando à melhoria dos estoques de peixes, a avaliação do impacto genético da introdução de peixes cultivados em populações naturais, especialmente no relativo à determinação do grau de introgressão genética em peixes (Fleming *et al.*, 2000; Koskinen *et al.*, 2002; Ruzzante *et al.*, 2001; Hansen, 2002). A partir dos problemas citados que foram causados pela introdução e introgressão de espécies e considerando a tendência do aumento em intensidade e expansão da utilização de espécies exóticas em projetos de piscicultura, faz-se necessária a caracterização molecular das populações de trairões na região neotropical.

Dentre os marcadores moleculares utilizados para identificar a introgressão de peixes está o DNA mitocondrial (mtDNA). Em peixes, o mtDNA tem sido largamente utilizado para estudos de populações e em relações inter e intra espécies (Karaiskou *et al.*, 2003). O mtDNA é uma molécula de pequena fita dupla circular que codifica aproximadamente 5% de toda maquinaria necessária para o funcionamento da mitocôndria (Nahum, 2001). Nos animais, seu tamanho é de aproximadamente 16.500 bp. Outra característica importante é sua alta taxa de evolução, a qual se acredita ser 10 vezes superior à de um gene de cópia única nuclear. Algumas das explicações para este fenômeno são as baixas capacidades de reparo da enzima DNA polimerase e a alta exposição da molécula de DNA aos agentes oxidantes gerados durante o processo de respiração celular (Meyer, 1993).

O mtDNA permite detectar a direção do evento de hibridização (matrizes maternas), mas não é informativo em estudos de estimativas de taxas de introgressão e hibridação. Assim, deve ser utilizado em conjunto com os marcadores genéticos nucleares, os quais estão sujeitos a outras modalidades de herança (Scribner & Avise, 1994; Scribner *et al.*, 2001; Rosenfield *et al.*, 2004).

Quando se pretende comparar duas espécies de peixes muito próximas, é apropriado o uso de genes com taxas de substituições mais altas. No entanto, na pesquisa de eventos mais antigos como a formação de espécies, gêneros, famílias,

os genes mais conservados podem ser bons indicadores (Saccone, 1994; Meyer, 1993). A ausência de recombinação e a herança materna aliados à sua alta taxa de evolução, heterogênea entre seus genes, fazem com que o mtDNA seja um excelente marcador para estudos filogenéticos, taxonomia molecular e nos movimentos migratórios de populações ao redor do mundo (Saccone, 1994).

## **OBJETIVO**

O objetivo deste trabalho foi estudar a diversidade molecular de populações consideradas espécies *H. intermedius*, *H. brasiliensis*, *H. lacerdae* e *H. australis*, integrantes do complexo *H. lacerdae*, conforme definido por Oyakawa & Mattox (2009), além de 2 estoques utilizados em piscicultura. O estudo visou caracterizar os padrões de variação molecular dessas populações para subsidiar estudos de taxonomia e políticas de conservação da integridade genética do grupo.

## REFERÊNCIAS

- Agostinho, A. & Gomes, L. (2002). Biodiversity and Fisheries Management in the Paraná River Basin: Successes and Failures. *Blue Millenium-World Fisheries Trust-CRDI-UNEP*. Maringá: Universidade Estadual de Maringá.
- Agostinho, A. A. & Júlio Jr, H. F. (1996). Peixes de outras águas. *Ciência Hoje* **21**, 36 - 44.
- Agostinho, A. A., Gomes, L. C. & Pelicice, F. M. (2007). *Ecologia e Manejo de Recursos Pesqueiros em Reservatórios do Brasil*. pp. 501. Maringá: EDUEM
- Allendorf, F. W. & Leary, R. F. (1988). Conservation and distribution of genetic variation in a polytypic species: the cutthroat trout. *Conservation Biology* **2**, 170–184.
- Allendorf, F. W., Leary, R. F., Spruell, P. & Wenburg, J. K. (2001). The problems with hybrids: setting conservation guidelines. *Trends in Ecology & Evolution* **16**, 613–622.
- Almeida-Toledo, L. F., Bernardino, G., Oliveira, C., Foresti, F. & Toledo-Filho, S. A. (1996). Gynogenetic fish produced by a backcross involving a male hybrid (female *Colossoma macropomum* x male *Piaractus mesopotamicus*) and a female *Piaractus mesopotamicus*. *Boletim Técnico CEPTA* **9**, 31 - 37.
- Alves, C. B. M., Vieira, F., Magalhães, A. L. B. & Brito, M. F. G. (2007). Impacts of nonnative fish species in Minas Gerais, Brazil: present situation and prospects. Em *Ecological and Genetic Implications of Aquaculture Activities* (Bert, T. M., ed.), pp. 291-314. Dordrecht: Springer Press.
- Andrade, D. R., Vidal, M. V. J. & Shimoda, E. (1998). Criação do trairão *Hoplias lacerdae*. *Boletim Técnico Universidade Estadual do Norte Fluminense* **3**, 23.
- Attayde, J. L., Okun, N., Brasil, J., Menezes, R. F. & Mesquita, P. (2007) Impactos da introdução da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, sobre a estrutura trófica dos ecossistemas aquáticos do Bioma Caatinga. *Oecologia Brasiliensis* **11**, 450-461.
- Bertollo, L. A. C. & Moreira-Filho, O. (1983). Possível ocorrência de uma nova espécie do gênero *Hoplias* (Pisces, Erythrinidae): evidências morfológicas e citogenéticas. *Ciencia e Cultura* **35**, 685.
- Bertollo, L. A. C. (2007). Chromosome evolution in the Neotropical Erythrinidae fish family: an overview. Em *Fish cytogenetics* (Pisano, E., Ozouf-Costaz, C., Foresti, F. & Kapoor, B. G. (eds.), 195-211. New Delhi: Oxford and IBH Publishing Co.
- Bertollo, L. A. C., Takahashi, C. S. & Moreira-Filho, O. (1978). Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). *Braziiian Journal of Genetics* **1**, 103-120.
- Bizerril, C. R. S. F. & Primo P. B. S. (2001). *Peixes de águas interiores do Estado do Rio de Janeiro*. Rio de Janeiro, PLANAGUA – FEMAR/SEMADS, 417.
- Böhlke, J. E., Weitzman, S. H. & Menezes, N. A. (1978). Estado atual da sistemática dos peixes de água doce da América do Sul. *Acta Amazônica* **8**, 657-677.
- BRASIL. (1967). Decreto-lei nº 221, de 28 de fevereiro de 1967, Dispõe sobre a proteção e estímulos à pesca e dá outras providências. DOU 28/02/1967
- BRASIL. (1998). Portaria nº 145/98, de 29 de outubro de 1998. Estabelece normas para a introdução, reintrodução e transferência de peixes, crustáceos,



- moluscos, e macrófitas aquáticas para fins de aqüicultura, excluindo-se as espécies animais ornamentais. Diário Oficial [da] União, Brasília, 30/10/1998.
- BRASIL. (2003a). Decreto no 4.895, de 25 de novembro de 2003. Dispõe sobre a autorização de uso de espaços físicos de corpos d'água de domínio da União para fins de aqüicultura, e dá outras providências. Diário Oficial [da] União, Brasília, 26/11/2003.
- BRASIL. (2003b). Instrução Normativa Interministerial nº 8, de 26 de novembro de 2003. Estabelece diretrizes para implantação dos parques e áreas aquícolas de que trata o art. 20 do Decreto no 2.869, de 9 de dezembro de 1998. Disponível em [http://www.ibama.gov.br/cepsul/legislacao.php?id\\_arq=41](http://www.ibama.gov.br/cepsul/legislacao.php?id_arq=41). Acessado em 10/10/2009.
- BRASIL. (2004). Instrução Normativa Interministerial no 06, de 31 de maio de 2004. Estabelece as normas complementares para autorização de uso dos espaços físicos em corpos d'água de domínio da União para fins de aqüicultura, e dá outras providências. Diário Oficial [da] União, Brasília, 31/05/2004.
- Britski, H. A., Sato, Y. & Rosa, A. B. S. (1988). Manual de Identificação de Peixes da Região de Três Marias, com Chaves de Identificação para os Peixes da Bacia do São Francisco. 115 pp, 3 ed. Brasília: Câmara dos Deputados/CODEVASF.
- Bubnoff, A. V. (2005). Africa urged to create more fish farms. *Nature*, **436**. 25.
- Cabello F. C. (2006). Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environmental Microbiology* **8**, 1137-1144.
- Caramaschi, E. P., Godinho, H. M. & Forest, F. (1982). Reprodução de *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) (Teleostei, Erythrinidae) na represa do Rio Pardo (Botucatu, SP). I. Histologia e escala de maturação do ovário. *Revista Brasileira de Biologia* **42**, 635-640.
- Castagnolli, N. (1992). *Piscicultura de água doce*. São Paulo: Funep.
- CEMIG – Companhia Energética de Minas Gerais. (2007). Projeto Peixe vivo. Disponível em: <http://www.portalpeixe vivo.com.br/default.asp>. Acessado em: 27/02/2010.
- De Silva, S. S., Nguyen, T. T. T., Abery, N. W. & Amarasinghe, U. S. (2006) An evaluation of the role and impacts of alien finfish in Asian inland aquaculture. *Aquaculture Research* **37**, 1–17.
- Delariva, R. L. & Agostinho, A. A. (1999) Introdução de espécies: uma síntese comentada. *Acta Scientiarum*, **21**, 255-262.
- Dill, W. A. & Cordone, A. J. (1997). History and status of introduced fishes in California, 1871 – 1996. *Fish Bulletin*. **178**, 1-414.
- FAO - United Nations Food and Agriculture Organization. (2006). *The state of fisheries and aquaculture*. Disponível em <http://www.fao.org/docrep>. Acessado em 02/12/2009.
- FAO - United Nations Food and Agriculture Organization. (2007). The State of World Fisheries and Aquaculture – 2006 (SOFIA). *Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO Fisheries and Aquaculture Department*, Roma.
- Fleming, I. A., Hindar, K., Mjølnerod, I. B., Jonson, B., Balstad, T. & Lamberg, A. (2000) Lifetime success and interactions of farm salmon invading a native population. Proceedings of the Royal Society of London, *Serie B, Biology Science* **267**, 1517-1523.

- Froese, R. & Pauly, D. (2007). *FishBase*. Disponível em: <http://www.fishbase.org>. Acessado em 15/12/2009.
- FUNDEP (2007) Relatório de estudos ambientais e regularização do parque aquícola indaiá-2, reservatório de três marias. Disponível em [http://ecologia.icb.ufmg.br/~rpcoelho/Parques\\_Aquicolas/website/index.htm](http://ecologia.icb.ufmg.br/~rpcoelho/Parques_Aquicolas/website/index.htm). Acessado em 20/02/2010.
- Giamas, M. T. D., Campos, E. C., Camara, J. J. C., Junior, H. V. & Barbieri, G. (2004). A ictiofauna da represa de Ponte Nova, Salesópolis (São Paulo) - bacia do alto Tietê. *Boletim do Instituto de Pesca de São Paulo* **30**, 25-34.
- Goldburg, R. & Naylor, R. (2005). Future seascapes, fishing and fish farming. *The Ecological Society of America*. **3**, 21- 28.
- Gomide, A. T. M. (1996). Anatomia funcional, e morfometria comparativas do tubo digestivo de trairão (*Hoplias cf. lacerdae* Ribeiro, 1908) (Characiformes: Erythrinidae), em diferentes classes de tamanho. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), 76p. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- Gontijo, V. P. M. (1984). Produção consorciada de trairão e tilápia. *Informe Agropecuário* **10**, 26-29.
- Gozlan, R. E. (2008). Introduction of non-native freshwater fish: is it all bad? *Fish and Fisheries* **9**, 106-115.
- Hansen, N. M. (2002). Estimating the long-term effects of stocking domesticated trout into wild brown trout (*Salmo trutta*) populations: an approach using microsatellite DNA analysis of historical and contemporary samples. *Molecular Ecology* **11**, 1003-1015.
- IBAMA. (2007). *Estatística da pesca 2005 Brasil - Grandes regiões e unidades da federação*, 108p. Brasília: IBAMA.
- IUCN. (2006). *The World Conservation Union – IUCN*. Disponível em [www.iucn.org](http://www.iucn.org). Acessado em 12/02/2010.
- Karaiskou, N., Triantafyllidis, A. & Triantaphyllidis, C. (2003). Discrimination of three trachurus species using both mitochondrial and nuclear DNA approaches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**, 4935-4940.
- Konishi, M. & Takata, K. (2004). Impact of asymmetrical hybridization followed by sterile F1 hybrids on species replacement in *Pseudorasbora*. *Conservation Genetics* **5**, 463-474.
- Koskinen, M. T., Sundell, P., Piironen, J. & Primmer, C. R. (2002). Genetic assessment of spatiotemporal evolutionary relationships and stocking effects in grayling (*Thymallus thymallus*, Salmonidae). *Ecology Letters* **5**, 193-205.
- Latini, A. O. & Petrere, J. M. (2004). Reduction of a native fish fauna by alien species: an example from Brazilian freshwater tropical lakes. *Fisheries Management and Ecology* **11**, 71-79.
- Latini, A. O. & Petrere, J. M. (2007). Which factors determine non-native fish range. A study on red piranha *Pygocentrus nattereri* (Kner 1858) introduced in Brazilian tropical lakes. Em *Biological Invaders in Inland Waters: Profiles, Distribution and Threats* (Gherardi, F., ed.), 415-422. Amsterdam: Springer.
- Latini, A. O., Lima-Júnior, D. P., Giacomini, H. C., Latini, R. O., Resende, D. C., Espírito-Santo, H. M. V., Barros, D. F. & Pereira, T. L. (2004). Alien fishes in Rio Doce lakes: range, new occurrences and conservation of native community. *Lundiana* **5**, 135-142.

- Leal, M. E., Bremm, C. Q. & Schulz, U. H. (2009). Lista da ictiocenose da bacia do rio dos Sinos, sul do Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca de São Paulo* **35**, 307-317.
- Lemos, P. M. M., Fenocchio, A. S., Bertollo, L. A. C. & Cestari, M. M. (2002). Karyotypic studies on two *Hoplias malabaricus* populations (Characiformes, Erythrinidae) of the 2n = 42 group, from the first plateau of the Iguaçu river basin (Paraná State, Brazil). *Caryologia* **55**, 193-198.
- Lever, C. (1996). *Naturalized fishes of the world*. London, UK: Academic Press.
- Lovejoy, N. R., Albert, J. S. & Crampton, W. G. R. (2005). Miocene marine incursions and marine/freshwater transitions: evidence from Neotropical fishes. *Journal of South American Earth Sciences* **21**, 5-13
- Luiz, E. A., Gomes, L. C., Agostinho, A. A. & Bulla, C. K. (2003). Influência de processos locais e regionais nas assembleias de peixes em reservatórios do Estado do Paraná, Brasil. *Acta Scientiarum: Biological Sciences* **25**, 107-114.
- Lundberg, J. G., Marshall, L. G., Guerrero, J., Horton, B., Malabarba, M. C. S. L. & Wesselingh, F. (1998). The stage for Neotropical fish diversification: a history of tropical South American rivers. Em *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes* (Malabarba, L. R., Reis, R. E., Vari, R. P., Lucena, C. A. S. & Lucena, Z. M. S., eds), pp. 13-48. Porto Alegre: Edipucrs.
- Luz, R. K., Salaro, A. L., Souto, E. F. & Zaniboni-Filho, E. (2000). Avaliação de canibalismo e comportamento territorial de alevinos de trairão (*Hoplias lacerdae*). *Acta Scientiarum* **22**, 465-469.
- Luz, R. K., Salaro, A. L., Souto, E. F., Okano, W. Y. & Lima, R. R. (2002). Condicionamento alimentar de alevinos de trairão (*Hoplias cf. lacerdae*). *Revista Brasileira de Zootecnia* **31**, 1881-1885.
- Maciel, C. M. R. P. (1997). Morfologia e potencialidade de *Hoplias cf. lacerdae* (Ribeiro, 1908) (Characiformes, Erythrinidae) para localizar o alimento, nas fases iniciais do ciclo de vida. 1997. 96f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- Maciel, C. M. R. R., Maciel-Júnior, A., Lanna, E. A. T. & Menin, E. (2009). Anatomia funcional da cavidade bucofaringiana de trairão, *Hoplias lacerdae* Miranda Ribeiro, 1908 (Characiformes, Erythrinidae). *Biotemas* **22**, 95-102.
- Magalhães, A. L. B., Brito, M. F. G., & Andrade R. F. (2005). Espécies introduzidas. Em: Magalhães, A. L. B., Brito, M. F. G., & Andrade R. F. (eds.), *Uma abordagem didático-científica sobre peixes introduzidos no Estado de Minas Gerais*. Disponível em: <http://www.exoticfish.bio.br/>. Acessado em 20/02/2010.
- Marques, D. K. S. (2002). *Aplicação da biologia molecular em programas de conservação de recursos pesqueiros*. Corumbá: EMBRAPA.
- McGinnity, P., Stone, C., Taggard, J. B., Cooke, D., Cotter, D., Hynes, R., McCamley, C., Cross, T. & Ferguson, A. (1997) Genetic impact of escaped farm Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). On native populations: use of DNA profiling to assess freshwater performance of wild, farmed and hybrid progeny in a natural environment. *ICES - Journal of Marine Science* **54**, 998-1008.
- Meyer, A. (1993). Evolution of mitochondrial DNA in fishes. Em *Biochemistry and molecular biology and fishes* (Hochachka, P. W. & Mommsen, T. P. eds.), 1-38. Amsterdam: Elsevier.
- Morelli, S., Vicari, M. R. & Bertollo, L. A. C. (2007). Evolutionary cytogenetics of the *Hoplias lacerdae*, Miranda Ribeiro, 1908 group. A particular pathway

- concerning the other Erythrinidae fish. *Brazilian Journal of Biology* **67**, 897-903.
- Moritz, C., Dowling, T. E. & Brown, W. M. (1987). Evolution of animal mitochondrial DNA: Relevance for population biology and systematics. *Annual Review of Ecology System* **18**, 269-292.
- Nahum, L. A. (2001). Evolução dos genomas. In: *Biologia Molecular e Evolução* (Matioli, S. R., Ed.), pp. 82-96. Ribeirão Preto: Holos.
- Naylor, R. L., Goldburg, R. J., Primavera, J. H., Kautsky, N., Beveridge, M. C. M., Clay, J., Folke, C., Lubchenco, J., Mooney, H. & Troell, M. (2000). Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature* **505**, 1017.
- Naylor, R., & Burke, M. (2005) Aquaculture and ocean resources: raising tigers of the sea. *Annual Review of Environment and Resources* **30**, 185–218.
- Nelson, J. S. (2006). *Fishes of the world*. 416 p. New York: John Wiley & Sons.
- Neves, C. A. (1996). Estudo morfológico e histoenzimológico do desenvolvimento ontogenético do trato digestivo de larvas e alevinos de trairão (*Hoplias* cf. *lacerdae*) e de pacamã (*Lophiosilurus alexandri*), 74pp. Dissertação (Mestrado em Morfologia). Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil.
- Novak, S.J. (2002). The role of evolution in the invasion process. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **104**, 3671–3672.
- Okun, N., Brasil, J., Attayde, J. L. & Costa, I. A. S. (2008). Omnivory does not prevent trophic cascades in pelagic food webs. *Freshwater Biology* **53**, 129–138.
- Orsi, M. L. & Agostinho, A. A. (1999). Introdução de espécies de peixes por escapes acidentais de tanques de cultivo em rios da Bacia do Rio Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* **16**, 557-560.
- Oyakawa, O. T. & Mattox, G. (2009). Revision of the Neotropical trahiras of the *Hoplias lacerdae* species-group (Ostariophysi: Characiformes: Erythrinidae) with descriptions of two new species. *Neotropical Ichthyology* **7**, 117-140.
- Oyakawa, O. T. (1998). Relações filogenéticas das famílias Pyrrhulinidae, Lebiasinidae e Erythrinidae (Osteichthyes: Characiformes), 200p. Unpublished Ph.D. Dissertation, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Oyakawa, O. T. (2003). Family Erythrinidae. Em *Check List of the Freshwater Fishes of South America* (Reis, R.E., S.O. Kullander. & C.J. Ferraris J., Eds.), 238-240. Porto Alegre: Edipucrs.
- Oyakawa, O. T., (1990). *Revisão sistemática das espécies do gênero Hoplias grupo lacerdae da amazônia brasileira e região leste do Brasil*. 114p. (Dissertação de Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.
- Parker, P. G., Snow, A. A., Schug, M. D., Booton, G. C. & Fuerst, P. A. (1998). What molecules can tell us about populations: choosing and using a molecular marker. *Ecology* **79**, 361 – 382.
- Pillay, T. V. R. & Kutty, M. N. (2005) *Aquaculture: Principles and Practices*. p. 640 Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.
- Rantin, F. T., Glass, M. L., Kalinin, A. L., Verzola, R. M. M., Fernandes, M. N. (1993). Cardiorespiratory responses in two ecologically distinct erythrinids (*Hoplias malabaricus* and *Hoplias lacerdae*) exposed to graded environmental hypoxia. *Environmental Biology of Fish* **36**, 93–97.
- Rantin, F. T., Kalinin, A. L., Glass, M. L., Fernandes, M. N. (1992). Respiratory responses to hypoxia in relation to mode of life of two erythrinid species

- (*Hoplias malabaricus* and *Hoplias lacerdae*). *Journal of Fish Biology* **41**, 805–812.
- Reis, R. E., Kullander, S. O. & Ferraris C.J. (2003). *Check list of the freshwater fishes of south and central America*. p. 729. Porto Alegre: Edipucrs.
- Rhymer, J. M. & Simberloff, D. (1996). Extinction by hybridization and introgression. *Annual Review of Ecology and Systematics* **27**, 83-109.
- Rosenfield, J. A., Nolasco, S., Lindauer, S., Sandoval, C. & Kodric-Brown, A. (2004). The role of hybrid vigor in the replacement of Pecos pup-fish by its hybrids withsheepshead minnow. *Conservation Biology* **18**, 1589-1598.
- Saccone, C. (1994). The evolution of mitochondrial DNA. *Current Opinion in Genetics and Development* **4**, 875-881.
- Salaro, A. L., Luz, R. K., Nogueira, G. C. C. B., Reis, A., Sakabe, R. & Lambertucci, D. M. (2003). Diferentes densidades de estocagem na produção de alevinos de trairão (*Hoplias cf. lacerdae*). *Revista Brasileira de Zootecnia* **32**, 1033-1036.
- Schaefer, S. A. (1998). Conflict and resolution: impact of new taxa on phylogenetic studies of the neotropical cascudinhos (Siluroidei: Loricariidae). In *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes* (Malabarba, L. R., Reis, R. E., Vari, R. P., Lucena, Z. M. S. & Lucena, C. A. S., eds.), pp. 375-400. Porto Alegre: Edipucrs.
- Scribner, K. T. & Avise, J. C. (1994). Cytonuclear genetics of experimental fish hybrid zones inside Biosphere II. Proceedings of the National Academy of Sciences. *Science* **91**, 5066-5069.
- Scribner, K. T., Page, K. & Bartron, M. (2001). Life history and behavioral ecology impact rates and direction of evolutionary change in fish hybrid zones: a cytonuclear perspective. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **10**, 293-323.
- Sirol, R. N. (1995). Efeito da inanição sobre o desenvolvimento inicial da larva de *Hoplias cf. lacerdae* Ribeiro, 1908 (Characiformes: Erythrinidae). p. 61. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- Smith, W. S., Espíndola, E. L. G. & Rocha, O. (2005). As introduções de espécies de peixes exóticos e alóctones em bacias hidrográficas brasileiras. Em *Espécies Invasoras em Águas Doces: estudos de caso e propostas de manejo* (Rocha, O., Espíndola, E. L. G., Fenerich-Verani, N., Verani, J. R., & Rietzler, A. C., eds.), pp 416. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos.
- Toledo-Filho, S. A., Almeida-Toledo, L. F., Foresti, F., Bernardino, G. & Calcagnotto, D. (1994). Monitoramento e conservação genética em projeto de hibridação entre pacu e tambaqui. *Cadernos de Ictiogenética* 2. CCS/USP, São Paulo: São Paulo.
- Trotter, P. (2008). *Cutthroat: native trout of the West*. 2ed. Berkeley, CA: University of California Press.
- Tundisi, J. G. (2006). Aquicultura: impactos, gerenciamento integrado, perspectivas para o Brasil. In *Sanidade de organismos aquáticos no Brasil* (Silva-Souza, A. T., ed.), p. 331-339. Maringá: ABRAPOA.
- Vari, R. P. & Malabarba, L. R. (1998). Neotropical Ichthyology: An Overview. Em *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes* (Malabarba, L. R., ed.), pp. 603. Porto Alegre: EDIPUCRS.

- Vitule J. R. S., Freire, C. A. & Simberloff, D. (2009). Introduction of non-native freshwater fish can certainly be bad *Fish and Fisheries* **10**, 98–108.
- Vitule, J. R. S., Umbria, S. C. & Aranha, J. M. R. (2006) Introdução de espécies, com ênfase em peixes de ecossistemas continentais. Em *Revisões em Zoologia* (Monteiro-Filho, E. L. A. & Aranha, J. M. R., eds.), 217–229. Paraná: Secretaria do Meio Ambiente do Estado do Paraná.
- Zambrano, L., Martinez-Meyer, E., Menezes, N.A. & Petersen, A.T. (2006) Invasive potential of common carp (*Cyprinus carpio*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in American freshwater systems. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **63**, 1906–1910.
- Zaniboni-Filho, E. Z., Nuñez, A. P. O., Guerreschi, R. M. & Hermes-Silva, S. (2005). Cultivo de peixes em tanques-rede e impactos ambientais. In *Cultivo de peixes em tanques-rede: desafios e oportunidades para o desenvolvimento sustentável* (Cardoso, E. L. & Ferreira, R. M. A., eds.), 57-80. Minas Gerais: EPAMIG.

## DIVERSIDADE MOLECULAR EM ESPÉCIES DE TRAIRÕES DO COMPLEXO *Hoplias lacerdae* (Teleostei: Erythrinidae)

### Abstract

The giant trahira of the *Hoplias lacerdae* group has aquaculture been used in aquaculture for some decades in some regions of Brazil, where it has been spread as part of government policies. Because these activities may represent inadvertent introduction of exotic species, introgression and hybrid formation with natural populations, we carried out a molecular analysis using a fragment of ATP synthase (ATPase 6) on 70 specimens collected in 8 basins in southern and southeastern Brazil. The obtained fragment was 688 base-long and had 118 phylogenetically informative sites for maximum parsimony analysis. Best fit with molecular evolution models was GTR+I+G. Bayesian, maximum parsimony and maximum likelihood analyses yielded the same topology, indicating the existence of 2 well-supported haplogroups (haplogroups I e II). Haplogroup I included two subgroups, haplogroup IA with samples from eastern coastal, São Francisco and Upper Paraná basins and haplogroup IB with samples from Upper Paraná. Haplogroup IA also included the species *Hoplias intermedius* and *Hoplias brasiliensis*, while haplogroup IB was represented by specimens of *H. intermedius*, suggesting a paraphyletic relationship between these two species. Haplogroup II included *Hoplias australis* (haplogroup IIA) restricted to the upper Uruguay Basin and *Hoplias lacerdae* (haplogroup IIB) from the Doce, upper Paraná and upper Uruguay basins. Haplogroup I had 4 times less internal variation than haplogroup II. Low levels of genetic variation in the first haplogroup may reflect intense fish stocking in Minas Gerais state since the 80's. The data underscores the need of a revision of the taxonomic status of *H. brasiliensis* and *H. intermedius* and a more thorough analysis of the genetic makeup of aquaculture stocks, which may include *H. lacerdae* genetic material.

## INTRODUÇÃO

Os peixes representam o grupo mais diversificado dentre os vertebrados do mundo. Dados atuais consideram que 27.977 espécies são reconhecidas. Contudo, o número de espécies de peixes é impreciso e difícil de ser estimado, podendo chegar a 32.500 (Nelson, 2006). Em escala global, essa diversidade está ameaçada pela super exploração e a degradação do ambiente aquático (FAO, 2009).

Na região neotropical ocorre a maior diversidade de peixes de água doce do mundo, com aproximadamente 4.500 espécies conhecidas e um número estimado de 1.550 a serem descritas (Reis *et al.*, 2003). A fauna de peixes de água doce do Brasil é a mais rica do mundo e atualmente representa aproximadamente 57,5% (2.587) das espécies de peixes da região neotropical (Buckup *et al.*, 2007).

Como tentativa de garantir o acesso à fonte de proteína de boa qualidade, a aquicultura cresceu significativamente nos últimos 20 anos em diversos países do mundo (Naylor *et al.*, 2000, 2003; Naylor & Burke, 2005, Goldberg & Naylor, 2005). Dados da FAO (2006) revelam que no final do século XX e início do século XXI, ocorreu uma expansão em torno de 81% na aquicultura.

O Brasil possui diversos atrativos a piscicultura por ser constituído por 8.400 km de costa marítima, apresentar 5.500.000 hectares de reservatórios de água doce (Zaniboni-Filho *et al.* 2005) e clima favorável para o crescimento dos organismos cultivados (Borghetti *et al.* 2003). Porém, Castagnolli (1992) ressalta que a piscicultura brasileira apresenta alguns problemas como a falta de organização do sistema de transferência de tecnologia, a carência de pesquisa aplicada, do ordenamento, desenvolvimento, e da distribuição dos produtos pesqueiros.

Godinho (2007) sugere que aproximadamente 40 espécies nativas são utilizadas para a piscicultura no Brasil, excluindo as espécies exóticas e híbridas. Em geral, essas espécies acabam também sendo introduzidas de forma acidental ou intencional (Thomas & Randall, 2000). O maior número de casos são aqueles relacionados à introdução de espécies de valor comercial ou esportivo em reservatórios (Agostinho *et al.*, 2005), buscando benefícios econômicos, sociais e turísticos (Thomas & Randall, 2000, Latini, 2002).



Dentre os táxons utilizados para aquicultura está o trairão, *Hoplias lacerdae* Miranda Ribeiro, 1908, da família Erythrinidae. Os eritrinídeos são piscívoros e possuem corpo cilíndrico, nadadeira caudal arredondada, dentes cônicos e ausência da nadadeira adiposa (Oyakawa, 1998). O gênero *Hoplias* engloba espécies de médio e grande porte, podendo alcançar 100 cm de comprimento padrão, especialmente em espécimes de *Hoplias lacerdae* e *Hoplias macrophtalmus* (Oyakawa, 2003). Segundo Oyakawa (1990), podem ser reconhecidos dois distintos complexos de espécies dentro do gênero *Hoplias*. O primeiro complexo, *H. malabaricus*, é monotípico e representado pela espécie nominal *H. malabaricus* (Bloch, 1794), que pode ser diferenciada das demais espécies do gênero pela presença de dentes na superfície da língua, sempre quatro poros no sistema látero-sensorial cefálico em cada lado do dentário e as margens inferiores dos dentários convergindo em direção à sínfise mandibular, podem existir 7 espécies dentro desse essa espécie nominal (Bertollo et. al., 2000). Já o complexo de espécie *H. lacerdae* apresenta um maior número de tipos, muitos deles endêmicos a diferentes bacias hidrográficas e são reconhecidos pela ausência de dentes na superfície da língua, presença de 4 a 8 poros no sistema látero-sensorial cefálico; as bordas da margem inferior do dentário dispõem-se de forma paralela, sem convergir na forma característica de *H. malabaricus*.

Em uma recente revisão sistemática do complexo *H. lacerdae*, Oyakawa & Mattox (2009) propõem a existência de 5 espécies: *H. lacerdae* Miranda-Ribeiro, 1908 (rios Ribeira de Iguape e Uruguai), *H. intermedius* (Günther, 1864) (rio São Francisco, alto rio Paraná e rio Doce), *H. brasiliensis* (Spix, 1829) (rios costeiros da drenagem atlântica desde o rio Paraguaçu até o rio Jequitinhonha), e as duas espécies recentemente descritas, *H. australis* Oyakawa & Mattox, 2009 (provavelmente endêmica ao rio Uruguai) e *H. curupira* Oyakawa & Mattox, 2009 (bacia amazônica - rios Negro, Trombetas, Tapajós, Xingu, Tocantins e Capim).

Os complexos de espécies *H. malabaricus* e *H. lacerdae* diferenciam-se em diversos aspectos. O grupo malabaricus apresenta cariomorfos com variações no número estrutural, padrões de bandamento e sistemas sexuais (Dergam & Bertollo, 1990; Dergam et al., 1998, Born & Bertollo, 2000; Bertollo et al., 2000; Bertollo, 2007), enquanto que o complexo *H. lacerdae* apresenta estrutura cromossômica

estável,  $2n=50$  com pequenas variações na posição dos centrômeros dos cromossomos 20 e 23, não apresenta sistemas sexuais (Morelli *et al.*, 2007), heterocromatina no braço longo do par número 5 e variações na localização das regiões organizadoras do nucléolo (Ag-NOR) nos pares 4, 6, 15 e 19 (Bertollo *et al.*, 1978). Rantin *et al.* (1992, 1993) ressaltam que as duas espécies apresentam diferentes tolerâncias a hipóxia. O trairão apresenta menor tolerância a falta de oxigênio dissolvido na água ( $P_{cO_2} = 20$  mmHg) em relação a traira comum, que apresenta maior tolerância a falta de oxigênio ( $P_{cO_2} = 35$  mm Hg), essas características são referentes a ecologia de cada espécie. Apesar de algumas diferenças, ambos os grupos, assemelham-se no comportamento de construção de ninho, hábitos não migratórios e de cuidados parentais (Caramaschi *et al.*, 1982).

Atualmente diversos inventários de ictiofauna detectaram a presença do trairão em reservatórios no Brasil. Vários deles consideram essa espécie como exótica ou alóctone, como apontado nos estudos de Luis *et al.* (2003), Giamas *et al.* (2004), FUNDEP, (2007), Silva *et al.* (2006) e Leal *et al.* (2009). A utilização sem embasamento biológico de estoques de trairão do complexo *H. lacerdae* em piscicultura é preocupante, já que no Brasil existem poucos estudos sobre as interações genéticas e ecológicas entre as populações selvagens e cultivadas (Faustino *et al.*, 2007; Godinho, 2007).

As ferramentas moleculares são rotineiramente utilizadas na piscicultura visando à melhoria dos estoques de peixes, a avaliação do impacto genético da introdução de peixes cultivados em populações naturais, especialmente no relativo à determinação do grau de introgressão genética em peixes (Fleming *et al.*, 2000; Koskinen *et al.*, 2002; Ruzzante *et al.*, 2001; Hansen, 2002). A partir dos problemas citados que foram causados pela introdução e introgressão de espécies e considerando a tendência do aumento em intensidade e expansão da utilização de espécies exóticas em projetos de piscicultura, faz-se necessária a caracterização molecular das populações de trairões na região neotropical.

Quando associados às características fenotípicas, os marcadores moleculares são eficientes para estudos de composição de estoques pesqueiros. Dentre os marcadores moleculares, o DNA mitocondrial (mtDNA) é largamente utilizado para a caracterização de espécies, devido à sua herança materna, taxa elevada de

substituição de bases e falta de recombinação (Moritz *et al.*, 1987; Saccone, 1994). O mtDNA permite detectar a direção do evento de hibridização (matrizes maternas), mas não é informativo em estudos de estimativas de taxas de introgressão e hibridação. Assim, deve ser utilizado em conjunto com os marcadores genéticos nucleares, os quais estão sujeitos a outras modalidades de herança (Scribner & Avise, 1994; Rosenfield *et al.*, 2004; Scribner *et al.*, 2001).

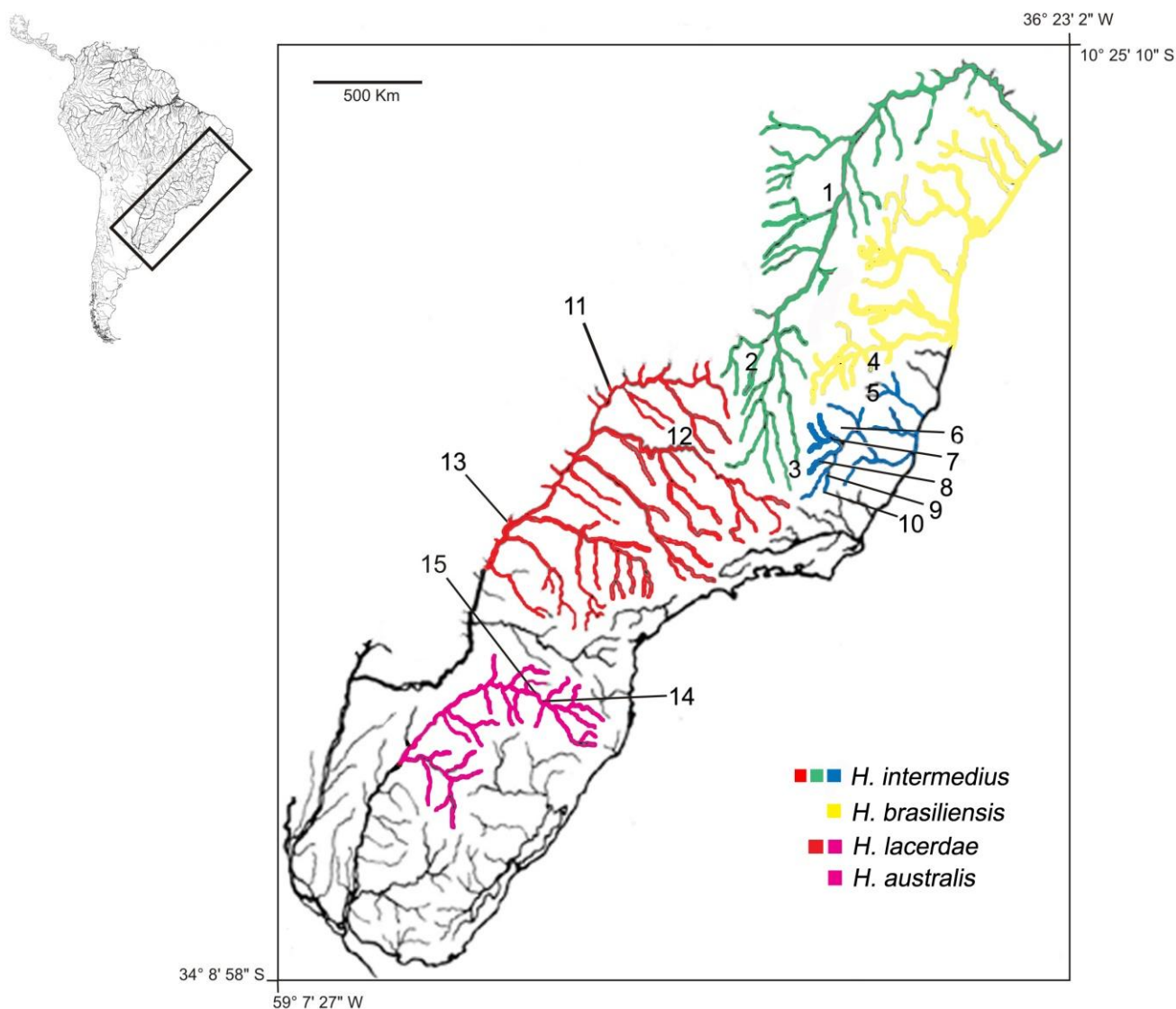
O objetivo deste trabalho foi estudar a diversidade molecular das espécies *H. intermedius*, *H. brasiliensis*, *H. lacerdae* e *H. australis*, integrantes do grupo *lacerdae*, conforme definido por Oyakawa & Mattox (2009), além de 2 estoques utilizados em piscicultura. O estudo visa a caracterização dos padrões de diversidade de cada espécie, para subsidiar estudos de taxonomia e políticas de conservação da integridade genética do grupo.

## MATERIAL E MÉTODOS

Setenta espécimes de diferentes populações de *H. lacerdae* foram analisados a partir do mtDNA. Os espécimes pertenciam a 16 localidades provenientes de 8 bacias (Tabela 2; Figura 1).

Tabela 2 - Distribuição dos indivíduos analisados do complexo *H. lacerdae*.

| Localidade   | GPS                            | Código da amostra   | Bacia/sub-bacia                | Tamanho amostral |
|--|--------------------------------|---|--------------------------------|------------------|
| Lagoa Formosa                                      | 14° 52' 51" S<br>44° 42' 55" W | LF90; LF95; US101; US103;<br>US201; US202; US203;<br>US204; US207; US208;<br>US209  | São Francisco/Rio<br>Peruaçu   | 11               |
| Pirapora   | 17°21'2" S<br>45°31'55" W      | FB19; FB20  | São Francisco/Rio<br>do Sono   | 2                |
| Ouro Branco  | 20°30'36" S<br>43°44'25" W     | JD56  | São Francisco/Rio<br>Paraopeba | 1                |
| Jenipapo de Minas                                  | 16°25'4" S<br>40°56'56" W      | JD4086; JD4087  | Jequitinhonha                  | 2                |
| Itaipé   | 17°54'23" S<br>40°11'38" W     | JD610   | Mucuri                         | 1                |
| Santo Antônio do<br>Porto                          | 18°57'44" S<br>42°18'6" W      | CT1575; CT1576;   | Doce/Suaçui<br>Pequeno         | 2                |
| Ferros   | 19°13'8" S<br>43°4'9" W        | CA09; JD2259; JD2265;<br>JD2440; JD2441   | Doce/rio Santo<br>Antônio      | 5                |
| Junção Rio<br>Tanque/Rio Santo<br>Antônio          | 19°15'16"S<br>42°57'6"W        | CT1324; JD4107; CT1794  | Doce/Rio Santo<br>Antônio      | 3                |
| São Gonçalo do rio<br>Abaixo                       | 19°57'38" S<br>43°25'9" W      | JD1199; JD1202; JD1210;<br>JD1218; JD1219; JD1220   | Doce/Rio Santa<br>Bárbara      | 6                |
| Jusante da Usina da<br>Brecha                      | 20°25'23" S<br>42°56'18" W     | JD2360  | Doce/Rio Piranga               | 1                |
| Estação de<br>Piscicultura UFV                     | 20°46'25" S<br>42°51'35" W     | CT1765; CT1766; CT1767  | Doce/Rio Turvo                 | 3                |
| Cachoeira Dourada                                  | 18°30'53" S<br>49°30'14" W     | JD34  | Paranaíba/Paraná<br>Superior   | 1                |
| Estação de<br>Piscicultura CEMIG -<br>Volta Grande | 20° 1'51" S<br>48°13'16" W     | VG26; VG27; VG28;<br>VG29;VG30;VG31   | Grande/Paraná<br>Superior      | 6                |
| Represa Beija Flor                                 | 21°36'23" S<br>47°47'56" W     | MG01  | Mogi-Guaçú/Paraná<br>Superior  | 1                |
| Reservatório<br>Machadinho                         | 27°31'34" S<br>51°47'9" W      | MGB1; MPB102; MPT126;<br>MPT127; MPT129; MPT132;<br>MPT135; MF121; MF124;<br>RM80; RM81; RM82; RM83<br>RM100 RM101; RM102;<br>HL123; HL04 | Uruguai/Uruguai<br>Superior    | 18               |
| Reservatório de Itá                                | 27°16'45" S<br>52°22'52" W     | RI194; RI208; HL1; HL02;<br>HL231; HL152, HL7   | Uruguai/Uruguai<br>Superior    | 7                |
| <b>Total</b>                                       |                                |   |                                | <b>70</b>        |



**Figura 1** - Mapa das espécies de trairões do complexo *Hoplias lacerdae* no sudeste e sul do Brasil. Locais de coleta de amostras 1 – Lagoa Formosa; 2 – Rio do Sono; 3 – Rio Paraopeba; 4 – Rio Jequitinhonha; 5 – Rio Mucuri; 6 – Rio Suaçuí Pequeno; 7 – Rio Santo Antônio (cidade de Ferros/Encontro Rio tanque com Rio Santo Antônio); 8 – Rio Santa Bárbara; 9 – Rio Piranga; 10 – Estação de Piscicultura UFV; 11- Cachoeira Dourada; 12 – Estação de Piscicultura CEMIG/Volta Grande; 13 – represa Beija Flor; 14 – Reservatório Machadinho; 15 – Reservatório Itá.

As amostras foram extraídas de fígado, músculo ou filamentos branquiais e fixadas em etanol absoluto. As amostras foram estocadas em tubos Eppendorf a temperatura de -20 °C até a extração do DNA. Dado seu grande porte, apenas alguns exemplares amostrados foram depositados na coleção de peixes do Museu de Zoologia João Moojen de Oliveira, Departamento de Biologia Animal, localizado na Universidade Federal de Viçosa. Foram depositados e analisados, com auxílio de

lupa e paquímetro, 23 trairões provenientes da bacia do rio Doce (Estação de Piscicultura da UFV, rio Santo Antônio e rio Suaçuí Pequeno) e rio São Francisco (rio Paraopeba e rio do Sono), os quais foram analisados morfológicamente, conforme proposto por Oyakawa & Mattox (2009).

A extração de DNA foi realizada conforme Boyce *et al.*, (1989), utilizando o detergente CTAB (brometo de cetil-trimetil amônio). O DNA foi ressuspendido em Tris-HCl 1 M - EDTA 0,5 M pH 8,0 (filtrado e estéril) e estocado à temperatura de -20 °C até o momento da amplificação.

Os segmentos da região ATP sintase 6 foram amplificados com os primers L8524 (5' –AAY CCT GAR ACT GAC CAT G- 3') e H9236 (5' –GTT AGT GGT CAK GGG CTT GGR TC- 3') (Quenouille *et al.*, 2004). O DNA foi amplificado em 150 µL [79,5 µL de H<sub>2</sub>O; 15 µL de tampão 10X (500 mM KCl, 200 mM Tris-HCl pH 8.4); 6 µL de MgCl<sub>2</sub> (50 mM); 30 µL dNTPs (1 mM); 6 µL de cada primer (10 mM); 1,5 µL (2.5 U) de Taq polimerase (Phoneutria®) e 6 µL de DNA (100 ng/µL)] para cada amostra. Os fragmentos de mtDNA foram amplificados em 35 ciclos de 30 segundos a 94 °C, 1 minuto a 64 °C e 1 minuto a 72 °C, com uma desnaturação inicial do DNA a 95 °C por 3 minutos e uma extensão final dos segmentos amplificados a 72 °C por 7 minutos. Os produtos de PCR foram identificados conforme o peso molecular esperado, utilizando como padrão o marcador molecular de 1Kb DNA ladder (Gibco BRL Products®). O DNA foi purificado em colunas Qiaquick® seguindo o protocolo indicado pelo fabricante. O DNA foi enviado para Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – Brasília – DF, onde foi sequenciado em um aparelho ABI 3700.

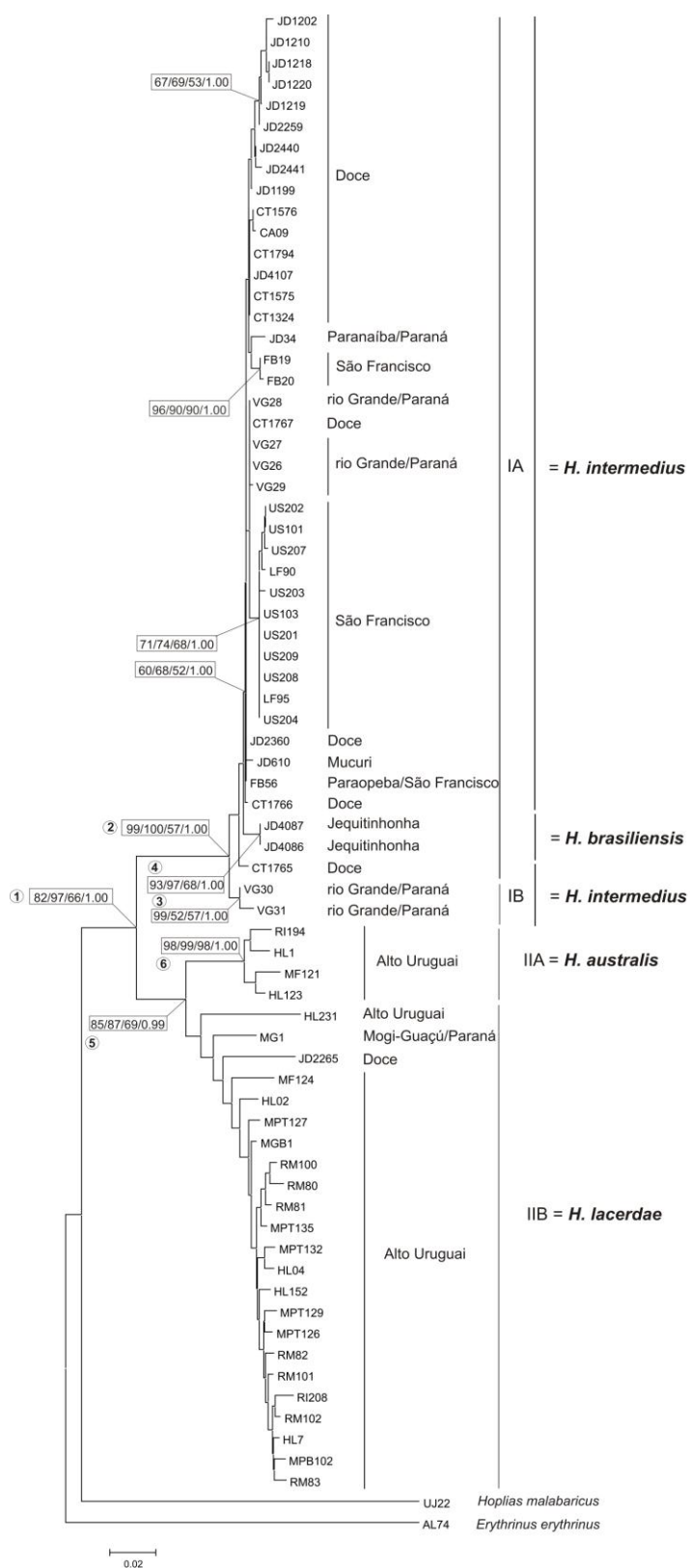
O alinhamento das sequências de nucleotídeos foi realizado pelo software Mega 4.0 (Tamura *et al.*, 2007), utilizando o algoritmo CLUSTAL W (Thompson *et al.*, 1994). Os resultados foram analisados com as abordagens de Neighbor Joining (NJ) (Saitou & Nei, 1987). A Máxima Parcimônia (MP), Máxima Verossimilhança (ML) (Felsenstein, 1981), e Inferência Bayesiana (MB) (Huelsenbeck & Ronquist, 2001) foram adquiridas através do PAUP\* 4.0b10 (Swofford 2002). O modelo de evolução molecular foi estimado a partir do Modeltest 3.7 (Posada & Crandall, 1998) e as distâncias moleculares entre e dentro dos haplogrupos foram estimadas conforme o modelo estimado. O sinal filogenético da árvore para NJ, MP e ML foi realizado com 1000 repetições de bootstrap. Para realizar as probabilidades

posteriores dos nós da árvore foi utilizado o Mrbayes com doze milhões de passos Markov Chain-Monte Carlo (MCMC) (Nylander, 2004). Os grupos externos utilizados foram a traíra comum *Hoplias malabaricus* e o jeju *Erythrinus erythrinus*.

## RESULTADOS

O fragmento sequenciado da ATPase 6 permitiu o alinhamento de 688 bases com 156 sítios variáveis e 113 sítios filogeneticamente informativos para a análise de máxima parcimônia. A relação transição/transversão foi de 3,7 sugerindo que as taxas de substituição não estavam saturadas. O modelo de evolução molecular estimado com Modeltest foi GTR+I+G.

A topologia da árvore indicou a existência de 2 haplogrupos com altos valores de probabilidade posterior e de bootstrap (nó 1). O haplogrupo I foi composto por populações das bacias do Atlântico Leste, bacia do rio São Francisco e do Paraná Superior, incluindo populações consideradas como *Hoplias brasiliensis* (Spix, 1829) na drenagem do Jequitinhonha e *Hoplias intermedius* (Günther, 1864) nas bacias restantes. O haplogrupo II apresentou populações quase exclusivamente restritas à bacia do Alto Uruguai, representando as espécies *Hoplias australis* Oyakawa & Mattox, 2009 e *Hoplias lacerdae* Miranda-Ribeiro, 1908 (Figura 2).



**Figura 2** - Relação filogenética do complexo *H. lacerdae* a partir do fragmento mitocondrial ATPase 6. A topologia apresentada foi obtida a partir de neighbor joining utilizando o modelo GTR+I+G. Os valores de bootstrap são expressos em valores de neighbor joining, máxima verossimilhança, máxima parcimônia, e probabilidade posterior com Inferência Bayesiana. Barra = distância molecular.



Dentro do haplogrupo I, dois subgrupos foram claramente diferenciados (nó 2), o haplogrupo IA (amostras do Atlântico Leste, São Francisco e Paraná Superior) e o haplogrupo IB (Paraná Superior, Estação de Piscicultura da CEMIG, Volta Grande). Dentro do haplogrupo, 5 nós apresentaram alto valor de probabilidade posterior e de bootstrap. O haplogrupo IA incluiu as espécies *H. intermedius* e *H. brasiliensis* (nó 4), o haplogrupo IB foi composto apenas por espécimes de *H. intermedius* (nó 3)., revelando uma relação de parafilía entre as duas espécies.

O haplogrupo II (nó 5) apresentou uma subdivisão principal, haplogrupo IIA e haplogrupo IIB, com 2 nós com altos valores de bootstrap e probabilidade posterior. Esses grupos corresponderam respectivamente às espécies *Hoplias australis* e *Hoplias lacerdae*. O haplogrupo IIA (nó 6) incluiu apenas 4 indivíduos de *H. australis*, enquanto o haplogrupo IIB apresentou 20 indivíduos da bacia do Alto Uruguai e 1 indivíduo da bacia do Paraná Superior (Mogi-Guaçú) e outro do rio Santo Antônio (rio Doce), que corresponderam à espécie *H. lacerdae*.

As distâncias genéticas obtidas com o melhor modelo de evolução molecular dentro e entre os haplogrupos estão apresentados na tabela 2.

**Tabela 3** – Distância molecular entre (eixo diagonal) e dentro (matriz inferior) dos haplogrupos de trairão do complexo *H. lacerdae*.

|                    | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     |
|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 - Haplogrupo I   | 0.01  |       |       |       |       |       |
| 2 - Haplogrupo II  | 0.133 | 0.037 |       |       |       |       |
| 3 - Haplogrupo IA  | -     | -     | 0.009 |       |       |       |
| 4 - Haplogrupo IB  | -     | -     | 0.135 | 0.006 |       |       |
| 5 - Haplogrupo IIA | -     | -     | 0.13  | 0.068 | 0.022 |       |
| 6 - Haplogrupo IIB | -     | -     | 0.021 | 0.118 | 0.123 | 0.023 |

As maiores distâncias moleculares foram observadas entre os haplogrupos I e II e entre os haplogrupos IA e IB. Por outro lado, o haplogrupo I apresentou variação interna aproximadamente 4 vezes menor que a equivalente do haplogrupo II

Todos os indivíduos das bacias dos rios Doce e São Francisco apresentaram 42 escamas na linha lateral. Dentre os trairões da bacia do rio Doce dez indivíduos apresentaram 4 poros no sistema látero-sensorial cefálico, quatro indivíduos apresentaram 5 e um trairão apresentou 6. Dentre os indivíduos da bacia do São Francisco, três trairões apresentaram 4 poros e cinco apresentaram 5 poros no

sistema látero-sensorial cefálico (Tabela 3). Estas características morfológicas são consistentes com a identificação destas amostras como pertencentes à espécie *H. intermedius*.

**Tabela 4** – Dados meirísticos de trairão a partir da chave dicotômica proposta por Oyakawa & Mattox (2009).

| <b>Código</b> | <b>Número de poros</b> | <b>Número de escamas na linha lateral</b> | <b>Localidade</b>           | <b>Bacia</b>  |
|---------------|------------------------|---|-----------------------------|---------------|
| MZUFV3287     | 4                      | 42  | Rio Santo Antônio           | Doce          |
| MZUFV2851     | 4                      | 42  | Rio Santo Antônio           | Doce          |
| MZUFV3709     | 6                      | 42  | Rio Santo Antônio           | Doce          |
| MZUFV3709     | 5                      | 42  | Rio Santo Antônio           | Doce          |
| MZUFV3709     | 4                      | 42  | Rio Santo Antônio           | Doce          |
| CT1324        | 5                      | 42  | Rio Santo Antônio           | Doce          |
| CT1794        | 5                      | 42  | Rio Santo Antônio           | Doce          |
| MZUFV3843     | 5                      | 42  | Rio Suaçuí Pequeno          | Doce          |
| MZUFV3843     | 4                      | 42  | Rio Suaçuí Pequeno          | Doce          |
| MZUFV3843     | 4                      | 42  | Rio Suaçuí Pequeno          | Doce          |
| CT 1575       | 4                      | 42  | Rio Suaçuí Pequeno          | Doce          |
| CT 1576       | 4                      | 42  | Rio Suaçuí Pequeno          | Doce          |
| CT1765        | 4                      | 42  | Estação de Piscicultura UFV | Doce          |
| CT1766        | 4                      | 42  | Estação de Piscicultura UFV | Doce          |
| CT1767        | 4                      | 42  | Estação de Piscicultura UFV | Doce          |
| MZUFV3734     | 5                      | 42  | Rio Pandeiros               | São Francisco |
| MZUFV3734     | 5                      | 42  | Rio Pandeiros               | São Francisco |
| LF90          | 5                      | 42  | Rio Pandeiros               | São Francisco |
| MZUFV3842     | 4                      | 42  | Rio do Sono                 | São Francisco |
| MZUFV3842     | 5                      | 42  | Rio do Sono                 | São Francisco |
| FB19          | 5                      | 42  | Rio do Sono                 | São Francisco |
| FB20          | 4                      | 42  | Rio do Sono                 | São Francisco |
| FB56          | 4                      | 42  | Rio Paraopeba               | São Francisco |

A morfologia dos espécimes da bacia do alto Uruguai está sendo analisada por Zaniboni-Filho(com. pess.).

## DISCUSSÃO

Os dados moleculares do fragmento ATPase 6 de *H. lacerdae* do presente estudo permitiram a separação de 4 espécies reconhecidas por Oyakawa & Mattox (2009). Dentro do haplogrupo I, o clado mais divergente está representado por espécimes do plantel de reprodutores utilizado pela CEMIG em Volta Grande, mas também inclui indivíduos de amostras do São Francisco e rio Doce. As amostras desta última bacia ocorreram em várias posições no cladograma (incluindo o haplogrupo II), sugerindo ausência de padrão biogeográfico. Este padrão dispersivo de haplótipos estreitamente aparentados sugere que a presença de trairões em todas as bacias do sudeste, do leste e nas drenagens continentais como o São Francisco e alto Paraná é um evento geologicamente recente ou que é resultado parcial ou total das atividades antrópicas. A posição de *H. brasiliensis* (coletado na bacia do Paraguaçu) no haplogrupo I com relações estreitas com o trairão do São Francisco é consistente com o parentesco das traíras das duas bacias (Pereira, 2005).

O trairão tem sido introduzido intensamente em bacias do Estado de Minas Gerais desde a década de 80. Existem registros de 1.166.923 espécimes introduzidos nas diversas bacias do Estado (Fernanda Oliveira, CEMIG comunicação pessoal). Atualmente a CEMIG introduz espécimes nativos a cada bacia como método de repovoamento (CEMIG, 2007).

As atividades de introdução podem mascarar ou até gerar a distribuição observada da espécie *H. intermedius*. Dessa forma, os indivíduos coletados nas estações de piscicultura (VG27, VG28, VG29, VG30 e VG31 da Estação de Piscicultura da CEMIG e os espécimes CT1765, CT1766 e CT1767 da Estação de Piscicultura da UFV) podem ter sido soltos em regiões onde já existiam populações naturais ou foram introduzidos em áreas onde não existiam trairões, constituindo mais um caso de espécies introduzidas. Tal parece ser o caso no rio do Sono (FB19 e FB 20) e no Pandeiros (LF90, LF95, US101, US103, US201, US202, US203, US204, US207, US208 e US209), onde os pescadores locais indicaram a presença relativamente recente dos trairões.

Considerando a condição de isolamento de faunas de peixes entre as bacias do São Francisco e a do Doce, a similaridade haplotípica e morfológica dos espécimes das duas bacias sugerem que os indivíduos analisados da bacia do rio Doce são provenientes de programas de repovoamento e que a espécie *H. intermedius* não apresenta distribuição natural nesta bacia. Se esse for o caso, o trairão deve ser considerado como uma espécie invasora na bacia do Doce. A condição da ocorrência desta espécie no São Francisco é mais complexa: a coleta de trairões por Spix em 1829 pode indicar a ocorrência de uma população natural de trairões na bacia do rio São Francisco. Os esforços de introdução do trairão em outros afluentes do São Francisco podem ter aumentado a distribuição da espécie na bacia. Em termos taxonômicos, *H. brasiliensis* aparece como um subgrupo dentro de *H. intermedius*, indicando uma situação de parafilia para esta última espécie. Conforme as regras de prioridade, devemos considerar como válida *H. brasiliensis*.

O haplogrupo II incluiu espécimes de 2 espécies, *H. australis* restrita às cabeceiras do rio Uruguai (haplogrupo IIA) e outra com ampla distribuição *H. lacerdae* (incluída no haplogrupo IIB). Os presentes dados corroboraram o estudo de Oyakawa & Mattox (2009), os quais indicaram a presença destas 2 espécies no trecho superior da bacia do Uruguai. Oyakawa & Mattox (2009) também ressaltam *H. australis* ocorrendo em menor frequência em relação a *H. lacerdae* na região de simpatria. Além dos indivíduos do trecho superior do rio Uruguai, a espécie *H. lacerdae* apresentou um haplótipo da bacia do Paraná e outro do rio Doce. A proximidade dos haplótipos entre espécimes do Alto Uruguai e do rio Paraná é esperada e foi indicada anteriormente em estudos de similaridade de faunas de caraciformes, no qual as faunas do Paraná e Paraguai são agrupadas com os peixes do rio Uruguai. Esse clado está concentrado em uma área de endemismo e apresenta similaridade de fauna já que compõem parte do escudo pré-cambriano brasileiro (Hubert & Renno, 2006).

A ocorrência de haplótipos de *H. lacerdae* nos rio Doce, Paraná e Alto Uruguai pode ser o resultado de uma ampla distribuição desta espécie nas bacias costeiras e na do Paraná-Paraguai/Uruguai ou também, como aparentemente é o caso de *H. brasiliensis*, ser o resultado de atividades antrópicas. Neste último caso, os trairões podem ter sido introduzidos de matrizes coletadas no Paraná ou indicar

algum grau de transferência de cruzamento entre *H. brasiliensis* e *H. lacerdae*. A possibilidade de se tratar de um caso de atividades humanas é consistente com o proposto por Carvalho (2007), o qual indica que os rios da porção situada ao sul da foz do rio Jequitinhonha é divergente dos rios situados na porção leste da bacia hidrográfica do Atlântico leste.

As populações de trairão apresentaram maior distância molecular média entre os grupos do que dentro deles, um padrão esperado em condições de alto grau de divergência evolutiva entre espécies. As populações de *H. australis* e *H. lacerdae* apresentam maior variação molecular entre elas do que as espécies *H. intermedius* e *H. brasiliensis*, evidenciando a necessidade de revisão do status taxonômico de *H. intermedius*. É provável que a baixa amostragem populacional tenha sido um artefato no grau de divergência média entre os haplogrupos IA e IB, a qual foi maior do que a distância entre os haplogrupos I e II. A distância molecular é baseada em média amostral, os indivíduos do haplogrupo IB podem ter apresentado maior número de substituição de nucleotídeos para a sequência analisada, já que o haplogrupo IB é formado por apenas 2 espécimes da Estação de Piscicultura de Volta Grande. Por outro lado, o haplogrupo IA é formado por um número bem maior de indivíduos.

Todos os trairões analisados morfologicamente foram coletados nas bacias do rio Doce e São Francisco e apresentaram 42 escamas na linha lateral e 4 ou 5 poros nas margens do dentário. Estes caracteres não permitiram identificar as amostras como *H. intermedius* ou *H. brasiliensis*, já que no complexo *H. lacerdae*, as espécies *H. intermedius* e *H. brasiliensis* compartilham caracteres taxonômicos, por exemplo, o número de poros nas margens do dentário e número de escamas (Oyakawa e Mattox, 2009).

A compreensão dos padrões de distribuição de peixes nas bacias costeiras e suas relações com as bacias continentais encontram-se ainda em fase incipiente. Ribeiro (2006) afirma que o isolamento do trecho superior das bacias do São Francisco, Paraná e Doce é resultado de vários eventos geográficos. Alguns desses eventos são posteriores a fase de dispersão de algumas espécies. Dergam *et al.* (2002) demonstraram que populações de traíras (grupo malabaricus) que ocorrem na bacia do rio Doce e as traíras do rio Grande são geneticamente próximas,

indicando uma contato no passado entre as bacias do alto rio Doce, Paraná Superior, e do alto rio Paraíba do Sul. O mesmo padrão foi observado em outras populações de traíras, envolvendo um número maior de bacias costeiras e o rio Grande (Santos *et al.* 2009). Algumas espécies do gênero *Piabina* também apresentam distribuição generalizada nos rios das bacias do rio Paraná Superior, São Francisco e, em alguns rios costeiros da drenagem Atlântica Leste (Itapicurú, Paraíba do Sul e Itapemirim) (Vari & Harold, 2001).

As bacias do rio Paraguaçu e do rio São Francisco apresentam estreita relação filogenética e morfológica entre diversas espécies. Carvalho (2007) reconhece que os rios Paraguaçu, Contas, Pardo e Jequitinhonha formam uma importante unidade biogeográfica e Pereira (2005) indica forte parentesco filogenético entre as traíras do rio Paraguaçu e as do rio São Francisco. As populações de traíras dos rios Paraguaçu, Contas, Bunharém e Jequitinhonha apresentam o cariomorfo 40F em comum com as traíras do São Francisco. Este padrão contrasta com o apresentado por traíras de outros rios da drenagem Atlântica Leste (rios Itabapoana, Paraíba do Sul, São João e São Mateus) que apresentam os cariomorfos 42A. A região entre os rios Jequitinhonha e Paraguaçu também é considerada importante devido ao seu elevado grau de endemismo (Ribeiro 2006; Zanata & Camelier, 2008, 2009). Bizerril (1994) ressalta que de um total de 285 espécies de peixes listados por para bacias dessa região, 95% foram considerados endêmicas. Contudo, alguns peixes apresentam distribuição geográfica contrária a apresentada no presente estudo. A espécie *Rhamdia quelen* ocorre em toda América do Sul e Central, podendo ser interpretadas como grupo antigo cuja dispersão entre as bacias precede eventos históricos de vicariância. Análises moleculares indicam altos níveis de diversidade genética nas populações de *R. quelen* na América Central (Perdices *et al.*, 2002).

Os cascudos da subfamília Hypostominae também apresentam similaridade molecular entre os peixes das bacias das drenagens do Atlântico Leste, Paraíba do Sul e da bacia do rio Uruguai. Dados filogenéticos e de distribuição geográfica demonstram que *Pogonopoma wertheimeri*, das drenagens do Atlântico Leste (rio Mucuri e São Mateus), *P. parahybae* da região do rio Paraíba do Sul e *P. obscurum*, do alto rio Uruguai apresentam relações filogenéticas estreitas (Armbruster, 1998).

Outros peixes do gênero *Cnesterodon* (Cyprinodontiformes) são considerados monofiéticos e ocorrem no alto rio Uruguai, rio Jacuí e outros rios das drenagens costeiras, São Francisco e Paraná Superior (Lucinda, 2005). Ocorrências de fósseis também são citadas em Ribeiro (2006) onde há registros dos surubins do gênero *Steindachneridion* (Siluriformes) são encontrados nas bacias dos rios Jequitinhonha, Doce, Paraíba do Sul e alto rio Uruguai. Esses fósseis revelam intercâmbios de fauna no passado. Dados atuais demonstram que as bacias do rio Jequitinhonha, Doce e Paraíba do Sul ainda apresentam espécies endêmicas do gênero *Steindachneridion*, reforçando o intercâmbio de fauna entre essas bacias (Reis *et al.*, 2003).

A diversidade no grupo do trairão pode estar ameaçada já que historicamente a espécie foi introduzida em rios e hidroelétricas com objetivo de manter as populações de peixes (Hoffmann *et al.*, 2005). Estudos como os de Koskinen *et al.* (2002) e Hansen (2002) demonstram que o valor adaptativo para os estoques cultivados em ambiente natural é menor. Estes ainda reconhecem que a introdução de peixes é ineficiente e de alto risco, já que os indivíduos introduzidos podem acasalar com os nativos, além de atuar de maneira negativa nos níveis tróficos na comunidade. Nesse contexto, a introdução de trairão nas bacias brasileiras, ao longo dos anos, pode ter reduzido a diversidade das populações através da introgressão.

A introdução do trairão pode interferir na dinâmica da população de peixes quando introduzidos em regiões onde não ocorria naturalmente. A partir da introdução, os trairões passam a competir com animais piscívoros. O tucunaré é um exemplo de peixe nativo piscívoro amplamente introduzido no Brasil. Populações de tucunaré (*Cichla* spp. endêmicos da bacia amazônica), causam prejuízos a populações nativas do sudeste do Brasil, e são introduzidos devido às características ecológicas peculiares a pesca esportiva (Alves *et al.*, 2009). Outros exemplos são o da piranha vermelha *Pygocentrus nattereri* do médio rio Doce (Latini *et al.*, 2004).

Os padrões biogeográficos que delimitam a distribuição dos haplogrupos da região das bacias do São Francisco, Paraná e Atlântico Leste ainda são insipientes. Contudo, a distribuição dos trairões corresponde a outras espécies de peixes. Mesmo assim, a distribuição de *H. intermedius* nas bacias do rio Doce e São

Francisco sugerem que fatores de dispersão antrópica podem interferir na história real de distribuição do grupo.



## CONCLUSÕES

As populações de trairão estudadas, complexo *Hoplias lacerdae*, apresentam quatro padrões distintos de seqüências de mtDNA. Dois para os trechos superiores das bacias Paraná, São Francisco e Doce, correspondentes as espécies *H. intermedius* e *H. brasiliensis* e dois para o trecho superior da bacia do Uruguai correspondente as espécies *H. lacerdae* e *H. australis*.

As espécies *H. intermedius* e *H. brasiliensis* são mais aparentadas entre si e possivelmente apresentam parafilia. A espécie *H. intermedius* deve ser revisada e pode ser considerada *H. brasiliensis* seguindo as regras de prioridade. As espécies *H. lacerdae* e *H. australis* distribuíram-se de forma simpátrica na bacia do Alto Uruguai.

Com a expansão nacional da aquicultura sem a devida fiscalização no Brasil, não só as populações de trairão como todas aquelas que apresentam interesses para a piscicultura podem causar o colapso da vida aquática natural. O Brasil segue o caminho já percorrido pela África no maior evento de extinção de águas continentais cientificamente conhecido, no lago africano Victória nos anos 50. A introdução sucessiva de peixes somada a super exploração, eutrofização e o desmatamento das matas ciliares alteraram drasticamente a comunidade biótica e abiótica. (Ogutu-Ohwayo 1990; Shodhi *et al.*, 2009).

A introdução de populações do grupo *Hoplias lacerdae* pode estar interferindo na ictiofauna nativas de uma forma geral, assim como observado em estudos que avaliam o impacto de populações de exóticos em comunidades naturais no Brasil e no mundo, como o dourado, tucunaré, bagre africano e salmonídeos. Já as populações de trairão podem estar sofrendo simplificação do material genético com introduções de populações provenientes de piscicultura.

## REFERÊNCIAS

- Agostinho, A. A. & Júlio Jr, H. F. (1996). Peixes de outras águas. *Ciência Hoje* **21**, 36 - 44.
- Agostinho, A. A., Gomes, L. C. & Pelicice, F. M. (2007). *Ecologia e Manejo de Recursos Pesqueiros em Reservatórios do Brasil*. EDUEM, 501.
- Agostinho, A. A., Thomaz, S. M. & Gomes, L. C. (2005). Conservacion of the biodiversity of Brazil's inland waters. *Conservation Biology* **19**, 646-652.
- Allendorf, F. W. & Leary, R. F. (1988). Conservation and distribution of genetic variation in a polytypic species: the cutthroat trout. *Conservation Biology* **2**, 170–184.
- Almeida-Toledo, L. F., Bernardino, G., Oliveira, C., Foresti, F. & Toledo-Filho, S. A. (1996). Gynogenetic fish produced by a backcross involving a male hybrid (female *Colossoma macropomum* x male *Piaractus mesopotamicus*) and a female *Piaractus mesopotamicus*. *Boletim Técnico CEPTA* **9**, 31 - 37.
- Armbruster, J.W. (1998). Phylogenetic relationships of the suckermouth armored catfishes of the *Rhinelepis* group (Loricariidae: Hypostominae). *Copeia*, 620-636.
- Bertollo, L. A. C. (2007). Chromosome evolution in the Neotropical Erythrinidae fish family: an overview. Em *Fish cytogenetics* (Pisano, E., Ozouf-Costaz, C., Foresti, F. & Kapoor, B. G., eds.), pp. 195 - 211. New Delhi: Oxford and IBH Publishing Co.
- Bertollo, L. A. C., Born, G. G., Dergam, J. A., Fenocchio, A. S. & Moreira-Filho, O. (2000). A biodiversity approach in the neotropical Erythrinidae fish, *Hoplias malabaricus*. Karyotypic survey, geographic distribution of cytotypes and cytotaxonomic considerations. *Chromosome Research* **8**, 603–613.
- Bertollo, L. A. C., G. G. Born, J. A. Dergam, A. S. Fenocchio & O. Moreira-Filho. 2000. A biodiversity approach in the neotropical Erythrinidae fish, *Hoplias malabaricus*. Karyotypic survey, geographic distribution of cytotypes and cytotaxonomic considerations. *Chromosome Research*, 8: 603- 613.
- Bertollo, L. A. C., Takahashi, C. S. & Moreira-Filho, O. (1978). Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). *Brazilian Journal of Genetics* **1**,103-120.
- Bizerril, C. R. S. F. & Primo P. B. S. (2001). *Peixes de águas interiores do Estado do Rio de Janeiro. PLANAGUA – FEMAR/SEMADS*, 417.
- Bizerril, C. R. S. F. (1994). Análise taxonômica e biogeográfica da ictiofauna de água doce do leste brasileiro. *Acta Biologica Leopoldensia*, São Leopoldo, **16**, 51-80.
- Borghetti, N. R. B., Ostrensky, A. & Borghetti, J. R. (2003). Aqüicultura: Uma visão geral sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil e no mundo. *Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais*, 128p.
- Born, G. & Bertollo, L. A. C. (2000). An XX/XY sex chromosome system in a fish species, *Hoplias malabaricus*, with a polymorphic NOR-bearing X chromosome. *Chromosome Research* **8**, 111–118.
- Boyce, T. M., Zwick, M. E. & Aquadro, C. F. (1989). Mitochondrial DNA in the bark weevils: size, structure and heteroplasmy. *Genetics* **123**, 825 - 836.

- Buckup, P. A., Menezes, N. A & Ghazzi, M. S. (2007). *Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil*.
- Caramaschi, E. P., Godinho, H. M. & Foresti, F. (1982). Reprodução de *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) (Teleostei, Erythrinidae) na represa do Rio Pardo (Botucatu, SP). I. Histologia e escala de maturação do ovário. *Revista Brasileira de Biologia* **42**, 635-640.
- Carvalho, T. P. (2007). Distributional patterns of freshwater fishes in coastal atlantic drainages of eastern Brazil: a preliminary study applying parsimony analysis of endemism. VII Reunión Argentina de Cladística y Biogeografía. *Darwiniana*, **45**, 65-67.
- Castagnolli, N. (1992). Piscicultura de água doce. *Funep*.
- CEMIG – Companhia Energética de Minas Gerais. (2007). Projeto Peixe vivo. Disponível em: <http://www.portalpeixe vivo.com.br/default.asp>. Acessado em: 27/02/2010.
- Dergam, J. A. & Bertollo, L. A. C. (1990). Karyotypic diversification in *Hoplias malabaricus* (Osteichthyes, Erythrinidae) of the São Francisco and Alto Paraná basins, Brazil. *Brazilian Journal of Genetics*, **13**, 755-766.
- Dergam, J. A., Paiva, S. R., Schaeffer, C. E., Godinho, A. L. & Veira, F. (2002). Phylogeography and RAPD PCR variation in *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) (Pisces, Teleostei) in southeastern Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, **25**, 379-387.
- Dergam, J. A., Suzuki, H. I., Shibatta, O. A., Duboc, L. F., Júlio Jr., H. F., Giuliano-Caetano, L. & Black IV, W. C. (1998). Molecular biogeography of the neotropical fish *Hoplias malabaricus* (Erythrinidae: Characiformes) in the Iguaçú, Tibagi, and Paraná rivers. *Genetics and Molecular Biology*, **21**, 493-496.
- Dergam, J.A. (1996). Phylogeography and character congruence within the *Hoplias malabaricus* Bloch, 1794 (Erythrinidae, Characiformes, Ostariophysi). Unpublished Ph.D. Dissertation, Colorado State University, Fort Collins, Colorado. 108p.
- FAO - United Nations Food and Agriculture Organization. (2006). *The state of fisheries and aquaculture*. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep>. Acessado em: 02/12/2009.
- Faustino, F., Nakaghi, L. S. O, Marques, C., Makino, L. C. & Senhorini, J. A. (2007) Fertilização e desenvolvimento embrionário: morfometria e análise estereomicroscópica dos ovos dos híbridos de surubins (pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* x cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum*). *Acta Scientiarum. Biological Sciences* **29**, 49-55.
- Felsenstein, J. (1981). Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution* **17**, 368–376.
- Fleming, I. A., Hindar, K., Mjølnerod, I. B., Jonson, B., Balstad, T. & Lamberg, A. (2000) Lifetime success and interactions of farm salmon invading a native population. Proceedings of the Royal Society of London, *Serie B, Biology Science* **267**, 1517-1523.
- FUNDEP (2007) Relatório de estudos ambientais e regularização do parque aquícola indaiá-2, reservatório de três marias. Disponível em

- [http://ecologia.icb.ufmg.br/~rpcoelho/Parques\\_Aquicolas/website/index.htm](http://ecologia.icb.ufmg.br/~rpcoelho/Parques_Aquicolas/website/index.htm). Acessado em 20/02/2010.
- Giamas, M. T. D., Campos, E. C., Camara, J. J. C., Junior, H. V. & Barbieri, G. (2004). A ictiofauna da represa de Ponte Nova, Salesópolis (São Paulo) - bacia do alto Tietê. *Boletim do Instituto de Pesca de São Paulo* **30**, 25-34.
- Godinho, H. P. (2007). Estratégias reprodutivas de peixes aplicadas à aquicultura: bases para o desenvolvimento de tecnologias de produção. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. **31**, 351-360.
- Goldburg, R. & Naylor, R. (2005). Future seascapes, fishing and fish farming. *The Ecological Society of America*. **3**, 21- 28.
- Hansen, N. M. (2002) Estimating the long-term effects of stocking domesticated trout into wild brown trout (*Salmo trutta*) populations: an approach using microsatellite DNA analysis of historical and contemporary samples. *Molecular Ecology*. **11**, 1003-1015.
- Hansen, N. M. (2002). Estimating the long-term effects of stocking domesticated trout into wild brown trout (*Salmo trutta*) populations: an approach using microsatellite DNA analysis of historical and contemporary samples. *Molecular Ecology* **11**, 1003-1015.
- Hoffmann, A. C., Orsi, M. L., & Shibatta, O. A. (2005). Diversidade de peixes do reservatório da UHE Escola Engenharia Mackenzie (Capivara), rio Paranapanema, bacia do alto rio Paraná, Brasil, e a importância dos grandes tributários na sua manutenção. *Iheringia, Série Zoológica*. **95**, 319-325.
- Hubert, N. & Renno, J. F. (2006) Historical biogeography of South American freshwater fishes. *Journal of Biogeography*. **33**, 1414–1436.
- Huelsenbeck, J. P. & Ronquist, F. (2001). MrBayes: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* **17**, 754–755.
- Koskinen, M. T., Sundell, P., Piironen, J. & Primmer, C. R. (2002). Genetic assessment of spatiotemporal evolutionary relationships and stocking effects in grayling (*Thymallus thymallus*, Salmonidae). *Ecology Letters* **5**, 193-205
- Leal, M. E., Bremm, C. Q. & Schulz, U. H. (2009). Lista da ictiocenose da bacia do rio dos Sinos, sul do Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca de São Paulo* **35**, 307-317.
- Lucinda, P. H. F. (2005). Systematics of the genus *Cnesterodon* Garman, 1895 (Cyprinodontiformes: Poeciliidae: Poeciliinae). *Neotropical Ichthyology*. Porto Alegre, **3**, 259-270.
- Luiz, E. A., Gomes, L. C., Agostinho, A. A. & Bulla, C. K. (2003). Influência de processos locais e regionais nas assembléias de peixes em reservatórios do Estado do Paraná, Brasil. *Acta Scientiarum: Biological Sciences* **25**, 107-114.
- Magalhães, A. L. B., Brito, M. F. G., & Andrade R. F. (2005). Espécies introduzidas. Em: Magalhães, A. L. B., Brito, M. F. G., & Andrade R. F. (eds.), *Uma abordagem didático-científica sobre peixes introduzidos no Estado de Minas Gerais*. Disponível em: <http://www.exoticfish.bio.br/>. Acessado em: 20/02/2010.
- McGinnity, P., Stone, C., Taggard, J. B., Cooke, D., Cotter, D., Hynes, R., McCamley, C., Cross, T. & Ferguson, A. (1997) Genetic impact of escaped farm Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). On native populations: use of DNA profiling to assess freshwater performance of wild, farmed and hybrid progeny in a natural environment. *ICES - Journal of Marine Science* **54**, 998-1008.

- Mizusaki, A.M., D.B. Alves & J.C.J. Conceição. 1994. Eventos magmáticos nas bacias do Espírito Santo, Mucuri e Cumuruxatiba. Pp. 566-567. *Boletim de Resumos Expandidos V.1, Congresso Brasileiro de Geologia* **38**. Balneário Camboriú, Santa Catarina.
- Morelli, S., Vicari, M. R. & Bertollo, L. A. C. (2007). Evolutionary cytogenetics in species of the *Hoplias lacerdae*, Miranda Ribeiro, 1908 group. A particular pathway concerning the other Erythrinidae fish. *Brazilian Journal of Biology* **67**, 897-903.
- Moritz, C., Dowling, T. E. & Brown, W. M. (1987). Evolution of animal mitochondrial DNA: Relevance for population biology and systematics. *Annual Review of Ecology System* **18**, 269-292.
- Naylor, R. L., Goldberg, R. J., Primavera, J. H., Kautsky, N., Beveridge, M. C. M., Clay, J., Folke, C., Lubchenco, J., Mooney, H. & Troell, M. (2000). Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature* **505**, 1017.
- Naylor, R. L., Williams, S. L. & Strong, D. R. (2001). Aquaculture, a gateway for exotic species. *Science* **294**, 1655-1656.
- Naylor, R., & Burke, M. (2005) Aquaculture and ocean resources: raising tigers of the sea. *Annual Review of Environment and Resources* **30**, 185–218.
- Naylor, R., Eagle, J. & Smith, W. (2003). Salmon aquaculture in the Pacific Northwest: A global industry with local impacts. *Environment* **45**, 18–39.
- Nelson, J. S. (2006). *Fishes of the world*. 416 p. New York: John Wiley & Sons.
- Nylander, J. A. A. (2004). MrModeltest v2. Program distributed by the author. Uppsala, Sweden: Evolutionary Biology Centre, Uppsala University.
- Orsi, M. L. & Agostinho, A. A. (1999). Introdução de espécies de peixes por escapes acidentais de tanques de cultivo em rios da Bacia do Rio Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* **16**, 557-560.
- Oyakawa, O. T. & Mattox, G. (2009). Revision of the Neotropical trahiras of the *Hoplias lacerdae* species-group (Ostariophysi: Characiformes: Erythrinidae) with descriptions of two new species. *Neotropical Ichthyology* **7**, 117-140.
- Oyakawa, O. T. (1998). Relações filogenéticas das famílias Pyrrhulinidae, Lebiasinidae e Erythrinidae (Osteichthyes: Characiformes), 200p. Unpublished Ph.D. Dissertation, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Oyakawa, O. T. (2003). Family Erythrinidae. Em *Check List of the Freshwater Fishes of South America* (Reis, R. E., Kullander, S. O. & Ferraris Jr, C.J., eds.), pp 238-240. Porto Alegre: Edipucrs.
- Pazza, R.; Júlio Jr., H. F. (2003). Occurrence of Three Sympatric Cytotypes of *Hoplias malabaricus* (Pisces, Erythrinidae) in the Upper Parana River Foodplain (Brazil). *Cytologia, Japão* **68**. 159-163.
- Pellegrino, K. C. M., Rodrigues, M. T., Waite, A. N., Morando, M., Yonenaga-Yassuda, Y. & Sites Jr, J. W. (2005). Phylogeography and species limits in the *Gymnodactylus darwinii* complex (Gekkonidae, Squamata): genetic structure coincides with river systems in the Brazilian Atlantic Forest. *Biological Journal of the Linnean Society* **85**, 13-26.
- Perdices, A., E. Bermingham, A. Montilla & I. Doadrio. 2002. Evolutionary history of the genus *Rhamdia* (Teleostei: Pimelodidae) in Central America. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **25**: 172-189.

- Pereira, T. L. (2005). Divergência gemônica e filogeografia de traíras *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) (Teleostei: Erythrinidae) na costa leste do Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, UFV, MG.
- Posada, D. & Crandall, K. A. (1998). Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* **14**, 817–818.
- Quenouille, B., Bermingham, E. & Planes, S. (2004). Molecular systematics of the damsselfishes (Teleostei: Pomacentridae): Bayesian phylogenetic analyses of mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **31**, 66–88.
- Rantin, F. T., Glass, M. L., Kalinin, A. L., Verzola, R. M. M., Fernandes, M. N. (1993). Cardiorespiratory responses in two ecologically distinct erythrinids (*Hoplias malabaricus* and *Hoplias lacerdae*) exposed to graded environmental hypoxia. *Environmental Biology of Fish* **36**, 93–97.
- Rantin, F. T., Kalinin, A. L., LII relation to mode of life of two erythrinid species (*Hoplias malabaricus* and *Hoplias lacerdae*). *Journal of Fish Biology* **41**, 805–812.
- Reis, R. E., Kullander, S. O. & Ferraris C.J. (2003). *Check list of the freshwater fishes of south and central America*. p. 729. Porto Alegre: Edipucrs.
- Rhymer, J. M. & Simberloff, D. (1996). Extinction by hybridization and introgression. *Annual Review of Ecology and Systematics* **27**, 83-109.
- Ribeiro, A. C. (2006). Tectonic history and the biogeography of the freshwater fishes from the coastal drainages of eastern Brazil: an example of faunal evolution associated with a divergent continental margin. *Neotropical Ichthyology* **4**, 225–246.
- Ricciardi, A. (2007). Are Modern Biological Invasions an Unprecedented Form of Global Change? *Conservation Biology* **21**, 329–336.
- Rosenfield, J. A., Nolasco, S., Lindauer, S., Sandoval, C. & Kodric-Brown, A. (2004). The role of hybrid vigor in the replacement of Pecos pup-fish by its hybrids withsheepshead minnow. *Conservation Biology* **18**, 1589-1598.
- Saccone, C. (1994). The evolution of mitochondrial DNA. *Current Opinion in Genetics and Development* **4**, 875-881.
- Saitou, N. & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* **4**, 406–425.
- Santos, U., Völcker, C. M., Belei, F. A., Cioffi, M. B., Bertollo, L. A. C. Paiva S. R., & Dergam, J. A. (2009). Molecular and karyotypic phylogeography in the Neotropical *Hoplias malabaricus* (Erythrinidae) fish in eastern Brazil. *Journal of Fish Biology* **75**, 2326–2343.
- Silva, A. R. M., Santos, G. B. & Ratton, T. (2006). Fish community structure of Juramento reservoir, São Francisco River basin, Minas Gerais, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia* **23**, 832–840.
- Sivasundar, A., E. Bermingham & G. Ortí. 2001. Population structure and biogeography of migratory freshwater fishes (*Prochilodus*: Characiformes) in major South American rivers. *Molecular Ecology* **10**, 407-417.
- Swofford D.L. *PAUP\**—phylogenetic analyses using parsimony and other methods, version 4.0. In *Sinauer 2002* Sunderland, MA: Sinauer.

- Tamura, K., Dudley, J., Nei, M. & Kumar, S. (2007). MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* **24**, 1596–1599.
- Thomas, M. H. & Randall, A. (2000). Intentional introductions of nonindigenous species: a principal-agent model and protocol for revocable decisions. *Ecological Economics* **34**, 333-345.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G. & Gibson, T. J. (1994) CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighing, position specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acid Research* **22**, 4673–4680.
- Trotter, P. (2008). *Cutthroat: native trout of the West*. 2ed. Berkeley, CA: University of California Press.
- Vari, R. P. & Harold, A. S. (2001). Phylogenetic study of the neotropical fish genera *Creagrutus* Günther and *Piabina* Reinhardt (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes), with a revision of the cis-andean species. *Smithsonian Contributions to Zoology* **613**, 1–239.
- Zanata, A. M. & P. Camelier. (2008). Two new species of *Astyanax* (Characiformes: Characidae) from upper rio Paraguaçu and rio Itapicuru basins, Chapada Diamantina, Bahia, Brazil. *Zootaxa*, **1908**. 28-40.
- Zanata, A. M. & P. Camelier. (2009). *Astyanax vermillion* and *Astyanax burgerai*: new characid fishes (Ostariophysi: Characiformes) from Northeastern Bahia, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, **7**. 175-184.
- Zaniboni-Filho, E. Z., Nuñez, A. P. O., Guereschi, R. M. & Hermes-Silva, S. (2005). Cultivo de peixes em tanques-rede e impactos ambientais. Em *Cultivo de peixes em tanques-rede: desafios e oportunidades para o desenvolvimento sustentável* (Cardoso, E. L & Ferreira, R. M. A, eds.), p.57-80. Minas Gerais: EPAMIG.