

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

RAFAEL ANTUNES BAGGIO

AVALIAÇÃO DO *STATUS QUO* DA TILÁPIA DO NILO *Oreochromis niloticus* NO RESERVATÓRIO DE ITAIPU E NA BACIA DO RIO URUGUAI.

CURITIBA

2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

RAFAEL ANTUNES BAGGIO

AVALIAÇÃO DO *STATUS QUO* DA TILÁPIA DO NILO *Oreochromis niloticus* NO RESERVATÓRIO DE ITAIPU E NA BACIA DO RIO URUGUAI.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Zoologia, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas área de concentração Zoologia.

Orientador: Walter A. Boeger

CURITIBA

2012


Termo de aprovação

AVALIAÇÃO DO STATUS QUO DA TILÁPIA DO NILO *Oreochromis niloticus* NO RESERVATÓRIO DE ITAIPU E NA BACIA DO RIO URUGUAI.

por

Rafael Antunes Baggio

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção do Grau de Mestre em Ciências Biológicas, área de concentração Zoologia, no Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:



Dr. Walter Antonio Pereira Boeger - UFPR
Presidente e Orientador



Dr. José Francisco de Oliveira Neto - FAFIPAR



Dr. Vinicius Abilhôa - MHNCI

Curitiba, 27 de fevereiro de 2012.

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos:

Ao professor Walter Boeger, pela oportunidade, confiança e orientação;

Ao Raphael Orélis, Vinícius Abilhoa e Gisele Castilho, pela ajuda no desenvolvimento desse projeto;

À banca, José Francisco de Oliveira Neto e Vinícius Abilhoa pelas importantes considerações e sugestões;

À Octopus, pelo auxílio nas coletas;

Aos meus pais pelo carinho e apoio indispensáveis para minhas realizações pessoais e profissionais, sempre acreditando e confiando em mim;

Aos amigos do LEMPE, pela alegria, discussões e incentivo, que me motivam todos os dias;

A minha namorada Débora, que esteve sempre ao meu lado, com seu carinho, apoio e incentivo incondicional;

Aos demais amigos e familiares;

Ao Programa de Pós-Graduação em Zoologia, pela oportunidade e apoio;

Ao CNPq e Ministério da Pesca e Aquicultura pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

TERMO DE APROVAÇÃO	II
AGRADECIMENTOS.....	III
LISTA DE FIGURAS.....	V
LISTA DE TABELAS.....	VIII
RESUMO.....	X
ABSTRACT	XI
INTRODUÇÃO GERAL	1
CAPÍTULO I	
Identificação de linhagens da Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i> Linnaeus, 1758) e de seus híbridos usando marcadores moleculares microssatélites	8
RESUMO.....	8
INTRODUÇÃO.....	9
MATERIAIS E MÉTODOS	11
RESULTADOS.....	13
DISCUSSÃO.....	16
CAPÍTULO II	
Avaliação do <i>status quo</i> da Tilápia do Nilo <i>Oreochromis niloticus</i> no reservatório de Itaipu e na bacia do Rio Uruguai.	23
INTRODUÇÃO.....	24
MATERIAIS E MÉTODOS	26
RESULTADOS.....	36
DISCUSSÃO.....	57
CONSIDERAÇÕES FINAIS	85

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Mapa dos grupos de ligação do genoma da tilápia *Oreochromis niloticus*... 12

Figura 2. Agrupamento dos indivíduos de linhagens puras da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, sem e com indivíduos de linhagem desconhecida provenientes de pisciculturas, utilizando 9 *loci* de microssatélites e modelo sem mistura. 15

Figura 3. Identificação da linhagem de indivíduos da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, provenientes de 10 pisciculturas na bacia do Rio Uruguai. 16

Figura 4. Identificação da linhagem de indivíduos da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, provenientes de 8 pisciculturas em propriedades ao redor do reservatório de Itaipu..... 16

CAPÍTULO II

Figura 1. Pontos de coleta científica e profissional definidos para o reservatório de Itaipu..... 27

Figura 2. Pontos de coleta científica e profissional definidos para a bacia do Rio Uruguai..... 28

Figura 3. Esquema do processamento das tilápias coletadas no ambiente..... 32

Figura 4. Cenários previsíveis para: A) escapes de tilápias de cultivo sem que exista uma população estabelecida nos ambientes natural. B) escapes de tilápias com reprodução ocorrendo nos ambientes naturais. 33

Figura 5. Abundância relativa da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, no reservatório de Itaipu, entre o outono/2010 e outono/2011, através de pesca científica. 37

Figura 6. Número de indivíduos de cada táxon coletados no reservatório de Itaipu entre o outono/2010 e outono/2010, através de pesca científica padronizada. 38

Figura 7. Número de indivíduos coletados da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, e de seus possíveis predadores através de pesca científica em 4 pontos do reservatório de Itaipu..... 39

Figura 8. Regressão linear entre a abundância da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, e abundância total de peixes coletados em diferentes pontos através de pesca científica no reservatório de Itaipu. 39

Figura 9. Regressão linear entre a abundância da Tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , e de seus possíveis predadores coletados em diferentes pontos através de pesca científica no reservatório de Itaipu.	39
Figura 10. Abundância relativa da Tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , na bacia do Rio Uruguai, entre o outono/2010 e outono/2011, através de pesca científica.	40
Figura 11. Número de indivíduos de cada espécie coletada na bacia do Rio Uruguai entre o outono/2010 e outono/2010, exceto no inverno/2010, através de pesca científica padronizada.	42
Figura 12. Número de indivíduos de cada táxon coletado no reservatório de Itá entre o outono/2010 e outono/2010, exceto no inverno/2010, através de pesca científica padronizada.	42
Figura 13. Número de indivíduos de cada táxon coletado no reservatório de Passo Fundo entre o outono/2010 e outono/2010, exceto no inverno/2010, através de pesca científica padronizada.	43
Figura 14. Número de indivíduos coletados da Tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , e de seus possíveis predadores através de pesca científica na bacia do Rio Uruguai. ..	43
Figura 15. Regressão linear entre as abundâncias da Tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , e do total de peixes coletados em diferentes pontos através de pesca científica no reservatório de Itá	44
Figura 16. Abundância das classes de tamanho da Tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , coletadas no reservatório de Itaipu, entre o outono/2010 e outono/2010, através de pesca científica.	44
Figura 17. Número de espécimes coletados da Tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , e de outras espécies em pesca científica utilizando diferentes petrechos, no reservatório de Itaipu.	45
Figura 18. Abundância das classes de tamanho da Tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , coletadas na bacia do Rio Uruguai, entre o outono/2010 e outono/2010, através de pesca científica.	46
Figura 19. Número de espécimes coletados da Tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , e de outras espécies através de pesca científica com diferentes petrechos, na bacia do Rio Uruguai.	46
Figura 20. Abundância das classes de tamanho da Tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , coletadas no reservatório de Itá, entre o outono/2010 e outono/2011, através de pesca científica.	47
Figura 21. Abundância das classes de tamanho da Tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , coletadas no reservatório de Passo Fundo, entre o outono/2011 e outono/2010, através de pesca científica.	47

Figura 22. Número de indivíduos coletados da Tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , e de outras espécies através de pesca científica com diferentes petrechos, no reservatório de Itá.....	47
Figura 23. Número de indivíduos coletados da Tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , e de outras espécies através de pesca científica com diferentes petrechos, no reservatório de Passo Fundo.....	48
Figura 24. Fator de condição das tilápias <i>Oreochromis niloticus</i> coletadas no reservatório de Itaipu.....	49
Figura 25. Fator de condição das tilápias <i>Oreochromis niloticus</i> coletadas no reservatório de Itá.....	49
Figura 26. Fator de condição das tilápias <i>Oreochromis niloticus</i> coletadas no reservatório de Passo Fundo.....	49
Figura 27. Proporção sexual e grau de maturação gonadal das Tilápias do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , coletadas no reservatório de Itaipu.....	50
Figura 28. Proporção sexual e grau de maturação gonadal das Tilápias do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , coletadas através de pesca científica na bacia do Rio Uruguai.....	51
Figura 29. Identificação genética de indivíduos de <i>Oreochromis niloticus</i> coletadas em 4 pontos no Reservatório de Itaipu.....	51
Figura 30. Identificação genética de indivíduos de <i>Oreochromis niloticus</i> coletadas em 4 pontos da bacia do Rio Uruguai.....	52
Figura 31. Composição da dieta da tilápia <i>Oreochromis niloticus</i> coletada no reservatório de Itaipu.....	55
Figura 32. Composição da dieta da tilápia <i>Oreochromis niloticus</i> coletada na bacia do Rio Uruguai.....	56

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Locais e número de pisciculturas produtoras da Tilápia do Nilo, *O. niloticus*, amostradas em regiões do entorno do reservatório Itaipu e na bacia do Rio Uruguai. 11

Tabela 2. Número de alelos, heterosigiosidade observada e esperada de 9 *loci* de 5 linhagens de *Oreochromis niloticus*. 13

Tabela 3. Valores de F_{ST} e seus respectivos p entre 5 linhagens da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, significativos após correção de Bonferroni ($p < 0,005$). 13

Tabela 4. Valores de p e suas respectivas significâncias ($p < 0,05$) no teste de desequilíbrio de ligação entre 9 *loci* de 5 linhagens de *Oreochromis niloticus*. 14

Tabela 5. Proporção de alocação do genótipo de todos os membros de cada linhagem de *O. niloticus* (linhas) em cada um dos 4 grupos (colunas), usando apenas indivíduos de linhagens puras (antes da barra) e incrementando com os indivíduos de linhagem desconhecida provenientes pisciculturas (depois da barra). 14

CAPÍTULO II

Tabela 1. Síntese da estratégia metodológica desenvolvida na avaliação do status do estoque da Tilápia do Nilo do reservatório de Itaipu e da bacia do Rio Uruguai. 26

Tabela 2. Pontos de coleta científica e profissional, e suas respectivas coordenadas, definidos para a bacia do Rio Uruguai e reservatório de Itaipu. 29

Tabela 3. Conjunto de petrechos de pesca utilizado em amostragem científica, em pontos de coleta no reservatório de Itaipu. 30

Tabela 4. Conjunto de petrechos de pesca utilizado em amostragem científica, em pontos de coleta da bacia do Rio Uruguai. 31

Tabela 5. Total de tilápias *Oreochromis niloticus* coletadas em pesca científica e em pesca profissional na bacia do Rio Uruguai e no reservatório de Itaipu. 36

Tabela 6. Número de Tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, coletadas em pesca profissional em 4 pontos de amostragem do reservatório de Itaipu. 36

Tabela 7. Total de peixes capturados, número de tilápias *Oreochromis niloticus* coletadas e sua abundância relativa em coleta científica no reservatório de Itaipu. 37

Tabela 8. Total de peixes capturados, número de tilápias *Oreochromis niloticus* coletadas e sua abundância relativa em coleta científica nos pontos do reservatório de Itaipu. 37

Tabela 9. Total de tilápias <i>Oreochromis niloticus</i> coletadas em coletas profissionais na bacia do Rio Uruguai.	40
Tabela 10. Total de peixes capturados, número de tilápias <i>Oreochromis niloticus</i> coletadas e sua abundância relativa em coleta científica na bacia do Rio Uruguai.	40
Tabela 11. Total de peixes capturados, número de tilápias <i>Oreochromis niloticus</i> coletadas e suas abundâncias relativas em coleta científica em 4 pontos da bacia do Rio Uruguai.....	41
Tabela 12. Probabilidade posterior dos indivíduos da tilápia <i>Oreochromis niloticus</i> coletados no reservatório de Itaipu serem provenientes de determinada linhagem.....	52
Tabela 13. Probabilidade posterior dos indivíduos da tilápia <i>Oreochromis niloticus</i> coletados na bacia do Rio Uruguai de serem provenientes de determinada linhagem.	53
Tabela 14. Valores de F_{ST} e seus respectivos p , comparando os indivíduos da Tilápia do Nilo coletados em cada estação do ano.....	54
Tabela 15. Análise de equilíbrio de Hardy-Weinberg para os indivíduos <i>Oreochromis niloticus</i> coletados no reservatório de Itá, para os 9 loci utilizados.....	54
Tabela 16. Composição da dieta, frequência de ocorrência, volume relativo e índice alimentar dos itens alimentares consumidos por <i>Oreochromis niloticus</i> no reservatório de Itaipu.....	55
Tabela 17. Composição da dieta, frequência de ocorrência, volume relativo e índice alimentar dos itens alimentares consumidos por <i>Oreochromis niloticus</i> na bacia do Rio Uruguai.	56
Tabela 18. Características esperadas para populações estabelecidas e não estabelecidas da Tilápia do Nilo, <i>Oreochromis niloticus</i> , no reservatório de Itaipu e na bacia do Rio Uruguai.	66

RESUMO

As tilápias, ciclídeos da tribo Tilapiine, possuem grande importância na aquicultura, sendo o terceiro grupo mais produzido na aquicultura mundial e o segundo na aquicultura brasileira, com grande destaque para a Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*. Contudo, as diversas características que as tornam eficientes para o cultivo potencializam sua capacidade de estabelecimento de populações em uma ampla variedade de ambientes, causando preocupantes impactos ambientais. No Brasil, o cultivo de espécies exóticas (e.g. tilápias) é proibido, como no reservatório de Itaipu e na bacia do Rio Uruguai, exceto se existirem populações estabelecidas na Unidade Geográfica de Referência. Dessa forma, são necessários estudos que testem o estabelecimento das Tilápias do Nilo e de outros organismos exóticos, uma vez que a avaliação de tal estabelecimento diversas vezes é baseada em apenas em conhecimentos anedóticos (e.g. pela simples captura de uns poucos indivíduos), sem a realização de teste de hipótese baseados em dados científicos. Nesse trabalho, portanto, foi desenvolvida uma rigorosa metodologia baseada em uma análise multidisciplinar (i.e. dados de abundância, reprodução, estrutura, identificação de linhagens e dieta) para testar a hipótese de estabelecimento de populações da Tilápia do Nilo, *O. niloticus*, no reservatório de Itaipu e na bacia do Rio Uruguai. Inicialmente, foi desenvolvido um protocolo de identificação de linhagens de tilápias e de seus híbridos através de marcadores moleculares microssatélites. Esse protocolo foi utilizado para caracterizar as linhagens produzidas em pisciculturas nos dois sistemas hidrológicos. Em seguida, para avaliação da presença de populações estabelecidas nessas regiões, foram capturadas tilápias em pesca científica e profissional, trimestralmente, entre outono/2010 e outono/2011. Para ambos os sistemas hidrológicos, foram encontradas baixa abundância da Tilápia do Nilo, sazonalidade na coleta de indivíduos e ausência de indivíduos de pequeno porte, de fêmeas desovadas e de uniformidade genética dos estoques ao longo do ano. Além disso, as análises de conteúdo estomacal dos indivíduos demonstraram que ração é um importante item alimentar dos estoques e as análises moleculares indicaram que o perfil genético dos espécimes coletados é semelhante aos encontrados em pisciculturas das regiões. Dessa forma, rejeita-se a hipótese de estabelecimento de populações de *O. niloticus* no reservatório de Itaipu e na bacia do Rio Uruguai, sendo que escapes de pisciculturas determinam a presença de tilápias em tais sistemas hidrológicos. Apesar da alta quantidade de indivíduos provenientes de escapes em mais de 40 anos de cultivo, fatores abióticos (i.e. temperatura da água) e bióticos (i.e. controle por predação) provavelmente impedem o estabelecimento da Tilápia do Nilo na bacia do Rio Uruguai e no reservatório de Itaipu. Por fim, a metodologia desenvolvida nesse estudo demonstrou-se eficaz no teste da existência de populações estabelecidas de espécies exóticas, e pode ser utilizado em estudos de invasões biológicas de diversas espécies de peixes.

Palavras-chaves: Linhagens, populações estabelecidas, piscicultura, invasões biológicas.

ABSTRACT

Tilapia, a group of Cichlidae fishes of Tilapiine tribe, has great importance in aquaculture. It comprises the third aquatic group most produced in world and the second in Brazil, with great emphasis to Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. However, some of its features that make them efficient to aquaculture increase the ability of establishment of populations in a wide variety of environments, causing significant environment impacts. The farming of exotic species (e.g. tilapias) in Brazil is prohibited, as such Itaipu reservoir and Rio Uruguay basin, except if there are populations established in geographical reference unit. Thus, studies are needed to test the establishment of Nile Tilapia in these environments, since sometimes a species is considered established without proper scientific studies. The present study developed a rigorous method based in a multidisciplinary analysis (i.e. data of abundance, structure, reproduction, strain origin and diet) to test the hypothesis on the existence of established populations of Nile Tilapia in Itaipu reservoir and Uruguay River basin. Initially, it was developed a protocol to identify Nile Tilapia strains and their hybrids using microsatélites markers. This protocol was used to characterize the strains produced in fish farms of the two regions. To evaluate the status quo of *O. niloticus*, individuals were sampled from scientific and artisanal fishing in quarterly collections between fall/2010 and fall/2011. Low abundance of tilapia, seasonality in the capture and absence of small individuals, spawning females and genetic uniformity throughout the year were found. In addition, fish mill was an important food item to individuals captured in natural environment and molecular analysis assigned them in pure strains and hybrids produced in fish farms of these regions. Thus, it was not found indicative of established populations of *O. niloticus*, showing that fish farm escaping determines the presence of this species in the Uruguay River basin and the Itaipu Reservoir. Abiotic (i.e. water temperature) and biotic (i.e. predation control) factors are probably elements that prevents the establishment of Nile Tilapia in these water systems. Therefore, the method developed in this study demonstrated to be effective to test de existence of established populations of exotic species and could be used in biological invasions studies of several fish species.

Keywords: Strains, aquaculture, established populations, biological invasions.

INTRODUÇÃO GERAL

Ecossistemas tropicais dulcícolas exibem altos graus de endemismo e de riqueza de espécies (Dudgeon, 2000; Benstead *et al.*, 2003; Strayer *et al.*, 2004; Leveque *et al.*, 2008). Das 13 mil espécies de peixes dulcícolas, mais de 70% vivem nos trópicos (Leveque *et al.*, 2008), valores que crescem anualmente com a descrição de novas espécies (Stiassny, 1999). Entretanto, a taxa de extinção de tais peixes deve ser igualmente alta, apesar de ainda não estimada com acurácia, e similar ao nível calculado de 4% por década na América do Norte (Ricciardi & Rasmussen, 1999).

A introdução de espécies exóticas e extinção de espécies nativas, somada a alterações ambientais que as influenciam, são fatores influentes nessa perda de biodiversidade, aumentando a similaridade genética, taxonômica e funcional da biota entre regiões nas escalas global e regional, em um fenômeno que afeta fatores evolutivos e ecológicos (Olden *et al.*, 2004) conhecido como Homogeneização Biótica (McKinney & Lockwood, 1999). A construção de canais (Por, 1978), comércio internacional (Carlton & Gellar, 1993), recreação (Fuller *et al.*, 1999) e aquicultura (Naylor *et al.*, 2001) são os principais causadores da mistura de grupos alopatricos. Olden & Poff (2003) descrevem 14 cenários possíveis de aumento da similaridade biótica que envolvem extinção e introdução de espécies. Em peixes, o padrão está relacionado ao grau de distúrbio causado por atividades humanas, como assentamentos humanos e utilização de recursos hídricos e da terra (Olden, 2008). A construção de barragens, por exemplo, fragmenta os rios e altera seus processos fluviais e as dinâmicas de vazão, ameaçando sua biodiversidade limnológica (Power *et al.*, 1996).

Nesse contexto, as tilápias, 70 espécies de Cichlidae originárias da África Tropical (Fitzsimmons, 2000), parecem ter preocupante influência. Apenas as tilápias do gênero *Oreochromis* foram introduzidas em mais de 100 países além de sua distribuição natural (Esselman, 2009), colonizando uma ampla variedade de habitats. Arthington & Bluhdorn (1994) e Schmitter-Soto & Caro (1997) sugerem que o mecanismo primário de dispersão desse grupo esteja relacionado à translocação humana de animais, seguida pela fuga de indivíduos de pontos de piscicultura. Devido a características intrínsecas, como ampla tolerância fisiológica a diversas condições ambientais, as espécies de *Oreochromis* possuem grande sucesso de colonização fora de sua faixa de distribuição nativa, habitando rios tropicais e subtropicais, lagos, pântanos e estuários (Phillipart & Ruwet, 1982). Canonico *et al.* (2005) revisou os potenciais efeitos decorrentes da introdução das tilápias sobre a biodiversidade: extinção local de espécies nativas (Twongo, 1995; Goudswaard *et al.*, 2002), predação

de ovos e jovens de outros peixes (Arthington & Bluhdorn, 1994), alteração da dinâmica de nutrientes e eutrofização (Starling *et al.*, 2002), destruição da vegetação e introdução de parasitos (McCrary *et al.*, 2001). Devido à soma de sua grande capacidade de colonização com seu potencial impacto ambiental, tilápias devem possuir alta prioridade no manejo para proteção de ambientes aquáticos (Esselman, 2009).

As características que aumentam a sua capacidade de invasão e as tornam potenciais pragas em diversos ambientes, entretanto, também são responsáveis pela sua elevada importância econômica para aquicultura (Peterson *et al.*, 2005). Seu rápido crescimento, alta prolificidade, grande variedade alimentar, alta resistência a doenças e desova ao longo de todo o ano, além do seu excelente sabor, tornam as tilápias os peixes de cultivo mais importante nas regiões neotropicais (Melo *et al.*, 2006). As tilápias, inclusive, são denominadas “galinhas aquáticas”, em função do seu potencial como uma fonte acessível de alto rendimento proteico e de seu fácil manejo em uma vasta amplitude de ambientes e sistemas (Peterson *et al.*, 2004). Em 2005, o grupo somou 9,5% do total produzido pela aquicultura mundial (FAO, 2007). No ano anterior, o Brasil produziu 69.078 toneladas de tilápia, o equivalente a 25,6% do total produzido pela aquicultura nacional (Ostrensky *et al.*, 2008). Apesar do grande número de espécies, apenas a Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758), a Tilápia de Moçambique, *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852), a Tilápia Azul de Moçambique, *Oreochromis aureus* (Steindachner, 1864), a *Tilapia rendalli* (Boulenger, 1897) e seus híbridos, genericamente chamadas de tilápias vermelhas (Lovshin, 1998), são cultivados. Dessas, a primeira possui grande destaque, compreendendo 83% da produção mundial de tilápias (FAO, 2002), e tem sido a responsável pela grande expansão do grupo nas últimas décadas (Bentsen *et al.*, 1998, Gupta & Acosta, 2004), sendo considerada o carro chefe da piscicultura nacional.

Em algumas regiões do Brasil, contudo, o cultivo de tilápias é proibido, como no reservatório de Itaipu e na Bacia do Rio Uruguai. De acordo com a legislação vigente, o IBAMA (Portaria 145-N de 15 de outubro de 1998) estabelece normas rígidas para a introdução, reintrodução e transferência de peixes, crustáceos, moluscos e macrófitas aquáticas para fins de aquicultura em território nacional. A portaria citada define como "Introdução" a "importação de exemplares vivos de espécies exóticas (e/ou seus híbridos) não encontradas nas águas da Unidade Geográfica de Referência (UGR) onde será introduzida". Entretanto, como no anexo VI da mesma portaria define que as tilápias, tanto *O. niloticus*, quanto *O. aureus*, *O. hornorum*, *O. mossambicus*, *T. rendalli* e seus híbridos, como a linhagem Saint Peter, são "espécies e híbridos de animais

aquáticos alóctones nativos e exóticos detectadas na área de abrangência da bacia do Alto Paraná", não é tal portaria que impede o cultivo de tilápias no reservatório de Itaipu. O que justifica tal proibição é o "Protocolo Adicional ao Acordo para Conservação da Fauna Aquática nos Cursos dos Rios Limítrofes entre o Governo da República Federativa do Brasil e o Governo da República do Paraguai", celebrado em 19 de maio de 1999 e promulgado em 10 de abril de 2002, que, em seu artigo XVII, determina: "Nas águas dos rios limítrofes entre os territórios das partes, é vedada a introdução, reintrodução e o cultivo de espécies que não forem de origem e ocorrência natural das Bacias Hidrográficas do Rio Paraguai e do Rio Paraná".

Em relação à bacia do Rio Uruguai, as Portarias 145-N do IBAMA e nº 63/2003 da Secretaria Estadual do Meio Ambiente do Rio Grande do Sul (SEMA), liberavam a criação da tilápia *O. niloticus* em Santa Catarina e no Rio Grande do Sul. No entanto, em liminar solicitada pelo Ministério Público Federal, foi julgado procedente o pedido de suspensão destas portarias "diante da inexistência de estudos atuais aptos a demonstrar a presença de população estabelecida". Adicionalmente, julgou improcedente o pedido de proibição definitiva da introdução, reintrodução e criação da Tilápia do Nilo, "uma vez que inviável, no presente feito, descartar completamente, em tese, a medida que, no futuro, poderá vir a ser implementada mediante prévios estudos adequados que possam respaldá-la, sem ofensa à ordem jurídica".

Em diversas oportunidades, contudo, legisladores consideram estabelecidas espécies apenas detectadas no sistema hidrológico (Agostinho *et al.*, 2007). Nesses casos, as decisões ambientais acabam sendo tomadas com base em conhecimentos anedóticos, sem a utilização de estudos científicos que embasem tais definições e que indiquem as melhores estratégias para mitigar os prejuízos ambientais decorrentes de diversos fatores (*i.e.* piscicultura).

Espécies estabelecidas, conforme Williamson & Fitter (1996) e Agostinho *et al.* (2007), são espécies com populações autossustentáveis, capazes de completar o seu ciclo de vida (reprodução e recrutamento) no ambiente natural. Dessa forma, a simples captura de indivíduos no ambiente não permite identificar se esses animais representam membros de uma população localmente estabelecida ou se são provenientes de fugas esporádicas de estruturas de cultivo localizadas nas próprias bacias hidrográficas. Particularmente para espécies não migradoras, até mesmo a presença de fêmeas desovadas, ninhos ou alevinos no ambiente não atestam sucesso na sobrevivência, desenvolvimento e reprodução dos indivíduos, sendo tais evidências insuficientes para corroborar o estabelecimento da espécie no sistema hidrológico (Agostinho *et al.*, 2007). Portanto, o desenvolvimento de um protocolo multidisciplinar

baseado em um teste de hipótese é fundamental para estudos que testem o estabelecimento de populações de organismos invasores em diversos ambientes, possibilitando o desenvolvimento de estratégias de manejo adequadas e eficazes para esses grupos.

Em virtude da complexidade dos possíveis cenários esperados, nesse trabalho foi desenvolvido um rigoroso protocolo que testa o estabelecimento de populações de organismos invasores, sendo esse aplicado para os estoques da Tilápia do Nilo do reservatório de Itaipu e da bacia do Rio Uruguai, regiões nas quais o cultivo de tilápia é proibido, mas com registros de capturas em publicações científicas (e.g. Makrakis *et al.*, 2007; Kaufmann & Pinheiro, 2009) e pela pesca profissional. A análise multidisciplinar contemplou uma série de abordagens (*i.e.* abundância, reprodução, estrutura de estoque, identificação de linhagens e dieta) que envolveu estudos tradicionais e outros assistidos por análises genéticas e moleculares.

O presente estudo, portanto, tem por objetivo desenvolver um protocolo multidisciplinar de avaliação da existência de populações estabelecidas de espécies exóticas de peixes e aplicá-la através da avaliação o *status quo* da Tilápia do Nilo, *O. niloticus*, no reservatório de Itaipu e na bacia do Rio Uruguai.

A dissertação está dividida em dois capítulos. O primeiro apresenta a descrição de um protocolo para identificação molecular de linhagens da Tilápia do Nilo e detecção de seus híbridos através de marcadores moleculares microssatélites. No segundo capítulo, esses marcadores são incorporados ao protocolo proposto para testar a hipótese de estabelecimento de populações de *O. niloticus* na bacia do Rio Uruguai e no reservatório de Itaipu.

REFERÊNCIAS

Agostinho A.A., Gomes L.C. Pelicice F.M. (2007). *Ecologia e manejo de recursos pesqueiros em reservatórios do Brasil*. EDUEM, Maringa. 501p.

Arthington A.H. & Bluhdorn D.R. (1994) Distribution, genetics, ecology and status of the introduced cichlid, *Oreochromis mossambicus*, in Australia. *Internationale Vereinigung fur theoretische und angewandte Limnologie* **24**, 53-62.

Benstead J.P., Rham P.H., Gattolliat J.L., Gibon F.M., Loiseau P.V., Sartori M., Sparks J.S. & Stiassny M.L.J. (2003) Conserving Madagascar's freshwater biodiversity. *Bioscience* **53**, 1101-1111.

Bentsen H.B., Eknath A.E., Palada-deVera M.S., Danting J.C., Bolivar H.L., Reyes R.A., Dionisio E.E., Longalong F.M., Circa A.V., Tayamen M.M. & Gjerde B. (1998) Genetic improvement of farmed tilapias: growth performance in a complete diallel cross experiment with eight strains of *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* **160**,145-173.

Canonico G.C., Arthington A., McCrary J.K. & Thieme M.L. (2005) The effects of introduced tilapias on native biodiversity. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* **15**, 463-483.

Carlton J.T. & Geller J. (1993) Ecological roulette: the global transport and invasion of nonindigenous marine organisms. *Science* **261**, 78–82.

Dudgeon D. (2000) The ecology of tropical Asian rivers and streams in relation to biodiversity conservation. *Annual Review of Ecology & Systematics* **31**, 239-263.

Esselman P.C. (2009) Fish communities and conservation of aquatic landscapes in northeastern Mesoamerica. Tese - The University of Michigan, 120p.

FAO (2002). Fishery Statistics. *Aquaculture production* **90(2)**.

FAO (2007) Global synthesis of feeds and nutrients for sustainable aquaculture development, por A.G.J. Tacon y M.R. Hasan. In Hasan M.R., Hecht T., De Silva S.S. & Tacon A.G.J. *Study and analysis of feeds and fertilizers for sustainable aquaculture development*. 3-17.

Fitzsimmons K. (2000) Tilapia: the most important aquaculture species of the 21 century. In: Fitzsimmons K. & Carvalho Filho J. *Proceedings from the fifth international symposium on tilapia aquaculture*. Panorama da aquacultura Magazine, Rio de Janeiro. 3-8.

Fuller P.L., Nico G. & Williams J.D. (1999) *Nonindigenous fishes introduced into inland waters of the United States*. American Fisheries Society, Bethesda. 622.

Gupta M.V. & Acosta B.O. (2004) From drawing board to dining table: the success story of the GIFT project. *NAGA* **27**, 4-14.

Goudswaard P.C., Witte F. & Katunzi E.F.B. (2002) The tilapiine fish stock of Lake Victoria before and after the Nile perch upsurge. *Journal of Fish Biology* **60**, 838- 856.

- Kaufmann V. & Pinheiro A. (2009) Relationship between ichthyofaunal diversity and hydrodynamic factors in a stream of Uruguay River basin. *Biota Neotropica* **9**, 47-53.
- Leveque C., Oberdorff T., Paugy D., Stiasny M.L.J. & Tedesco P.A. (2008) Global diversity of fish (Pisces) in freshwater. *Hydrobiologia* **595**, 545-567.
- Lovshin L.L. (1998) Red tilapia or Nile tilapia: Which is the best culture fish? In: *Simpósio sobre manejo e nutrição de peixes*, 2, Piracicaba, SP. CBNA. Piracicaba. 179-198.
- Makrakis S., Gomes L.C., Makrakis M.C., Fernandez D.R. & Pavanelli C.S. (2007) The Canal da Piracema at Itaipu Dam as a fishpass system. *Neotropical Ichthyology* **5**, 185-195.
- McCrary J.K., Vandenberghe E.P., McKaye K.R. & Lopez Perez L.J. (2001) Tilapia cultivation: a threat to native fish species in Nicaragua. *Encuentro* **58**, 9-19.
- McKinney M.L. & Lockwood J.L. (1999). Biotic homogenization: a few winners replacing many losers in the next mass extinction. *Trends in Ecology & Evolution* **14**, 450–453.
- Melo D.C., Oliveira D.A.A., Ribeiro L.P., Teixeira C.S., Souza A.B., Coelho E.G.A, Crepaldi D.V. & Teixeira E.A. (2006) Caracterização genética de seis plantéis comerciais de tilápia (*Oreochromis*) utilizando marcadores microssatélites. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* **58**, 87-93.
- Naylor R.L., Williams S.L. & Strong D.R. (2001) Aquaculture: a gateway for exotic species. *Science* **294**, 1655–1656.
- Olden J. (2008) Biotic Homogenization. In: *Encyclopedia of Life Sciences (ELS)*. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester.
- Olden J.D. & Poff N.L. (2003). Toward a mechanistic understanding and prediction of biotic homogenization. *The American Naturalist* **162**, 442–460.
- Olden J.D., Poff N.L., Douglas M.R., Douglas M.E. & Fausch, K.D. (2004) Ecological and evolutionary consequences of biotic homogenization. *Trends in Ecology & Evolution* **19**, 18–24.
- Ostrensky A., Borghetti J.R. & Soto D. (2008) *Aqüicultura no Brasil: o desafio é crescer*. Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), Brasília. 276 p.
- Peterson M.S., Slack W.T., Brown-Peterson N.J. & McDonald J.L. (2004) Reproduction in nonnative environments: establishment of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, in coastal Mississippi watersheds. *Copeia* **4**, 842–849.
- Peterson M.S., Slack W.T. & Woodley C.M. (2005) The occurrence of non-indigenous Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) in coastal Mississippi, USA: ties to aquaculture and thermal effluent. *Wetlands* **25**, 112–121.

- Phillipart J.C. & Ruwet J.C.. (1982) Ecology and distribution of tilapias. In Pullin R. & Lowe-McConnell R.H. *The Biology and Culture of Tilapias*. ICLARM, Manila, Phillipines. 15-59.
- Por F.D. (1978) *Lessepsian migration - the influx of Red Sea biota into the Mediterranean Sea by way of the Suez Canal*. Springer, Berlin. 228p.
- Power M.E., Dietrich W.E. & Finlay J.C. (1996) Dams and downstream aquatic biodiversity: Potential food web consequences of hydrologic and geomorphic change. *Environmental Management* **20**, 887–895
- Ricciardi A. & Rasmussen J.B. (1999) Extinction rates of North American freshwater fauna. *Conservation Biology* **13**, 1220-1222.
- Schmitter-Soto J.J. & Caro C.I. (1997) Distribution of tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Perciformes : Cichlidae), and water body characteristics in Quintana Roo, Mexico. *Revista de Biología Tropical* **45**, 1257-1261.
- Starling F., Lazzaro X., Cavalcanti C. & Moreira R. (2002). Contribution of omnivorous tilapia to eutrophication of a shallow tropical reservoir: evidence from a fish kill. *Freshwater Biology* **47**, 2443-2452.
- Stiassny M.L.J. (1999) The medium is the message: freshwater biodiversity in peril. In Cracraft J. & Grifo F.T. *The Living Planet in Crisis: Biodiversity Science and Policy*. Columbia University Press, New York, 53-71.
- Strayer D.L., Downing J.A., Haag W.R., King T.L., Layzer J.B., Newton T.J. & Nichols S.J. (2004) Changing perspectives on pearly mussels, North America's most imperiled animals. *Bioscience* **54**, 429-439.
- Twongo T. (1995) Impact of fish species introductions on the tilapias of Lakes Victoria and Kyoga. In Hart, T.J. *The Impact of Species Changes in African Great Lakes*. Chapman & Hall, London. 45-57
- Williamson M.H. & Fitter A. (1996) The characters of successful invaders. *Biological Conservation* **78**, 163-170.

CAPÍTULO I

Identificação de linhagens da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) e de seus híbridos usando marcadores moleculares microssatélites

Resumo

A Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, é um dos recursos mais explorados na aquicultura mundial. Seu crescimento rápido, alta tolerância a diversos fatores ambientais e sua grande aceitação pelo mercado consumidor são características que explicam sua ampla utilização como recurso alimentar. Por esse motivo, diversos programas de melhoramento genético têm sido desenvolvidos para *O. niloticus* com o objetivo de melhorar a sua produtividade. A identificação das linhagens desenvolvidas e de seus híbridos utilizando dados apenas morfológicos, contudo, é bastante ineficaz. Nesse estudo, portanto, é descrito uma metodologia de identificação de linhagens da tilápia *O. niloticus* e de seus híbridos através marcadores microssatélites. Tal metodologia pode ser utilizada em estudos nas áreas de aquicultura e meio ambiente. O método possibilita a detecção de reprodução em tanques de cultivo e no ambiente natural, a identificação das linhagens dos alevinos comercializados e pode fundamentar novos programas de melhoramento genético. Entretanto, essa metodologia foi especialmente desenvolvida para compor um protocolo integrado de avaliação do *status quo* de tilápias do Nilo coletadas em sistemas aquáticos naturais. O protocolo foi ainda testado em indivíduos cultivados em propriedades ao redor do reservatório de Itaipu e na bacia do Rio Uruguai, onde foi encontrado o cultivo de diversas linhagens puras dentro de uma mesma piscicultura e, inclusive, a produção de híbridos entre linhagens.

Palavras-chaves: Piscicultura, reservatório de Itaipu, bacia do Rio Uruguai, *assignment test*.

INTRODUÇÃO

O veloz crescimento populacional humano tem trazido a necessidade de aumento na produção de alimentos provenientes da agricultura, pecuária e aquicultura. Todavia, diversos problemas ambientais estão relacionados à expansão de áreas para essas culturas, fato que torna a melhora na produtividade o principal mecanismo para o incremento na produção de alimentos, com grande destaque para programas de melhoramento genético.

Tilápias, um grupo de 70 espécies de Cichlidae (Perciformes) originários da África, têm particular importância nesse contexto. Algumas de suas principais características, tais como crescimento rápido, alta tolerância a fatores ambientais (e.g. qualidade da água, temperatura e salinidade), alimentação onívora e marcado acesso e aceitabilidade do mercado consumidor (Grupta & Acosta, 2004; Khaw *et al.*, 2008; McKinna *et al.*, 2010), justificam seu difundido uso na aquicultura. Em 2005, o grupo foi o terceiro organismo mais produzido na aquicultura mundial, compondo 9,5% do total produzido (FAO, 2007). Compreendendo 83% da produção de tilápias no mundo (FAO, 2002), a Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) foi responsável por sua grande expansão nas últimas décadas (Bentsen *et al.*, 1998; Grupta & Acosta, 2004). Seu grande tamanho em sua primeira reprodução, alta taxa de crescimento e hábito alimentar versátil, com posição basal na cadeia alimentar (Costa-Pierce, 2003), quando comparado a outras espécies de tilápias, justificam sua predominância na produção de tilápias (Eknath *et al.*, 1993; Gupta & Acosta, 2004; Khaw *et al.*, 2008).

Devido a seu grande potencial para aquicultura, a Tilápia do Nilo tem sofrido diversos programas de melhoramento genético, os quais têm gerado diferentes linhagens. Muitas dessas têm sido introduzidas no Brasil desde 1971, dentre as quais se destacam a segunda geração de tilápias vermelhas nas décadas de 80 e 90; a linhagem Tailandesa ou Chitralada pela Associação dos Produtores de Alevinos do Paraná (ALEVINOPAR) em 1996, proveniente do Asian Institute of Technology (AIT); a GenoMar Supreme Tilapia (GST, Zimmermann & Natividad, 2004) importada pela Aquabel-GenoMar em 2002; e GIFT (Genetically Improved Farmed Tilapia, Eknath *et al.*, 1993), adquirida pela Universidade Estadual de Maringá em 2005.

Diversas características têm sido usadas para identificar espécies, subespécies e linhagens de tilápias, como reprodução, alimentação, morfologia e biogeografia, mas a considerável variação intraespecífica, pequena diferenciação inter-específica e a presença de diversos níveis de híbridos as tornam pouco úteis (Bardakci & Skibinski, 1994; Melo *et al.*, 2008). Entretanto, tal identificação possui grande importância na aquicultura e na conservação da biodiversidade, uma vez que eventos de hibridização

podem causar deterioração genética e a diminuição da produtividade das linhagens, além de extinção de populações locais de espécies e subespécies pela transferência de indivíduos entre ambientes naturais e escapes de espécimes de pisciculturas (Eknath & Hulata, 2009).

Dificuldades taxonômicas como essas podem ser resolvidas com auxílio de marcadores moleculares, ferramentas úteis e confiáveis na identificação de diversos táxons, independente do estágio de vida do animal, podendo ser usados, inclusive, em pequenos pedaços de tecido. Identificação genética das linhagens vem sendo realizada utilizando os marcadores RAPD (Bardakci & Skibinski, 1994) e sequência de DNA da região 5S (Alves-Costa *et al.*, 2006). Entretanto, a dificuldade de replicabilidade do primeiro (Freeland, 2005) e a presença de uma incontrolada introgressão de genes em *O. niloticus* (Macaranas *et al.*, 1986) tornam tais ferramentas pouco confiáveis quando comparadas a outras técnicas moleculares modernas. A rápida evolução dos marcadores microssatélites, especialmente, revela altos níveis de diversidade alélica, sendo uma ferramenta útil para analisar eventos recentes e contemporâneos (Ellegren, 2000), e pode detectar diferenças entre espécies proximalmente relacionadas (Romana-Eguia *et al.*, 2004). Um método particular de identificação de indivíduos desenvolvido por Pritchard *et al.* (2000) usa cadeias de Markov - Monte Carlo para identificar a espécie, subespécie, linhagem ou população de um indivíduo de origem desconhecida a partir de um banco de dados de indivíduos de origem conhecida. Essa abordagem pode ser aplicada na determinação das linhagens de tilápias, uma vez que estudos pretéritos demonstram diferenciação genética entre elas (e.g. Rutten *et al.*, 2004; Hassanien & Gilbey, 2005; Melo *et al.*, 2006; Moreira *et al.*, 2007). Em tilápias, o método descrito por Pritchard *et al.* (2010) apenas foi utilizado para diferenciar espécies de *Oreochromis* (D'Amato *et al.*, 2007, McKinna *et al.*, 2010)

Dessa forma, o presente estudo apresenta uma metodologia na resolução dos problemas de identificação de *O. niloticus*. Usando um método de alocação de indivíduos baseado em Inferência Bayesiana utilizando dados de microssatélites, foi desenvolvido um protocolo que permite a identificação de linhagens de *O. niloticus* cultivadas e que pode ser utilizado em diferentes abordagens para o gênero. Tal protocolo foi, ainda, testado na identificação de linhagens da Tilápia do Nilo cultivadas em pisciculturas na bacia do Rio do Uruguai e no reservatório de Itaipu, informações essas que podem ser usadas na avaliação da procedência de indivíduos por ventura coletados nesses ambientes e em estudos de caracterização das linhagens produzidas em tais regiões.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para o desenvolvimento de um banco de dados genéticos, 99 indivíduos de 5 linhagens puras de *O. niloticus* foram coletados: 20 espécimes das linhagens Saint Peter, Chitralada, Nilótica e Genomar Supreme tilapia (GST) e 19 indivíduos da linhagem GIFT. Para testar a eficiência do método, 4 indivíduos de 8 e 10 pisciculturas localizadas ao redor do reservatório de Itaipu e na bacia do Rio Uruguai foram coletados, respectivamente (Tabela 1). Pedacos de nadadeiras dos espécimes foram removidos, fixados em solução salina hipersaturada de DMSO-EDTA (Seutin *et al.*, 1991) e armazenados a -20° C.

Tabela 1. Locais e número de pisciculturas produtoras (*N*) da Tilápia do Nilo, *O. niloticus*, amostradas em regiões do entorno do reservatório Itaipu e na bacia do Rio Uruguai.

Região	Local	Município	N
Bacia do Rio Uruguai	Reservatório de Campos Novos	Campos Novos - SC	1
	Reservatório de Itá	Alto Bela Vista – SC	2
	Reservatório de Passo Fundo	Campinas do Sul- RS	3
	Rio Ijuí	Ijuí – RS	1
	Tributário do Rio Ijuí	Entre Ijuís – RS	1
	Tributário do Rio Uruguai	Frederico Westphalen – RS	2
Reservatório de Itaipu	Zona Lacustre	Santa Terezinha de Itaipu – PR	2
	Zona Lacustre	Itaipulândia – PR	2
	Zona de Transição	Pato Bragado – PR	2
	Zona Fluvial	Guaira - PR	2

O DNA genômico de cada espécime foi extraído através do kit IPrep™ Chargeswitch® em robô iPrep™ (Invitrogen™). A concentração e pureza dos extratos foram medidos utilizando NanoDrop™ 1000 (Thermo Fisher Scientific). Nove *loci* de marcadores microssatélites, de diferentes grupos de ligação descritos por Kocker *et al.* (1997) e Lee *et al.* (2005) (Figura 1), foram utilizados na genotipagem dos indivíduos: UNH104 (GenBank G12257.1), UNH118 (GenBank G12271.1), UNH146 (GenBank G12298.1), UNH160 (GenBank G12312.1), UNH169 (GenBank G12321.1), UNH178 (GenBank G12330.1), UNH208 (GenBank G12359.1), UNH211 (GenBank G12362.1) e UNH222 (GenBank G12373.1). Reações de PCR de 10 µl foram realizadas com respectivas concentrações finais: 0,2 µM do *primer* iniciador senso (fluorescente), 0,2 µM do *primer* iniciador anti-senso, 0,2 mM dNTP, 0,03 U Taq Platinum, 1x Buffer, 1,5 mM MgCl e 0,5 ng/µl de DNA template. O programa de PCR compôs 3 min de

RESULTADOS

Todos os nove *loci* de marcadores microssatélites usados demonstraram alto número de alelos, variando de 7 (UNH146) a 24 (UNH169), e alta heterozigosidade (Tabela 2).

Tabela 2. Número de alelos (*NA*), heterosigiosidade observada (*Ho*) e esperada (*He*) de 9 *loci* de 5 linhagens de *Oreochromis niloticus*.

<i>Loc</i>	<i>NA</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>
UNH104	18	0,599	0,830
UNH118	18	0,694	0,868
UNH146	7	0,510	0,673
UNH160	14	0,573	0,744
UNH169	24	0,707	0,866
UNH178	16	0,758	0,822
UNH208	21	0,815	0,870
UNH211	20	0,783	0,879
UNH222	17	0,502	0,709

Significativa diferenciação genética entre todas as linhagens foi encontrada ($F_{ST} = 0,214$, $p = 0,000$), assim como entre pares de linhagens, com valores de F_{ST} pareado variando de 0,056 a 0,597 ($p < 0,005$) (Tabela 3). Significativo desequilíbrio de ligação foi encontrado em todas as comparações entre *loci* (Tabela 4). Uma vez que os *loci* foram escolhidos de diferentes grupos de ligação, essa análise evidencia a diferenciação genética entre as linhagens em função do melhoramento genético a que foram submetidas. Tais resultados são importantes, uma vez que o método descrito por Pritchard *et al.* (2000) agrupa clusters de acordo com equilíbrio de Hardy-Weinberg e equilíbrio de fase gamética (Hansen *et al.*, 2001).

Tabela 3. Valores de F_{ST} (acima da diagonal) e seus respectivos p (abaixo da diagonal) entre 5 linhagens da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, significativos após correção de Bonferroni ($p < 0,005$).

Linhagem	Nilótica	Saint Peter	GIFT	Chitralada	GST
Nilótica		0,129	0,496	0,561	0,597
Saint Peter	0,001		0,248	0,316	0,354
GIFT	0,000	0,000		0,095	0,063
Chitralada	0,000	0,000	0,001		0,056
GST	0,000	0,000	0,002	0,004	

Tabela 4. Valores de p (abaixo da diagonal) e suas respectivas significâncias ($p < 0,05$) no teste de desequilíbrio de ligação entre 9 *loci* de 5 linhagens de *Oreochromis niloticus*.

<i>Locí</i>	UNH104	UNH118	UNH146	UNH160	UNH169	UNH178	UNH208	UNH211	UNH222
UNH104		+	+	+	+	+	+	+	+
UNH118	0,0000		+	+	+	+	+	+	+
UNH146	0,0000	0,0000		+	+	+	+	+	+
UNH160	0,0000	0,0000	0,0000		+	+	+	+	+
UNH169	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		+	+	+	+
UNH178	0,0000	0,0000	0,0000	0,0001	0,0000		+	+	+
UNH208	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		+	+
UNH211	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		+
UNH222	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	

O número de clusters (K) que melhor diferenciou as linhagens foi 4. A análise de agrupamento de indivíduos conseguiu diferenciar todas as linhagens, exceto GST e GIFT, que foram alocadas em um cluster denominado GIFT-GST (Tabela 5) (Figura 2). Os demais clusters foram nomeados de acordo com a maior proporção de membros de cada linhagem. Usando apenas indivíduos de linhagens puras, foi corretamente identificado 90,91% dos indivíduos: 100% dos indivíduos das linhagens Nilótica, Saint Peter e GIFT, 90% da linhagens Chitralada e 65% da linhagem GST. Incrementando o número de indivíduos com os espécimes de linhagens desconhecidas, provenientes das pisciculturas na bacia do Rio Uruguai e no reservatório de Itaipu, a porcentagem de identificação correta aumentou para 95,96%, com a correção da identificação da linhagem GST subindo para 92%.

Tabela 5. Proporção de alocação do genótipo de todos os membros de cada linhagem de *O. niloticus* (linhas) em cada um dos 4 grupos (colunas), usando apenas indivíduos de linhagens puras (antes da barra) e incrementada com os indivíduos de linhagem desconhecida provenientes pisciculturas (depois da barra). Em negrito, o cluster com a maior proporção de membros da linhagem.

Linhagem/Cluster	Nilótica	Saint Peter	GIFT-GST	Chitralada
Nilótica	0.999 / 0.999	0.001 / 0.001	0.000 / 0.000	0.000 / 0.000
Saint Peter	0.004 / 0.005	0.996 / 0.995	0.000 / 0.000	0.000 / 0.000
GIFT	0.000 / 0.000	0.000 / 0.000	1.000 / 1.000	0.000 / 0.000
Chitralada	0.000 / 0.000	0.000 / 0.000	0.059 / 0.107	0.941 / 0.893
GST	0.000 / 0.000	0.000 / 0.000	0.651 / 0.819	0.349 / 0.181

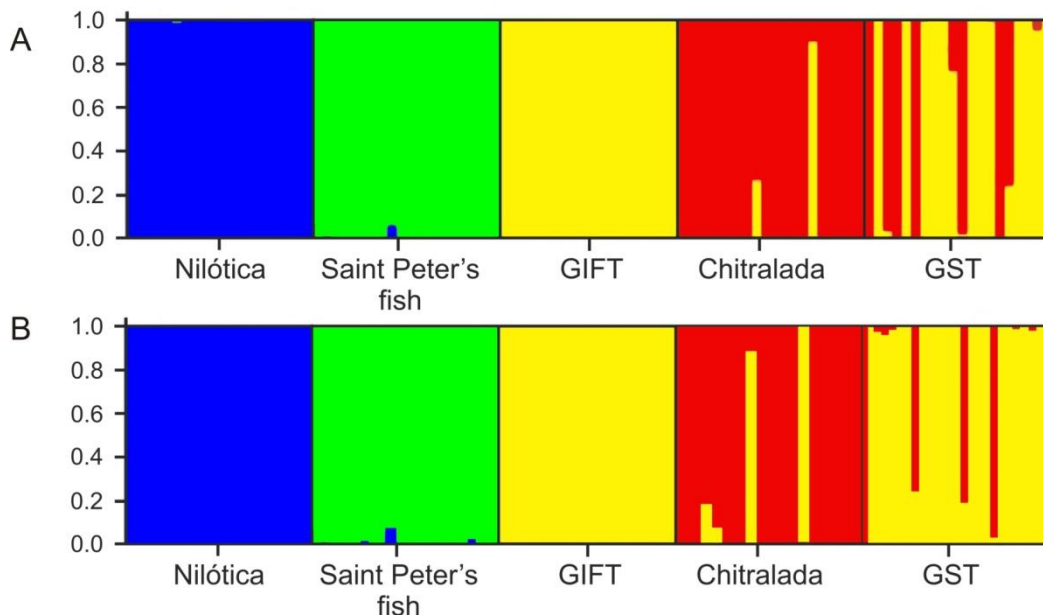


Figura 2. Agrupamento dos indivíduos de linhagens puras da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, sem (A) e com (B) indivíduos de linhagem desconhecida provenientes de pisciculturas, utilizando 9 *loci* de microssatélites e modelo sem mistura (K=4). Cada barra representa a probabilidade de um indivíduo pertencer a um determinado cluster: Azul: cluster Nilótica; Verde: cluster Saint Peter; Amarelo: cluster GIFT-GST; Vermelho: cluster Chitralada.

A identificação molecular dos indivíduos de linhagem desconhecida provenientes da bacia do Rio Uruguai demonstrou que em 9 pisciculturas são produzidos indivíduos puros de uma única linhagem, enquanto uma piscicultura em Entre-Ijuís produz híbridos entre linhagens (Figura 3). Todas as linhagens puras amostradas são produzidas na região, com prevalência da linhagem Chitralada, em 50% das pisciculturas. É importante frisar, ainda, que os indivíduos das linhagens Chitralada e GIFT coletados em Frederico Westphalen (Figura 2H-J) foram adquiridos pelo produtor a partir da mesma fonte dos nossos indivíduos puros, e a análise os identificou corretamente. Nas propriedades ao redor do reservatório de Itaipu, apenas em uma piscicultura houve a produção de apenas uma linhagem, com 87,5% delas produzindo mais de uma linhagem, e contendo, inclusive, híbridos entre linhagens (Figura 4).

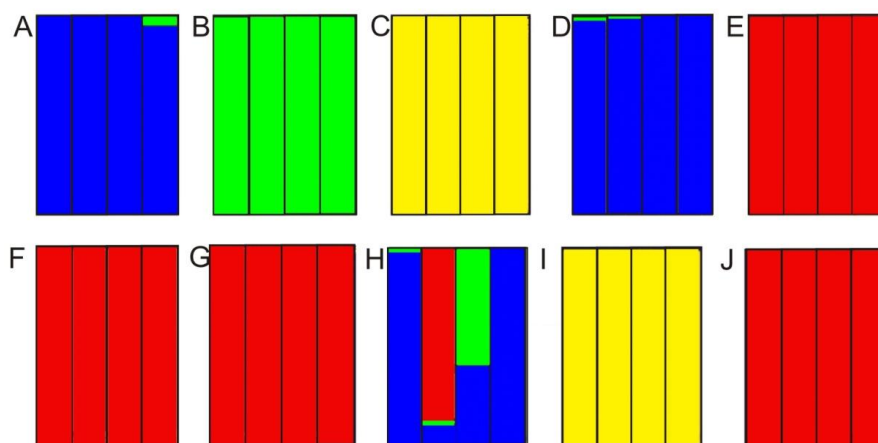


Figura 3. Identificação da linhagem de indivíduos da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, provenientes de 10 pisciculturas na bacia do Rio Uruguai. A: reservatório de Campos Novos; B e C: reservatório de Itá; D ao F: reservatório de Passo Fundo; G: Rio Ijuí; H: Entre-Ijuís; I e J: Frederico Westphalen. Cada barra representa a probabilidade de um indivíduo pertencer a um determinado cluster: Azul: cluster Nilótica; Verde: cluster Saint Peter; Amarelo: cluster GIFT-GST; Vermelho: cluster Chitralada.

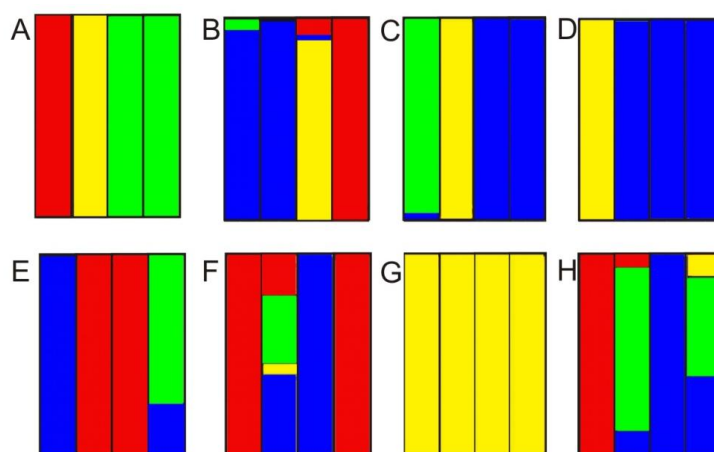


Figura 4. Identificação da linhagem de indivíduos da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, provenientes de 8 pisciculturas em propriedades ao redor do reservatório de Itaipu. A-B: em Santa Terezinha de Itaipu; C-D: em Itaipulândia; E-F: em Pato Bragado; G-H: em Guaíra. Cada barra representa a probabilidade de um indivíduo pertencer a um determinado cluster: Azul: cluster Nilótica; Verde: cluster Saint Peter; Amarelo: cluster GIFT-GST; Vermelho: cluster Chitralada.

DISCUSSÃO

A diferenciação genética entre linhagens de *O. niloticus* encontrada em trabalhos anteriores (e.g. Rutten *et al.*, 2004; Hassanien & Gilbert, 2006; Melo *et al.*, 2006; Moreira *et al.*, 2007) foi a base para o desenvolvimento dessa abordagem que possibilita a identificação de linhagens de tilápias utilizando 9 *loci* de marcadores microsatélites. Foi possível identificar geneticamente indivíduos das linhagens Nilótica, Saint Peter, Chitralada e GIFT-GST. A incapacidade da distinção entre indivíduos das linhagens GIFT e GST, decorre provavelmente do fato de que ambas

são provenientes da mesma plataforma genética. A empresa GenoMar Company comprou todos os direitos de comercialização a partir da 10ª geração do projeto Genetic Improved Farm Tilapia (GIFT) em 1999, a partir da qual desenvolveu sua própria linhagem, a GenoMar Supreme Tilapia (GST) (Gupta & Acosta, 2004). Dessa forma, o programa de melhoramento genético de GST não gerou alterações genéticas detectáveis nessa metodologia. A utilização de animais de linhagem desconhecida, contudo, aumentou a correta identificação de indivíduos GST no cluster GIFT-GST. Dessa forma, é provável que a utilização de um maior número de indivíduos ou de *loci* aumente a eficiência da definição genética dos indivíduos e, até mesmo, possibilite a diferenciação entre as linhagens GIFT e GST. Apesar disso, o método demonstrou alta eficiência nas análises utilizando tanto apenas indivíduos de linhagens puras, quanto com indivíduos de origem desconhecida (*i.e.* 90,91% e 95,96%, respectivamente). Tal resultado é de fundamental importância em diversos estudos na aquicultura, taxonomia e conservação de *O. niloticus*.

Pressões econômicas têm forçado os piscicultores a utilizar eficientemente os recursos disponíveis (Khaw *et al.*, 2008). A reprodução indesejada de tilápias é um dos principais fatores limitantes na produtividade dos cultivos por provocarem superpovoamento nos tanques e redução na taxa de crescimento (Mair, 2002). Soma-se a isso, a criação de híbridos em pisciculturas reduz o crescimento e o potencial de sobrevivência do estoque (McKinna *et al.*, 2010), prejudicando, portanto, diversos aspectos zootécnicos selecionados nos programas de melhoramento genético e, conseqüentemente, a rentabilidade do cultivo. Dessa forma, eventos de reprodução e hibridização entre linhagens não são recomendados, sendo sua detecção importante para definição de estratégias que minimizem tais fenômenos. No presente estudo, a presença de híbridos entre linhagens foi encontrada em pisciculturas tanto no reservatório de Itaipu, quanto na bacia do Rio Uruguai, apesar da baixa porcentagem de propriedades amostradas. Segundo o IAP-PR (Freire Maranhão, comunicação pessoal), há mais de 300 licenças ambientais emitidas para pisciculturas ao redor do reservatório de Itaipu. Considerando ainda a falta de profissionalização do cultivo de tilápia bastante disseminado em pisciculturas da região, onde não é realizado um manejo adequado dos estoques (*e.g.* Orsi & Agostinho, 1999; Castellani & Barrella, 2005), a reprodução de estoques nos tanques e o conseqüente cultivo de híbridos entre linhagens é, provavelmente, mais frequente do que observado nesse estudo. Fernandes *et al.* (2003), avaliando 3 pesque-pagues nas imediações de Maringá, por exemplo, descreve reprodução de tilápias nos tanques de todas as propriedades.

Na bacia do Rio Uruguai, segundo a superintendência do Ministério da Pesca e Aquicultura do Rio Grande do Sul, dados sobre quantidades de pisciculturas não existem, uma vez que o cultivo de tilápias é proibido na região. Contudo, o caráter familiar e de complementaridade de renda está bastante disseminado em propriedades nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Bristot, 2008; Baldisserotto, 2009; Cardoso *et al.*, 2009; Schirmer & Cardoso, 2011), tornando o cultivo de híbridos entre linhagens, da mesma forma, bastante provável. A ausência de disponibilidade de assistência técnica especializada, somada à falta de mão de obra qualificada e de infraestrutura adequada, aumenta a probabilidade de reprodução dentro das pisciculturas (Fernandes *et al.*, 2003), do mesmo modo que as torna mais susceptíveis a escapes de indivíduos (Orsi & Agostinho, 1999).

Apesar de nenhuma vantagem ser observada e deste fenômeno ser indesejável em pisciculturas, cruzamentos entre variedades de Tilápia do Nilo, contudo, devem prevenir a depressão de endocruzamento dentro das linhagens no futuro. A maioria dos programas de melhoramento genético da espécie deriva de uma pequena população de fundadores, aos quais são impostos os efeitos de gargalo populacional e deriva genética. Tais problemas são agravados pela hibridização e incontrolada introgressão de genes de outras espécies e linhagens que ocorrem nos estoques de *O. niloticus* devido ao seu manejo incorreto. Esses fatores tendem a reduzir a produtividade dos estoques em poucas gerações. Dessa forma, cooperação inter-regional para transferência de germoplasma é essencial como fonte de recursos genéticos para os estoques (Eknath & Hulata, 2009). Para a detecção de introgressão entre linhagens e escolha de plantéis geneticamente diferentes para o manejo genético dos estoques no futuro, a ferramenta desenvolvida nesse trabalho pode ser utilizada.

Assim como a possibilidade de avaliar a reprodução de tilápia em pisciculturas através da detecção de híbridos, é possível, ainda, avaliar tal fenômeno em ambiente natural. A coleta de indivíduos no ambiente com perfis genéticos (*e.g.* híbridos entre linhagens) diferentes daqueles cultivados na região, em conjunção com outras evidências, indica o estabelecimento de populações no ambiente natural. Além disso, é possível avaliar hibridização de tilápias provenientes de pisciculturas com ciclídeos nativos, inclusive com estoques selvagens de espécies do gênero *Oreochromis*. Ambos os eventos são indesejáveis. D'Ámato *et al.* (2007), utilizando essa ideia, detectaram híbridos entre *O. mossambicus* e *O. niloticus* em ambientes naturais na África. McKinna *et al.* (2010), avaliando a possibilidade de hibridização entre *O. mossambicus* e *O. niloticus* da linhagem GIFT em pisciculturas e no Rio Rewa em Fiji,

da mesma forma, conseguiram diferenciar as duas espécies, não detectando sinais de hibridização. Considerando o grande potencial de hibridização, colonização e impacto das tilápias (Canonico *et al.*, 2005), a detecção de híbridos entre estoques de tilápias e espécies ou subespécies nativas é de fundamental importância para o manejo do grupo, algo que deve ser prioritário na conservação da biodiversidade (Esselman, 2009).

Além de questões envolvendo a introdução de estoques melhorados, o manejo das subespécies de *O. niloticus* também possui importância na conservação da biodiversidade. Há sete subespécies alopátricas de Tilápia do Nilo e a indiscriminada transferência de indivíduos pode causar perda de diversidade e até extinção de populações devido à introgressão de genes de outras subespécies (Eknath & Hulata, 2009). Utilizando a metodologia de identificação de indivíduos e detecção de híbridos descrita, é possível avaliar a diferenciação genética e detectar hibridização entre as subespécies de *O. niloticus*, importante fator no desenvolvimento de estratégias de conservação dessas populações.

Por fim, a identificação da linhagem de indivíduos de origem desconhecida é importante na certificação das linhagens de alevinos comercializados, possibilitando aos produtores e consumidores maior confiabilidade na escolha e no comércio das linhagens de tilápias produzidas. Em diversas pisciculturas analisadas nesse estudo, por exemplo, os produtores não sabiam ou erraram a linhagem que produziam, fato indesejado considerando a escolha de linhagens com características biológicas diferentes para serem cultivadas.

A identificação das linhagens de indivíduos de origem desconhecida e a detecção de híbridos utilizando marcadores moleculares microssatélites, portanto, demonstrou ser eficiente e bastante promissora. Essa abordagem pode ser utilizada em diversas aplicações, como certificação das linhagens produzidas e comercializadas, para determinação de estratégias que evitem a deterioração genética das linhagens de tilápia ou, ainda, para avaliar a reprodução e hibridização de estoques ou subespécies de *O. niloticus* no ambiente natural ou em pisciculturas.

REFERÊNCIAS

- Alves-Costa F.A., Wasko A.P., Oliveira C., Foresti F. & Martins C. (2006). Genomic organization and evolution of the 5S ribosomal DNA in Tilapiini fishes. *Genetica* **127**, 243–252.
- Baldisserotto B. (2009) Piscicultura continental no Rio Grande do Sul: situação atual, problemas e perspectivas para o futuro. *Ciência Rural* **39**, 291-299.
- Bardakci F. & Skibinski P.O.F. (1994) Applications of the RAPD techniques in tilapia fish: species and subspecies identification. *Heredity* **37**, 117-123.
- Bentsen H.B., Eknath A.E., Palada-deVera M.S., Danting J.C., Bolivar H.L., Reyes R.A., Dionisio E.E., Longalong F.M., Circa A.V., Tayamen M.M. & Gjerde B. (1998) Genetic improvement of farmed tilapias: growth performance in a complete diallel cross experiment with eight strains of *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* **160**, 145-173.
- Bristot P.P. (2008) Mapeamento e análise da cadeia produtiva da criação de tilápia em Santa Catarina. Monografia – Universidade Federal de Santa Catarina. 100p.
- Canonico G.C., Arthington A., McCrary J.K. & Thieme M.L. (2005) The effects of introduced tilapias on native biodiversity. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* **15**, 463-483.
- Cardoso E.S., Rocha H.M.O. & Furlan M.C. (2009) A piscicultura no município de Santa Maria, RS. *Ciência e Natura* **31**, 131-140.
- Castellani D. & Barrella W. (2005) Caracterização da piscicultura na região do Vale do Ribeira-SP. *Ciência e Agrotecnologia* **29**, 168-176.
- Costa-Pierce B.A. (2003). Rapid evolution of an established feral tilapia (*Oreochromis* spp.): the need to incorporate invasion science into regulatory structures. *Biological Invasions* **5**: 71-84.
- D'Amato M.E., Esterhuyse M.M., van der Wall B.C.W., Brink D. & Volckaert F.A.M. (2007) Hybridization and phylogeography of the Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* in southern Africa evidenced by mitochondrial and microsatellite DNA genotyping. *Conservation Genetics* **8**, 475-478.
- Eknath A.E. & Hulata G. (2009) Use and exchange of genetic resources of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Reviews in Aquaculture* **1**, 197–213.
- Eknath A.E., Tayamen M.M., Palada-de Vera M.S., Danting J.C., Reyes R.A., Dionisio E.E., Capili J.B., Bolivar H.L., Abella T.A., Circa A.V., Bentsen H.B., Gjerde B., Gjedrem T. & Pullin R.S.V. (1993) Genetic improvement of farmed tilapias: the growth performance of eight strains of *Oreochromis niloticus* tested in different farm environments. *Aquaculture* **111**, 171-188.
- Ellegren H. (2000) Microsatellite mutations in the germline: implications for evolutionary inference. *Trends in Genetics* **16**, 551– 558.

Esselman, P.C. (2009) Fish communities and conservation of aquatic landscapes in northeastern Mesoamerica. Tese (Natural Resources and Environment) - The University of Michigan. 120p.

Excoffier L. & Lischer H.E.L. (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* **10**, 564–567.

FAO (2002). Fishery Statistics. *Aquaculture production* **90(2)**.

FAO (2007) Global synthesis of feeds and nutrients for sustainable aquaculture development. In Hasan M.R., Hecht T., De Silva S.S. & Tacon A.G.J. *Study and analysis of feeds and fertilizers for sustainable aquaculture development*. 3-17.

Fernandes R., Gomes L.C. & Agostinho A. (2003) Pesque-pague: negócio ou fonte de dispersão de espécies exóticas? *Acta Scientiarum: Biological Sciences* **25(1)**, 115-120.

Freeland J. (2005) *Molecular Ecology*. John Wiley & Sons, New Jersey, USA. 400p.

Gupta M.V. & Acosta B.O. (2004) From drawing board to dining table: the success story of the GIFT project. *NAGA* **27**, 4-14.

Hansen M.M., Kenchington E. & Nielsen E.E. (2001) Assigning individual fish to populations using microsatellite DNA markers. *Fish and Fisheries* **2**, 93–112.

Hassanien H.A. & Gilbey J. (2005) Genetic diversity and differentiation of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) revealed by DNA microsatellites. *Aquaculture Research* **36**, 1450-1457.

Khaw H.L., Ponzoni R.W. & Danting M.J.C. (2008) Estimation of genetic change in the GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by comparing contemporary progeny produced by males born in 1991 or in 2003. *Aquaculture* **275**, 64-69.

Kocker T.D., Lee W-J, Sobolewska H., Penman D. & McAndrew B. (1998) A genetic linkage map of a cichlid fish, the tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Genetics* **148**, 1225–1232.

Lee B-O., Lee W-J., Streelman J.T., Carleton K.L., Howe A.E., Hulata G., Slettan G., Stern J.E., Terai Y. & Kocher T.D. (2005) A Second-Generation Genetic Linkage Map of Tilapia (*Oreochromis* spp.). *Genetics* **170**, 237–244

Macaranas J.M., Taniguchi N., Pante M.J.R., Capili J.B. & Pullin R.S.V. (1986) Electrophoretic evidence for extensive hybrid gene introgression into commercial *Oreochromis niloticus* L. stocks in the Philippines. *Aquaculture Fish Management* **17**, 249-258.

Mair G.C. (2002) Domestication and broodstock management. Implications for longterm quality of cultured stocks. *The Advocate* **5**, 39 - 42.

McKinna E.M., Nandlal S., Mather P.B. & Hurwood D.A. (2010) An investigation of the possible causes for the loss of productivity in genetically improved farmed tilapia strain in Fiji: inbreeding versus wild stock introgression. *Aquaculture Research* **41**, 730-742.

- Melo D.C., Oliveira D.A.A., Ribeiro L.P., Teixeira C.S., Souza A.B., Coelho E.G.A, Crepaldi D.V. & Teixeira E.A. (2006) Caracterização genética de seis plantéis comerciais de tilápia (*Oreochromis*) utilizando marcadores microssatélites. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* **58**, 87-93.
- Melo D.C., Oliveira D.A.A., Seerig A. & Carvalho D.C. (2008) Aplicações práticas de marcadores microssatélites na caracterização genética e identificação de plantéis de tilápia. *Revista Brasileira de Reprodução Animal* **32 (4)**, 220-224.
- Moreira A.A., Hilsdorf A.W.S., Silva V.S. & Souza V.R. (2007) Variabilidade genética de duas variedades de tilápia nilótica por meio de marcadores microssatélites. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. **42**, 521-526.
- 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 (2)**, 557-560.
- Pritchard J.K., Stephens M. & Donnelly P. (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* **155**, 945-959.
- Romana-Eguia M.R.R., Iked M., Basiao Z.U. & Taniguchi N. (2004) Genetic diversity in farmed Asian Nile and red hybrid tilapia stocks evaluated from microsatellite and mitochondrial DNA analysis. *Aquaculture* **236**, 131-150.
- Rutten M.J.M., Komen H., Deerenberg R.M., Siwek M., Bovenhuis H. (2004) Genetic characterization of four strains of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) using microsatellite markers. *Animal Genetics* **35**, 93-97.
- Schirmer J.G. & Cardoso E.S. (2011) A piscicultura na dinâmica socioeconômica do município de Agudo-RS. *Boletim Gaúcho de Geografia* **36**, 23-28.
- Seutin G., White B.N. & Boag P.T. (1991) Preservation of avian blood and tissue samples for DNA analyses. *Canadian Journal of Zoology* **69**, 82-90.
- Zimmermann S. & Natividad J.M. (2004). Comparative pond performance evaluation of GenoMar Supreme Tilapia GST1 and GST3 groups. In: Bolivar R.B., Mair G.C. & Fitzsimmons K. (Eds.), *New Dimensions of Farmed Tilapia*. Proceedings from the Sixth International Symposium on Tilapia in Aquaculture, Manila, Philippines.

CAPÍTULO II

Avaliação do *status quo* da Tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* no reservatório de Itaipu e na bacia do Rio Uruguai.

Resumo

Diversas características, tais como crescimento rápido, alta tolerância a diversos fatores ambientais e grande acesso ao mercado consumidor, tornam as tilápias um grupo com grande importância para aquicultura mundial, sendo a Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, a principal espécie produzida. Contudo, essas mesmas características potencializam sua capacidade de invasão e estabelecimento em uma ampla variedade de ambientes, causando severos impactos ambientais. Apesar da proibição de seu cultivo no reservatório de Itaipu e na bacia do Rio Uruguai, há produção de tilápias nesses locais ou em seu entorno, sendo *O. niloticus* detectada no ambiente natural em ambos os sistemas hidrológicos. Dessa forma, são necessários estudos que testem o estabelecimento das Tilápias do Nilo nessas regiões para determinação de estratégias de manejo que minimizem o grande impacto ambiental descrito para a espécie em diversas regiões do mundo. O presente trabalho tem por objetivo, portanto, avaliar, através do seu *status quo*, a presença de populações estabelecidas da Tilápia do Nilo no reservatório de Itaipu e na bacia do Rio Uruguai. Para isso, foi desenvolvido um protocolo baseado em um teste de hipótese contemplando uma análise multidisciplinar (*i.e.* abundância, estrutura, reprodução, identificação de linhagens e posição trófica), que envolveu estudos tradicionais e outros assistidos por análises genéticas e moleculares. Indivíduos provenientes de pesca científica e profissional foram amostrados em coletas trimestrais entre outono/2010 e outono/2011. Nos estoques de ambos os sistemas hidrológicos, foi encontrada baixa abundância da Tilápia do Nilo, sazonalidade na coleta dos indivíduos, ausência de indivíduos de pequeno porte, de fêmeas esgotadas e de uniformidade genética ao longo do ano. A identificação molecular dos estoques detectou indivíduos de linhagens puras e híbridos cultivados nas regiões de seu entorno. Dessa forma, a hipótese de estabelecimento de *O. niloticus* no reservatório de Itaipu e na bacia do Rio Uruguai é rejeitada. Fugas de pisciculturas são, provavelmente, os processos responsáveis pela presença de tilápias nesses sistemas hidrológicos. Suporte para essa afirmativa é encontrado na presença de ração comercial no estômago de muitos animais capturados em ambos os sistemas. Apesar da alta quantidade de indivíduos provenientes de escapes de cultivos, fatores abióticos (*i.e.* temperatura da água) e bióticos (*i.e.* controle por predação) provavelmente estão impedindo o estabelecimento da Tilápia do Nilo na bacia do Rio Uruguai e no reservatório de Itaipu. Por fim, o protocolo proposto demonstrou-se eficaz no teste de hipótese do estabelecimento de *O. niloticus* nos sistemas hidrológicos, podendo ser expandido para sua utilização em outras regiões e para outros grupos de peixes.

Palavras-chaves: Aquicultura, escapes de pisciculturas, populações estabelecidas, dieta, estrutura, linhagens, reprodução, genética.

INTRODUÇÃO

Perda de habitat, alterações ambientais e introdução de espécies exóticas são os principais mecanismos de perda de diversidade de peixes (Sala *et al.*, 2000). Nesse contexto, as tilápias, 70 espécies de Cichlidae originários da África Tropical (Fitzsimmons, 2000), parecem ter preocupante influência. Devido a sua grande importância para aquicultura, as tilápias do gênero *Oreochromis* foram introduzidas em mais de 100 países além de sua distribuição natural (Esselman, 2009), colonizando uma ampla variedade de habitats. Algumas características, como crescimento rápido, alta prolificidade, grande variedade alimentar, alta resistência a doenças, presença de desova durante todo o ano e excelente sabor, tornam as tilápias os peixes de cultivo mais importante nas regiões neotropicais (Melo *et al.*, 2006), sendo o terceiro grupo mais produzido no mundo em 2005 (9,5%) (FAO, 2007) e o segundo no Brasil em 2004 (25,6%) (Ostrensky *et al.*, 2008). A espécie com maior destaque é a Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1958), que compreende 83% da produção de tilápias no mundo (FAO, 2002) e é responsável pela sua grande expansão nas últimas décadas (Bentsen *et al.*, 1998, Gupta & Acosta, 2004).

As características ecológicas, genéticas e fisiológicas que tornam as tilápias um dos grupos mais cultivados, todavia, são as mesmas que potencializam sua capacidade de invasão de novos ambientes (Peterson *et al.*, 2005). Arthington & Bluhdorn (1994) e Schmitter-Soto & Caro (1997) sugerem que o mecanismo primário de dispersão de tal grupo está relacionado à translocação humana de animais, seguida pela fuga de indivíduos de pontos de piscicultura. Mesmo quando o manejo é efetivado cuidadosamente em sistemas “fechados”, existe um potencial de escape através das águas de efluentes ou como resultado de eventos climáticos, como enchentes (Canónico *et al.*, 2005), de forma que escapes de pisciculturas são inevitáveis (Agostinho *et al.*, 2005a).

Canónico *et al.* (2005) revisou os potenciais efeitos nos ecossistemas nos quais as tilápias são introduzidas: extinção local de espécies nativas (Twongo, 1995; Goudswaard *et al.*, 2002), predação de ovos e jovens de outros peixes (Arthington & Bluhdorn, 1994), alteração da dinâmica de nutrientes e eutrofização (Starling *et al.*, 2002), destruição da vegetação do fundo do lago e introdução de parasitos (McCrary *et al.*, 2001). De acordo com Casal *et al.* (2006), a Tilápia do Nilo foi introduzida em 85 países, sendo relatado seu estabelecimento em 58% e efeitos ecológicos adversos em 14%. Devido à soma de sua grande capacidade de colonização com seu potencial impacto ambiental, tilápias devem possuir alta prioridade no manejo para proteção de ambientes aquáticos (Esselman, 2009).

Em decorrência de sua natureza exótica, o cultivo de tilápias é proibido no Brasil, exceto nas regiões onde existem populações estabelecidas no ambiente natural. Contudo, em diversas vezes os legisladores consideram determinada espécie estabelecida apenas pela observação de poucos espécimes na Unidade Geográfica de Referência, sem a realização de estudos que efetivamente demonstrem o estabelecimento de populações da espécie. Segundo conceito de Williamson & Fitter (1996) e Agostinho *et al.* (2007), populações estabelecidas são populações autossustentáveis, capazes de completar o seu ciclo de vida (reprodução e recrutamento) no ambiente natural. A detecção de indivíduos ou a presença de fêmeas desovadas, ninhos ou alevinos de espécies no ambiente, especialmente no caso das não migradoras, portanto, não necessariamente indicam sucesso na sobrevivência e no desenvolvimento dos alevinos ou reprodução dos adultos, tornando tais evidências insuficientes para corroborar a hipótese de estabelecimento de populações no sistema hidrológico (Agostinho *et al.*, 2007). Apesar de haver registros em publicações científicas (e.g. Makrakis *et al.*, 2007; Kaufmann & Pinheiro, 2009) e de capturas pela pesca profissional de *O. niloticus* no reservatório de Itaipu e na bacia do Rio Uruguai, o cultivo da Tilápia do Nilo está proibido nesses sistemas hidrológicos.

Portanto, é necessário compreender a origem dos indivíduos presentes nessas regiões, avaliar se tais espécimes são provenientes de populações estabelecidas ou se são reflexo de fugas de tilápias de pontos de piscicultura. Em virtude da complexidade dos possíveis cenários esperados, nesse trabalho foi desenvolvido um rigoroso protocolo que testa o estabelecimento de populações da Tilápia do Nilo. A análise multidisciplinar contemplou uma série de abordagens (*i.e.* abundância, distribuição, reprodução, estrutura, identificação de linhagens e dieta) que envolveu estudos tradicionais e outros assistidos por análises genéticas e moleculares.

Dessa forma, esse estudo testa hipóteses sobre o estabelecimento de tilápias, *O. niloticus*, na bacia do Rio Uruguai e do lago do reservatório de Itaipu utilizando um protocolo que incorpora evidências da comunidade, populacionais, genéticas, reprodutivas e da dieta de animais capturados no ambiente natural. Esses resultados representam fundamentos essenciais para embasar decisões ambientais e para o desenvolvimento de estratégia de manejo da espécie.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para avaliação do *status quo* e da hipótese de estabelecimento de *O. niloticus* no reservatório de Itaipu e na bacia do Rio Uruguai, foi utilizada uma série de abordagens que avaliam aspectos da comunidade íctica local, como estrutura do estoque, existência de reprodução e a estrutura e dinâmica genética dos animais encontrados na natureza e a dieta da espécie no local. Para cada conjunto de evidências obtido, foram definidos cenários esperados para a hipótese nula (H_0), que assume a existência de uma população de tilápias estabelecida no ambiente natural, e para a hipótese alternativa (H_1), que assume que os animais coletados localmente representam escapes de cultivos da própria bacia (Tabela 1). Para testar essas hipóteses, foram realizadas coletas científicas e acompanhamento da pesca comercial com o apoio de pescadores locais, aos quais foram aplicadas técnicas tradicionais e moleculares.

Tabela 1. Síntese da estratégia metodológica desenvolvida na avaliação do status do estoque da Tilápia do Nilo do reservatório de Itaipu e da bacia do Rio Uruguai. Para cada fonte de informação gerada são apresentadas as hipóteses nula e alternativa de uma população estabelecida ou não estabelecida, respectivamente.

Fonte	Hipóteses	
	H_0 : estabelecida	H_1 : não estabelecida
Estrutura da comunidade	Número de tilápias relativamente elevado	Número de tilápias relativamente reduzido
População	Estrutura de tamanho sugerindo recrutamento	Estrutura de tamanho sem padrão de recrutamento
	Coleta de indivíduos constante entre campanhas	Coleta sazonal de indivíduos
Reprodução	Proporção sexual próxima a 1:1	Proporção sexual distante de 1:1
	Fêmeas com ovários esvaziados	Ausência de fêmeas com ovários esvaziados
Linhagens genéticas	Domínio de animais híbridos não encontrados nas pisciculturas do entorno	Domínio de animais híbridos ou de linhagens puras encontrados nas pisciculturas do entorno
	Manutenção temporal do perfil genético	Perfil genético de animais capturados varia temporalmente
Estrutura genética	Similar ao longo do ano	Variável ao longo do ano
Posição Trófica	Prevalência de itens alimentares encontrados no ambiente	Ração como frequente item alimentar

A contribuição da tilápia na comunidade de peixes dos locais estudados foi determinada pelo número relativo de animais capturados (número de tilápias/número

total de peixes). A estrutura do estoque de tilápias do Nilo foi obtida através do histograma de frequência das classes de tamanhos dos indivíduos coletados e da distribuição de captura entre as campanhas. Aspectos reprodutivos foram avaliados através da razão sexual e do grau de maturação gonadal, dados obtidos em histologia gonadal. Marcadores microssatélites foram aplicados para a caracterização genética dos estoques e para a identificação das linhagens das tilápias capturadas na natureza. As interações tróficas de *O. niloticus* nos dois sistemas hídricos foram definidas através de análises microscópicas de seu conteúdo estomacal.

Pontos de Coleta

Amostragens através das pescas científica e profissional foram realizadas em regiões específicas dos ambientes avaliados. Os locais de amostragem foram determinados como resultado de levantamentos bibliográficos da captura de tilápia e de presença de pisciculturas, contatos com pesquisadores da UHE de Itaipu e da bacia do Rio Uruguai e com órgãos ambientais e de fomento à atividade de piscicultura nos dois estados visitados (Figura 1 e Figura 2).

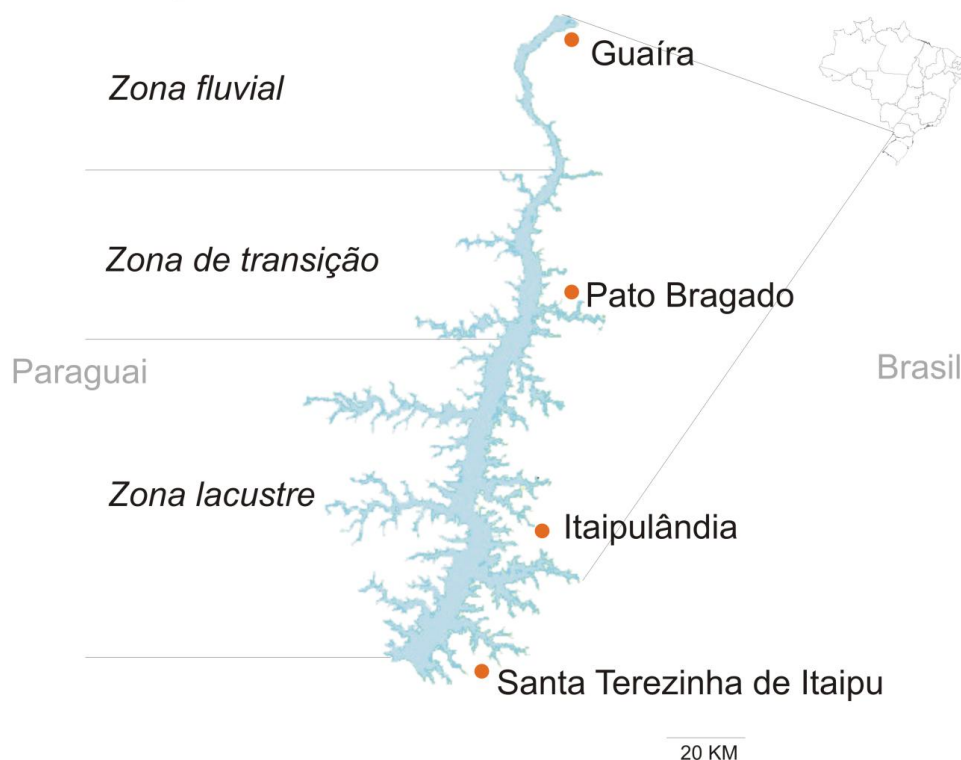


Figura 1. Pontos de coleta científica e profissional definidos para o reservatório de Itaipu (Pontos laranjas).



Figura 2. Pontos de coleta científica e profissional definidos para a bacia do Rio Uruguai (Pontos laranjas).

Pesca Científica

Para a determinação do tamanho do esforço amostral, foi realizada uma coleta piloto (abril/2010). Essa coleta foi, ainda, utilizada para padronizar toda a metodologia a ser empregada.

Cinco campanhas foram realizadas nas coletas científicas (outono/2010, inverno/2010, primavera/2010, verão/2011 e outono/2011) em 4 pontos de cada um dos dois sistemas hidrológicos (reservatório de Itaipu e bacia do Rio Uruguai) (Tabela 2). Na primeira campanha (*i.e.* Outono/2010), entretanto, não foram realizadas coletas no Rio Uruguai – Iraí e no Rio Ijuí.

Tabela 2. Pontos de coleta científica e profissional, e suas respectivas coordenadas, definidos para a bacia do Rio Uruguai e reservatório de Itaipu.

Sistema Hidrológico	Ponto	Coordenadas	
Reservatório de Itaipu	Santa Terezinha de Itaipu	25°23'15.40"S 54°28'44.60"O	
	Itaipulândia	25°12'2.40"S 54°23'19.70"O	
	Pato Bragado	24°34'53.30"S 54°16'56.80"O	
	Guáira		24°16'16.40"S
			54°16'32.60"O
Bacia do Rio Uruguai	Reservatório de Itá	27°20'5.90"S 51°57'12.80"O	
	Reservatório de Passo Fundo	27°41'57.50"S 52°43'31.30"O	
	Usina Hidrelétrica José Barasoul - Rio Ijuí		28°17'32.80"S
			53°52'39.30"O
	Rio Uruguai - Iraí	27° 9'29.80"S 53°10'34.10"O	

Em todas as regiões definidas como pontos de coleta, foram utilizadas redes de espera de diferentes malhas (mínimo de 3 redes com entrenós entre 1,5 a 12 cm) como principais artes de pesca para captura de tilápias. Como artes de pesca complementares, linhas, espinhéis e feiticeiras foram utilizados (Tabela 3 e Tabela 4). Ainda, para coleta de indivíduos de pequeno porte, pesca com redes de arrasto foram realizados em bancos de macrófitas. Os esforços amostrais se deram nos períodos da manhã e tarde, durante 36 horas consecutivas em cada local, sendo os conjuntos mantidos e revisados a cada 12 horas.

Os espécimes de tilápia foram fotografados, seu comprimento total e peso foram mensurados e seus órgãos foram fixados de acordo com a análise subsequente: gônadas em Solução de Davidson (Shaw & Battle, 1957) para análise histológica, fragmentos de músculo e/ou nadadeira em solução salina hipersaturada de DMSO-EDTA (Seutin *et al.*, 1991) para avaliações genéticas, e estômago em formalina 10% para avaliação do conteúdo estomacal dos indivíduos (Figura 3).

Tabela 3. Conjunto de petrechos de pesca utilizado em amostragem científica, em pontos de coleta no reservatório de Itaipu. RE: Rede de espera

	Outono/2010	Inverno/2010	Primavera/2010	Verão/2011	Outono/2011
Santa Terezinha de Itaipu	RE 5 cm	RE 1,5 cm	RE 1,5 cm	RE 1,5 cm	RE 2 cm
	RE 6 cm	RE 3 cm	RE 3,5cm	RE 2 cm	RE 3,5cm
	RE 7 cm	RE 5 cm	RE 4 cm	RE 3 cm	RE 5 cm
	Linha	RE 6 cm	RE 5 cm	RE 5 cm	RE 6 cm
		RE 7 cm	RE 6 cm	RE 6 cm	RE 7 cm
			RE 7 cm	RE 7 cm	RE 8 cm
			RE 8 cm	Linha	
Itaipulândia	RE 4 cm	RE 1,5 cm	RE 1,5 cm	RE 1,5 cm	RE 2 cm
	RE 5 cm	RE 3 cm	RE 3,5cm	RE 2 cm	RE 3,5cm
	RE 6 cm	RE 4 cm	RE 4 cm	RE 3 cm	RE 4 cm
	Linha	RE 5 cm	RE 5 cm	RE 5 cm	RE 5 cm
		RE 8 cm	RE 6 cm	RE 8 cm	RE 6 cm
Pato Bragado	RE 4 cm	RE 1,5 cm	RE 1,5 cm	RE 1,5 cm	RE 2 cm
	RE 5 cm	RE 3 cm	RE 3,5cm	RE 2 cm	RE 3,5cm
	RE 6 cm	RE 4 cm	RE 4 cm	RE 3 cm	RE 4 cm
		RE 5 cm	RE 6 cm	RE 4 cm	RE 5 cm
		RE 8 cm	RE 7 cm	RE 5 cm	RE 6 cm
			RE 8 cm	RE 6 cm	RE 7 cm
				RE 7 cm	RE 8 cm
			RE 8 cm		
Guaíra	RE 4 cm	RE 1,5 cm	RE 1,5 cm	RE 1,5 cm	RE 2 cm
	RE 5 cm	RE 3 cm	RE 3,5cm	RE 2 cm	RE 3,5cm
	RE 6 cm	RE 4 cm	RE 4 cm	RE 3 cm	RE 4 cm
	Linha	RE 5 cm	RE 5 cm	RE 4 cm	RE 5 cm
		RE 6 cm	RE 6 cm	RE 5 cm	RE 6 cm
		Linha	RE 7 cm	RE 6 cm	RE 7 cm
				RE 7 cm	RE 8 cm
			RE 8 cm		

Tabela 4. Conjunto de petrechos de pesca utilizado em amostragem científica, em pontos de coleta da bacia do Rio Uruguai. RE: Rede de espera

	Outono/2010	Inverno/2010	Primavera/2010	Verão/2011	Outono/2011
Reservatório de Itá	RE 3,5cm	RE 1,5 cm	RE 3,5cm	RE 2 cm	RE 2 cm
	RE 4 cm	RE 3 cm	RE 4 cm	RE 3,5cm	RE 3,5cm
	RE 4,5cm	RE 3,5cm	RE 4,5cm	RE 4 cm	RE 4 cm
	RE 5 cm	RE 4 cm	RE 5 cm	RE 4,5cm	RE 4,5cm
	RE 8 cm	RE 5 cm	RE 8 cm	RE 5 cm	RE 5 cm
	RE 9 cm	RE 6,5cm	Feiticeira 5	RE 6,5cm	RE 6,5cm
	RE 12 cm			RE 8 cm	RE 8 cm
	Feiticeira 5			RE 9 cm	RE 9 cm
	Feiticeira 20			RE 10 cm	RE 10 cm
			RE 12 cm	RE 12 cm	
Reservatório de Passo Fundo	RE 5 cm	RE 1,5 cm	RE 5 cm	RE 2 cm	RE 2 cm
	RE 5,5cm	RE 3 cm	RE 6 cm	RE 3,5cm	RE 3,5cm
	RE 8 cm	RE 4 cm	RE 7 cm	RE 4 cm	RE 5 cm
	RE 11	RE 5 cm	RE 8 cm	RE 5 cm	RE 6 cm
		RE 6 cm	Feiticeira 5	RE 6 cm	RE 7 cm
		RE 8 cm	Feiticeira 6	RE 7 cm	RE 8 cm
		RE 10 cm	Feiticeira 8	RE 8 cm	RE 10 cm
				RE 10 cm	Feiticeira 5
				Feiticeira 5	Feiticeira 6
			Feiticeira 6		
			Feiticeira 8		
Rio Uruguai - Iraí		RE 1,5 cm	RE 1,5 cm	RE 2 cm	RE 2 cm
		RE 3 cm	RE 2 cm	RE 3,5cm	RE 3,5cm
		RE 5 cm	RE 3,5cm	RE 4 cm	RE 5,5cm
		RE 5,5cm	RE 6 cm	RE 8 cm	RE 6 cm
		RE 8 cm	RE 8 cm	ES	RE 7 cm
		ES	ES		RE 7,5cm
			Linha		RE 8 cm
				ES	
Rio Ijuí		RE 1,5 cm	RE 1,5 cm	RE 2 cm	RE 2 cm
		RE 3 cm	RE 2 cm	RE 3,5cm	RE 3,5cm
		RE 4 cm	RE 3,5cm	RE 4 cm	RE 6 cm
		RE 5 cm	RE 6 cm	RE 6 cm	RE 7 cm
		RE 6 cm	RE 7 cm	RE 7 cm	RE 7,5cm
		RE 7 cm	RE 7,5cm	RE 7,5cm	RE 8 cm
			RE 8 cm	RE 8 cm	

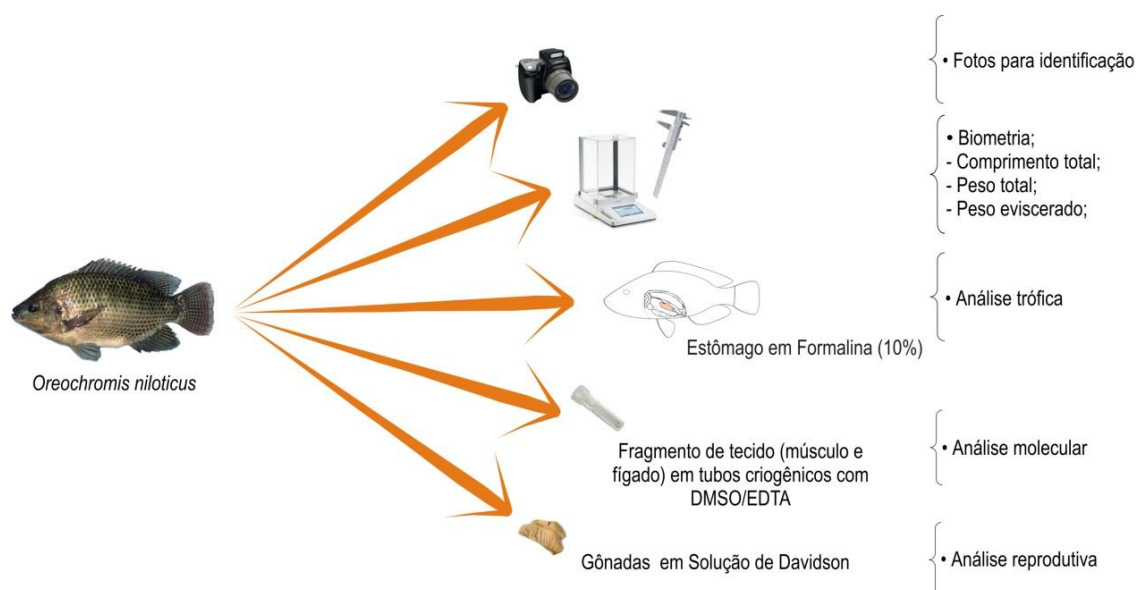


Figura 3. Esquema do processamento das tilápias coletadas no ambiente.

Pesca Profissional

Foram contatados pescadores profissionais em cada um dos 4 pontos amostrados em cada sistema hidrológico e orientados a como proceder no caso de captura de tilápias. Tais dados foram somados aos dados de pesca científica. Um kit para a coleta e conservação de amostras foi disponibilizado para cada colaborador, incluindo uma tabela de registro de pesca (*i.e.* tamanho e peso das tilápias).

Dados Reprodutivos

Para o reconhecimento do sexo e a avaliação microscópica do estágio de maturação gonadal dos espécimes de tilápias capturados, foram produzidas lâminas permanentes em hematoxilina de Harris e Eosina (HE) e analisadas em microscópio óptico. Para a análise de ovários utilizou-se a metodologia descrita por Vazzoler (1996), que permite a classificação do desenvolvimento ovariano nos estádios: A – imaturo ou virgem; B – em maturação (B1 em maturação inicial e B2 em maturação final); C – maduro; D – esvaziado (“em recuperação”); E – repouso. Para análise de testículos adotaram-se as metodologias de Mota (2009) e Santos *et al.* (2006), classificando os testículos em: imaturos, em maturação, maduros e espermiados, com base na presença e repleção de células nas diferentes etapas da espermatogênese.

Marcadores microssatélites

Como consequência do domínio de *O. niloticus* na aquicultura global de tilápias, a espécie tornou-se alvo de programas de melhoramento genético nos últimos anos, os quais têm gerado diversas linhagens. Entre elas, estão as variedades

Chitralada (ou Tailandesa), GIFT (Genetically Improved Farmed Tilapia) e GST (GenoMar Supreme Tilapia), já introduzidas e cultivadas no Brasil juntamente com outros plantéis menos puros, como as linhagem nilótica e as tilápias vermelhas (e.g. Saint Peter), produto de hibridização entre espécies de *Oreochromis*. Tais programas buscam gerar linhagens com maiores taxas de sobrevivência e crescimento.

Integrando essa realidade à argumentação proposta no presente estudo, podemos prever alguns cenários (Figura 4). Em um cenário de ausência de população estabelecida (A), espera-se observar a presença pouco expressiva de espécimes, sendo que as linhagens capturadas estarão representadas por linhagens ou híbridos cultivados no entorno da região avaliada. Alternativamente, se a espécie encontra-se estabelecida no ambiente (B), espera-se encontrar uma maior abundância de uma única linhagem genética de *O. niloticus* (peixe azul na B), resultado da hibridização de linhagens cultivadas nas regiões, pela reprodução de uma população panmítica estabelecida no ambiente natural após décadas de cultivo e escapes de indivíduos.

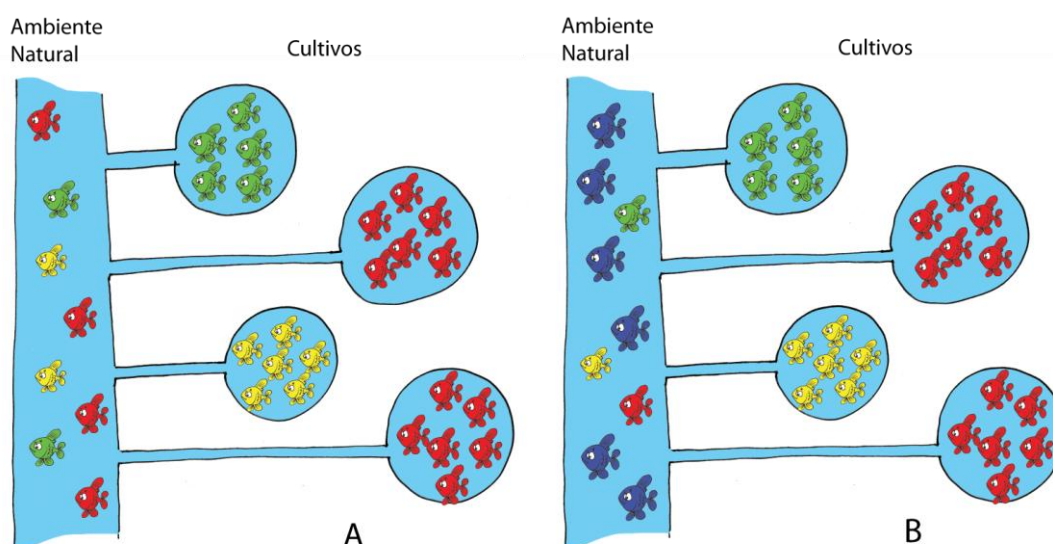


Figura 4. Cenários previsíveis para: A) escapes de tilápias de cultivo sem que exista uma população estabelecida nos ambientes natural. Não existirá, portanto, “híbridos” entre as diferentes linhagens cultivadas no ambiente (peixes verdes, vermelhos e amarelos). B) escapes de tilápias com reprodução ocorrendo nos ambientes naturais. As linhagens rapidamente se misturam em “híbridos” (peixes azuis) que devem representar a maior percentagem dos animais no sistema, com eventuais animais de “linhagens puras”, representando escapes recentes.

Para uma acurada avaliação destes cenários, torna-se necessário adotar um método confiável e viável de identificação e caracterização das linhagens dos animais capturados em ambientes naturais. Assumindo-se que o uso da sistemática convencional, baseada em caracterizações morfométricas externas, é ineficaz para essa tarefa, marcadores moleculares de DNA destacam-se como a melhor alternativa

(Costa-Pierce, 2003). Baggio (Capítulo 1) descreve um protocolo confiável de identificação genética de linhagens de tilápias utilizando 9 *loci* de marcadores microssatélites. Os marcadores microssatélites fornecem, ainda, informações sobre a característica genética dos estoques de tilápias e sua variação temporal. Em uma população estabelecida, a reprodução ocorre aleatoriamente entre indivíduos, levando a um equilíbrio de frequência de alelos conhecida como Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Nesse cenário, o perfil genético de uma população é relativamente estável, sofrendo mudanças temporais apenas quando certas condições se estabelecem (*i.e.* seleção natural, deriva genética). Dessa forma, marcadores microssatélites foram utilizados tanto para identificação das linhagens de tilápias capturadas no ambiente, como para avaliação de seu estabelecimento ao longo do período estudado.

Os indivíduos coletados através de pesca científica e profissional tiveram um pedaço de seu tecido fixado em solução salina hipersaturada de DMSO-EDTA (Seutin *et al.*, 1991) e armazenados em freezer a -20° C. O DNA genômico de cada indivíduo foi extraído com o auxílio do kit IPrep™ Chargeswitch® através de robô de extração automatizada (IPrep™ Purification instrument, Invitrogen™), conforme especificações do fabricante.

Os indivíduos foram genotipados através dos 9 conjuntos de iniciadores sugeridos por Baggio (Capítulo 1): UNH104 (GenBank G12257.1), UNH108 (GenBank G12261.1), UNH118 (GenBank G12271.1), UNH146 (GenBank G12298.1), UNH160 (GenBank G12312.1), UNH169 (GenBank G12321.1), UNH178 (GenBank G12330.1), UNH208 (GenBank G12359.1), UNH211 (GenBank G12362.1) e UNH222 (GenBank G12373.1). As reações de PCR foram otimizadas para um volume final de 10 µl, com concentrações finais de: 0,25 a 0,5 ng/µl de extrato, 0,03 U Taq Platinum, 1x Buffer, 1,5 mM MgCl₂, 0,08 µM de *primer* iniciador senso fluorescente e 0,08µM de *primer* iniciador anti-senso. O programa de PCR conteve 3 min de denaturação inicial a 94° C, seguido por 35 ciclos de 30 s de denaturação a 95° C, 60 s de anelamento dos *primers* iniciadores a 48° C (UNH146 a 56° C), e extensão de 60 s a 70° C. A extensão final de 60 min a 70° C encerrou o programa. Para otimização da genotipagem dos indivíduos, foram realizadas reações de PCR Multiplex com os seguintes conjuntos de *primers*: UNH169 com UNH211, UNH178 com UNH222, UNH160 com UNH208. 2,5 µl do produto de PCR, então, foram misturados a 10µl de formamida e 0,3 µl de GeneScan™ 500 – Rox™ Size Standart (Applied Biosystems) e aplicado em um sequenciador ABI 3130 (Applied Biosystems). Os alelos foram identificados através do programa GenMarker 1.6 (SoftGenetics).

A identificação da linhagem dos indivíduos foi realizado no programa Structure 2.3.1 (Pritchard *et al.*, 2000), utilizando 10 corridas independentes com 100 mil de *burn-in* e 1 milhão de replicatas, com *K* variando de 1 a 8, o que possibilita a identificação de grupos de indivíduos com características genótípicas diferentes daqueles encontrados para linhagens puras, e modelo sem mistura. O banco de dados dos indivíduos puros desenvolvido por Baggio (Capítulo I) foi utilizado. O número de clusters utilizado foi aquele que identificou os 4 grupos de indivíduos de linhagens puras descritos por Baggio (Capítulo I): GIFT-GST, Nilótica, Saint Peter e Chitralada. Nessa análise, foram considerados híbridos aqueles indivíduos que compunham mais de 10% de probabilidade de pertencerem a, no mínimo, duas linhagens.

Análises de equilíbrio de Hardy-Weinberg e F_{ST} dos estoques coletados foram realizadas no software Arlequin 3.5 (Excofier & Lischer, 2010).

Dados tróficos

As tilápias coletadas provenientes de coletas científicas tiveram seus estômagos removidos e fixados em formalina 10%. O conteúdo estomacal dos espécimes foi peneirado e identificado em microscópio estereoscópico e em microscopia óptica, quando necessário. Foram consideradas as seguintes categorias dos itens alimentares: algas, insetos, detritos, matéria orgânica, ração e restos vegetais. A composição da dieta das espécies foi avaliada pela frequência de ocorrência relativa, porcentagem dos estômagos nos quais o item alimentar ocorreu, e pelo método volumétrico, porcentagem de participação de cada item no volume total de alimento (Hyslop, 1980). O índice alimentar foi calculado segundo a seguinte fórmula (Kawakami & Vazzoler, 1980):

$$IA_i = \frac{F_i \cdot V_i}{\sum_{i=1}^n (F_i \cdot V_i)}$$

Análises Estatísticas

O fator de condição dos indivíduos foi calculado segundo a fórmula $Kn = 100 \cdot \text{peso (g)} / \text{comprimento total (cm)}^b$, sendo o coeficiente alométrico “*b*” o coeficiente angular da reta de regressão para os dados logaritmizados de comprimento e peso.

RESULTADOS

Abundância e distribuição do estoque

Foram coletados 27 indivíduos da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, através de pesca científica entre o outono/2010 e outono/2011, que somados aos 32 indivíduos coletados através de pesca profissional e ao indivíduo na coleta piloto, perfazem 60 indivíduos (Tabela 5).

Tabela 5. Total de tilápias *Oreochromis niloticus* coletadas em pesca científica (P.C.) e em pesca profissional (P.P.) na bacia do Rio Uruguai e no reservatório de Itaipu.

Nº de Espécimes	Bacia do Rio Uruguai			Reservatório de Itaipu		
	P.C.	P. P.	Total	P.C.	P. P.	Total
Coleta Piloto*	0	0	0	1	0	1
Outono/2010	1	2	3	0	2	2
Inverno/2010	4	0	4	0	2	2
Primavera/2010	10	2	12	0	7	7
Verão/2011	9	7	16	2	0	2
Outono/2011	1	9	10	0	1	1
Total	25	20	45	3	12	15

Do total de 15 indivíduos de *O. niloticus* coletadas no reservatório de Itaipu, uma foi coletada na coleta piloto, 2 foram coletadas através de pesca científica padronizada e 12 foram coletadas através de pesca profissional (Tabela 5 e Tabela 6).

Tabela 6. Número de Tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, coletadas em pesca profissional em 4 pontos de amostragem do reservatório de Itaipu.

	Santa Terezinha de Itaipu	Itaipulândia	Pato Bragado	Guáira	Total
Outono/2010	0	0	2	0	2
Inverno/2010	2	0	0	0	2
Primavera/2010	5	0	1	1	7
Verão/2011	0	0	0	0	0
Outono/2011	1	0	0	0	1
Total	8	0	3	1	12

Nas pescas científicas padronizadas, um total de 4302 espécimes de peixes foi coletado no reservatório de Itaipu, com a Tilápia do Nilo compondo 0,05% do total coletado (Tabela 7). As frequências de captura variaram de 0,19%, em Guáira, a 0,00%, em Itaipulândia e Pato Bragado, com pico em Guáira no verão/2011 (0,61%) (Figura 5) (Tabela 8).

Tabela 7. Total de peixes capturados, número de tilápias *Oreochromis niloticus* coletadas e sua abundância relativa em coleta científica no reservatório de Itaipu.

Nº de Espécimes	Reservatório de Itaipu		
	<i>O. niloticus</i>	Total	Frequência
Outono/2010	0	765	0,00%
Inverno/2010	0	540	0,00%
Primavera/2010	0	1164	0,00%
Verão/2011	2	1181	0,17%
Outono/2011	0	652	0,00%
Total	2	4302	0,05%

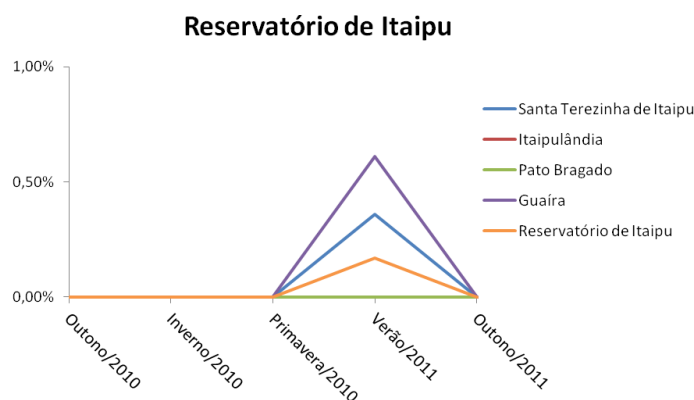


Figura 5. Abundância relativa da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, no reservatório de Itaipu, entre o outono/2010 e outono/2011, através de pesca científica.

Tabela 8. Total de peixes capturados, número de tilápias *Oreochromis niloticus* coletadas e sua abundância relativa em coleta científica nos pontos do reservatório de Itaipu.

	Santa Terezinha de Itaipu			Itaipulândia		
	<i>O. niloticus</i>	Total	Frequência	<i>O. niloticus</i>	Total	Frequência
Outono/2010	0	90	0,00%	0	415	0,00%
Inverno/2010	0	195	0,00%	0	117	0,00%
Primavera/2010	0	155	0,00%	0	445	0,00%
Verão/2011	1	279	0,36%	0	430	0,00%
Outono/2011	0	101	0,00%	0	258	0,00%
Total	1	820	0,12%	0	1665	0,00%

	Pato Bragado			Guaira		
	<i>O. niloticus</i>	Total	Frequência	<i>O. niloticus</i>	Total	Frequência
Outono/2010	0	160	0,00%	0	100	0,00%
Inverno/2010	0	159	0,00%	0	69	0,00%
Primavera/2010	0	440	0,00%	0	124	0,00%
Verão/2011	0	308	0,00%	1	164	0,61%
Outono/2011	0	216	0,00%	0	77	0,00%
Total	0	1283	0,00%	1	534	0,19%

Dentre as espécies coletadas, *Prochilodus lineatus* e *Myleus levis* foram os táxons com mais indivíduos coletados: 1212 (28,17%) e 584 (13,58%) respectivamente. A Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, foi apenas o 36º grupo mais coletado no reservatório de Itaipu (0,05%), de um total de 47 táxons (Figura 6).

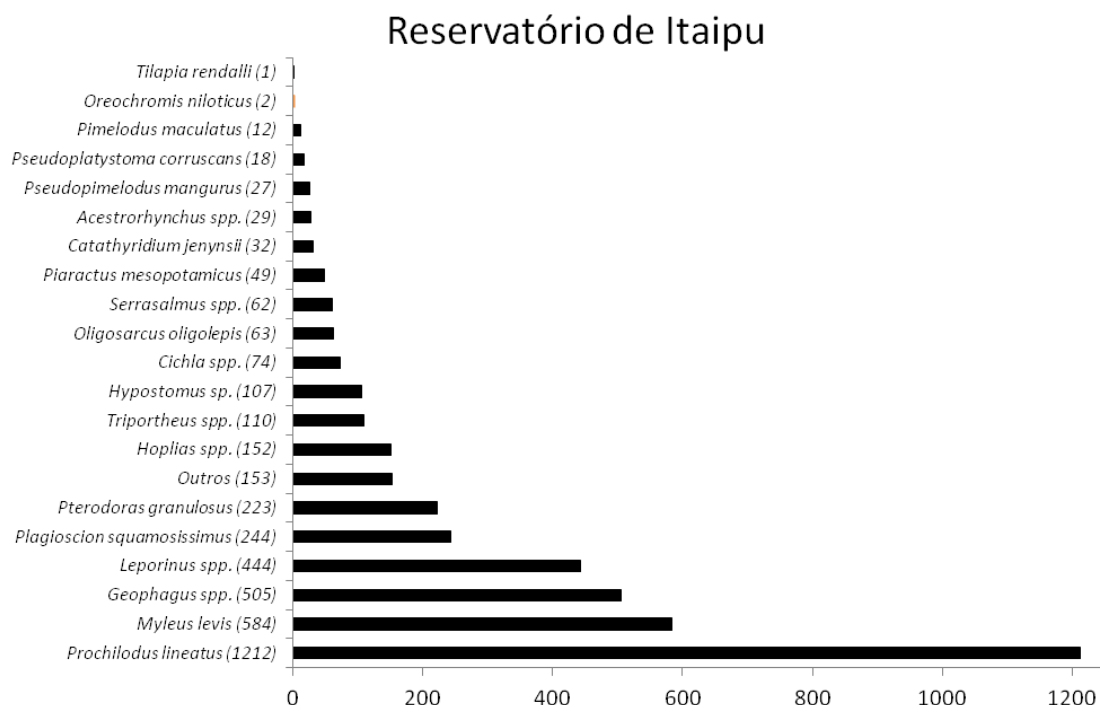


Figura 6. Número de indivíduos de cada táxon coletados no reservatório de Itaipu entre o outono/2010 e outono/2010, através de pesca científica padronizada.

Dentre os potenciais predadores da Tilápia do Nilo descritos em trabalho de Orélis-Ribeiro *et al.* (dados não publicados), foram coletados espécimes do mandi *Pimelodus maculatus*, da piranha *Serrasalmus spp.* e da traíra *Hoplias spp.* (Figura 7), no reservatório de Itaipu. Além desses, outro potencial predador de tilápias, o Tucunaré (*Cichla spp.*), foi coletado. Esse gênero tem sido introduzido em represas, açudes e tanques para pesca esportiva e/ou para o controle populacional de tilápias, lambaris e outros peixes, devido ao seu caráter piscívoro (Moura-Brito & Patrocínio, 2006). As análises de regressão linear correlacionando o número de tilápias coletadas em cada ponto com o número total de peixes e de predadores coletados em cada ponto demonstraram tendências de redução no número de tilápias com aumento da abundância total de peixes ($r^2 = 0,848$; $p = 0,079$) (Figura 8) e de predadores coletados ($r^2 = 0,741$; $p = 0,139$) (Figura 9), apesar de não estatisticamente significativos devido ao baixo tamanho amostral.

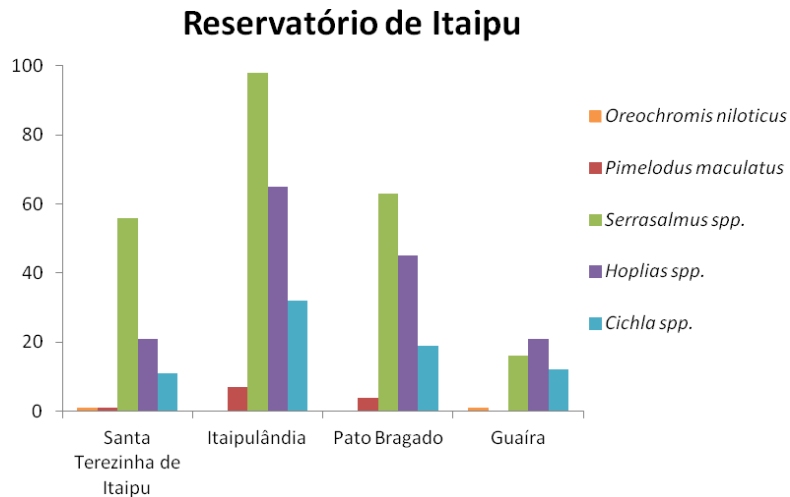


Figura 7. Número de indivíduos coletados da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, e de seus possíveis predadores através de pesca científica em 4 pontos do reservatório de Itaipu.

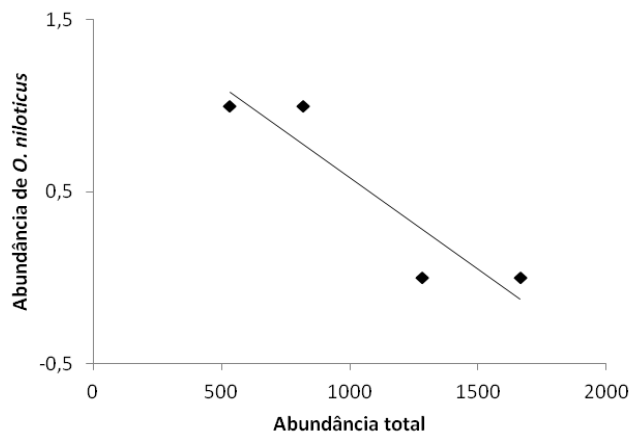


Figura 8. Regressão linear entre a abundância da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, e abundância total de peixes coletados em diferentes pontos através de pesca científica no reservatório de Itaipu ($r^2 = 0,848$; $p = 0,079$).

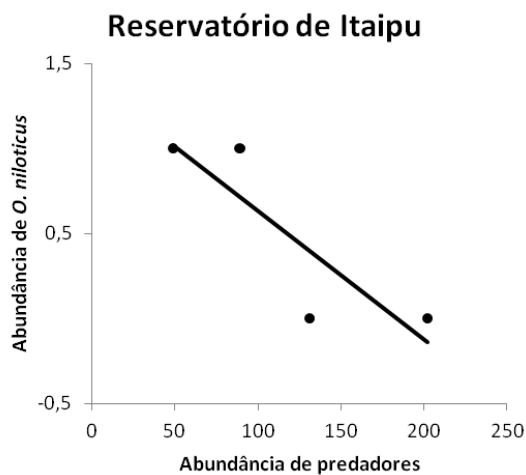


Figura 9. Regressão linear entre a abundância da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, e de seus possíveis predadores coletados em diferentes pontos através de pesca científica no reservatório de Itaipu ($r^2 = 0,741$; $p = 0,139$).

Do total de 45 *O. niloticus* coletados na bacia do Rio Uruguai, 25 foram capturados através de pesca científica padronizada e 20 através de pesca profissional (Tabela 5 e Tabela 9).

Tabela 9. Total de tilápias *Oreochromis niloticus* coletadas em coletas profissionais na bacia do Rio Uruguai.

	Reservatório de Itá	Reservatório de Passo Fundo	Rio Ijuí	Rio Uruguai - Iraí	Total
Outono/2010	2	0	0	0	2
Inverno/2010	0	0	0	0	0
Primavera/2010	2	0	0	0	2
Verão/2011	7	0	0	0	7
Outono/2011	7	0	0	2	9
Total	18	0	0	2	20

Um total de 2027 peixes foi coletado na bacia através de coletas científicas padronizadas, dos quais 25 eram *O. niloticus* (1,23%) (Tabela 10). A maior frequência foi encontrada no reservatório de Passo Fundo (3,22%), com pico na primavera (6,87%), enquanto a menor foi observada no Rio Ijuí, onde nenhum exemplar foi coletado (Figura 10) (Tabela 11).

Tabela 10. Total de peixes capturados, número de tilápias *Oreochromis niloticus* coletadas e sua abundância relativa em coleta científica na bacia do Rio Uruguai.

Nº de Espécimes	Bacia do Rio Uruguai		
	<i>O. niloticus</i>	Total	Frequência
Outono/2010	1	41	2,44%
Inverno/2010	4	739	0,54%
Primavera/2010	10	607	1,65%
Verão/2011	9	349	2,58%
Outono/2011	1	291	0,34%
Total	25	2027	1,23%

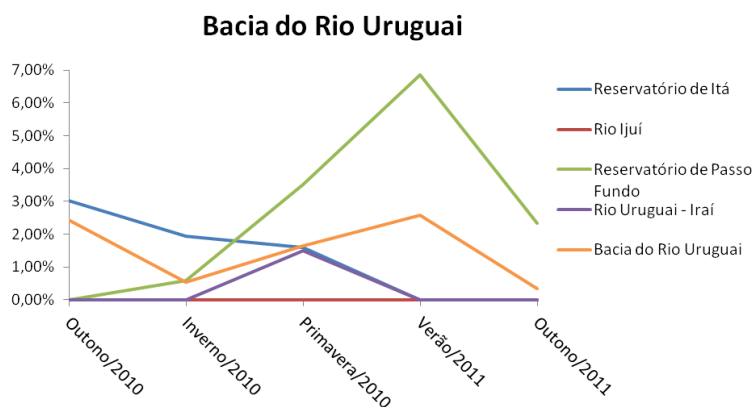


Figura 10. Abundância relativa da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, na bacia do Rio Uruguai, entre o outono/2010 e outono/2011, através de pesca científica.

Tabela 11. Total de peixes capturados, número de tilápias *Oreochromis niloticus* coletadas e suas abundâncias relativas em coleta científica em 4 pontos da bacia do Rio Uruguai.

	Reservatório de Itá			Reservatório de Passo Fundo		
	<i>O. niloticus</i>	Total	Frequência	<i>O. niloticus</i>	Total	Frequência
Outono/2010	1	33	3,03%	0	8	0,00%
Inverno/2010	3	154	1,95%	1	170	0,59%
Primavera/2010	5	311	1,61%	4	114	3,51%
Verão/2011	0	94	0,00%	9	131	6,87%
Outono/2011	0	50	0,00%	1	43	2,33%
Total	9	642	1,40%	15	466	3,22%

	Rio Ijuí			Rio Uruguai - Iraí		
	<i>O. niloticus</i>	Total	Frequência	<i>O. niloticus</i>	Total	Frequência
Outono/2010	-	-	-	-	-	-
Inverno/2010	0	42	0,00%	0	373	0,00%
Primavera/2010	0	115	0,00%	1	67	1,49%
Verão/2011	0	98	0,00%	0	26	0,00%
Outono/2011	0	52	0,00%	0	146	0,00%
Total	0	307	0,00%	1	612	0,16%

Nas coletas científicas realizadas no outono/2010, primavera/2010, verão/2011 e outono/2011, as quais todos os espécimes coletados foram identificados, *Oreochromis niloticus* foi o 14º grupo mais abundante (1,63%), de um total de 30 táxons. Os táxons mais abundantes foram as espécies do cascudo *Hypostomus* spp., que somaram 394 indivíduos, 30,59% do montante (Figura 11). Nos pontos onde a coleta de Tilápia do Nilo foi mais frequente, *O. niloticus* foi o 9º (abundância relativa de 1,23%) e 7º (abundância relativa de 4,73%) táxon mais abundante nos reservatórios de Itá e Passo Fundo, respectivamente (Figura 12 e Figura 13). Um total de 20 e 12 táxons foram coletados nesses reservatórios, respectivamente.

Bacia do Rio Uruguai

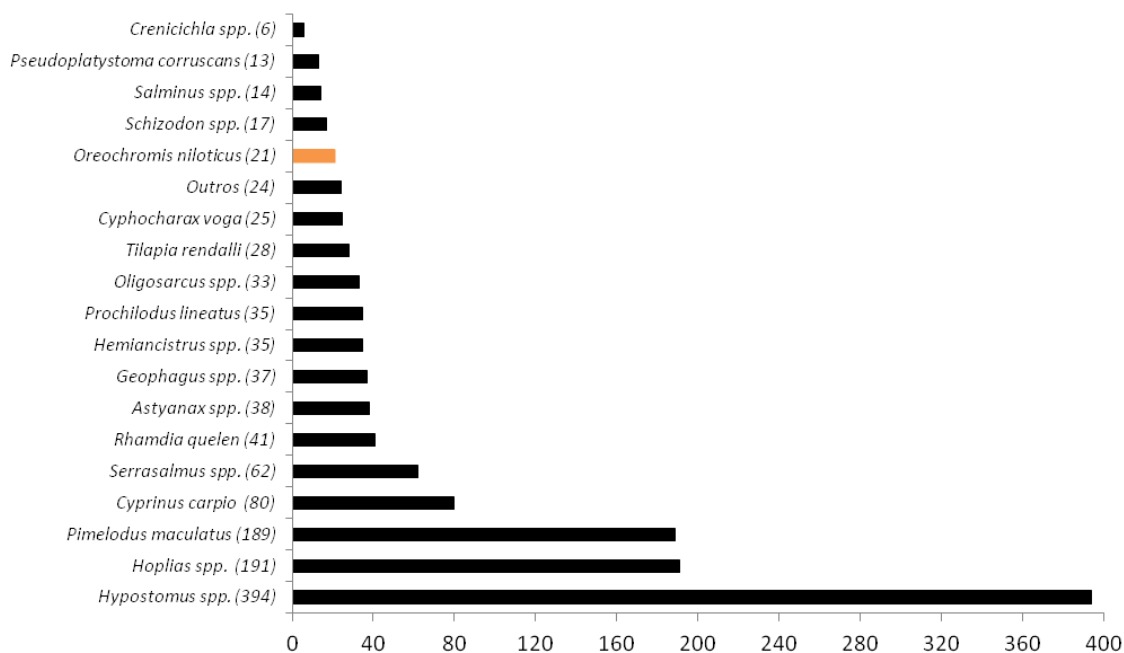


Figura 11. Número de indivíduos de cada espécie coletada na bacia do Rio Uruguai entre o outono/2010 e outono/2010, exceto no inverno/2010, através de pesca científica padronizada.

Reservatório de Itá

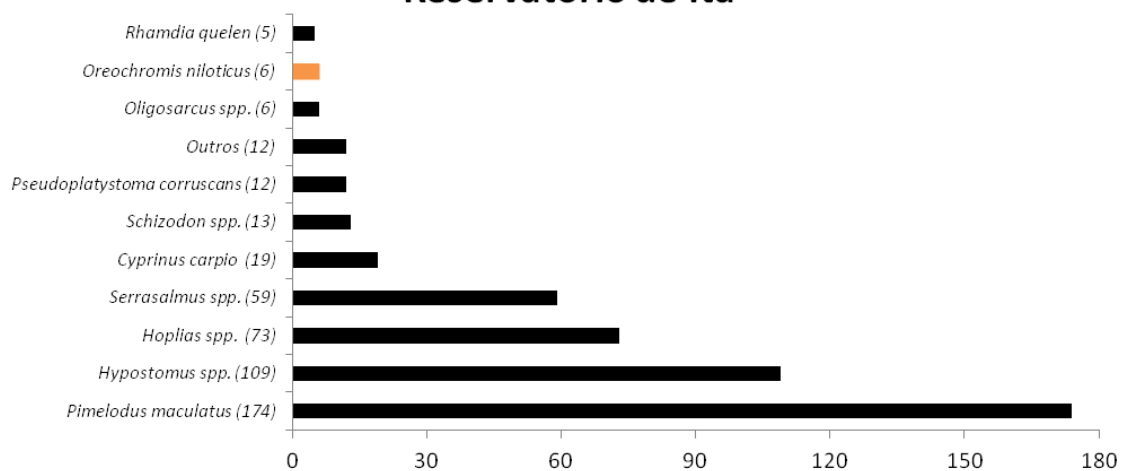


Figura 12. Número de indivíduos de cada táxon coletado no reservatório de Itá entre o outono/2010 e outono/2010, exceto no inverno/2010, através de pesca científica padronizada.

Reservatório de Passo Fundo

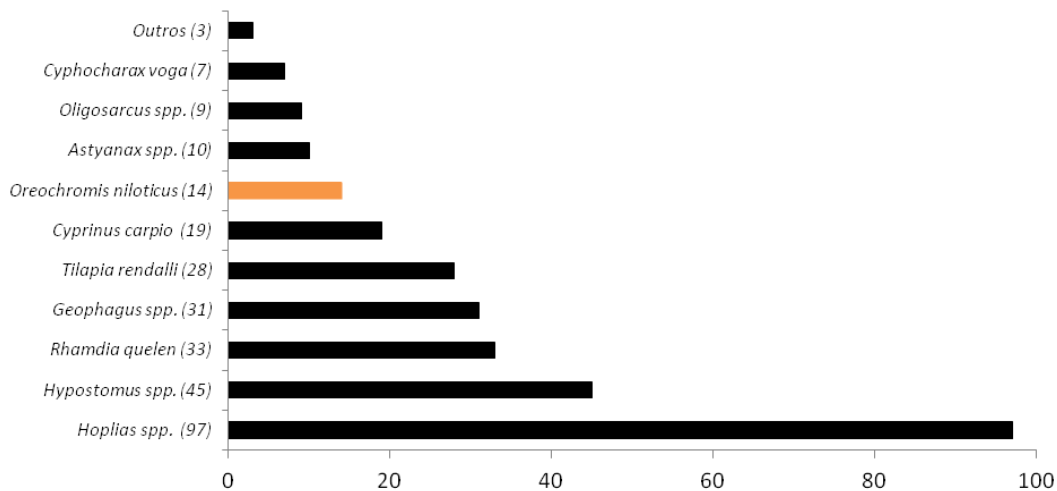


Figura 13. Número de indivíduos de cada táxon coletado no reservatório de Passo Fundo entre o outono/2010 e outono/2010, exceto no inverno/2010, através de pesca científica padronizada.

Dentre os potenciais predadores de tilápias, foram capturados *Hoplias spp.*, *Pimelodus maculatus*, *Rhamdia quelen* e *Serrasalmus spp.* na bacia do Rio Uruguai (Figura 14). Apesar de não haver correlação entre o número de tilápias e número total de peixes coletados em cada coleta na bacia ($r^2 = 0,251$; $p = 0,390$) e no reservatório de Passo Fundo ($r^2 = 0,214$; $p = 0,432$), houve significância nessa correlação positiva no reservatório de Itá ($r^2 = 0,844$; $p = 0,028$) (Figura 15). A análise de regressão linear demonstrou tendência de correlação positiva entre a quantidade total de tilápias e o número de predadores coletados nos pontos ($r^2 = 0,863$; $p = 0,071$).

Bacia do Rio Uruguai

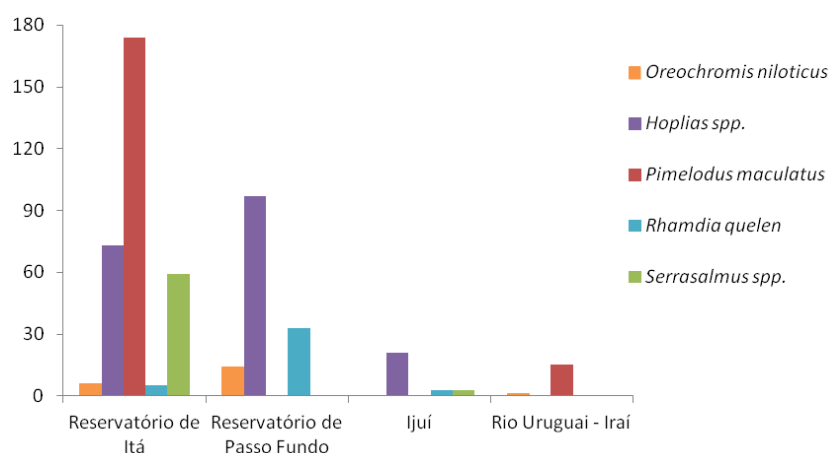


Figura 14. Número de indivíduos coletados da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, e de seus possíveis predadores através de pesca científica na bacia do Rio Uruguai.

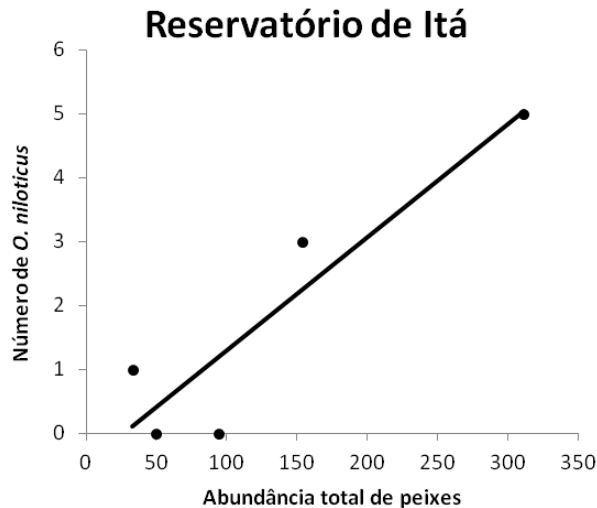


Figura 15. Regressão linear entre as abundâncias da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, e do total de peixes coletados em diferentes pontos através de pesca científica no reservatório de Itá ($r^2 = 0,844$; $p = 0,028$).

Estrutura do estoque

Os indivíduos coletados através de pesca científica padronizada no reservatório de Itaipu mediram 27 e 42 cm de comprimento total, espécimes esses coletados em Santa Terezinha de Itaipu e Guaíra, respectivamente, no verão/2011 (Figura 16). Apesar do uso de redes de arrasto e de redes espera com malha mínima de 2 cm em cada coleta (Figura 17), nenhum indivíduo de pequeno porte foi capturado. Das tilápias amostradas em coletas profissionais, 7 foram mensuradas, medindo entre 23 e 35 cm de comprimento de corpo.

Reservatório de Itaipu

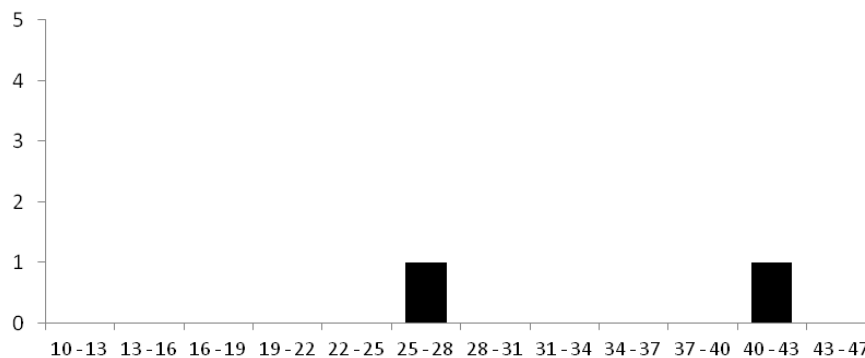


Figura 16. Abundância das classes de tamanho (em cm) da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, coletadas no reservatório de Itaipu, entre o outono/2010 e outono/2010, através de pesca científica.

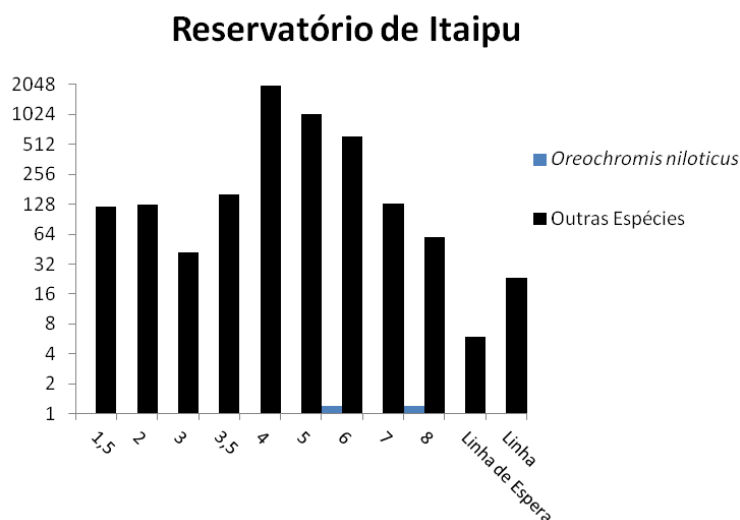


Figura 17. Número de espécimes coletados da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, e de outras espécies em pesca científica utilizando diferentes petrechos, no reservatório de Itaipu.

As tilápias coletadas através de pesca científica na bacia do Rio Uruguai variaram de 13,5 a 33 cm (Figura 18), apesar da utilização de petrechos de captura de diferentes seletividades (Figura 19) e da realização de pesca de arrasto. No reservatório de Itá, o comprimento total das tilápias variou de 13,5 a 23,5 cm (Figura 20), enquanto em Passo Fundo tais valores variaram entre 20 e 33 cm (Figura 21), não obstante o uso de petrechos de pesca com malhas de até 1,5 cm de entrenós (Figura 22 e Figura 23) e pesca de arrasto. A única tilápia coletada através de pesca científica na calha do Rio Uruguai, município de Iraí, possuía 20,5 cm de comprimento total.

As tilápias amostradas através da pesca comercial tiveram seu tamanho mensurado em 18 cm e entre 8 e 13,2 cm, para o indivíduo coletado no verão/2011 e para os 7 indivíduos coletados no outono/2011, respectivamente, no reservatório de Itá. As tilápias coletadas por pescadores no Rio Uruguai, em Iraí, possuíam 21 e 21,5 cm de comprimento total.

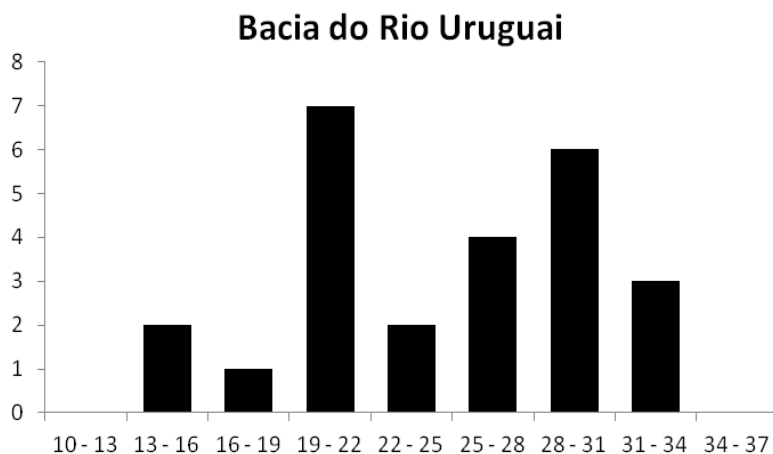


Figura 18. Abundância das classes de tamanho (em cm) da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, coletadas na bacia do Rio Uruguai, entre o outono/2010 e outono/2010, através de pesca científica.

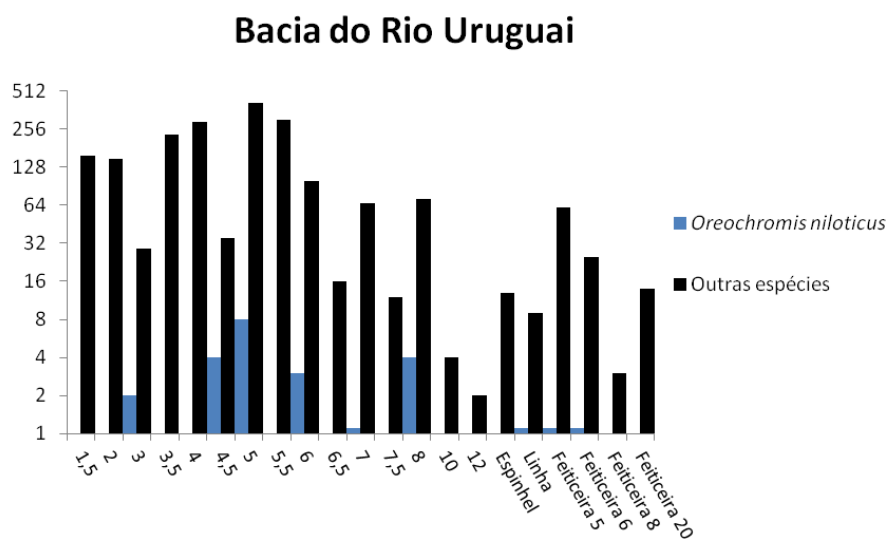


Figura 19. Número de espécimes coletados da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, e de outras espécies através de pesca científica com diferentes petrechos, na bacia do Rio Uruguai.

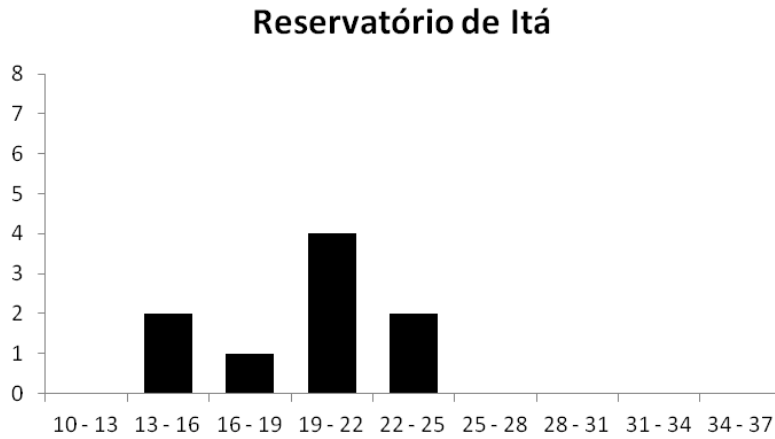


Figura 20. Abundância das classes de tamanho (em cm) da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, coletadas no reservatório de Itá, entre o outono/2010 e outono/2011, através de pesca científica.

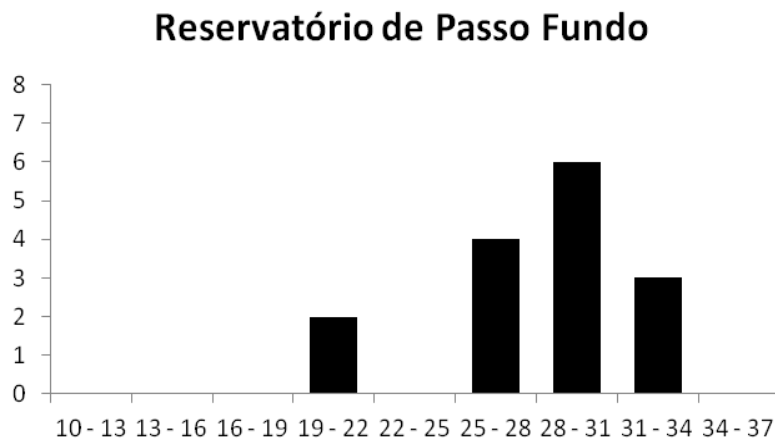


Figura 21. Abundância das classes de tamanho (em cm) da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, coletadas no reservatório de Passo Fundo, entre o outono/2010 e outono/2011, através de pesca científica.

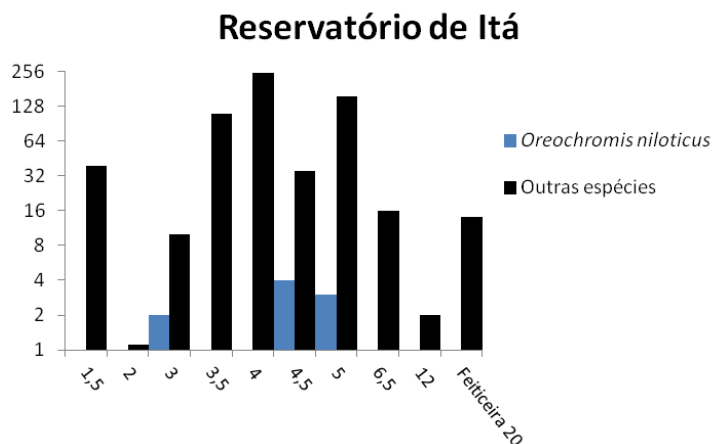


Figura 22. Número de indivíduos coletados da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, e de outras espécies através de pesca científica com diferentes petrechos, no reservatório de Itá.

Reservatório de Passo Fundo

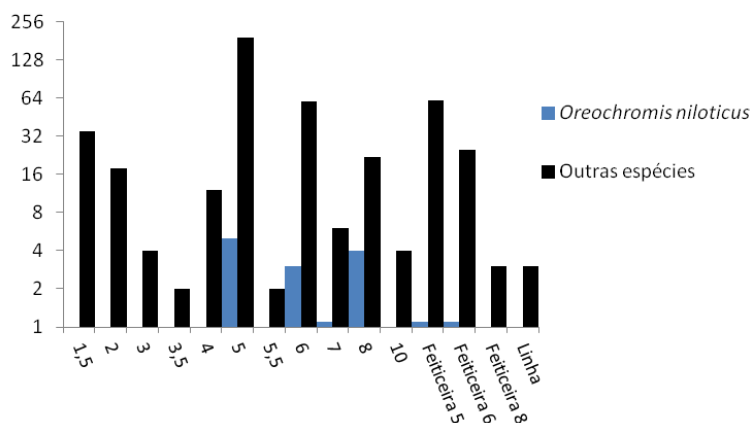


Figura 23. Número de indivíduos coletados da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, e de outras espécies através de pesca científica com diferentes petrechos, no reservatório de Passo Fundo.

Os valores de fator de condição indicaram que os indivíduos em latitudes maiores estão em estado fisiológico significativamente inferior aos indivíduos de latitudes menores ($Kn_{Itaipu} > Kn_{Itá}$, $p < 0,05$; $Kn_{Itá} > Kn_{Passo\ Fundo}$, $p < 0,05$). O fator de condição dos indivíduos coletados no reservatório de Itaipu variou entre 1,395 e 3,917 (média de $2,543 \pm 0,689$, $b = 2,40$, $r^2 = 0,720$) (Figura 24). Para o reservatório de Itá, esses valores variaram entre 1,094 e 2,217 (média de $1,397 \pm 0,319$, $b = 3,22$, $r^2 = 0,973$) (Figura 25), enquanto no reservatório de Passo Fundo estiveram entre 0,158 e 0,438 (média de $0,292 \pm 0,107$, $b = 3,69$, $r^2 = 0,652$) (Figura 26). Os indivíduos coletados no Rio Uruguai, em Iraí, não tiveram seus fatores de condição estimados devido ao seu baixo número amostral.

Para o reservatório de Itaipu, os maiores fatores de condição foram encontrados no outono/2011, apesar da impossibilidade de teste com análises estatísticas devido ao baixo número amostral, enquanto não foram significativamente diferentes entre a primavera/2010 e o verão/2011 ($p > 0,05$). No reservatório de Passo Fundo, os fatores de condição foram maiores no verão/2011 do que na primavera/2010 ($p < 0,05$), tendo nessa última estação valores semelhantes às demais, apesar da impossibilidade de teste através de análises estatísticas. Para o reservatório de Itá, os valores para indivíduos coletados no inverno/2010, na primavera/2010 e no outono/2011, não foram significativamente diferentes ($p > 0,05$), enquanto o valor para o verão/2011 foi superior, apesar da impossibilidade de avaliação dessa afirmação através de análises estatísticas.

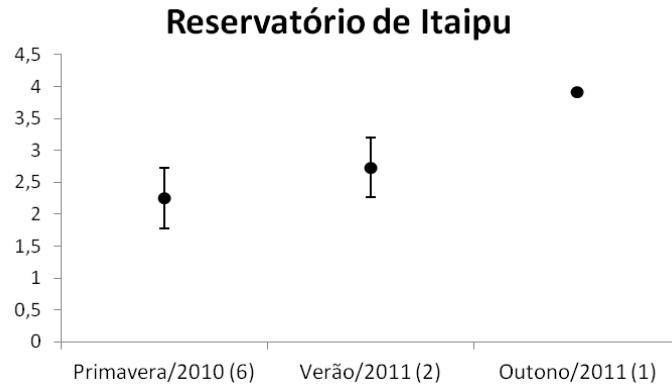


Figura 24. Fator de condição das tilápias *Oreochromis niloticus* coletadas no reservatório de Itaipu. Entre parenteses, o número de indivíduos amostrados.

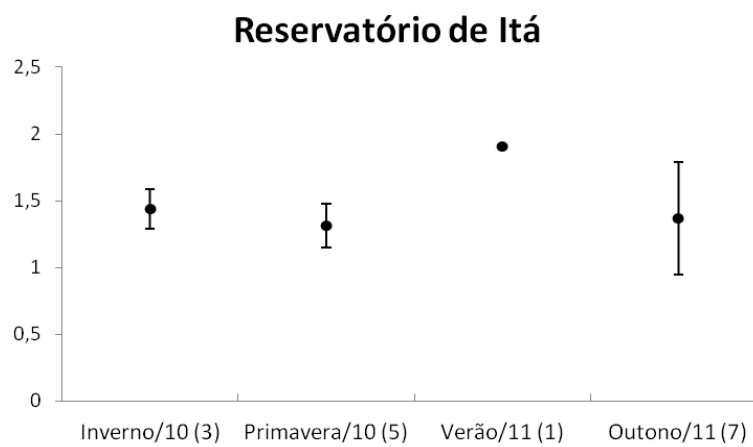


Figura 25. Fator de condição das tilápias *Oreochromis niloticus* coletadas no reservatório de Itá. Entre parenteses, o número de indivíduos amostrados.

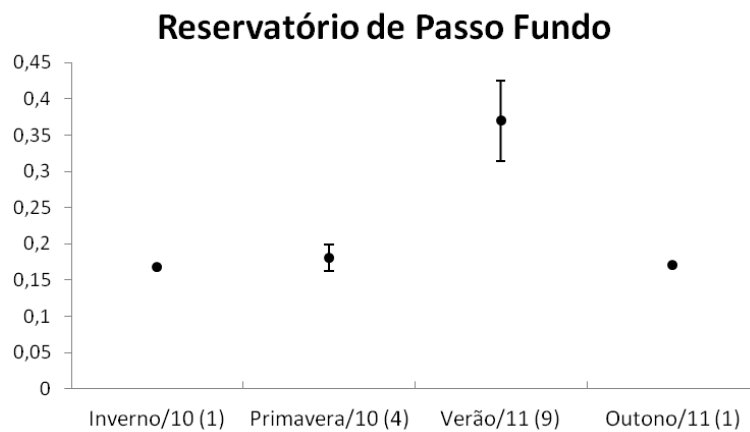


Figura 26. Fator de condição das tilápias *Oreochromis niloticus* coletadas no reservatório de Passo Fundo. Entre parenteses, o número de indivíduos amostrados.

Análise reprodutiva

Entre as tilápias *O. niloticus* coletadas, apenas as capturadas através de coleta científica e algumas provenientes de coleta profissional puderam ser identificadas quanto ao sexo e grau de maturação gonadal (total de 34 indivíduos). Nesse lote de indivíduos, foram capturados mais machos (58,8%) que fêmeas (41,2%).

Nenhuma fêmea nos estádios A (imaturo), B1 (em maturação inicial), D (esvaziamento/recuperação) e E (repouso) foi observada. Houve maior prevalência de fêmeas maduras (64,3%), seguida por fêmeas em maturação final (35,7%). Machos, por sua vez, foram observados nos estádios em maturação (65%), espermiado (em recuperação) (20%), maduro (10%) e imaturo (5%).

No Reservatório de Itaipu, foram coletados 5 machos e 5 fêmeas. Dessas, 40% (n=2) estavam em maturação final e 60% (n = 3) eram maduras, enquanto 80% (n = 4) dos machos estavam em maturação inicial e 20% (n = 1) espermiados (Figura 27).

Na Bacia do Rio Uruguai, 9 indivíduos coletados eram fêmeas (37%), e 15 eram machos (63%). Portanto, a sexagem revelou uma proporção de 1:1,67 (fêmeas:machos), não representando um desvio significativo da proporção 1:1 ($\chi^2 = 1,5$; $p > 0,05$). Das fêmeas analisadas, 67% (n = 6) estavam maduras e 33% (n = 3) estavam em maturação final. Entre os machos, 60% (n = 9) estavam em maturação inicial, 20% (n = 3) espermiados, 13% (n = 2) maduros e 7% (n = 1) virgem (Figura 28).

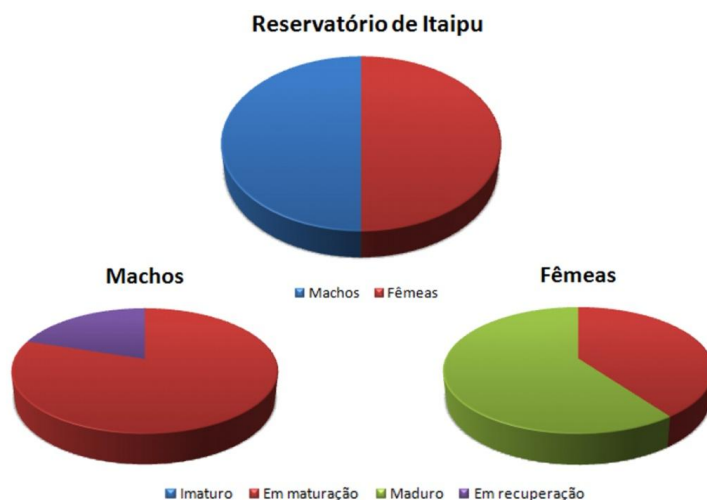


Figura 27. Proporção sexual e grau de maturação gonadal das Tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, coletadas no reservatório de Itaipu.



Figura 28. Proporção sexual e grau de maturação gonadal das Tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, coletadas através de pesca científica na bacia do Rio Uruguai.

Marcadores Microsatélites

Foram genotipados com sucesso todos os 15 indivíduos coletados nos pontos escolhidos no reservatório de Itaipu: 10 indivíduos em Santa Terezinha de Itaipu, 3 em Pato Bragado e 2 em Guaíra. A identificação das linhagens identificou 6 indivíduos híbridos entre linhagens em Santa Terezinha de Itaipu, sendo 5 híbridos entre as linhagens Saint Peter X Chitralada e 1 híbrido entre Saint Peter e Nilótica (Figura 29) (Tabela 12). Foram encontrados, ainda, 1 indivíduo puro da linhagem Nilótica e 3 indivíduos puros da linhagem Chitralada. Em Pato Bragado, foram encontrados 1 indivíduo da linhagem Saint Peter, 1 híbrido Nilótica X Saint Peter e 1 híbrido Saint Peter X Chitralada. Em Guaíra, foram identificados 1 indivíduo puro Nilótica e outro híbrido entre as linhagens Nilótica e Saint Peter.

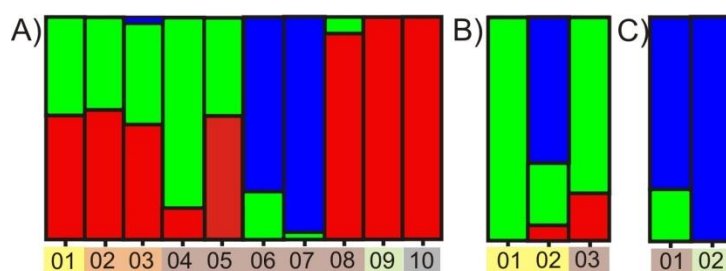


Figura 29. Identificação genética de indivíduos de *Oreochromis niloticus* coletadas em 4 pontos no Reservatório de Itaipu (A: Santa Terezinha de Itaipu; B: Pato Bragado; C: Guaíra). Em Itaipulândia não foram coletadas tilápias. Cada coluna é um indivíduo e cada barra demonstra a porcentagem do genótipo proveniente de cada linhagem. Azul: Nilótica; Verde: Saint Peter; Amarela: GIFT-GST; Vermelha: Chitralada. A cor do código das amostras representa sua estação de coleta. Amarelo: outono/2010; laranja: inverno/2010; marrom: primavera/2010; verde: verão/2011; cinza: outono/2011.

Tabela 12. Probabilidade posterior dos indivíduos da tilápia *Oreochromis niloticus* coletados no reservatório de Itaipu serem provenientes de determinada linhagem.

Região	Amostra	Coleta	GST-GIFT	Nilótica	Saint Peter	Chitralada
Santa Terezinha de Itaipu	01	Outono/2010	0.000	0.002	0.434	0.564
	02	Inverno/2010	0.000	0.007	0.413	0.580
	03	Inverno/2010	0.000	0.027	0.457	0.516
	04	Primavera/2010	0.001	0.006	0.850	0.142
	05	Primavera/2010	0.000	0.004	0.428	0.568
	06	Primavera/2010	0.000	0.777	0.222	0.001
	07	Primavera/2010	0.000	0.976	0.022	0.001
	08	Primavera/2010	0.000	0.001	0.073	0.926
	09	Verão/2011	0.000	0.000	0.000	1.000
	10	Outono/2011	0.002	0.000	0.006	0.992
Pato Bragado	01	Outono/2010	0.000	0.019	0.971	0.010
	02	Outono/2010	0.000	0.657	0.274	0.069
	03	Primavera/2010	0.000	0.005	0.783	0.212
Guairá	01	Primavera/2010	0.000	0.770	0.230	0.001
	02	Verão/2011	0.000	0.998	0.002	0.000

Todos os indivíduos coletados na bacia do Rio Uruguai foram genotipados, exceto um espécime coletado no reservatório de Itá no inverno/2010, para o qual não foi recolhida amostra de tecido para análises genéticas. Dessa forma, 44 tilápias *O. niloticus* tiveram suas linhagens genotipadas (Figura 30) (Tabela 13).

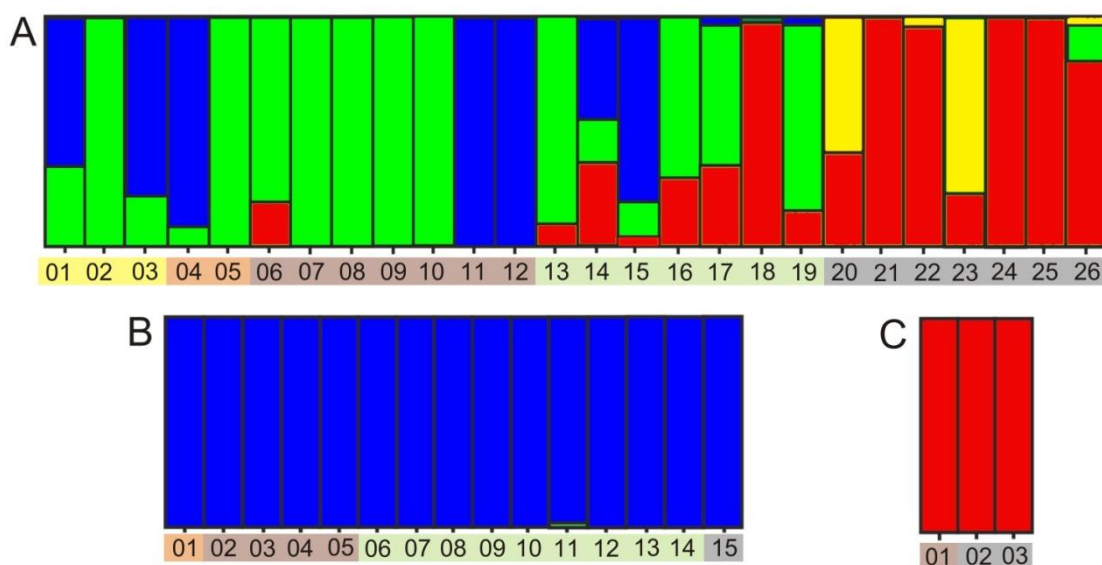


Figura 30. Identificação genética de indivíduos de *Oreochromis niloticus* coletadas em 4 pontos da bacia do Rio Uruguai (A: reservatório de Itá; B: reservatório de Passo Fundo; C: Rio Uruguai - Iraí). Cada coluna é um indivíduo e cada barra demonstra a porcentagem do genótipo proveniente de cada linhagem. Azul: Nilótica; Verde: Saint Peter; Amarela: GIFT-GST; Vermelha: Chitralada. A cor do código das amostras representa sua estação de coleta. Amarelo: outono/2010; laranja: inverno/2010; marrom: primavera/2010; verde: verão/2011; cinza: outono/2011.

Tabela 13. Probabilidade posterior dos indivíduos da tilápia *Oreochromis niloticus* coletados na bacia do Rio Uruguai de serem provenientes de determinada linhagem.

Região	Amostra	Coleta	GST-GIFT	Nilótica	Saint Peter	Chitralada
Reservatório de Itá	01	Outono/2010	0.000	0.645	0.355	0.001
	02	Outono/2010	0.000	0.003	0.997	0.000
	03	Outono/2010	0.000	0.774	0.222	0.003
	04	Inverno/2010	0.000	0.913	0.086	0.000
	05	Inverno/2010	0.000	0.005	0.994	0.000
	06	Primavera/2010	0.000	0.010	0.792	0.198
	07	Primavera/2010	0.000	0.007	0.973	0.020
	08	Primavera/2010	0.000	0.001	0.999	0.000
	09	Primavera/2010	0.000	0.044	0.938	0.018
	10	Primavera/2010	0.000	0.000	0.999	0.001
	11	Primavera/2010	0.000	0.986	0.014	0.000
	12	Primavera/2010	0.000	0.986	0.014	0.000
	13	Verão/2011	0.000	0.004	0.890	0.106
	14	Verão/2011	0.000	0.449	0.184	0.368
	15	Verão/2011	0.000	0.806	0.144	0.051
	16	Verão/2011	0.000	0.009	0.685	0.306
	17	Verão/2011	0.000	0.022	0.626	0.352
	18	Verão/2011	0.000	0.000	0.019	0.981
	19	Verão/2011	0.000	0.022	0.826	0.152
	20	Outono/2011	0.588	0.000	0.000	0.412
	21	Outono/2011	0.014	0.000	0.002	0.984
	22	Outono/2011	0.039	0.000	0.003	0.958
	23	Outono/2011	0.771	0.000	0.000	0.229
	24	Outono/2011	0.000	0.000	0.001	0.999
	25	Outono/2011	0.000	0.000	0.000	1.000
	26	Outono/2011	0.030	0.000	0.157	0.813
Reservatório de Passo Fundo	01	Inverno/2010	0.000	0.999	0.001	0.000
	02	Primavera/2010	0.000	1.000	0.000	0.000
	03	Primavera/2010	0.000	1.000	0.000	0.000
	04	Primavera/2010	0.000	1.000	0.000	0.000
	05	Primavera/2010	0.000	1.000	0.000	0.000
	06	Verão/2011	0.000	0.999	0.001	0.000
	07	Verão/2011	0.000	1.000	0.000	0.000
	08	Verão/2011	0.000	1.000	0.000	0.000
	09	Verão/2011	0.000	1.000	0.000	0.000
	10	Verão/2011	0.000	1.000	0.000	0.000
	11	Verão/2011	0.000	0.965	0.035	0.000
	12	Verão/2011	0.000	1.000	0.000	0.000
	13	Verão/2011	0.000	0.996	0.003	0.000
	14	Verão/2011	0.000	1.000	0.000	0.000
	15	Outono/2011	0.000	1.000	0.000	0.000
Rio Iraí	01	Primavera/2010	0.000	0.000	0.000	1.000
	02	Outono/2011	0.000	0.000	0.002	0.998
	03	Outono/2011	0.000	0.000	0.004	0.996

No reservatório de Itá, foram, então, coletados 6 indivíduos puros da linhagem Saint Peter, 5 puros da linhagem Chitralada, 3 puros de linhagem Nilótica e 12 híbridos: 3 Nilótica X Saint Peter, 6 Saint Peter x Chitralada, 1 Nilótica X Saint Peter X Chitralada e 2 Chitralada X GIFT-GST. Contudo, como a análise não é 100% eficiente

para diferenciação entre indivíduos das linhagens Chitralada X GIFT-GST, esses 2 últimos indivíduos podem ser puros de uma das linhagens.

Avaliando a diversidade genética dos estoques, foi detectada diferenciação genética entre os estoques coletados entre a primavera/2010 e outono/2011 ($F_{ST} = 0,173$, $p = 0,002$), inclusive para as amostras pareadas (Tabela 14). Além disso, o perfil genético dos indivíduos (*i.e.* suas linhagens) variou entre as diferentes estações, havendo predominância de indivíduos das linhagens Saint Peter e Nilótica nas três primeiras coletas, e da linhagem Chitralada duas últimas. As análises de desequilíbrio de Hardy-Weinberg demonstram que quatro dos nove *loci* não estão em equilíbrio (Tabela 15).

Tabela 14. Valores de F_{ST} (abaixo da diagonal) e seus respectivos p (acima da diagonal), comparando os indivíduos da Tilápia do Nilo coletados em cada estação do ano. Em negrito, valores de p significativos ($p < 0,05$). Indivíduos coletados no Outono/2010 e Inverno/2011 não foram incluídos na análise devido ao baixo número amostral.

Estação	Primavera/2010	Verão/2011	Outono/2011
Primavera/2010		0,161	0,000
Verão/2011	0,067		0,044
Outono/2011	0,302	0,127	

Tabela 15. Análise de equilíbrio de Hardy-Weinberg para os indivíduos *Oreochromis niloticus* coletados no reservatório de Itá, para os 9 loci utilizados. (H_o : heterozigose observada, H_e : heterozigose esperada). Em negrito, valores significativos de p .

Locus	H_o	H_e	p
UNH104	0,625	0,823	0,001
UNH118	0,812	0,838	0,017
UNH146	0,720	0,644	0,326
UNH160	0,438	0,583	0,006
UNH169	0,697	0,792	0,226
UNH178	0,806	0,816	0,813
UNH208	0,758	0,841	0,703
UNH211	0,818	0,869	0,171
UNH222	0,531	0,699	0,042

No reservatório de Passo Fundo, todas as 15 tilápias *O. niloticus* amostradas foram alocadas na linhagem nilótica, sem nenhum demonstrativo de introgressão de genes de outras linhagens. Não foi possível realizar análises estatisticamente relevantes devido aos baixos tamanhos amostrais das coletas.

Os 3 indivíduos coletados no Rio Uruguai em Iraí pertencem à linhagem Chitralada.

Análise de conteúdo estomacal

Um total de 41 espécimes de Tilápia do Nilo tiveram seu estômago dissecado e seu conteúdo estomacal examinado (nesta análise, também foram incluídos indivíduos capturados por pescadores). Em ambos os sistemas hidrológicos, foi encontrada grande quantidade de uma “massa pastosa” com granulometria, semelhante a rações utilizadas em pisciculturas¹.

No Reservatório de Itaipu, considerando-se todos os indivíduos com estômagos amostrados neste sistema (n = 9), foi observada uma significativa contribuição de ração comercial (Figura 31). Esse item alimentar foi o segundo em frequência de ocorrência (44,4%), volume (35,6%) e índice alimentar (30,3%), atrás apenas de restos vegetais (Tabela 16).

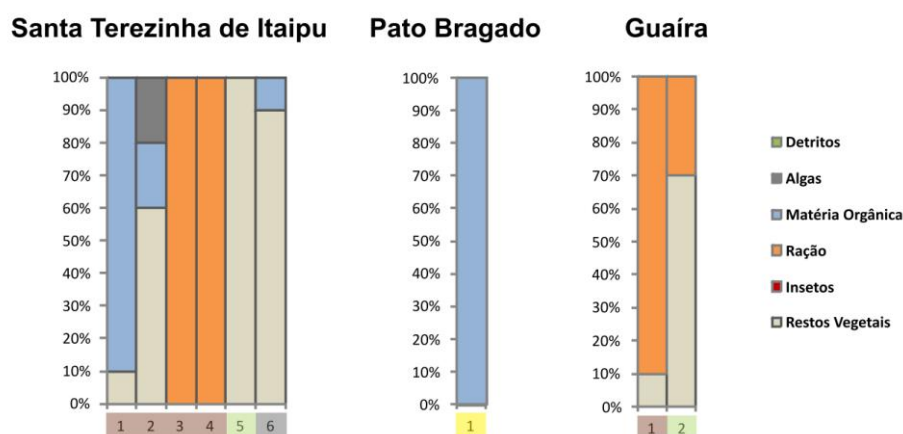


Figura 31. Composição da dieta da tilápia *Oreochromis niloticus* coletada no reservatório de Itaipu. A cor do código das amostras representa sua estação de coleta. Amarelo: outono/2010; laranja: inverno/2010; marrom: primavera/2010; verde: verão/2011; cinza: outono/2011.

Tabela 16. Composição da dieta, frequência de ocorrência (*F*), volume relativo (*V*) e índice alimentar (*IA*) dos itens alimentares consumidos por *Oreochromis niloticus* no reservatório de Itaipu.

Itens alimentares	<i>F</i>	<i>V</i>	<i>IA</i>
Restos Vegetais	66,7 %	37,8 %	48,4 %
Ração	44,4 %	35,6 %	30,3 %
Matéria Orgânica	44,4 %	24,4 %	20,8 %
Algas	11,1 %	2,2 %	0,5 %

¹ Para testar a hipótese da “massa pastosa” com granulometria semelhante a ração ser efetivamente ração comercial, estômagos de dois indivíduos provenientes de pisciculturas e recém alimentados com ração comercial foram dissecado e analisados juntamente com espécimes coletados no ambiente, em um “teste cego”. Em ambos os indivíduos analisados, o item “massa pastosa” foi identificado como importante componente do conteúdo estomacal, corroborando com a hipótese de que tal produto é ração comercial.

Na bacia do Rio Uruguai, foram examinados 32 estômagos e, assim como em Itaipu, foi observada uma relevante contribuição de ração comercial (Figura 32). Esse item alimentar foi o terceiro em frequência de ocorrência (25%) e volume (20,2%), compondo 11,8% dos itens alimentares. Restos vegetais e a matéria orgânica compuseram as maiores contribuições nas dietas dos peixes (Tabela 17).

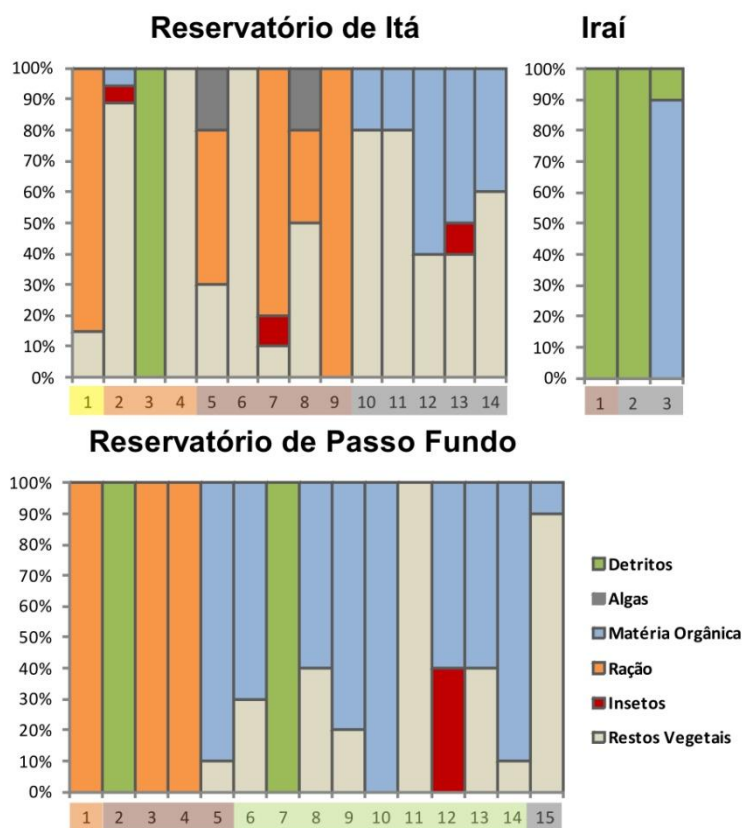


Figura 32. Composição da dieta da tilápia *Oreochromis niloticus* coletada na bacia do Rio Uruguai. A cor do código das amostras representa sua estação de coleta. Amarelo: outono/2010; laranja: inverno/2010; marrom: primavera/2010; verde: verão/2011; cinza: outono/2011.

Tabela 17. Composição da dieta, frequência de ocorrência (*F*), volume relativo (*V*) e índice alimentar (*IA*) dos itens alimentares consumidos por *Oreochromis niloticus* na bacia do Rio Uruguai.

Itens alimentares	<i>F</i>	<i>V</i>	<i>IA</i>
Restos Vegetais	62,5 %	32,3 %	47,3 %
Matéria Orgânica	50 %	28,3 %	33,1 %
Ração	25 %	20,2 %	11,8 %
Detritos	18,8 %	15,9 %	7,0 %
Insetos	12,5 %	2,0 %	0,6 %
Algas	6,2 %	1,3 %	0,2

DISCUSSÃO

Abundância e distribuição do estoque

Os dados desse estudo demonstram baixas abundâncias e frequências de ocorrência de *O. niloticus*, tanto no Reservatório de Itaipu, quanto na Bacia do Rio Uruguai. Esses dados rejeitam a hipótese de existência de populações autossustentáveis da espécie nesses sistemas naturais.

Quando populações de tilápias encontram-se estabelecidas, por outro lado, se tornam a espécie numericamente dominante em uma variedade de habitats naturais (Canonico *et al.*, 2005). Diversos exemplos têm demonstrado tais fenômenos. Na Itália, *O. niloticus* têm dominado a estrutura de ictiocenoses de 2 riachos termais da região de Vêneto, chegando a representar até 77% da biomassa total (Bianco & Turin, 2010), e de riachos da Toscana, onde chegam a compor 84,1% da ictiofauna (Piazzini *et al.*, 2010). No Lago Victória, o clássico estabelecimento da Tilápia do Nilo fora de sua área natural, *O. niloticus* compõe entre 45 e 65 % da biomassa de peixes (Balirwa, 1998). Em Moçambique, Weyl (2008) descreve um rápido estabelecimento de tilápias no lago Chicamba. Em apenas um ano, entre os primeiros trimestres de 1996 e 1997, a abundância relativa de *O. niloticus* cresceu de 4,8% para 19%, de 0% a 42,8% e de 4,1% a 47,2% para pesca experimental em rede de espera e pescas artesanais em barcos e redes de espera, respectivamente. No reservatório Guajáro, Colômbia, a Tilápia do Nilo é o peixe mais abundante, compondo 53% do recurso pesqueiro na região (Caraballo, 2009). No rio Colorado, tilápias chegam a representar 90% da biomassa em algumas áreas (Fitzsimmons, 2005), fato que justifica a restrição de seu cultivo em muitos estados do sudoeste (Courtenay, 1997). Peterson *et al.* (2004, 2005) encontrou *O. niloticus* como o segundo grupo mais abundante em um ambiente com temperatura alterada na costa do estado norte americano do Mississippi.

No Brasil, existem algumas descrições semelhantes. Agostinho *et al.* (2007) em um levantamento de dados ictiológicos e da importância de tilápias na pesca de 77 diferentes reservatórios da bacia do Rio Paraná, Amazonas e do Nordeste, descreve a presença de *O. niloticus* em pouco mais de 20% deles, sendo a espécie dominante em reservatórios na região nordeste, onde chegam a compor 66,6% de peixes pescados (Dias, 2006).

No reservatório de Itaipu, contudo, as baixas abundância e representatividade entre os grupos coletados (*i.e.* frequência de ocorrência de 0,05%) são fortes indicativos de que as tilápias coletadas não são provenientes de populações estabelecidas na região. Outros estudos para a região demonstram resultados semelhantes. Benedito-Cecílio & Agostinho (2000) não encontraram a espécie *O.*

niloticus entre as dominantes na área de influência do reservatório de Itaipu, enquanto Agostinho *et al.* (1997) descreve *O. niloticus* presente, mas rara, apenas em lagoas marginais e riachos do Rio Paraná, entre a foz do Paranapanema e reservatório de Itaipu.

A baixa frequência de captura de tilápias parece ser comum para a bacia do Rio Paraná. Em nenhum reservatório da bacia Agostinho *et al.* (2007) descrevem a Tilápia do Nilo como espécie dominante. Luiz *et al.* (2003), da mesma forma, realizou coletas em seis reservatório no estado do Paraná (Capivari, Guaricana, Alagados, Fiú, Mourão e Rio dos Patos) e encontrou *O. niloticus* com abundâncias moderada no reservatório de Capivari e rara nos reservatório de Mourão e Fiú, enquanto não foram coletados nas demais regiões. Agostinho *et al.* (1999), da mesma forma, descreve abundância de *O. niloticus* de 0,06% no reservatório de Salto Caxias, descrevendo os indivíduos como provenientes de escapes de piscicultura, não de populações estabelecidas no ambiente natural. Cunico (2010), avaliando a ictiofauna em 10 riachos da parte norte paranaense da bacia do Paranapanema, encontrou tilápias *O. niloticus* em 3 deles, mas em frequência de ocorrência igualmente baixa (0,53%; 0,05% e 0,13% nos rios Zaúna, Água Queçaba e Guaiapó, respectivamente).

Apesar da baixa quantidade de tilápias coletadas na bacia do Rio Paraná, tal grupo possui grande importância na pesca em alguns reservatórios (*e.g.* Água Vermelha, Furnas, Mascarenhas de Moraes, Billings) (Agostinho *et al.*, 2007), demonstrando possível existência de populações estabelecidas. Em contrapartida, no reservatório de Itaipu, as tilápias não são exploradas comercialmente (Agostinho *et al.*, 2004), sendo apenas as espécies nativas (79,9%) e a corvina *Plagioscion squamosissimus* (20,1%) os peixes explorados.

Assim sendo, esses estudos indicam possível capacidade de colonização das Tilápias do Nilo em alguns reservatórios em latitudes menores da bacia do Paraná, ainda que sem dominância dessa espécie, enquanto há baixa capacidade de colonização dessas nas latitudes do estado do Paraná.

Uma característica da Tilápia do Nilo que suporta sua grande capacidade de colonização é sua grande capacidade competitiva com outras espécies de ciclídeos (McKaye *et al.*, 1995; Lowe-McConnell, 2000; Canonico, 2005; Ahmad *et al.*, 2010), de forma que a biomassa de ciclídeos nativos está negativamente correlacionada com a presença das tilápias (McKaye *et al.*, 1995). Entretanto, no reservatório de Itaipu, tal espécie foi coletada em quantidade muito inferior em relação a outro ciclídeo nativo: 1 *O. niloticus* para 257,5 *Geophagus* spp..

A grande flutuação na quantidade de indivíduos capturados no reservatório de Itaipu, da mesma forma, indica ausência de populações estabelecidas no sistema hidrológico. Flutuações populacionais em peixes podem ser causadas por migração ou ciclos reprodutivos e de mortalidade. Em lagos, contudo, as condições mais estáveis possibilitam uma menor movimentação e reprodução contínua ao longo do ano todo (Lowe-McConeell, 1999). Apesar da ausência de uniformidade entre as coletas científica no reservatório de Itaipu, foram capturadas tilápias em apenas uma campanha (*i.e.* verão/2011), ou seja, em 20% das coletas, o que indica que tais indivíduos são provenientes de fugas esporádicas de pontos de piscicultura.

Na bacia do rio Uruguai, da mesma forma, baixas quantidades absolutas e relativas de *O. niloticus* foram encontradas.

Apesar de este ser o ponto de coleta com maior número amostral de *O. niloticus* (26 indivíduos, sendo 9 em pesca científica e 18 em pesca profissional), no reservatório de Itá foi capturado a maior quantidade total de peixes (642 indivíduos), acarretando em baixa frequência relativa de tilápias (1,4%). Além disso, demonstrou-se sazonalidade na coleta através de pesca científica, sendo capturadas tilápias em 60% das coletas.

No mesmo reservatório, Guareschi (dados não publicados), realizou coletas regulares ao longo de 10 anos (2001-2010). Nesse estudo, foi capturado um total de 71 tilápias (0,096%), sem distinção entre as espécies *O. niloticus* e *T. rendalli*. Entretanto, as frequências de coleta variaram de 0% (anos de 2003 e 2010) a 0,5% (em 2004), sendo que em apenas um ponto foram coletadas 51 espécimes (71,8% do total de tilápias coletadas). Nessa localidade, apenas em 2004, 33 dos 51 indivíduos foram coletados (64,7%). Dessa forma, a baixa frequência e a alta sazonalidade de coleta de tilápias nessas regiões, encontrada tanto no presente trabalho, quanto no trabalho de Guareschi (dados não publicados), não suportam a hipótese de estabelecimento de populações autossustentáveis da espécie.

No reservatório de Passo Fundo, foram coletados 15 indivíduos de *O. niloticus* (frequência de ocorrência de 3,22%), com picos de captura de 9 espécimes (frequência de ocorrência de 6,87%) no verão/2011, e nenhum indivíduo coletado no inverno/2010. Nesse reservatório e em suas áreas a montante e jusante, Hahn (dados não publicados) realizou um levantamento ictiofaunístico no qual encontrou, da mesma forma, baixas frequências de ocorrência de *O. niloticus*, valores de 0,2% para o sistema e 0,6% para o reservatório, único lugar onde a Tilápia do Nilo foi capturada. As coletas foram realizadas sazonalmente entre 2005 e 2008, amostrando-se um total de 26 pontos: 10 pontos nas áreas de confluência entre rios-reservatório, 7 pontos no

Reservatório da UHE de Passo Fundo, 3 pontos no rio Passo Fundo (a jusante do reservatório) e 6 pontos no rio Erechim (a jusante do reservatório). Tal resultado corrobora com os padrões encontrados no presente estudo e permite inferir a baixa capacidade de estabelecimento desta espécie nessa região.

Nos outros pontos amostrados, a baixa quantidade de tilápias encontradas na calha do Rio Uruguai em Iraí (*i.e.* 1 indivíduos em coletas científicas) e a ausência de indivíduos coletados no Rio Ijuí, demonstram o não estabelecimento de populações dessa espécie nessas regiões, de forma que os indivíduos capturados na calha do Rio Uruguai, em Iraí, são provenientes de escapes de pontos de piscicultura.

Vários outros pesquisadores têm realizado coletas em diversos outros pontos da bacia do Rio Uruguai, descrevendo, de maneira semelhante, baixas frequências de ocorrência de tilápias. Em estudo realizado por Zaniboni Filho (dados não publicados) na calha principal do Rio Uruguai e seus principais afluentes, de 1995 a 2003, entre os municípios de Anita Garibaldi (Rio Pelotas) e Celso Ramos (Rio Canoas) até a confluência com o rio Chapecó (município de São Carlos), foram coletados apenas 8 espécimes (0,01%). Da mesma forma, Guareschi (dados não publicados), realizou coletas regulares ao longo do ano nos reservatórios das UHEs de Barra Grande (Rio Pelotas) e Machadinho (Rio Pelotas), desde 1998 e 2006, respectivamente, até 2010. Nesses reservatórios, apenas 2 tilápias foram coletadas em Barra Grande e 1 em Machadinho, todas identificadas como *T. rendalli*.

Coldebela (dados não publicados), em uma série de coletas conduzidas no Rio Fortaleza (PCHs Frederico Cerutti, Carlos Bevilacqua, Granja Velha e Braga), no Rio do Mel (Ametista do Sul e Iraí – RS), no Rio São Domingos (Cunha Porã – SC) e no Rio Jabuticaba (Novo Tiradentes – RS), capturou apenas 4 tilápias do Nilo de um total de 5.151 peixes coletados (0,08%), sendo 2 indivíduos no Rio São Domingos e 2 indivíduos no Rio Fortaleza. Esses dados reforçam que os escapes de pisciculturas são as causas da coleta desses indivíduos na bacia.

Em trabalhos de inventariamento e monitoramento de ictiofauna realizados por Ferreira (dados não publicados) na região de Ijuí, foram coletados um total de 2.582 exemplares de peixes, sem registros de *O. niloticus*. José Francisco Pezzi da Silva (dados não publicados), da mesma forma, realizou coletas regulares nos reservatórios das UHEs de São João e de São José, na bacia do Rio Ijuí, desde 2009, e de Monjolinho, no Rio Passo Fundo, desde 2007, coletando apenas 1 espécime de tilápia, nessa última localidade.

Em diversas outras regiões da bacia do Rio Uruguai, não há descrição de capturas de tilápias, como em arroios em Uruguaiana (Azevero *et al.*, 2003; Pessano

et al., 2005ab), e nos rios Jaguari (Copatti *et al.*, 2009), afluente do rio Ibicuí; Butiá e Caranguatá, afluentes do rio Passo Fundo (Câmara & Hahn, 2002). Dados de estatística pesqueira demonstram, ainda, que tal grupo não está entre as 41 espécies mais exploradas por pescadores artesanais no Rio Grande do Sul (Garcez & Sánchez-Botero, 2005).

Assim, mesmo considerando o grande potencial invasor das tilápias, principalmente em reservatórios (Lowe-McConnell, 1999), os resultados de abundância e distribuição da espécie nas pescas comercial e científica desse e de estudos anteriores, suportam a hipótese de as tilápias não estão estabelecidas nos sistemas hidrológicos analisados. Contudo, cabe ressaltar que a utilização de uma combinação de baixa quantidade de petrechos (*i.e.* rede de espera e arrasto) pode diminuir a verossimilhança dos resultados, uma vez que pode selecionar grupos com determinadas características. Apesar da utilização de outros petrechos de pesca (*i.e.* espinhel, linha), ainda, não foi realizada uma padronização completa dos protocolos de coletas, sendo que tais equipamentos não foram utilizados em todas as coletas e/ou em todos os pontos. Dessa forma, a utilização de uma maior combinação de petrechos de pesca, como rede de espera, linha, tarrafa, rede de arrasto ou pesca submarina, é aconselhável e aumentará a confiabilidade das análises.

Apesar disso, os dados de abundância obtidos nesse trabalho para ambos os sistemas hidrológicos estudados corroboram a baixa frequência de tilápias encontrados em outros estudos para ambos os sistemas hidrográficos, em estudos realizados nos últimos 20 anos, inclusive, suportando a baixa capacidade de estabelecimento da Tilápia do Nilo para os sistemas hidrológicos estudados.

Estrutura do estoque

Segundo o conceito de Williamson & Fitter (1996) e Agostinho *et al.* (2007), espécies estabelecidas possuem populações autossustentáveis capazes de completar seu ciclo de vida no ambiente natural. Dessa forma, uma análise do recrutamento dos indivíduos provenientes da reprodução é importante no teste de estabelecimento de uma população. Tal fator pode ser testado analisando a estrutura de tamanhos de corpo dos animais capturados em uma determinada região. O padrão que se observa na existência de populações estabelecidas é de uma maior frequência de pequenos animais decorrente da inevitável mortalidade acumulada.

Tanto reservatório de Itaipu e na bacia do Rio Uruguai, indivíduos de *O. niloticus* de pequeno porte não foram coletados, apesar da utilização de petrechos de coleta de diferentes seletividades (*i.e.* diferentes malhas de redes de espera e pesca

de arrasto), e os histogramas de frequência das diferentes classes de tamanhos dos indivíduos capturados diferiu do esperado para populações estabelecidas (e.g. Peterson *et al.*, 2004, 2005; Bwanika *et al.*, 2007; Britton *et al.*, 2009; Zaganini, 2009; Bianco & Turin, 2010; Piazzini *et al.* 2010). Tais evidências sugerem que não está ocorrendo recrutamento nos estoques de *O. niloticus*. Por esse motivo, a conclusão é que os estoques de tilápia do Nilo presentes no reservatório de Itaipu e na Bacia do rio Uruguai não representam populações autossustentáveis e, portanto, não representam populações estabelecidas.

Análise reprodutiva

Em um cenário de populações estabelecidas, esperar-se-ia razão sexual próxima de 1 macho : 1 fêmea, como nos trabalhos de Balirwa (1998), Njuru *et al.* (2006) e Offen *et al.* (2009), enquanto no cenário de que os indivíduos capturados são produto de fugas de pisciculturas, seria esperado razão sexual de aproximadamente 19 machos para 1 fêmea. Isso se deve ao fato do modelo de produção de tilápia prever o cultivo de indivíduos sexualmente revertidos para macho, com sucesso de reversão entre 95-99%. Essa estratégia aumenta o crescimento dos indivíduos (e.g. Leonhardt & Urbinati, 1998), diminui a perda de produtividade por reprodução nos viveiros de criação (Tepaudi & Amaral Junior, 2009), e reduz o risco de estabelecimento de populações em ambiente natural (Senanan & Bart, sem data). A maturação sexual precoce e a reprodução indesejada de tilápias são consideradas os principais fatores limitantes na produtividade dos cultivos por provocarem superpovoamento e uma redução na taxa de crescimento (Mair, 2002).

Em ambos os sistemas hidrológicos analisados, a frequência de fêmeas e machos coletados não foi significativamente diferente de 1:1, indicando a existência de populações de tilápias estabelecidas nas regiões.

Em contrapartida, não foram encontradas fêmeas esvaziadas (em recuperação). Apesar da presença de fêmeas desovadas não indicar necessariamente a existência de populações estabelecidas (Williamson & Fitter, 1996; Agostinho *et al.*, 2007), sua ausência é forte indicativo da inexistência de reprodução dos indivíduos no ambiente.

Dessa forma, enquanto a razão sexual encontrada para os sistemas hidrológicos não rejeitou a hipótese de estabelecimento de populações de *O. niloticus*, a ausência de fêmeas desovadas a rejeita.

Marcadores Microsatélites

Inicialmente, a presença indivíduos híbridos entre linhagens no ambiente indica reprodução de tilápias no reservatório de Itaipu. Entretanto, essa inferência não necessariamente é verdadeira. Devido a detecção de indivíduos híbridos entre linhagens sendo produzidas na região (Baggio, capítulo 1), tais indivíduos coletados no ambiente podem representar escapes de pisciculturas que os cultivam. Baggio (Capítulo I) detectou híbridos entre linhagens quando identificou molecularmente as linhagens produzidas por apenas oito das maiores propriedades produtoras de tilápias da região, de um total de mais de 300 licenças emitidas pelo IAP para produção de tilápias na região (Freire Maranhão, comunicação pessoal). O número de pisciculturas na região deve, ainda, ser maior devido às pisciculturas sem licença ambiental, muitas das quais de subsistência, que não realizam manejo adequado dos estoques e carecem de infraestrutura de contenção de escapes (e.g. Orsi & Agostinho, 1999; Castellani & Barrella, 2005). Essas propriedades, portanto, devem tanto produzir híbridos com maior frequência, quanto serem susceptíveis a escapes (Orsi & Agostinho, 1999).

A presença de indivíduos de linhagens puras, contudo, é particularmente importante na definição da procedência das tilápias capturadas reservatório de Itaipu. Uma vez que são produzidas linhagens puras nas propriedades do entorno do reservatório de Itaipu (Baggio, Capítulo 1), indivíduos de linhagens puras de tilápias coletadas no ambiente muito provavelmente representam animais de escapes de cultivos. Adicionalmente, sua alta frequência (40,0%) indica que essas fugas possuem grande importância na determinação da quantidade de indivíduos presentes no ambiente.

Se a colonização por populações da Tilápia do Nilo estivesse ocorrendo no reservatório de Itaipu, ainda, seria esperada a dominância de um único perfil genético (*i.e.* indivíduos com mesmo padrão de hibridização entre as linhagens), produto da hibridização intensa entre linhagens cultivadas, e a presença de poucos animais de linhagens puras, esses fruto de fugas de pisciculturas. Esse padrão genético, ainda, deveria se manter ao longo do tempo, como uma população panmítica com pouca influência dos fatores evolutivos. Contudo, não foi observada uniformidade do perfil genético das tilápias capturadas, nem entre indivíduos coletados numa mesma campanha, nem entre indivíduos coletados em diferentes coletas, apesar da impossibilidade de realização de análises estatísticas devido ao baixo número amostral. Tal resultado é mais compatível com a hipótese de não estabelecimento de populações autossustentáveis de tilápias na região.

No reservatório de Itá, foram identificadas as linhagens de todos os indivíduos coletados, sendo 14 espécimes provenientes de linhagens puras e 12 híbridos. Apesar desses últimos não serem observados nas pisciculturas por Baggio (Capítulo 1), não é possível afirmar que a presença de híbridos coletados no ambiente seja produto de reprodução de tilápias no reservatório. A ausência de dados e estudos sobre número de cultivos e quais linhagens são cultivadas na bacia, devido a sua proibição, limitam as inferências sobre a estrutura do cultivo na região. Entretanto, o cultivo de híbridos entre linhagens na região é provável, devido ao caráter familiar disseminado em diversas pisciculturas nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul (e.g. Bristot, 2008; Baldisserotto, 2009; Cardoso *et al.*, 2009; Schirmer & Cardoso, 2011). Além disso, a presença de 14 indivíduos de linhagens puras (53,8%) indica que escapes são importantes para determinar a abundância de tilápias no reservatório. Da mesma forma, ausência de uniformidade no perfil genético dos indivíduos (*i.e.* presença de diferentes perfis genéticos dos indivíduos), presença de diferenciação genética entre estoques coletados nas diferentes estações (*i.e.* $F_{ST} = 0,173$, $p = 0,002$) e desvio de equilíbrio de Hardy-Weinberg para alguns *loci* foram encontrados, características não esperadas para populações estabelecidas. Dessa forma, escape de indivíduos de pontos de piscicultura provavelmente é o agente causador da presença de tilápias no reservatório de Itá, não havendo indicativos de que exista uma população de tilápias estabelecidas na região.

No reservatório de Passo Fundo, todas as tilápias *O. niloticus* amostradas foram identificadas como indivíduos da linhagem nilótica, sem nenhum demonstrativo de introgressão de genes de outras linhagens. Esse é, mais uma vez, uma forte evidência de que elas representem o produto de fugas de pisciculturas, nesse caso, produtoras da tilápia nilótica. Baggio (Capítulo I) demonstra que tal linhagem é cultivada na região, em uma propriedade grande que possivelmente fornece indivíduos para outras propriedades. Além disso, grandes fazendas estão presentes na região do entorno ao reservatório de Passo Fundo, as quais podem manter tanques com tilápia da linhagem nilótica e serem fontes de fuga de indivíduos para o ambiente.

Da mesma forma, todos os indivíduos coletados em Iraí pertencem à linhagem Chitralada que, devido ao seu baixo número e por serem de linhagem pura, provavelmente escaparam de pisciculturas da região. Tal linhagem é produzida em uma piscicultura em Frederico Westphalen, a 30 km do ponto de coleta, que distribui alevinos para outras pisciculturas realizarem a engorda (Baggio, Capítulo I).

Assim, o perfil genético dos indivíduos capturados no ambiente, semelhante aos produzidos na região, a diversidade dos perfis genéticos e sua variabilidade entre

as coletas encontrados nas tilápias coletadas na bacia do Rio Uruguai e no reservatório de Itaipu, representam fortes indícios de que os ambientes não foram efetivamente colonizados por *O. niloticus*.

Análise de conteúdo estomacal

Nas análises de interação trófica, sob o cenário de populações estabelecidas, previa-se que a enorme maioria dos animais amostrados apresentariam itens alimentares associados aos recursos disponíveis nos ambientes naturais. Contudo, ração comercial foi o segundo e o terceiro item alimentar mais importante para o reservatório de Itaipu e a bacia do Rio Uruguai, respectivamente, e esteve constantemente presente em todos os períodos amostrados.

Tilápias possuem tempo de digestão bastante reduzido. Para *Oreochromis mossambicus*, por exemplo, Doupé & Knott (2010) demonstraram que a digestão ocorre geralmente em até 1 hora após o consumo da presa, sem nenhum resquício do alimento após 24 horas da ingestão. Considerando que *O. niloticus* tenha o mesmo tempo de digestão, observa-se que muitos dos indivíduos foram coletados em menos de 1 dia após seu escape da piscicultura. Por esse motivo, demonstra-se que significativa quantidade de tilápias capturadas é provenientes de fuga de pontos de piscicultura.

Estabelecimento

Considerando os diversos marcadores utilizados (*i.e.* dados de abundância, distribuição temporal, estrutura de estoque, marcadores moleculares, desenvolvimento gonadal e dieta), não existe nenhuma evidência de que *O. niloticus* tenha sido capaz de se estabelecer nos sistemas naturais do reservatório de Itaipu e da bacia do rio Uruguai, sendo os indivíduos capturados provenientes de fugas de pisciculturas das regiões (Tabela 18). Apesar da utilização de poucos petrechos de coleta, cada qual com sua seletividade, e da ausência de uniformidade entre as campanhas e os pontos de coleta, tais resultados corroboram a baixa abundância de tilápias de diversos outros estudos, realizados, inclusive, com diferentes petrechos de coleta.

Tabela 18. Características esperadas para populações estabelecidas e não estabelecidas da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, no reservatório de Itaipu e na bacia do Rio Uruguai. Em azul escuro, aquelas encontradas para os sistemas hidrológicos.

Fonte	Hipóteses	
	H ₀ : estabelecida	H ₁ : não estabelecida
Estrutura da comunidade	Número de tilápias relativamente elevado	Número de tilápias relativamente reduzido
População	Estrutura de tamanho sugerindo recrutamento	Estrutura de tamanho sem padrão de recrutamento
	Coleta de indivíduos constante entre campanhas	Coleta sazonal de indivíduos
Reprodução	Proporção sexual próxima a 1:1	Proporção sexual distante de 1:1
	Fêmeas com ovários esgotados	Ausência de fêmeas com ovários esvaziados
Linhagens genéticas	Domínio de animais híbridos não encontrados nas pisciculturas do entorno	Domínio de animais híbridos ou de linhagens puras encontrados nas pisciculturas do entorno
	Manutenção temporal do perfil genético	Perfil genético de animais capturados varia temporalmente
Estrutura genética	Similar ao longo do ano	Variável ao longo do ano
Posição Trófica	Prevalência de itens alimentares encontrados no ambiente	Ração como frequente item alimentar

A razão sexual próxima a 1:1, único indício de existência de populações estabelecidas, dessa forma, não deve representar tal cenário, mas sim, problemas de manejo dos estoques nas pisciculturas. Considerando o excesso de fêmeas coletadas no ambiente em relação ao esperado, dois cenários são possíveis e não mutuamente excludentes: a reversão sexual não está sendo realizada corretamente, com mínimo de 95% de machos sendo produzidos; ou há reprodução das tilápias nos tanques e açudes de pisciculturas. A detecção de híbridos em pisciculturas (Baggio, Capítulo 1) corrobora com a segunda hipótese, e a frequência de híbridos coletados no ambiente demonstra que tal fenômeno deve ser algo frequente em pisciculturas de ambos os sistemas hidrológicos.

Tilápias podem ser facilmente produzidas em uma vasta amplitude de ambientes (*i.e.* desde unidades de subsistência - ou “fundo de quintal” - até regimes intensivos) (Coward & Little, 2001). Devido a isso, as ausências de manejo adequado, evidenciada pela produção de indivíduos não revertidos e de híbridos entre linhagens pelas pisciculturas, de mão de obra qualificada e de infraestrutura adequada nas propriedades devem ser frequentes. Tais características presentes em diversas

pisciculturas foram identificadas como os principais agentes causadores de escapes de espécies de peixes em propriedades às margens dos Rios Paranapanema e Tibagi por Orsi & Agostinho (1999), muitas das quais localizadas em região de mata ciliar e sem estruturas de contenção de escapes. Nesse trabalho os autores estimaram, segundo entrevistas com piscicultores, fugas da tilápia do Nilo em 24% das propriedades, perfazendo um total de 315 mil indivíduos introduzidos apenas em janeiro de 1997. Da mesma forma, Castellani & Barrella (2005), em visita a pisciculturas e entrevistas com piscicultores da região do Vale do Ribeira, encontraram escapes de *O. niloticus* em mais de 70% das propriedades e ausência de telas de escoamentos em 16% delas. Em estudo de Fernandes *et al.* (2003), proprietários de pesque-pagues em Maringá admitiram que liberam indivíduos de espécies exóticas em rios, principalmente na época de secagem dos tanques. O desconhecimento sobre a legislação e sobre os impactos da introdução de espécies exóticas foram as principais justificativas dos piscicultores para tal atitude. Além disso, os autores observaram ocorrência de reprodução nos tanques, fator que pode gerar híbridos entre linhagens. Estudos que descrevam a piscicultura na região do reservatório de Itaipu são escassos. Entretanto, considerando a grande disseminação de produtores de tilápias na região, é provável que exista um padrão semelhante aos citados nas pisciculturas dessa região e, conseqüentemente, que ocorram escapes de tilápias com frequência.

Tais problemas devem ser igualmente frequentes na região da bacia do Rio Uruguai. Cardoso *et al.* (2009) e Schirmer & Cardoso (2011) descrevem a piscicultura como um negócio basicamente familiar e economicamente complementar em Santa Maria e Agudo, respectivamente, na região central do Rio Grande do Sul. Em Santa Catarina, segundo a EPAGRI/CEDAP, 82% das pisciculturas são classificadas nessas mesmas categorias (16350 propriedades), valor que aumenta para 92,5% se considerada apenas a região oeste do estado (Bristot, 2008). Além disso, cerca de 95% dessas propriedades não possui licença ambiental. As propriedades produtoras de tilápias na região da bacia do Rio Uruguai provavelmente devem apresentar o mesmo perfil, não possuindo infraestrutura e mão de obra qualificada para o manejo correto da tilápia, conduzindo aos mesmos problemas de reprodução em tanques e escapes encontrados nos estudos de Orsi & Agostinho (1999), Fernandes *et al.* (2003) e Castellani & Barrella (2005).

O início desses problemas se dá com a construção de viveiros sem critérios técnicos e ambientais, incentivada pelos governos municipal, estadual e federal nos anos 80, sem a preocupação com segurança no confinamento e aspectos sanitários, o que gerou a construção de pisciculturas irregulares e inadequadas tecnicamente e

ambientalmente (Ostrensky *et al.*, 2008). Muitas dessas foram instaladas, inclusive, em APPs (Agostinho *et al.*, 2005a). Tais problemas seguem ocorrendo atualmente. No Rio Grande do Sul, a Fundação Estadual de Proteção Ambiental (FEPAM) disponibiliza formulários para o início do licenciamento ambiental, mas sem uma cartilha que apresente as condições mínimas necessárias para tais empreendimentos, levando muitos piscicultores à clandestinidade e impedindo o acesso às linhas de crédito para aprimorar as condições da criação (Baldisserotto, 2009). Apesar dos escapes serem inevitáveis na piscicultura (Agostinho *et al.*, 2005a), a ausência infraestrutura e informações sobre manejo tornam tais propriedades particularmente susceptíveis a tal fenômeno (Orsi & Agostinho, 1999). Nos barramentos realizados em leitos de rios pequenos, com produção semi-intensiva ou pesque-pagues, a situação é mais crítica, uma vez que o transbordamento e ruptura de diques são comuns durante cheias intensas, com os espécimes podendo chegar a regiões a montante e jusante. Além disso, exemplares rejeitados devido ao tamanho frequentemente são liberados nos rios, assim como diversos alevinos durante a despesca (Fernandes *et al.*, 2003; Agostinho *et al.*, 2007). A recente proliferação de tilápias no reservatório de Barra Bonita parece ser resultado de escapes de pesque-pagues (Agostinho *et al.*, 2007). Dessa forma, o desenvolvimento de programas governamentais que disponibilizem aos piscicultores assistência técnica especializada, acesso a financiamento para construção de infraestrutura adequada e posterior fiscalização das propriedades é de suma importância para diminuição de escapes de pisciculturas (Agostinho *et al.*, 2005b).

Mesmo sob forte pressão de colonização proveniente da alta frequência de escapes de cultivo de tilápias iniciados a mais de 40 anos, inclusive com liberações intencionais em reservatórios para estocagem (e.g. reservatório de Passo Fundo, Coldebella, comunicação pessoal), não existe nenhuma evidência de que a espécie tenha sido capaz de se estabelecer nos sistemas naturais do entorno do reservatório de Itaipu e do rio Uruguai.

De fato, a grande maioria das introduções (intencionais ou não intencionais) falha em seu estabelecimento (Moyle & Light, 1996). Tal insucesso pode estar relacionado a resistências ecológicas, representadas pela pressão da comunidade residente (e.g. predação, competição, doenças), resistência ambiental (e.g. condições, locais de abrigo e desova), ou característica da introdução (e.g. estratégia da espécie, número de indivíduos introduzidos) (Moyle & Light, 1996; Shea & Chesson, 2002). Especificamente para peixes, Kolar & Lodge (2002) avaliaram as características de espécies com sucesso e insucesso de estabelecimento nos Grandes Lagos, Canadá,

e demonstraram que entre os principais fatores que aumentam a probabilidade de estabelecimento de populações de uma espécie estão o crescimento rápido e amplitude de tolerância térmica e salina. Além desses, alta pressão de propágulo, elevado cuidado parental e longa duração de vida são características importantes para sucesso no estabelecimento de populações (Marchetti *et al.*, 2004).

A Tilápia do Nilo compartilha grande parte dessas características. A espécie apresenta um elevado cuidado parental, caracterizado inicialmente pela construção por machos de plataformas para fertilização dos ovos, agressivamente defendidas de coespecíficos e outros peixes. Após a fecundação, a ninhada fica incubada na boca da fêmea por vários dias, podendo passar por três estágios de desenvolvimento (*i.e.* ovos, embriões e juvenis) (Trewavas, 1983). Assim, os maiores tamanhos no início da alimentação exógena e a proteção agressiva das fêmeas após a liberação, cuidado que pode durar mais que três semanas, conduzem a maiores taxas de sobrevivência e de crescimento (Zale, 1987). A maturidade reprodutiva pode ser atingida dentro de 3-6 meses de idade e em um peso de 20 gramas (Popma & Masser, 1999). Apresenta, ainda, alta fecundidade, estimada em 3723 ± 147 ovos por fêmeas no Lago Victoria (Balirwa, 1998), por exemplo, e múltiplas desovas ao longo do ano, com picos frequentes em estações mais quentes e chuvosas (Turner & Robinson, 2000). Essas características reprodutivas tornam as tilápias boas invasoras – é considerada potencial praga pelo portal FishBase (Froese & Pauly, 2011) – e têm gerado vantagens competitivas sobre espécies nativas em diferentes regiões (McKaye *et al.*, 1995; Lowe-McConnell, 2000). Ahmad *et al.* (2010) ilustra tal afirmação em experimentos os quais manteve 14 indivíduos de *O. niloticus* de ambos os sexos juntamente com a mesma quantidade de 3 espécies de pequenos ciclídeos nativos de Bangladesh, durante 21 meses. Após esse período, o número de tilápias cresceu 30 vezes, perfazendo uma abundância maior do que a soma dos indivíduos dos demais ciclídeos. Esse resultado é ainda mais impressionante quando comparado em biomassa: 7,2kg de tilápias contra apenas 1,41kg das demais espécies.

Características da introdução, como o número e os estágios de história de vida dos indivíduos que escapam por evento, assim como a frequência destes eventos, da mesma forma, facilitam o estabelecimento e a dispersão geográfica de populações (Marchetti *et al.*, 2004; Lockwood *et al.*, 2005). A alta frequência dos escapes e alta quantidade de indivíduos liberados durante tais eventos (*e.g.* Orsi & Agostinho, 1999), com liberação de indivíduos de vários tamanhos, portanto, são características que também favorecem o estabelecimento de populações de tilápias nas regiões estudadas.

Por esse motivo, o não estabelecimento de populações naturais de tilápias do Nilo no reservatório de Itaipu e na bacia do Rio Uruguai deve estar relacionado à incompatibilidades entre a biologia da espécie e as características ambientais locais ou regionais.

Tilápias são peixes tropicais, cuja temperatura ótima de crescimento está entre 20° C e 30° C (Wohlfarth & Hulata, 1983). Considerando a influência da temperatura da água nos processos metabólicos dos peixes (Diana, 1995), uma variedade de experimentos tem sido conduzida nos últimos 40 anos para determinar os limites de temperatura letal mínima para tilápias, sendo os resultados tão variados quanto os experimentos (Hargreaves, 2000). Em diversos experimentos para a Tilápia do Nilo, a mortalidade induzida por água fria variou em 19,4° C e 10,6° C (Sifa *et al.*, 2002; Paz, 2004; Charo-Karisa *et al.*, 2005; Wilson *et al.*, 2009), enquanto a morte de todos os peixes ocorreu entre 8,6° C e 5,6° C (Atwood *et al.*, 2003; Paz, 2004; Charo-Karisa *et al.*, 2005; Wilson *et al.*, 2009). Fatores como a linhagem da tilápia, a taxa de redução da temperatura e a massa dos indivíduos influem na tolerância dos indivíduos à temperatura (Atwood *et al.*, 2003; Paz, 2004; Wilson *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2011).

Alguns estudos demonstram a influência da temperatura no estabelecimento das Tilápias do Nilo em ambientes naturais. Em trabalho de Peterson *et al.* (2004, 2005), a tilápia *O. niloticus* foi o segundo grupo mais abundante em um ambiente com temperatura alterada da costa do Mississipi, onde a temperatura da água nunca ficou abaixo de 15,1° C. Em outros pontos próximos, as baixas temperaturas (mínimas de 6° C) tornaram a Tilápia do Nilo apenas a 16ª espécie mais coletada. Para o reservatório Billings, onde *O. niloticus* compôs 81,4% do recurso pesqueiro entre fevereiro/96 e janeiro/97, Minte-Vera & Petrere Jr. (2000), registraram temperaturas entre 14° C e 22° C no inverno e verão, respectivamente. No lago Victória, outro local com populações de tilápias estabelecidas, a temperatura da água se mantém em 19° C e 25° (Nijru *et al.*, 2006). No lago Chicamba, no Mozambique, onde Weyl (2008) descreve um rápido estabelecimento de tilápias, as temperaturas da água são 28,9 ± 1,8° C e 22,4 ± 2,7° C no verão e no inverno, respectivamente.

Para a bacia do Rio Uruguai, Garcia *et al.* (2008) indicam a possibilidade de intensas mortandades de tilápias ocorrerem para o estado do Rio Grande do Sul, nos meses mais frios. Nesse estudo, descrevem a temperatura média da água na bacia do Rio Uruguai ao longo do inverno entre 14° C e 17° C, com mínima de 10° C nas cidades de Quaraí, Alegrete, Bento Gonçalves e Passo Fundo. Em outro trabalho, Hahn *et al.* (2001b) mediram a temperatura do reservatório de Passo Fundo entre 2002 e 2003, encontrando temperaturas entre 28,9° C (Verão de 2003) e 16,4° C

(Inverno 2002), as quais variaram pouco na coluna d'água (Hahn *et al.* (2001a). Em Uruguiana, Carvalho *et al.* (2007) realizou medições mensais de temperatura no Rio Uruguai entre maio/2001 e abril/2002, encontrando valores entre 13° C e 27° C. Para Santa Catarina, as baixas temperaturas no inverno também limitam as produções de tilápia no Planalto Catarinense e no Vale do Rio do Peixe (Graeff & Pruner, 2006).

O estado fisiológico inferior encontrado para estoques presentes em latitudes maiores (*i.e.* menores valores de fator de condição) evidenciam que as menores temperaturas das localidades mais ao sul dificultam o estabelecimento de populações da espécie. Ademais, os valores de fator de condição semelhantes encontrados para inverno/2010, primavera/2010 e inverno/2011, e menores do que os do verão/2011 sugerem que o estresse térmico produto das baixas temperaturas da bacia do Rio Uruguai ocorrem durante boa parte do ano.

As médias de temperatura encontradas para a região, portanto, apesar de baixas, demonstram a possibilidade de sobrevivência de indivíduos nas estações mais frias, sobretudo indivíduos de maior porte, mais resistentes (Atwood *et al.*, 2003; Paz, 2004; Wilson *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2011). Além disso, enquanto o relativamente pequeno volume de água em uma seção de rio e as águas turbulentas asseguram a rápida mistura de águas de diferentes profundidades, com sua temperatura refletindo as condições meteorológicas prevalentes em um determinado momento, as grandes massas de água inerte em reservatórios, como em Itá e Passo Fundo, permitem uma estocagem de calor, gerando refúgios térmicos (McCartney, 2009), o que torna mais provável a sobrevivência e, inclusive, o estabelecimento de tilápias nos reservatórios do que nos trechos de rio. No entanto, as baixas temperaturas da água na bacia podem ser a causa da ausência de indivíduos de pequeno porte que por ventura escapem de pisciculturas, uma vez que são mais susceptíveis ao frio, impedindo assim o recrutamento de novos indivíduos. Da mesma forma, tal fator ainda pode impedir a reprodução das tilápias, uma vez que sua sobrevivência é afetada por temperaturas abaixo de 19,4° C (Paz *et al.*, 2004) e a reprodução em baixas temperaturas pode diminuir a viabilidade dos indivíduos e de sua prole, através do mecanismo *trade off* (Begon *et al.*, 2007). Segundo Wohlfarth & Hulata (1983), a maioria das espécies de Tilapiine param de se reproduzir em temperaturas menores do que 22° C. Por fim, as acentuadas quedas de temperatura ou picos de baixas de temperatura devem representar intensa mortalidade de indivíduos, inclusive aqueles com maior porte, como descrito no rigoroso inverno de 2000 em estado de Santa Catarina (Fracalossi *et al.*, 2002), impossibilitando o estabelecimento de populações de tilápias.

Já no reservatório de Itaipu, segundo dados trimestrais da Itaipu Binacional, as temperaturas da água variaram de 32,7° C a 17,5° C em São Miguel de Iguazu, próximo a Santa Terezinha de Itaipu, 32° C a 20,2° C em Itaipulândia, 30,1° C a 20,5° C em Pato Bragado e 31° C a 17,4° C em Guaíra, entre 2006 e 2010. De forma semelhante, Osako (2002) e Carvalho (2011) descrevem temperaturas entre 31,9° C e 17,7° C para o reservatório, em profundidades de até 10 metros, e mínimo de 16,3° C a 120 metros, valores baseados em dados da Itaipu Binacional de amostragens trimestrais entre 1885 e 2006. Dessa forma, a temperatura da água parece não ser um fator limitante para o estabelecimento das tilápias no reservatório de Itaipu. Corroborar tal afirmação o fato do lago do reservatório de Acaray (Paraguai), localizado ao lado do reservatório de Itaipu (10km distante), ter registros consistentes de tilápias, apesar de não existirem estudos semelhantes ao presente para testar cientificamente a hipótese de população autossustentável. Pressão da comunidade residente, por conseguinte, é um fator que pode estar impedindo tal estabelecimento.

Nesse estudo, foi encontrada uma tendência de correlação negativa entre número de indivíduos de tilápia coletadas e o número de possíveis predadores nos pontos do reservatório de Itaipu, apesar de não estatisticamente significativo devido ao baixo número de tilápias amostradas. Em lagos e reservatórios, a predação é um dos principais agentes de controle biológico (Lowe-McConnell, 1999) e o mecanismo de controle *Top Down* parece ser comum. Diversos estudos demonstram a presença tal efeito em lagos temperados, enquanto em reservatórios tropicais e subtropicais esse fenômeno é mais fraco, provavelmente devido à maior diversidade de fauna (Ribeiro Filho, 2006). Entretanto, Pelicice *et al.* (2005), por exemplo, encontraram alta biomassa de piscívoros em relação aos outros níveis tróficos em diversos reservatórios no Paraná, apesar dessa relação ser mais proeminente em reservatórios menores. Da mesma forma, Ribeiro-Filho (2006) encontrou controle da biomassa de onívoros e detritívoros por piscívoros no reservatório de Itaipu. Em outro estudo no mesmo local, Orélis-Ribeiro *et al.* (dados não publicados) descreve presença da Tilápia do Nilo em estômagos de piranhas. Em pesquisa realizada no reservatório de Nova Avanhandava, no baixo rio Tietê, Paes encontrou uma grande fauna associada de peixes piscívoros em tanques-rede de tilápia, onde se alimentam de juvenis e de peixes de pequeno porte. Além disso, nossos dados demonstram alta frequência de tucunaré *Cichla* spp. no reservatório, grupo piscívoro que tem sido introduzido em represas, açudes e tanques para controle de populações de tilápias (Moura-Brito & Patrocínio, 2006). A predação, portanto, pode estar agindo como força biótica, diminuindo a sobrevivência de tilápias na região.

Nesse caso, portanto, o risco de estabelecimento de uma espécie está baseado na vulnerabilidade do ecossistema receptor (Mack *et al.*, 2000), sendo a conservação do ecossistema (e.g. manutenção da comunidade) um fator chave que pode restringir tal invasão biológica no reservatório de Itaipu. Geralmente, o sucesso no estabelecimento de espécies não nativas é maior em sistemas alterados (e.g. alteração termal, poluição) em contraste aos habitats relativamente não perturbados, que frequentemente demonstram uma grande resistência à invasão destas espécies (Moyle & Light, 1996). Essa asserção é corroborada por um estudo conduzido na bacia do Rio Paraíba do Sul, no qual Linde *et al.* (2008) encontraram uma associação significativa entre o nível de degradação do habitat e a quantidade de juvenis de *O. niloticus* oriundos de escapes de cultivos (*i.e.* mais abundantes em áreas degradadas). Paralelamente, foi observada uma diminuição da abundância da espécie nativa *Geophagus brasiliensis*, espécie que ocupa o mesmo nicho ecológico das tilápias. Nesse estudo, porém, os autores não discutem se o aumento da abundância de *O. niloticus* é causa ou consequência da diminuição da abundância de *G. brasiliensis*. No primeiro caso, o ambiente alterado aumentaria o poder competitivo da tilápia em relação ao cará, diminuindo a abundância do segundo. Na segunda hipótese, o cará teria menor capacidade de sobreviver no ambiente alterado, diminuindo a sua abundância e, conseqüentemente, possibilitando o aumento da abundância de *O. niloticus*. Ou ainda, as duas hipóteses podem estar agindo concomitantemente. Da mesma forma, a alta frequência das espécies de cará no reservatório de Itaipu pode ser outro fator que impede o estabelecimento da Tilápia do Nilo, e/ou pode simplesmente refletir tal insucesso.

Outro fator ambiental que pode estar limitando o estabelecimento da Tilápia do Nilo no reservatório de Itaipu é característica de se estabelecer preferencialmente em ambientes lêntico em relação a ambientes lóticos (Lowe-McConnell, 1999). Considerando a grande fluxo de água descrito para esse reservatório quando em comparado a diversos outros, inclusive nas UHEs de Itá e Passo Fundo, prejudicam a capacidade de estabelecimento da espécie no reservatório, limitando a sua colonização em tal ambiente.

Concluindo, dados de abundância, distribuição, estrutura de estoque, marcadores moleculares, dieta e estágio reprodutivo indicam que as Tilápias do Nilo *O. niloticus* não estão estabelecidas na bacia do Rio Uruguai e no reservatório de Itaipu. Os indivíduos coletados durante esse estudo, portanto, são provavelmente provenientes de fugas de pisciculturas.

A análise multidisciplinar desenvolvida nesse trabalho baseada em diferentes marcadores, ainda, demonstrou-se bastante eficaz no teste de hipótese de estabelecimento de populações de Tilápias, sendo possível utilizá-lo na avaliação do estabelecimento de outros grupos de peixes, considerando adaptações as suas características, e em outros ambientes. A confiabilidade de tal metodologia está relacionada à avaliação de três pilares que, em conjunto, são fundamentais para estabelecimento de uma população: sobrevivência, crescimento e reprodução. Dados de variação da diversidade genética, da distribuição e do perfil genético dos estoques ao longo do tempo avaliam a sobrevivência dos indivíduos. A estrutura do estoque (*i.e.* avaliação do recrutamento) testa a hipótese de crescimento dos indivíduos. Por fim, dados do perfil das linhagens dos indivíduos amostrados e do grau de desenvolvimento gonadal avaliam a reprodução dos indivíduos no ambiente. Tais análises ainda são suportadas pela análise de conteúdo estomacal e posição trófica, indicando as interações da espécie estudada com a comunidade biótica. Dados de abundância e distribuição da espécie, por fim, demonstram o resultado do universo de marcadores agindo em conjunto. A união desses diferentes marcadores, portanto, testa a hipótese de existência de populações estabelecidas de determinada espécie, em uma dada região.

A metodologia se tornará ainda mais confiável se houver padronização dos petrechos de coletas, fator importante para as análises de abundância, e a utilização de outros mecanismos de coleta (*i.e.* pesca elétrica, pesca submarina), o que possibilita a coleta de um maior número de indivíduos e menor seletividade dos indivíduos capturados, aumentando a confiabilidade das análises de estrutura de estoque, reprodução, marcadores genéticos e dados tróficos. Ademais, a utilização de dados de biomassa das tilápias quando comparada a dos demais grupos é, da mesma forma, aconselhada, uma vez que pode corrigir resultados encontrados na fuga de uma grande quantidade de indivíduos de pequeno porte, por exemplo, expressando a biomassa de tilápias suportada pelo ambiente.

A utilização dessa rigorosa metodologia é de fundamental importância para definição de estratégias de manejo de espécie invasoras. Diversas decisões ambientais se baseiam simplesmente em conhecimentos anedóticos, sem qualquer suporte em dados científicos. Tais questões têm particular importância em estudos com organismos invasores, uma vez que a proibição da introdução de espécies apenas é válida se não houver populações estabelecidas no ambiente. Em diversas situações, a simples coleta de indivíduos em determinada região são interpretadas como a existência de populações estabelecidas (Agostinho *et al.*, 2007), o que permite

a introdução do grupo. Dessas decisões, ainda, derivam estratégias de manejo e de mitigação de impacto ambientais diversas vezes ineficazes e que, até mesmo, podem agravar os prejuízos ambientais, sociais e econômicos os quais diversos empreendimentos (e.g. pisciculturas) acarretam.

Nesse contexto, a metodologia desenvolvida e aplicada nesse trabalho é fundamental para o teste de hipótese de existência de populações estabelecidas de grupos de peixes, o que pode auxiliar na tomada de decisões que permeiam a conservação e o manejo do ecossistema. A utilização dessa metodologia, por fim, é altamente recomendada em estudos sobre invasões biológicas.

REFERÊNCIAS

- Ahmad S.A.S., Bart A.N., Yi Y., Rakocy J.E. & Diana J.S. (2010). The effect of the introduction of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L.) on small indigenous fish species (mola, *Amblypharyngodon mola*, Hamilton; chela, *Chela cachius*, Hamilton; punti, *Puntius sophore*, Hamilton). *Aquaculture Research* **41**, 904-912.
- Agostinho A.A., Gomes L.C. & Latini J.D. (2004) Fisheries management in brazilian reservoirs: lessons from/for South America. *INCI* **29**, 334-338.
- Agostinho A.A., Gomes L.C. & Pelicice F.M. (2007) *Ecologia e manejo de recursos pesqueiros em reservatórios do Brasil*. EDUEM, Maringá. 501p.
- Agostinho A.A., Julio Jr. H.F., Gomes L.C., Bini, L.M. & Agostinho C.S. (1997) Composição, abundância e distribuição espaço-temporal da ictiofauna. In: Vazzoler A.E.A.M., Agostinho A.A. & Hahn N.S. *A Planície de inundação do alto rio Paraná: aspectos físicos, biológicos e socioeconômicos*. EDUEM, Maringá. 179-208.
- Agostinho A.A., Miranda L.E., Bini L.M., Gomes L.C., Thomas S.M. & Suzuki H.I. (1999). Patterns of colonization in Neotropical reservoirs, and prognoses on Aging. In: Tundisi J.G. & Straskraba M. *Theoretical reservoir ecology and its applications*. São Carlos. 227-265.
- Agostinho A.A., Pelicice F.M. & Júlio Jr. H.F. (2005a) Biodiversidade e introdução de espécies de peixes: Unidades de Conservação. In Campos J.B., Tossulino M.G.P. & Müller C.R.C. *Unidades de conservação: ações para valorização da biodiversidade*. Instituto Ambiental do Paraná, Curitiba. 95-117.
- Agostinho A.A., Pelicice F.M. & Júlio Jr. H.F. (2005b) Introdução de espécies de peixes em águas continentais brasileiras: uma síntese. In Rocha O., Espíndola E.L.G, Fenerich-Verani N., Verani J.R. & Rietzler A.C. *Espécies invasoras em água doce: Estudos de caso e propostas de manejo*. Editora Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. 13-23.
- Arthington A.H. & Bluhdorn D.R. (1994) Distribution, genetics, ecology and status of the introduced cichlid, *Oreochromis mossambicus*, in Australia. *Internationale Vereinigung fur theoretische und angewandte Limnologie* **24**, 53-62.
- Atwood H.L., Tomaso J.R., Webb K & Gatlin D.M. (2003) Low-temperature tolerance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*: effects of environmental and dietary factors. *Aquaculture research* **34**, 241-251.
- Azevedo C.L.O., Pessano E.F.C., Tomassoni D., Querol, M.V.M. & Queirol E. (2003) Diversidade específica, densidade e biomassa da ictiofauna da nascente do arroio Felizardo, Bacia do Rio Uruguai médio, Uruguaiana, RS, Brasil. *Biodiversidade Pampeana* **1**, 35-45.
- Baldisserotto B. (2009) Piscicultura continental no Rio Grande do Sul: situação atual, problemas e perspectivas para o futuro. *Ciência Rural* **39**, 291-299.

Balirwa J.S. (1998). Lake Victoria Wetlands and the ecology of the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* Linné. Tese - International Institute for Infrastructural, Hydraulic and Environmental Engineering. 264p.

Begon M., Harper J.L. & Townsend C.R. (2007) Ecologia – de Indivíduos a Ecosistemas. Artmad, Porto Alegre. 740p.

Benedito-Cecilio E. & Agostinho A.A (2000) Distribution, abundance and use of different environments by dominant ichthyofauna in the influence area of the Itaipu reservoir. *Acta Scientiarum* **22**, 429-437.

Bentsen H.B., Eknath A.E., Palada-deVera M.S., Danting J.C., Bolivar H.L., Reyes R.A., Dionisio E.E., Longalong F.M., Circa A.V., Tayamen M.M. & Gjerde B. (1998) Genetic improvement of farmed tilapias: growth performance in a complete diallel cross experiment with eight strains of *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* **160**,145-173.

Bianco P.G. & Turin P. (2010) Record of two established populations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, in freshwaters of northern Italy. *Journal Applied Ichthyology* **26**, 140–142.

Britton J.R., Jackson M.C., Muchir M., Tarras-Wahlberg H., Harper D.M. and Grey J. (2009) Status, ecology and conservation of an endemic fish, *Oreochromis niloticus baringoensis*, in Lake Baringo, Kenya. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* **19**, 487-496.

Bristot P.P. (2008) Mapeamento e análise da cadeia produtiva da criação de tilápia em Santa Catarina. Monografia – Universidade Federal de Santa Catarina. 100p.

Bwanika G.N., Murie D.J. & Chapmon L.J. (2007) Comparative age and growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) in lakes Nabugabo and Wamala, Uganda. *Hydrobiologia* **589**, 287–301.

Câmara L.F. & Hahn L. (2002) The fish fauna of two tributaries of the Passo Fundo river, Uruguay river basin, Rio Grande do Sul, Brazil. *Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS: Série Zoologia* **15**, 163-174.

Canonico G.C., Arthington A., McCrary J.K. & Thieme M.L. (2005) The effects of introduced tilapias on native biodiversity. *Aquatic Conservation-Marine and Freshwater Ecosystems* **15**, 463-483.

Caraballo P.G. (2009) Efecto de Tilapia *Oreochromis niloticus* sobre la producción pesquera del embalse el Guájaro Atlántico – Colombia. *Revista MVZ Córdoba* **14**,1796-1802.

Cardoso E.S., Rocha H.M.O. & Furlan M.C. (2009) A piscicultura no município de Santa Maria, RS. *Ciência e Natura* **31**, 131-140.

Carvalho G.A. (2011) Estudo temporal da estratificação no reservatório da Usina Hidrelétrica de Itaipu e suas influências nos drenos de fundação da barragem de

concreto (estudo de longo período). Dissertação – Universidade Federal do ABC. 153p.

Carvalho L.C.G., Silva S.M., Gonçalves J.F., Querol E & Queiroz M.V. (2007) Diagnóstico ambiental do arroio Salso de Baixo e Rio Uruguai, Uruguai, RS, Brasil. *Biodiversidade Pampeana* **5**, 14-22.

Casal C.M.V. (2006). Global Documentation of Fish Introductions: the Growing Crisis and Recommendations for Action. *Biological Invasions* **8**, 3-11.

Castellani D. & Barrella W. (2005) Caracterização da piscicultura na região do Vale do Ribeira-SP. *Ciência e Agrotecnologia* **29**, 168-176.

Charo-Karisa H, Rezk M.A., Bovenhuis H. & Komen H. (2005) Heritability of cold tolerance in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, juveniles. *Aquaculture* **249**, 115– 123.

Copatti C.E., Zanini L.G. & Valente A. (2009) Ictiofauna da microbacia do Rio Jaguari, Jaguari/RS, Brasil. *Biota Neotropica* **9**, 179-186.

Costa-Pierce B.A. (2003). Rapid evolution of an established feral tilapia (*Oreochromis* spp.): the need to incorporate invasion science into regulatory structures. *Biological Invasions* **5**, 71-84.

Courtenay W.R. (1997) Tilapias as non-indigenous species in the Americas: environmental, regulatory and legal issues. In Costa-Pierce B. A. & Rakocy J. E. *Tilapia aquaculture in the Americas*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA. 18-33.

Coward K. & Little D. (2001) Culture of the “aquatic chicken”: present concerns and future prospects. *Biologist* **48**,12–16.

Cunico A.M. (2010) Efeitos da urbanização sobre a estrutura das assembléias de peixes em córregos urbanos Neotropicais. Tese – Universidade Estadual de Maringá. 78p.

Diana J.S. (1995) *Biology and Ecology of Fishes*. Cooper Publishing Group LLC, Michigan. 441p.

Dias J.B. (2006) Impactos socioeconômicos e ambientais da introdução da Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, em açudes públicos do semiárido nordestino, Brasil. Dissertação – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. 69p.

Doupé R.G. & Knott M.J. (2010) Rapid digestion of fish prey by the highly invasive ‘detritivore’ *Oreochromis mossambicus*. *Journal of Fish Biology* **76**, 1019-1024.

Esselman P.C. (2009) Fish communities and conservation of aquatic landscapes in northeastern Mesoamerica. Tese - The University of Michigan. 120p.

Excoffier L. & Lischer H.E.L. (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* **10**, 564–567.

FAO (2002). Fishery Statistics. *Aquaculture production* **90(2)**.

FAO (2007) Global synthesis of feeds and nutrients for sustainable aquaculture development. In Hasan M.R., Hecht T., De Silva S.S. & Tacon A.G.J. *Study and analysis of feeds and fertilizers for sustainable aquaculture development*. 3-17.

Fernandes R., Gomes L.C. & Agostinho A.A. (2003) Pesque-pague: negócio ou fonte de dispersão de espécies exóticas? *Acta Scientiarum: Biological Sciences* **25**, 1165-120.

Fitzsimmons K. (2000) Tilapia: the most important aquaculture species of the 21 century. In: Fitzsimmons K. & Carvalho Filho J. *Proceedings from the fifth international symposium on tilapia aquaculture*. Panorama da aquacultura Magazine, Rio de Janeiro. 3-8.

Fracalossi D.M., Zaniboni Filho E. & Muerer S. (2002) No rastro das espécies nativas. *Panorama da Aquicultura*, 43-49.

Froese R. & Pauly D. (2011) *FishBase*. Disponível em www.fishbase.org.

Garcez D.S. & Sánchez-Botero J.I. (2005). Comunidades de pescadores artesanais no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Atlântica* **27**, 17-29.

Garcia L.O., Copatti C.E., Wachholz F., Pereira Filho W. & Baldisserotto B. (2008) Freshwater temperature in the state of Rio Grande do Sul, Southern Brazil, and its implication for fish culture. *Neotropical Ichthyology* **6**, 275-281.

Goudswaard P.C., Witte F. & Katunzi E.F.B. (2002) The tilapiine fish stock of Lake Victoria before and after the Nile perch upsurge. *Journal of Fish Biology* **60**:838- 856.

Graeff A. & Pruner E.N. (2006). Variáveis que podem interferir na sobrevivência e desenvolvimento da Tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) na região fria do Estado de Santa Catarina. *Comunicación científica* **2**, 70-79.

Gupta M.V. & Acosta B.O. (2004) From drawing board to dining table: the success story of the GIFT project. *NAGA* **27**, 4-14.

Hahn L., Câmara L.F., Reis R. & Votto A.G. (2001a) Monitoramento limnológico e ictiofaunístico no reservatório da Usina Hidrelétrica de Passo Fundo, Gerasul, RS. Informe Técnico.

Hahn L., Camara L.F. & Souza S.L. (2001b) Qualidade da água do reservatório da Usina Hidreletrica de Passo Fundo, Tractebel Energia-Suez, RS. Informe Técnico.

Hargreaves J.A. (2000) Tilapia culture in the southeast USA. In Costa-Pierce B.A. & Rakocy J.E. *Tilapia Aquaculture of the Americas*. World Aquaculture Society, Baton Rouge. 60-81.

Hyslop, E.J. (1980) Stomach contents analysis - a review of methods and their application. *Journal Fish Biology* **17**, 411-429.

Kaufmann V. & Pinheiro A. (2009) Relationship between ichthyofaunal diversity and hydrodynamic factors in a stream of Uruguay river basin. *Biota Neotropica* **9**(1), 47-53.

Kawakami E. & Vazzoler G. (1980) Método gráfico e estimativa de índice alimentar aplicado no estudo de alimentação de peixes. *Boletim do Instituto Oceanográfico* **29**, 205-207.

Kolar C.S. & Lodge D.M. (2002) Ecological predictions and risk assessment for alien fishes in North America. *Science* **298**, 1233-1236.

Leonhardt J.H. & Urbinati E.C. (1998) Estudo comparativo do crescimento entre machos de Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, sexados e revertidos. *Boletim do Instituto de Pesca* **25**, 19-26.

Linde A.R., Izquierdo J.I., Moreira J.C & Garcia-Vazquez E. (2008) Invasive tilapia juveniles are associated with degraded river habitats. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* **18**, 891-895.

Lockwood J.L., Cassey P. & Blackburn T. (2005) The role of propagule pressure in explaining species invasions. *Trends in Ecology and Evolution* **20**, 223-228.

Lowe-McConnell R.H. (1999) Estudos Ecológicos de Comunidades de Peixes Tropicais. USP, São Paulo. 535p.

Lowe-McConnell R.H. (2000). The roles of tilapias in ecosystems. In Beveridge C.M.M. & McAndrew B.J. *Tilapias: Biology and Exploitation*. Kluwer Academic Publishers, Great Britain. pp. 129-162.

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.

Mack R.N., Simberloff D., Lonsdale W.M., Evans H., Clout M. & Bazzaz F. A. (2000). Biotic invasions: Causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological Applications* **10**, 689-710.

Mair G.C. (2002) Domestication and broodstock management. Implications for longterm quality of cultured stocks. *The Advocate* **5**, 39 - 42.

Marchetti M.P., Moyle P.B. & Levine R. (2004) Invasive species profiling? Exploring the characteristics of non-native fishes across invasion stages in California. *Freshwater Biology* **49**, 646-661.

- Makrakis S., Gomes L.C., Makrakis M.C., Fernandez D.R. & Pavanelli C.S. (2007) The Canal da Piracema at Itaipu Dam as a fishpass system. *Neotropical Ichthyology* **5**, 185-195.
- McCartney M. (2009) Living with dams: managing the environmental impacts. *Water Policy* **11**, 121-139.
- McCrary J.K., Vandenberghe E.P., McKaye K.R. & Lopez Perez L.J. (2001) Tilapia cultivation: a threat to native fish species in Nicaragua. *Encuentro* **58**, 9-19.
- McKaye K.R., Ryan J.D., Stauffer Jr J.R., Lopez-Perez L.J., Vega G.I. & van den Berghe E P. (1995). African Tilapia in Lake Nicaragua. *BioScience* **45**, 406-411.
- Melo D.C., Oliveira D.A.A., Ribeiro L.P., Teixeira C.S., Souza A.B., Coelho E.G.A, Crepaldi D.V. & Teixeira E.A. (2006) Caracterização genética de seis plantéis comerciais de tilápia (*Oreochromis*) utilizando marcadores microssatélites. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* **58**, 87-93.
- Minte-Vera C.V. & Petrere Jr. M. (2000) Artisanal fisheries in urban reservoirs: a case study from Brazil (Billings Reservoir, São Paulo Metropolitan Region). *Fisheries Management and Ecology* **7**, 537–549.
- Moura-Brito M. & Patrocínio D.N.M. (2005) A fauna de espécies exóticas no Paraná: contexto nacional e situação nacional. In Campos J.B., Tossulino M.G.P. & Müller C.R.C. *Unidades de conservação: ações para valorização da biodiversidade*. Instituto Ambiental do Paraná, Curitiba. 53-94.
- Mota A.C.F. (2009) Análise histológica das gônadas de *Pellona castelnaeana* (Valenciennes, 1847): um caso de hermafroditismo para uma espécie de peixe da Amazônia. Monografia - Universidade Federal de Rondônia. 54p.
- Moyle P.B. & Light T. (1996) Biological invasions of fresh water: empirical rules and assembly theory. *Biological Conservation* **78**, 149-161.
- Njiru M., Ojuok J.E., Okeyo-Owuor J.B., Muchiri M., Ntiba M.J. & Cowx I.G. (2006) Some biological aspects and life history strategies of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) in Lake Victoria, Kenya. *African Journal of Ecology* **44**, 30–37.
- Offen B.O., Samsons Y.A. & Omoniyi I.T. (2009) Length-weight Relationship, Condition Factor and Sex Ratio of Forty Six Important Fishes in a Tropical Flood River. *Journal of Fisheries and Hydrobiology* **4**, 65-72.
- 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 (2)**, 557-560.
- Osako C.I. (2002) A manutenção dos drenos nas fundações de barragens: o caso da Usina Hidrelétrica de Itaipu. Dissertação – Universidade Federal do Paraná. 126p.

Ostrensky A., Borghetti J.R. & Soto D. (2008) *Aqüicultura no Brasil: o desafio é crescer*. Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO). Brasília. 276 p.

Paz P.E. (2004) Evaluation of growth, production, and cold tolerance of four varieties of tilapia. Dissertação – Louisiana State University. 95p.

Pelicice F.M., Abujanra F., Fugi R., Latini J.D., Gomes L.C. & Agostinho A.A. (2003) A piscivoria controlando a produtividade em reservatórios: explorando o mecanismo top down. In *Workshop Produtividade em reservatórios e bioindicadores*. UEM, Maringá. 267-273.

Pessano E.F.C., Azevedo C.L.O., Querol M.V.M., Querol E., Brasil L.G., Castro L.R.B, Pinto T.B. & Corrêa F.V. (2005a) Ictiofauna do arroio Quarai-Chico, bacia do médio rio Uruguai, no interior do Parque Estadual do Espinilho, Rio Grande do Sul, Brasil. *Biotemas* **18**, 143 – 153.

Pessano E.F.C., Azevedo C.L.O., Tomassoni D., Querol M.V.M. & Querol E. (2005b) Dinâmica populacional, densidade e biomassa da ictiofauna da foz do arroio Felizardo, bacia do rio Uruguai médio, Uruguiana, RS. *Biodiversidade Pampeana* **2**, 16-23.

Peterson M.S., Slack W.T., Brown-Peterson N.J. & McDonald J.L. (2004) Reproduction in nonnative environments: establishment of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, in coastal Mississippi watersheds. *Copeia* **4**, 842–849.

Peterson M.S., Slack W.T. & Woodley C.M. (2005) The occurrence of non-indigenous Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) in coastal Mississippi, USA: ties to aquaculture and thermal effluent. *Wetlands* **25**, 112–121.

Piazzini S., Lori E., Favilli L., Cianfanelli S., Vanni S & Manganelli G. (2010). A tropical fish community in thermal waters of southern Tuscany. *Biological Invasions* **12**, 2959-2965.

Popma T. & Masser M. (1999) Tilapia life history and biology. *Southern Regional Aquaculture Center* **283**.

Pritchard J.K., Stephens M. & Donnelly P. (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* **155**, 945-959.

Ribeiro Filho R.A. (2006) Relações tróficas e limnológicas no reservatório de Itaipu: uma análise do impacto da biomassa pesqueira nas comunidades planctônicas. Tese – Universidade de São Paulo. 154p.

Sala O.E., Chapin F.S., Armesto J.J., Berlow E., Bloomfield J., Dirzo R., Huber-Sanwald E., Huenneke L.F., Jackson R.B., Kinzig A., Leemans R.D., Lodge M., Mooney H.A., Oesterheld M., Poff N.L.M., Sykes T., Walker B.H., Walker M. & Wall D.H. (2000). Biodiversity - global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science* **287**, 1770-1774.

- Santos R.N., Andrade C.C., Santos L.N., Santos A.F.G.N. & Araújo F.G. (2006) Testicular maturation of *Oligosarcus hepsetus* (Cuvier) (Actinopterygii, Characidae) in a Brazilian tropical reservoir. *Brazilian Journal of Biology* **66**, 143-150.
- Santos A.I., Ribeiro, R.P., Vargas L., Mora, F., Filho L.A., Fornari D.C. & Oliveira S.N. (2011) Bayesian genetic parameters for body weight and survival of Nile tilapia farmed in Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **46**, 33-43.
- Schirmer J.G. & Cardoso E.S. (2011) A piscicultura na dinâmica socioeconômica do município de Agudo-RS. *Boletim Gaúcho de Geografia* **36**, 23-28.
- Schmitter-Soto J.J. & Caro C.I. (1997) Distribution of tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Perciformes : Cichlidae), and water body characteristics in Quintana Roo, Mexico. *Revista de Biología Tropical* **45**, 1257-1261.
- Senanan W. & Bart A.N. (sem data) The Potential Risks from Farm Escaped Tilapias. Disponível em: http://media.sustainablefish.org/Tilapia_escapes_WP.pdf. Acessado em 06/11/2011.
- Seutin G., White B.N. & Boag P.T. (1991) Preservation of avian blood and tissue samples for DNA analyses. *Canadian Journal of Zoology* **69**, 82-90.
- Shaw B.L. & Battle H.I. (1957) The gross and microscopic anatomy of the digestive tract of the oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin). *Canadian Journal of Zoology* **35**, 325-347.
- Shea K. & Chesson P. (2002) Community ecology theory as a framework for biological invasions. *Trends in Ecology and Evolution* **17**, 170-176.
- Sifa L., Chenhong L., Dey M., Gaglac F. & Dunham R. (2002) Cold tolerance of tree strains of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, in China. *Aquaculture* **213**, 123-129.
- Starling F., Lazzaro X., Cavalcanti C. & Moreira R. (2002). Contribution of omnivorous tilapia to eutrophication of a shallow tropical reservoir: evidence from a fish kill. *Freshwater Biology* **47**, 2443-2452.
- Tepaudi P.C. & Amaral Junior H. (2009) Produção de tetraplóides de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) através da aplicação de choque térmico. *Revista Eletrônica de Veterinária* **10**, 1-13.
- Trewavas E. (1983) Tilapiine fishes of the genera *Sarotherodon*, *Oreochromis* and *Danakilia*. British Museum (Natural History), London. 583p.
- Turner G.F. & Robinson R.L. (2000). Reproductive biology, mating systems and parental care. In Beveridge C.M.M. & McAndrew B.J. *Tilapias: Biology and Exploitation*. Kluwer Academic Publishers, Great Britain. pp. 33-58
- Twongo T. (1995) Impact of fish species introductions on the tilapias of Lakes Victoria and Kyoga. In Hart, T.J. *The Impact of Species Changes in African Great Lakes*. Chapman & Hall, London. 45-57

Vazoller A.E.A.M. (1996) *Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática*. EDUEM, Maringá. 196p.

Weyl O.L.F. (2008) Rapid invasion of a subtropical lake fishery in central Mozambique by Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Pisces: Cichlidae). *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* **18**, 839–851.

Williamson M.K. & Fitter A. (1996) The characters of successful invaders. *Biological Conservation* **78**, 163-170.

Wilson J.C., Nibbelink N.P. & Peterson D.L. (2009) Thermal tolerance experiments help establish survival probabilities for tilapia, a group of potentially invasive aquatic species. *Freshwater Biology* **54**, 1642–1650.

Wohlfarth G.W. & Hulata G. (1983) *Applied genetics of tilapias*. ICLARM, Manila, Philippines. 26 p.

Zaganini R.L. (2009) Caracterização do regime alimentar de *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) e *Tilapia rendalli* (Boulenger, 1897) na represa de Barra Bonita, Médio Rio Tietê, SP. Dissertação - Universidade Estadual Paulista. 68p.

Zale A.V. (1987) Growth, survival and foraging abilities of early life stages of blue tilapia, *Oreochromis aureus*, and largemouth bass, *Micropterus salmoides*. *Environmental Biology of Fishes* **20**, 113-128.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A introdução de espécies é um dos principais fatores que causam perda de biodiversidade da biota mundial (Sala *et al.*, 2000). Nesse contexto, a aquicultura tem preocupante influência, uma vez que fuga de piscicultura é um dos principais mecanismos de dispersão de espécies exóticas (Arthington & Bluhdorn, 1994; Schmitter-Soto & Caro, 1997; Agostinho *et al.*, 2005, 2007). Devido o seu sucesso para cultivo, *Oreochromis niloticus*, por exemplo, foi introduzida em 85 países, sendo relatado seu estabelecimento em 58% e efeitos ecológicos adversos em 14% (Casal *et al.* 2006). Tal fenômeno, somado ao seu alto potencial de impacto ambiental e alta capacidade de estabelecimento (Canonico *et al.*, 2005), faz com que as tilápias tenham preocupante participação em invasões biológicas. Dessa forma, tilápias devem possuir alta prioridade no manejo para a proteção de ambientes aquáticos (Esselman, 2009).

O cultivo de espécies exóticas é proibido no Brasil, exceto se tal espécie estiver estabelecida na Unidade Geográfica de Referência. Entretanto, diversas vezes os legisladores consideram estabelecidas espécies raras, sem que estudos corroborem tais inferências (Agostinho *et al.*, 2007). Eventos frequentes de escapes de indivíduos, por exemplo, fazem com que ocorra detecção frequente de indivíduos ao longo do tempo, sem que tal espécie esteja necessariamente estabelecida. Tal fenômeno ocorreu com *O. niloticus*, as quais foram consideradas estabelecidas na bacia do Rio Uruguai pelas Portarias 145-N do IBAMA e nº 63/2003 da Secretaria Estadual do Meio Ambiente do Rio Grande do Sul (SEMA), simplesmente por sua detecção. Conhecimentos anedóticos, portanto, não deve ser utilizados na definição de estratégias de manutenção e manejo de espécies e comunidades, uma vez que podem gerar decisões ineficazes e, muitas vezes, prejudiciais ao ecossistema. Dessa forma, metodologias científicas devem ser utilizadas para realização de teste de hipóteses que embasem estratégias de conservação e manejo da biodiversidade.

Nesse trabalho, portanto, foi desenvolvida uma metodologia baseada em uma análise multidisciplinar, que pode ser aplicada como modelo no teste da hipótese de estabelecimento de populações de espécies exóticas de diferentes grupos, em diferentes ambientes. Para isso, diferentes marcadores foram utilizados para avaliar a origem dos indivíduos coletados e a uniformidade genética do estoque ao longo do tempo (*i.e.* marcadores microssatélites), o grau de maturação gonadal e a dieta dos indivíduos, e a abundância e estrutura dos estoques, que, em seu conjunto, avaliam a reprodução, sobrevivência e crescimento dos indivíduos, indicando a presença ou ausência de populações autossustentáveis. Tal metodologia foi testada para avaliação

do estabelecimento de populações de *O. niloticus* no reservatório de Itaipu e na bacia do Rio Uruguai, rejeitando a hipótese da existência populações estabelecidas dessa espécie, nesses sistemas hidrológicos.

Outros estudos que testem o estabelecimento de populações de organismos exóticos são fundamentais para decisões no âmbito da conservação, e a utilização da metodologia desenvolvida no presente trabalho, dessa forma, é altamente recomendada.

REFERÊNCIAS

Agostinho A.A., Gomes L.C. & Pelicice F.M. (2007) *Ecologia e manejo de recursos pesqueiros em reservatórios do Brasil*. EDUEM, Maringa. 501p.

Agostinho A.A., Pelicice F.M. & Júlio Jr. H.F. (2005) Biodiversidade e introdução de espécies de peixes: Unidades de Conservação. In: Campos, J.B., Tossulino M.G.P. & Müller C.R.C. *Unidades de conservação: ações para valorização da biodiversidade*. Instituto Ambiental do Paraná, Curitiba. 95-117.

Arthington A.H. & Bluhdorn D.R. (1994) Distribution, genetics, ecology and status of the introduced cichlid, *Oreochromis mossambicus*, in Australia. *Internationale Vereinigung fur theoretische und angewandte Limnologie* **24**, 53-62.

Canonico G.C., Arthington A., McCrary J.K. & Thieme M.L. (2005) The effects of introduced tilapias on native biodiversity. *Aquatic Conservation-Marine and Freshwater Ecosystems* **15**, 463-483.

Casal C.M.V. (2006). Global Documentation of Fish Introductions: the Growing Crisis and Recommendations for Action. *Biological Invasions* **8**, 3-11.

Esselman P.C. (2009) Fish communities and conservation of aquatic landscapes in northeastern Mesoamerica. Tese - The University of Michigan. 120p.

Sala O.E., Chapin F.S., Armesto J.J., Berlow E., Bloomfield J., Dirzo R., Huber-Sanwald E., Huenneke L.F., Jackson R.B., Kinzig A., Leemans R.D., Lodge M., Mooney H.A., Oesterheld M., Poff N.L.M., Sykes T., Walker B.H., Walker M. & Wall D.H. (2000). Biodiversity - global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science* **287**, 1770-1774.

Schmitter-Soto J.J. & Caro C.I. (1997) Distribution of tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Perciformes : Cichlidae), and water body characteristics in Quintana Roo, Mexico. *Revista de Biología Tropical* **45**, 1257-1261.