

Alexandre Pucci HERCOS<sup>1,2\*</sup>, Helder Lima de QUEIROZ<sup>1</sup>, Grazielle Fernanda Evangelista GOMES<sup>3</sup>, Efremer Jorge Godim FERREIRA<sup>2</sup>

**HOMOGENEIDADE GENÉTICA DE *Symphysodon tarzoo*  
(PERCIFORMES: CICHLIDAE) NO LAGO AMANÃ,  
AMAZONAS, BRASIL**

**Palavras chave:**  
DNA mitocondrial  
Genética de populações  
Acará-disco  
Amazônia

**RESUMO:** Análises para verificar os níveis de conectividade genética de populações são de extrema relevância para subsidiar políticas públicas visando o gerenciamento pesqueiro a fim de garantir o manejo e a conservação desses recursos. O sequenciamento de fragmento do DNA mitocondrial foi utilizado visando analisar a estrutura genética de populações de *Symphysodon tarzoo* e avaliar a ocorrência de processos de especiação, discutindo as possíveis barreiras ao fluxo gênico para espécie. Noventa indivíduos de *S. tarzoo*, provenientes do Lago Amanã e áreas adjacentes, foram utilizados nas análises. A ausência de subestruturação populacional, com a ausência de formação de clados de uma mesma localidade, na árvore filogenética e na rede de haplótipos indica que todas as localidades analisadas constituem uma mesma população ou estoque genético. Outros autores sugerem que este resultado pode decorrer de uma divergência recente no estoque original, da homogeneidade de habitats e da possível ocorrência de dispersão eventual entre as populações, colaborando para a manutenção de uma constituição genética única para todas as subpopulações consideradas. E indicando também uma origem múltipla da espécie, com a possível ocorrência de uma área de hibridização entre dois ou mais táxons, contribuindo geneticamente para a formação e evolução desse grupo. Como provavelmente se trata de uma metapopulação distribuída em subpopulações, não foi possível a identificação de barreiras físicas para dispersão da espécie ao longo da área de estudo. Desta maneira, provavelmente o manejo da espécie na área de estudo pode ser realizado considerando que todos os indivíduos pertencem a um mesmo estoque genético.

**GENETIC HOMOGENEITY OF THE *Symphysodon tarzoo*  
(PERCIFORMES: CICHLIDAE) IN AMANÃ LAKE, AMAZONAS,  
BRAZIL**

**Keywords:**  
Mitochondrial DNA  
Genetics of populations  
Discus-fish  
Amazon

**ABSTRACT:** Analyzes to verify the levels of genetic connectivity of populations are extremely relevant to subsidize public policies that aims fisheries management in order to guarantee the management and conservation of these resources. Mitochondrial DNA fragments sequencing was used to analyze the genetic structure of *Symphysodon tarzoo* populations and to evaluate the occurrence of speciation processes in order to discuss the possible barriers to gene flow for the species. Ninety individuals of *S. tarzoo* from Amanã Lake and adjacent areas were used in the analyzes. The absence of population substructure observed in the results, summed to the absence of clades formation from the same location, either in the phylogenetic tree and in the haplotype network, indicate that all the analyzed locations represent the same population, or genetic stock. Other authors suggest that this result may be due to a recent divergence in the original stock, the homogeneity of habitats, and the possible occurrence of eventual dispersion among the populations, collaborating to maintain a unique genetic constitution for all subpopulations considered. It also indicates a multiple origin of the species, with the possible occurrence of an area of hybridization between two or more taxa, contributing genetically to the formation and evolution of this group. As it is probably a metapopulation distributed in subpopulations, it was not possible to identify physical barriers to species dispersion throughout the study area. In this way, probably the management of the species in the study area can be carried out considering that all the individuals belong to the same genetic stock.

<sup>1</sup>Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá Tefé, AM; <sup>2</sup>Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia, Coordenação de Pesquisa em Biologia Aquática, Manaus, AM; <sup>3</sup>Laboratório de Genética Aplicada, Instituto de Estudos Costeiros, Universidade Federal do Pará, Bragança, PA.

\* Correspondência: alexandrehercos.apui@gmail.com

## INTRODUÇÃO

Uma maneira robusta de estudar a estrutura genética populacional em organismos é através do uso de marcadores moleculares específicos, capazes de detectar polimorfismos de DNA. A utilização do DNA em estudos evolutivos de espécies e populações abriu uma nova perspectiva em estudos biológicos. Dentre os fragmentos de DNA comumente utilizados nessas análises, o DNA mitocondrial tem recebido atenção especial, pois possui uma alta taxa de evolução, herança de origem uniparental geralmente materna, facilidade de isolamento de seus genes, com tamanhos médios inferiores a dois quilobases (Brown, 2008). Sendo também muito eficazes para reconstrução filogenética e têm sido largamente empregadas em várias outras abordagens evolutivas, tais como, estudos de fluxo gênico, especiação, sistemática e estrutura de populações, também têm sido usados de forma complementar a outras informações básicas, como a biologia e a ecologia (Avise, 1994; Perez-Sweeney et al., 2004).

Alguns estudos genéticos utilizando o sequenciamento de fragmentos de DNA mitocondrial foram realizados para uma melhor compreensão da taxonomia do gênero *Symphysodon* e para caracterizar geneticamente suas populações (Ready et al., 2006; Bleher et al., 2007; Farias; Hrbek, 2008).

Ready et al. (2006) concluíram que o gênero *Symphysodon* compreende duas linhagens principais distintas e propuseram a existência de três espécies: *S. aequifasciatus*, *S. discus* e *S. tarzoo*. A primeira linhagem compreende duas espécies. Sendo divididas de duas maneiras. Todas as populações de discos verdes e azuis, anteriormente consideradas como pertencentes a *S. aequifasciatus* e que ocorrem a oeste do arco do Purus foram denominados *S. tarzoo*, e todas as populações de disco que ocorrem a leste do arco de Purus foram consideradas *S. aequifasciatus*. A

segunda linhagem compreende de *S. discus* ocorre nas bacias dos rios Negro, Abacaxis (baixo rio Madeira) e Trombetas.

Bleher et al. (2007) estudaram as relações entre as populações de acarás-discos e chegaram à mesma conclusão que Ready et al. (2006) sobre o número de espécies, porém com resultados diferentes. Neste estudo, *S. aequifasciatus* seria a única espécie que ocorre a oeste do arco do Purus. *S. haraldi* seria distribuída extensamente desde a foz do rio Amazonas até o baixo rio Içá, perto do limite oeste de distribuição do gênero *S. discus* tem sua distribuição limitada ao Rio Negro, alguns tributários da margem esquerda do Rio Amazonas e ao Rio Abacaxis.

Farias e Hrbek (2008) encontraram resultados totalmente distintos. Neste estudo foram identificados três diferentes grupos monofiléticos. O primeiro grupo composto pelos “discos verdes” (*S. aequifasciatus*) do alto da bacia do Rio Amazonas, de Tabatinga até a região de Tefé. O segundo grupo composto pelos “discos azuis” (*S. aequifasciatus*) da região central da bacia amazônica, da região de Coari até Iranduba. Um terceiro grupo composto pelos “discos marrons” (*S. aequifasciatus*) para a região do baixo Amazonas, do Rio Madeira até o Rio Tocantins, pelos acarás-disco do Rio Xingu (*S. aequifasciatus*) e pelas duas subespécies descritas de *S. discus*, o “Heckel” da bacia do Rio Negro e o “abacaxi” do Rio Abacaxi.

Devido à incerteza acerca dos limites taxonômicos de *S. tarzoo*, o presente estudo seguindo as normas do Código Internacional da Nomenclatura Zoológica (ICZN - International Code of Zoological Nomenclature adotará o nome *S. tarzoo* proposto por Lyons (1959), para os acarás-disco da região do Lago Amanã.

A espécie *S. tarzoo* é considerada do morfotipo verde e sua distribuição vai do oeste do arco do Purus até a região de Tabatinga – AM. Possui como características uma coloração verde metálica em todo corpo, sendo

intensa nas suas extremidades, possuindo também pequenas manchas amareladas e marrons no corpo sendo estas marcas mais notadas em volta da cabeça e opérculo. Ainda, possui barras transversais de coloração negra (de seis a oito barras) (observação pessoal). Possui uma única população panmítica com uma baixa divergência genética dentro da área de distribuição da espécie/morfotipo (Ready et al., 2006; Amado et al., 2011).

Os resultados conflitantes da taxonomia e caracterização genética de suas populações podem estar relacionados à ocorrência de zona de hibridização natural. A existência de híbridos naturais já foi identificada em outro estudo (Mazeroll; Weiss, 1995). A ocorrência de hibridização na história evolutiva de um grupo pode introduzir genes de um táxon a outro, e assim tornar possível uma origem poliplóide via hibridização sugerindo que a história evolutiva do gênero pode ter sido marcada por eventos de introgressão e hibridização (Amado, 2011).

Dentre os parâmetros biológicos necessários para a conservação e manutenção de um estoque pesqueiro está sua variabilidade genética, que corresponde à variedade de alelos e genótipos dentro de uma população. Essa variabilidade nos permite diferenciar indivíduos, populações e até mesmo espécies (Ferguson et al., 1995). Para isto, devemos ser capazes de identificar e caracterizar geneticamente uma população (Oveden, 1990).

Os acarás-disco (*Symphysodon* spp.) são peixes endêmicos da Bacia Amazônica, pertencentes à ordem Perciformes, família Cichlidae e tribo Heroini (Kullander, 1998). Apresentam o corpo no formato discoidal e uma grande variação em seus padrões de coloração. Estas características fazem com que eles apresentem um elevado valor comercial, sendo muito utilizados na aquariofilia, figurando entre as principais espécies de água doce exploradas para fins ornamentais (Prang, 2007; Rossoni et al., 2010).

São peixes geralmente encontrados nas margens de lagos e rios, entre galhos e vegetações submersas, normalmente em águas calmas, protegidas e pouco profundas (Crampton, 2008). Raramente atravessam áreas abertas de grandes rios, sendo estes, considerados barreiras físicas para a dispersão e para o contato entre populações adjacentes (Bleher, 1995).

Apesar de sua importância econômica, ainda existe uma lacuna de conhecimentos científicos sobre aspectos biológicos e ecológicos das espécies de *Symphysodon* spp., principalmente em ambiente natural, sendo a grande maioria das informações originárias de criadores e aquaristas (Leite; Zuanon, 1991; Crampton, 1999). Desta maneira, estudos como de estrutura genética populacional das espécies de *Symphysodon* e análises para verificar os níveis de conectividade dessas populações são de extrema relevância para subsidiar políticas públicas visando o gerenciamento pesqueiro a fim de garantir o manejo e a conservação desses recursos.

O presente estudo visou identificar a estrutura genética das populações de *S. tarzoo* que ocorrem no Lago Amanã e seus igarapés tributários, e avaliar a ocorrência de prováveis processos de especiação, discutindo as possíveis barreiras ao fluxo gênico para esta espécie.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Áreas de Estudo

A Reserva de Desenvolvimento Sustentável Amanã (RDSA), criada em 1998 pelo Governo do Estado do Amazonas, é uma das maiores áreas protegidas de floresta tropical na América do Sul, com cerca de 2.350.000 hectares. A RDSA inclui parte de duas bacias hidrográficas do oeste da Amazônia, as bacias do Rio Solimões e do Rio Negro, em uma área situada entre as coordenadas 1° 35'43" e 3° 16'13" S e 62° 44'10" e 65° 23'36" W (Figura 1).

O presente estudo foi realizado no Lago Amanã, principal corpo d'água da RDSA, e nos seus igarapés tributários. O Lago Amanã possui cerca de 42 Km de comprimento e 3 Km de largura, sendo o quarto maior lago de ria da Amazônia Brasileira. Ele possui um grande número de igarapés tributários. Alguns igarapés tributários estão associados ao Rio Japurá (Bacia do Solimões) e local de ocorrência de *S. tarzoo*. Já os igarapés da margem esquerda possuem suas nascentes em áreas de terra firme onde se encontram com as nascentes do Rio Unini, na bacia do Rio Negro, local de distribuição de *S. discus*. Este complexo de corpos d'água cria um mosaico bastante variado de ambientes aquáticos, sendo responsável por uma grande riqueza aquática.

### Amostragem e estratégia de coleta

Os espécimes de *S. tarzoo* foram coletados em todos os principais igarapés

tributários do Lago Amanã, num total de onze corpos d'água. As coletas foram realizadas entre as moitas submersas de maracaranas (*Ruprechtia* sp., Polygonaceae) e de carauazeiro (*Symmeria paniculata*, Polygonaceae), durante a estação seca (agosto a novembro) nos anos de 2007 e 2008.

Sendo utilizado uma rede de mão (puçá) e com o auxílio de uma lanterna, sendo sacrificados com uma dose letal de Eugenol e em seguida conservados em isopores com gelo. Em cada área amostral foi determinado um ponto de coleta, no caso dos igarapés sempre próximo ao encontro do mesmo com o Lago Amanã (Figura 2).

Outras três localidades, denominadas grupos externos, foram amostradas: uma no Rio Tambaqui (ainda dentro dos limites da Reserva Amanã, porém na área de várzea) e duas no Lago de Tefé (fora dos limites da Reserva Amanã) (Figura 2).

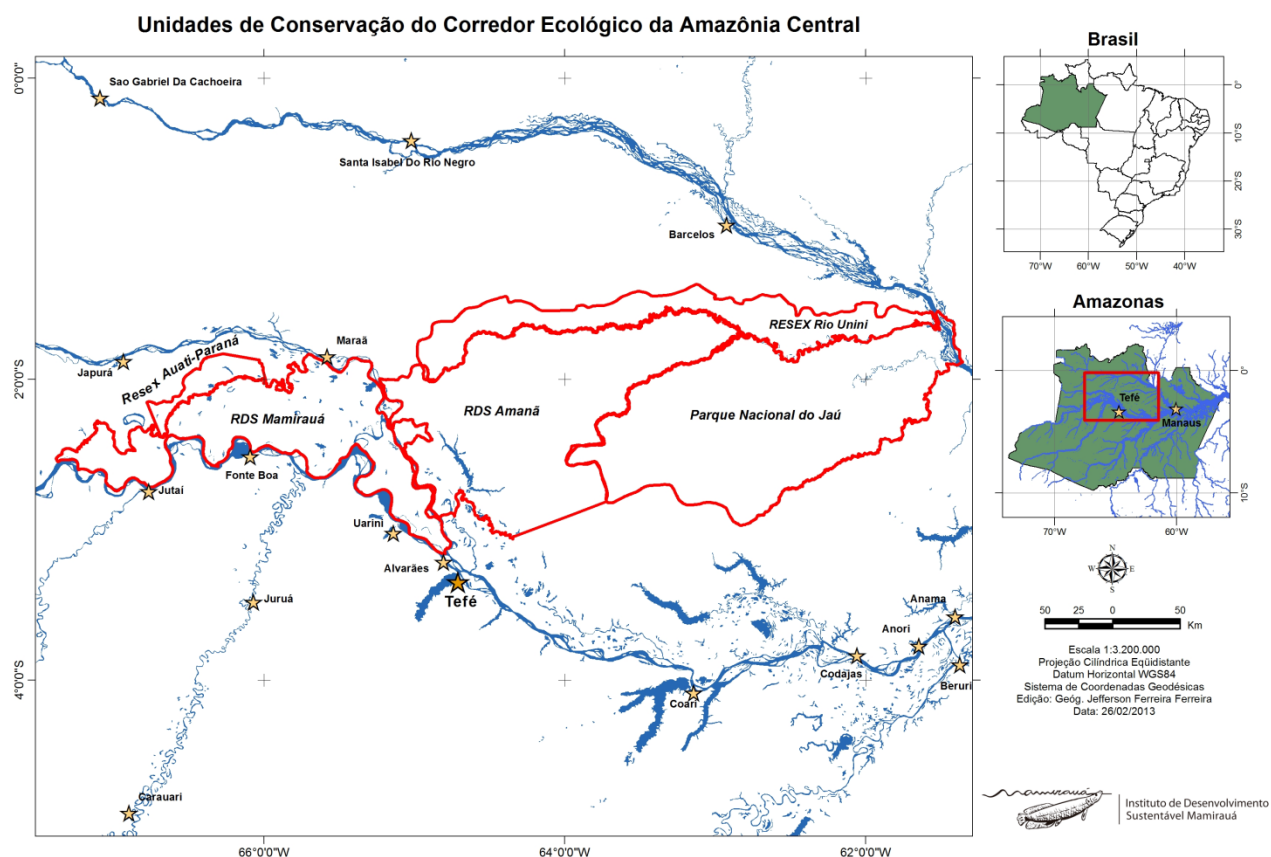
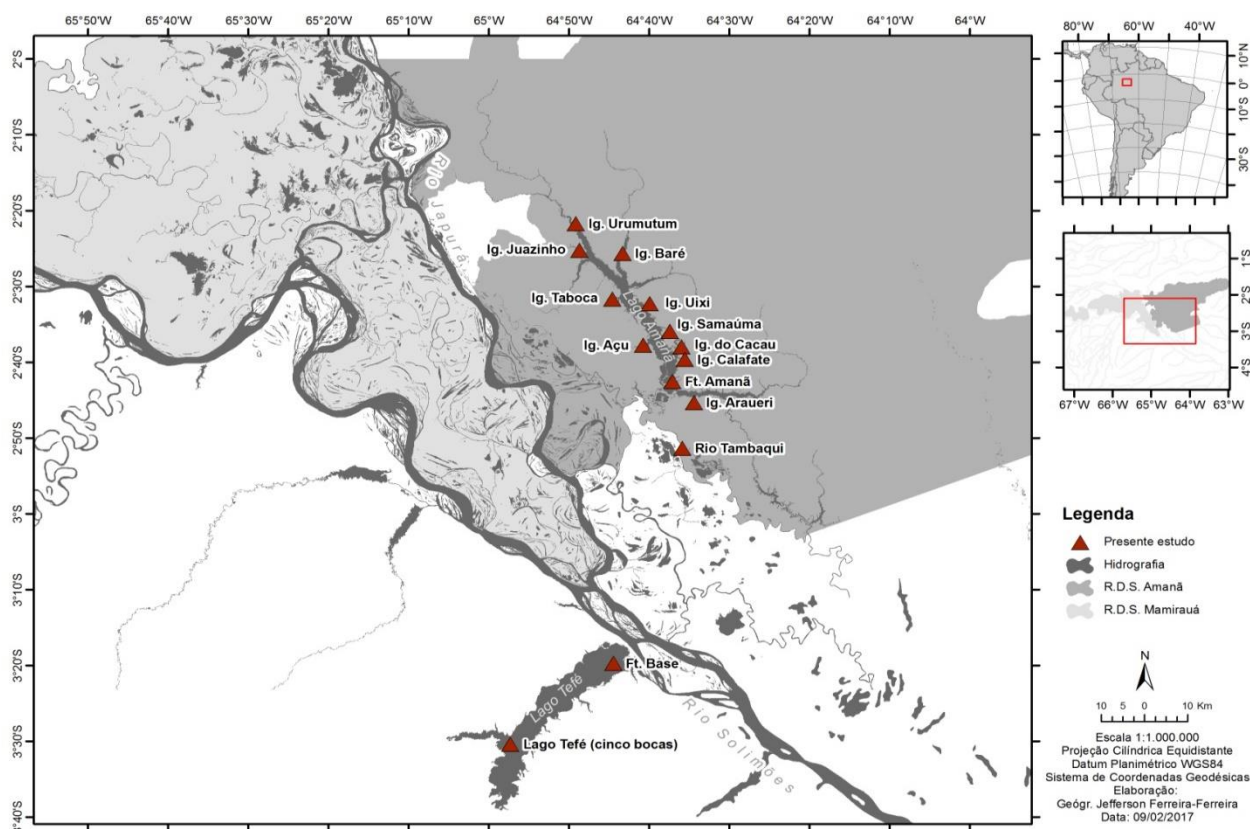


FIGURA 1 Localização geográfica da Reserva de Desenvolvimento Sustentável Amanã. Fonte: Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá - IDSM, 2017.



**FIGURA 2** Locais onde foram realizadas as coletas de *Symphysodon tarzoo* para as análises genética.

Os espécimes coletados foram conservados em isopor com gelo e transportados para laboratório de ictiologia do Instituto Mamirauá (IDS), onde foram retiradas amostras de tecido muscular, na porção superior anterior, após o opérculo. As amostras de tecidos biológico foram acondicionadas em pequenos frascos de vidros, conservadas em álcool 70%, e armazenadas em congelador, sendo devidamente etiquetadas e identificadas. O material testemunho encontra-se no laboratório de genética da Universidade Federal do Pará, Campus de Bragança, sendo preparado para tombamento em coleção de referência.

### Amostragem e estratégia de coleta

O DNA total foi obtido utilizando-se o protocolo de extração com enzimas (RNase e Proteinase K) e fenol/clorofórmio/álcool isoamílico (Sambrook et al., 1989). Em seguida, o DNA foi visualizado em luz ultravioleta através de eletroforese horizontal

em gel de agarose a 1%, corado com brometo de etídio.

Um fragmento da Região Controle (D-Loop) do DNA mitocondrial foi amplificado via reação em cadeia da polimerase (PCR) utilizando-se os iniciadores L1 5' CTAAGTCCCAAAGCTAGKATTC 3' e H2 5' CCGGCRCTCTTAGCTTTAACTA 3' (Gomes et al., 2008), e as seguintes condições de amplificação: desnaturação inicial a 94°C por 3 minutos, seguido de 30 ciclos, que incluem: desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 57°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 2 minutos e extensão final a 72°C por 7 minutos.

O produto da PCR foi submetido a reação de sequenciamento utilizando-se o método didesoxiterminal (Sanger et al., 1977) com reagentes do Kit Big Dye (ABI Prism™ Dye Terminator Cycle Sequencing Reading Reaction – PE Applied Biosystems), para a amplificação de apenas uma fita de DNA, que foi a região sequenciada, utilizando o iniciador Dloop L1. Após essa reação de sequência,

realizou-se um processo de purificação, em uma etapa chamada de precipitação. Este produto precipitado foi submetido à eletroforese em gel de poliacrilamida em um sequenciador ABI Prism 377 (Applied Biosystems - Perkin Elmer) para realizar a leitura dos nucleotídeos marcados durante a reação de sequenciamento e dessa forma, obter a sequência pretendida.

### Análises genéticas

Os eletroferogramas de todas as sequências foram inspecionados manualmente para a confirmação dos nucleotídeos presentes, para o início da composição do banco de dados no programa BioEdit (Hall, 1999), onde foram editadas e novamente inspecionadas, seguindo com o alinhamento automático realizado pelo CLUSTALW (Thompson et al., 1994), aplicativo implementado no BioEdit (Hall, 1999), utilizando todos os parâmetros default do programa. As análises de variabilidade genética foram realizadas utilizando-se os índices de diversidade haplotípica ( $h$  – medida que considera a frequência e número de haplótipos entre os indivíduos) e de diversidade nucleotídica ( $\pi$  – estimativa corrigida de divergência entre as sequências) (Nei, 1987) no programa DnaSP 3.99 (Rozas et al., 2003). No programa Arlequin 2.0 (Schneider et al., 2000) foram verificados a composição de bases, o número de sítios polimórficos, a frequência de transições e transversões, e em seguida realizados os testes de Tajima (D) (Tajima, 1989) e Fu (Fs) (Fu, 1996), para verificar os desvios da neutralidade. A rede de haplótipos foi gerada no programa Network 4.0 (Fluxus Technology Ltda., 2003), utilizando o algoritmo Median-joining (MJ). No programa MEGA 2.1 (Kumar et al., 2001) foi gerada a matriz de distância genética, utilizando a distância P, não corrigida.

Para as análises filogenéticas, utilizou-se o programa PAUP 4.0 (Swofford, 2002), sob o método da máxima parcimônia, que

consiste na escolha da hipótese mais simples dentre todas as hipóteses possíveis de reconstrução filogenética, ou seja, a árvore que apresentar o menor número de passos. Cada passo representa uma mudança de estado de caráter e, no caso do DNA, uma mutação em um dos sítios das sequências alinhadas. O suporte dos ramos foi estimado pelo método de reamostragem bootstrap, gerado a partir de 1000 réplicas.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisados 90 indivíduos de quatorze localidades, como detalhado na Tabela 1.

**Tabela 1** Amostragem de *Symphysodon tarzoo* considerando cada localidade.

Localidade	Nº de amostras	Município
Igarapé Cacau	5	Maraã
Flutuante Base	5	Tefé
Igarapé Calafate	10	Maraã
Rio Tambaqui	10	Maraã
Igarapé Samaúma	5	Maraã
Igarapé Uxi	10	Maraã
Igarapé Juazinho	7	Maraã
Flutuante Amanã	5	Maraã
Igarapé Baré	6	Maraã
Igarapé Urumutum	9	Maraã
Igarapé Taboca	5	Maraã
Igarapé Araueri	5	Maraã
Lago Tefé	5	Tefé
Igarapé Açú	3	Maraã

Obteve-se um fragmento de 478 pares de bases da região controle do DNA mitocondrial para os indivíduos. Foram encontrados treze sítios polimórficos, que resultaram em dezoito haplótipos. Destes, nove foram representados por apenas um indivíduo cada. O haplótipo H-2 foi o mais representativo, compartilhado por 48 indivíduos, presentes em doze localidades amostradas (Tabela 2).

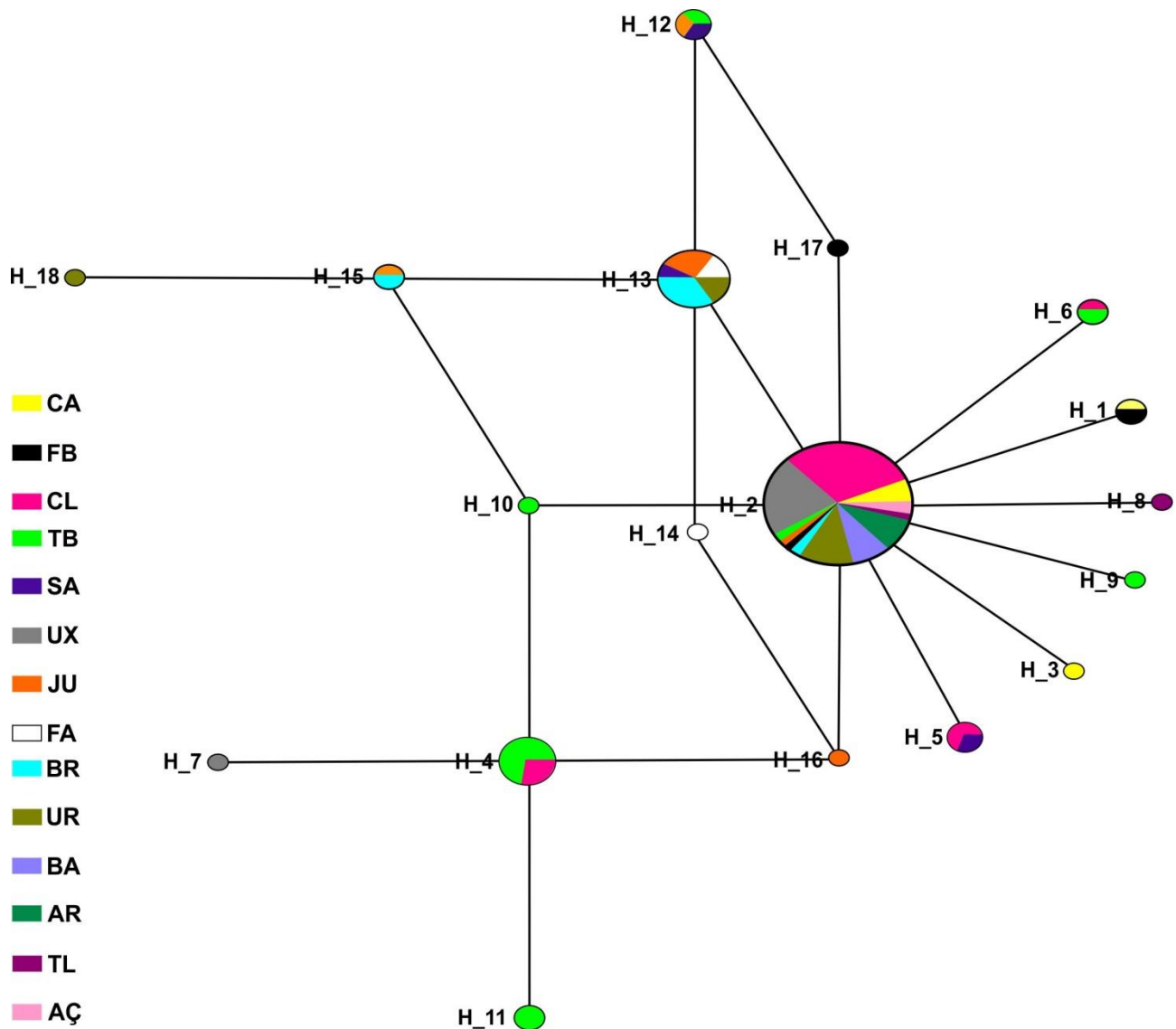
Não se pode constatar uma separação clara entre os grupos de indivíduos estudados nos diferentes corpos d'água (Figura 3), sendo o haplótipo H-2 o que apresentou a maior frequência com 48 amostras (mais de 50% do

total de amostras) de doze localidades diferentes, diferenciando dos demais por no máximo três mutações (H-18, H-7, H-11). O formato de estrela é comumente encontrado em populações em expansão, sendo este haplótipo provavelmente o ancestral (Mardulyn, 2001). Os indivíduos das três

localidades externas à reserva compartilham haplótipos com os indivíduos localizados nos igarapés tributários do Lago Amanã. Inclusive no caso das amostras provenientes do Lago Tefé, que possuem as maiores distâncias geográfica e são separadas pelos rios Japurá e Solimões (Figura 2).

**TABELA 2** Haplótipos, frequência dos haplótipos e número de haplótipo por local de coleta para *Symphysodon tarzoo*, baseada em 478 pares de bases da Região D-loop do DNA mitocondrial, coletados em 14 sítios amostrais do Lago Amanã e adjacências.

Haplótipo	Frequência dos haplótipos	Localidade	Nº de amostras		
H-1	2	Igarapé Cacau	1		
		Flutuante Base	1		
H-2	48	Igarapé Cacau	3		
		Flutuante Base	1		
		Igarapé Calafate	13		
		Rio Tambaqui	1		
		Igarapé Uxi	9		
		Igarapé Juazinho	1		
		Igarapé Baré	1		
		Igarapé Urumutum	8		
		Igarapé Taboca	4		
		Igarapé Araueri	4		
		Lago Tefé	1		
		Igarapé Açú	2		
		H-3	1	Igarapé Cacau	1
		H-4	7	Rio Tambaqui	4
Igarapé Calafate	3				
H-5	3	Igarapé Calafate	2		
		Lago Tefé	1		
H-6	2	Igarapé Calafate	1		
		Rio Tambaqui	1		
H-7	1	Igarapé Uxi	1		
H-8	1	Igarapé Uxi	1		
		H-9	1	Rio Tambaqui	1
H-10	1	Rio Tambaqui	1		
H-11	2	Rio Tambaqui	2		
H-12	3	Igarapé Juazinho	1		
		Igarapé Samaúma	1		
		Rio Tambaqui	1		
		H-13	12	Igarapé Samaúma	1
H-14	1	Flutuante Amanã	1		
		H-15	2	Igarapé Baré	1
H-16	1	Igarapé Juazinho	1		
		H-17	1	Flutuante Amanã	1
H-18	1	Igarapé Urumutum	1		



**FIGURA 3** Rede de haplótipos de *Symphysodon tarzoo* baseada em 478 pares de bases da Região D-loop do DNA mitocondrial. O tamanho dos círculos é proporcional a frequência do haplótipo e as cores de acordo a localidade. CA = Igarapé Cacau; FB = Flutuante Base (Lago Tefé); CL = Igarapé Calafate; TB = Rio Tambaqui; SA = Igarapé Samaúma; UX = Igarapé Uxi; JU = Igarapé Juazinho; FA = Flutuante Amanã (Lago Amanã); BR = Igarapé Baré; UR = Igarapé Urumutum; TA = Igarapé Taboca; AR = Igarapé do Araueri; LT = Lago Tefé; AÇ = Igarapé Açú.

Considerando todas as amostras, os valores de diversidade haplotípica e nucleotídica foram  $h = 0,694 \pm 0,050$  e  $\pi = 0,0025 \pm 0,00029$ , respectivamente. Desvios da neutralidade foram observados pelos testes de Tajima D ( $D = -1,865$ ,  $P = 0,02$ ) e Fu ( $F_s = -15,333$ ,  $P = 0,00$ ), que apresentaram valores negativos e significativos, o que indica que algum tipo de pressão seletiva e/ou expansão populacional estão em ação sobre a população estudada.

Considerando a distância genética média, os valores intrapopulacionais (grupos de peixes coletados em cada corpo d'água) não ultrapassaram 0,4%. Com o valor máximo igual 0,37% e o valor mínimo igual 0,09%. Comparando as populações (corpos d'água) entre si, os valores variaram de 0,23% a 0,57%, sugerindo homogeneidade genética.

Um clado contendo 44 indivíduos de doze localidades diferentes foi formado na árvore filogenética. Este clado incluiu nove localidades pertencentes ao Lago Amanã, além



de incluir amostras das três áreas consideradas grupos externos. A exceção foram as áreas do Flutuante Amanã e do Igarapé Samaúma, que não teve nenhuma amostra presente neste clado. Isso indica conectividade genética entre as populações de *S. tarzoo* (Figura 4).

A ausência clados formados por amostras de uma determinada localidade observada na análise de parcimônia, assim como a estrutura da rede de haplótipos, indica que todas as localidades analisadas constituem uma mesma população.

Os representantes de *Symphysodon* apresentam em seu ambiente natural diversos padrões de coloração, e os padrões de distribuição geográfica desses morfotipos vêm sendo utilizados para a definição de espécies, subespécies e variedades. Mesmo com a utilização de estudos moleculares, o número de espécies do gênero ainda é incerto. Nos diversos estudos genéticos realizados com o gênero, os resultados foram divergentes. Porém todos eles encontraram uma baixa divergência genética dentro do morfotipo verde, que ocorre na região de estudo. Esses estudos foram realizados com amostras de toda a suposta área de distribuição da espécie/morfotipo, demonstrando que há uma única população panmítica, mesmo com uma grande área de distribuição (Ready et al., 2006; Bleher et al., 2007; Farias; Hrbek, 2008; Amado et al., 2011).

Outros peixes da bacia Amazônica de ampla distribuição geográfica, também apresentam uma única população panmítica na calha do Rio Amazonas. Hrbek et al. (2005) encontraram uma única população panmítica para *Arapaima gigas* (pirarucu), sendo identificada uma fragmentação da população provocada pelas distâncias geográficas, porém com possível fluxo gênico.

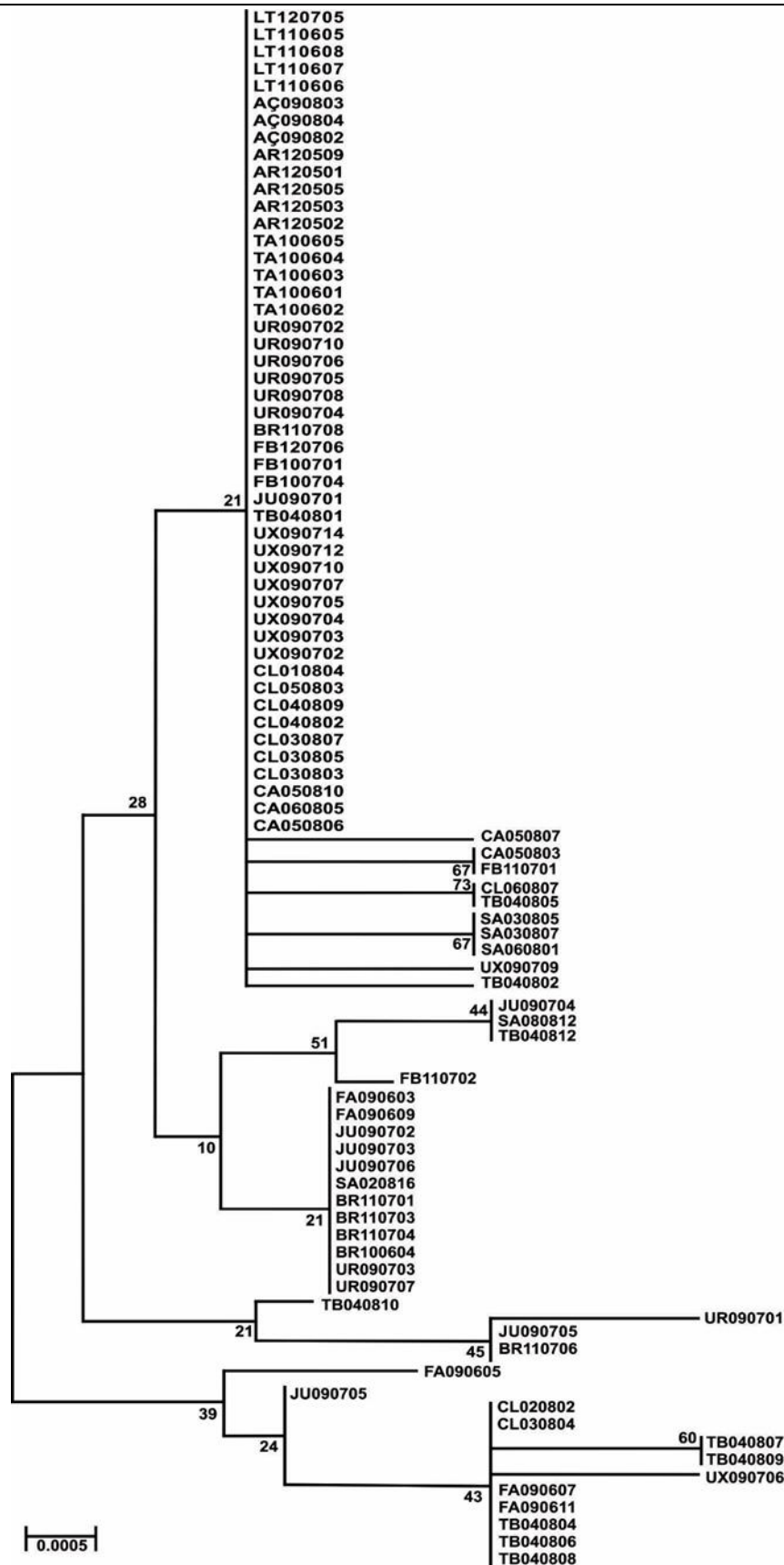
Santos et al. (2007) indicaram uma única população de *Colossoma macropomum* (tambaqui) dentro da bacia Amazônica brasileira suportado por um intenso fluxo gênico entre os indivíduos que habitam as

diferentes localidades, evidenciando um cenário de metapopulação. Estas espécies possuem comportamento de dispersão em grandes distâncias.

Entretanto não é o caso do acará-disco (*Symphysodon* spp.). Assim como as demais espécies de ciclídeos da Amazônia, os acarás-disco não são migradores. Estudos anteriores indicaram que os acarás-discos possuem alta fidelidade aos locais de vida, sendo registrados apenas pequenos deslocamentos entre as galhadas onde passam o período de seca e áreas de floresta inundada (Crampton, 1999, 2008).

Amado et al. (2011) sugerem que a manutenção de uma constituição genética homogênea para todas as populações de *S. tarzoo* (morfotipo verde) se deve a um processo de divergência recente e a homogeneidade de habitat. Sugerindo também que o morfotipo verde teve origem múltipla, e que, possivelmente, a ocorrência de uma área de hibridização entre dois ou mais táxons tenha contribuído geneticamente para a formação e evolução desse grupo (Farias; Hrbek, 2008; Amado et al., 2011). Eventos de poliploidia a partir da hibridização de espécies é um mecanismo comum de especiação em peixes (Leggatt; Ywama, 2003; Comber; Smith, 2004), e pode ter operado na formação deste morfotipo verde.

O presente estudo mostra que os indivíduos analisados de todas as áreas amostrais pertencem a uma mesma população, indicando fluxo gênico entre os indivíduos provenientes dos igarapés tributários do Lago Amanã. O mesmo estaria acontecendo entre as áreas consideradas externas (Lago Tefé e Rio Tambaqui) em relação às amostras do Lago Amanã, mesmo considerando as distâncias geográficas entre elas, e a presença de dois grandes rios (Japurá e Solimões) separando estas localidades que eram considerados barreiras físicas à dispersão dos acarás-disco.



**FIGURA 4** Cladograma obtido através da análise de parcimônia da Região D-loop do DNA mitocondrial. Os números acima dos ramos são valores obtidos através do método de máxima parcimônia. CA = Igarapé Cacau; FB = Flutuante Base (Lago Tefé); CL = Igarapé Calafate; TB = Rio Tambaqui; SA = Igarapé Samaúma; UX = Igarapé Uxi; JU = Igarapé Juazinho; FA = Flutuante Amanã (Lago Amanã); BR = Igarapé Baré; UR = Igarapé Urumutum; TA = Igarapé Taboca; AR = Igarapé do Araueri; LT = Lago Tefé; AÇ = Igarapé Açú.

Mesmo considerando a dificuldade de transpor barreiras como grandes rios, e também o comportamento de fidelidade local, e de formação de agregações familiares (Bleher, 1995; Crampton, 2008), ficou demonstrado que *S. tarzoo* apresenta-se como uma metapopulação em sua distribuição conhecida, caracterizada por um conjunto de subpopulações conectadas por movimentos ocasionais de indivíduos entre elas (Ricklefs, 2009).

A falta de conhecimento mais profundo sobre a biologia e ecologia dos acará-disco, associada à dificuldade de captura dos indivíduos durante o período de cheia (Crampton, 2008), momento onde ocorre a reprodução e dispersão da espécie, podem estar dificultando o entendimento da conexão entre as sub-populações.

Estudos anteriores indicam a existência de outras sub-populações distribuídas geograficamente entre as amostras do Lago Amanã e os grupos externos localizados no Lago Tefé (Figura 2). Crampton (1999) capturou indivíduos de *S. tarzoo* em pelo menos seis lagos da RDS Mamirauá. Mendonça, Camargo (2006) relataram a pesca comercial de *S. tarzoo* provenientes da RSD Mamirauá durante a década de 1990, indicando uma possível extinção local em decorrência da sobrepesca. A existência destas populações residentes em localizadas em áreas entre as sub-populações do Lago Amanã e as sub-populações do Lago Tefé (grupo externo), indicam que em um passado recente existia uma pequena distância física entre todas estas sub-populações, aumentando a chance movimentos de indivíduos entre elas, possibilitando o fluxo gênico.

Ainda não é sabido como ocorre esta movimentação ou dispersão de indivíduos entre as sub-populações, mas podemos inferir que se trata de um processo ocasional. E possivelmente é um processo lento, pois aparentemente a recolonização natural dos ambientes não ocorre em poucos anos

(observação pessoal). Mesmo após transcorridos mais de quinze anos dos estudos sobre *S. tarzoo* realizados na Reserva Mamirauá (Crampton, 1999) não foi capturado nenhum exemplar da espécie nestas áreas para compor o presente estudo.

## CONCLUSÃO

Não há diferenças genéticas consistentes entre os grupos de indivíduos de *S. tarzoo* coletados em onze igarapés do Lago Amanã, o que demonstra que todos os indivíduos fazem parte de uma mesma população e de um mesmo estoque genético.

Quando consideramos todas as áreas amostradas também não há diferenças genéticas entre as localidades amostradas, corroborando com outros estudos onde *S. tarzoo* apresenta-se como metapopulação em sua distribuição geográfica conhecida. Este resultado pode decorrer da divergência recente do estoque original, da homogeneidade de habitats e da possível ocorrência de dispersão eventual entre as populações, colaborando para a manutenção de uma constituição genética única para todas as sub-populações consideradas, contribuindo geneticamente para a formação e evolução desse grupo.

O estudo identificou uma metapopulação distribuída em subpopulações, não foi possível a identificação de barreiras físicas para dispersão da espécie ao longo da área de estudo. Desta maneira, o manejo da espécie na área de estudo pode ser realizado considerando que todos os indivíduos pertencem a uma mesma população.

## AGRADECIMENTOS

Ao Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá – IDSM, pelo aporte financeiro, infraestrutura, equipamentos e logística do trabalho. Ao Ministério de Ciência Tecnologia e Inovação – MCTI, Petrobras e Darwin Initiative, Defra, UK, pelo aporte financeiro. Ao Instituto Nacional de Pesquisas

da Amazônia – INPA, pela estrutura física e institucional.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMADO, M.V.; FARIAS, I.P.; HRBEK, T. A molecular perspective on systematics, taxonomy and classification amazonian discus fishes of the genus *Symphysodon*. **International Journal of Evolutionary Biology**, v. 2011, p. 1-16, 2011.
- AVISE, J.C. **Molecular markers, natural history and evolution**. Sunderland, MA, USA: Ed. Chapman & Hall Inc., 1994. 511p.
- BLEHER, H. Discus discoveries and history. Buntbarsche Bulletin, **The Journal of the American Cichlid Association**, n.170, p. 9-13, 1995.
- BLEHER, H.; STÖLTING, K.N.; SALZBURGER, W.A.; MEYER, A. Revision of the genus *Symphysodon* Heckel, 1840 (Teleostei: Perciformes: Cichlidae) based on molecular and morphological characters. **Aqua - International Journal of Ichthyology**, n.12, v.4, p.133-174, 2007.
- BROWN, K.H. Fish mitochondrial genomics: sequence, inheritance and functional variation. **Journal of Fish Biology**, n.72, p.355-374, 2008.
- COMBER, S.C.L.; SMITH, C. Polyploidy in fishes: patterns and processes. **Biological Journal Linnean Society**, n.82, p.431-442, 2004.
- CRAMPTON, W.G.R. 1999. Plano de Manejo Para o Uso Sustentável de Peixes Ornamentais na Reserva de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá. In: QUEIROZ, H.L.; CRAMPTON, W.G.R. (Eds.). **Estratégias para Manejo de Recursos Pesqueiros em Mamirauá**. Brasília, Distrito Federal: Sociedade Civil Mamirauá – Ministério da Ciência e Tecnologia/Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, 1999. p.159-176.
- CRAMPTON, W.G.R. Ecology and life history of an Amazon floodplain cichlid: the discus fish *Symphysodon* (Perciformes: Cichlidae). **Neotropical Ichthyology**, n.6, v.4, p.599-612, 2008.
- FARIAS, I.P.; T. HRBEK. 2008. Patterns of diversification in the discus fishes (*Symphysodon* spp. Cichlidae) of the Amazon basin. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, n.49, p.32–43, 2008.
- FERGUSON, A.; TAGGART, J.B.; PRODHOL, A. The application of molecular markers to the study and conservation of fish population with special reference to *Salmo*. **Journal of Fish Biology**, n.47, p.103-126, 1995.
- FU, Y.X. New statistical tests of neutrality for DNA samples from a population. **Genetics**, n.143, p.557-570, 1996.
- HRBEK, T.; FARIAS, I.P.; CROSSA, M.; SAMPAIO, I.J.; PORTO, I.R.; MEYER, A. Population genetic structure of *Arapaima gigas*, world's biggest freshwater fish: implications for conservation. **Animal Conservation**, n.8, p.297-308, 2005.
- KULLANDER, S.O. A phylogeny and classification of the South American Cichlidae (Teleostei: Perciformes). In: MALABARBA, L.R.; REIS, R.R.; VARI, R.P.; LUCENA, Z.M.S.; LUCENA, C.A.S. (Eds.). **Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes**. Porto Alegre, Rio Grande do Sul: Edipucrs, 1998. p.461-498.
- KUMAR, S.; TAMURA, K.; JACOBSEN, I.B.; NEI, M. MEGA2: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software. **Bioinformatics**, n.17, p.1244-1245, 2001.
- LEGGATT, R.A.; YWAMA, G.K. Occurrence of polyploidy in the fishes. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, n.13, p.237-246, 2003.
- LEITE, R.G.; ZUANON, J.A.S. Peixes ornamentais – aspectos de comercialização, ecologia, legislação e propostas de ações para um melhor aproveitamento. In: VAL, A.L.; FIGUOLO, R.; FELDBERG, E. (Ed.).

- Bases científicas para estratégias de preservação e desenvolvimento da Amazônia: fatos e perspectivas**, Vol.1. Manaus, Amazonas: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 1991. p. 327-331.
- MARDULYN, P. Phylogeography of the Vosges mountains populations of *Gonioctena pallida* (Coleoptera: Chrysomelidae): a nested clade analysis of mitochondrial DNA haplotypes. **Molecular Ecology**. v.10, p. 1751-1763, 2001.
- MAZEROLL, A.I.; WEISS, M. The state of confusion in discus taxonomy. In: KONINGS, A. (Ed.) **The Cichlids Yearbook**. St. Leonrot, Germany: Cichlid Press, 1995. p. 77-83.
- MENDONÇA, M.; CAMARGO, M. Etnoecologia da produção de peixes ornamentais num sector do médio Rio Solimões, FLONA Tefé e Reservas Mamirauá e Amanã – Estado do Amazonas. **Uakari**, n.2, v.1, p.53-61, 2006.
- NEI, M. 1987. **Molecular evolutionary genetics**. New York, USA: Ed. Columbia University Press, 1987. 512pp.
- OVENDEN, J.R. Mitochondrial DNA and marine stock assessment: a review. **Australian Journal of Marine and Freshwater Research**, n.41, p.835-853, 1990.
- PEREZ-SWEENEY, B.M.; RODRIGUES, F.P.; MELNICK, D.J. Metodologias moleculares. In: Cullen Jr, L.; Rudran, R.; Valladares-Padua, C. **Métodos de estudos em biologia da conservação & manejo da vida silvestre**. Editora da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná. p. 343-382. 2004.
- PRANG, G. An Industry Analysis of the Freshwater Ornamental Fishery with Particular Reference to the Supply of Brazilian Freshwater Ornamentals to the UK Market. **Uakari**, n.3, v.1, p.7-51, 2007.
- READY, J.S.; FERREIRA, E.J.G.; KULLANDER, S.O. Discus fishes: mitochondrial DNA evidence for a phylogeographic barrier in the Amazonian genus *Symphysodon* (Teleostei: Cichlidae). **Journal of Fish Biology**, n.69, Supplement B, p.200-211, 2006.
- RICKLEFS, R. E. **A economia da natureza**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2009. 503p.
- ROSSONI, F.P.; AMADIO, S.; FERREIRA, E.; ZUANON, J. Reproductive and population parameters of discus fish *Symphysodon aequifasciatus* Pellegrin, 1904 (Perciformes: Cichlidae) from Piagaçu-Purus Sustainable Development Reserve (RDS –PP), lower Purus River, Amazonas, Brazil. **Neotropical Ichthyology**, n. 8, v.2, p.379-383, 2010.
- ROZAS, J.; SÁNCHEZ-DEL BARRIO, J.C.; MESSEGUER, X.; ROZAS, R. DnaSP. DNA polymorphism analysis by the coalescent and other methods. **Bioinformatics**, n.19, v.18, p.2496-2497, 2003.
- SAMBROOK J., FRITSCH E.F.; MANIATIS T. 1989. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 2 ed. New York, NY, USA: Ed. Cold Spring Harbor Laboratory, 1989. 1626p.
- SANGER, F.; NICHLEN, S.; COULSON, A.R. DNA sequencing with haintermination inhibitors. **The Proceedings of the National Academy of Sciences**, USA, n.74, p.5463 – 5468, 1977.
- SANTOS, M.C.F.; RUFFINO, M.L.; FARIAS, I.P. High levels of genetic variability panmixia of the Tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816) in main channel of the Amazon River. **Journal of Fish Biology**, n.71, Supplement A, p.33-44, 2007.
- SCHNEIDER, S.; ROESSLI, D.; EXCOFFIER, L. Arlequin version 2.0: A software for population genetic data analysis. Geneva, Switzerland: Genetics

and biometry laboratory, University of Geneva. 2000.

SWOFFORD, D.L. PAUP, Phylogenetic Analysis Using Parsimony and other methods. Beta version V.4. 10b. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 2002.

TAJIMA, F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. **Genetics**, n.123, p.585-595, 1989.

THOMPSON, J.D.; HIGGINS, D.G.; GIBSON, T.J. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting position-specific penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Res**, n.22, p. 4673-4680, 1994.