



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**ESTRUTURA POPULACIONAL E DIVERSIDADE GENÉTICA DO
CAMARÃO-GIGANTE-DA-MALÁSIA (*Macrobrachium rosenbergii*) NO BRASIL**

FERNANDA CORTEZ RORIZ PONTES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

BRASÍLIA/DF
FEVEREIRO DE 2026



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**ESTRUTURA POPULACIONAL E DIVERSIDADE GENÉTICA DO
CAMARÃO-GIGANTE-DA-MALÁSIA (*Macrobrachium rosenbergii*) NO BRASIL**

FERNANDA CORTEZ RORIZ PONTES

ORIENTADOR: Dr. ALEXANDRE RODRIGUES CAETANO

COORIENTADORA: Dra. PATRÍCIA IANELLA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

PUBLICAÇÃO: NÚMERO DA DISSERTAÇÃO/TESE/ANO

BRASÍLIA/DF
FEVEREIRO DE 2026

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

PONTES, F. C. R. **Estrutura populacional e diversidade genética do camarão-gigante-da-malásia (*Macrobrachium rosenbergii*) no Brasil**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2026, 82p. Dissertação de Mestrado.

Documento formal, autorizando reprodução desta dissertação de mestrado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor e o seu orientador reservam para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor ou do seu orientador. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

CP814ee Cortez Roriz Pontes, Fernanda
Estrutura populacional e diversidade genética do camarão-gigante-da-malásia (*Macrobrachium rosenbergii*) no Brasil / Fernanda Cortez Roriz Pontes; orientador Alexandre Rodrigues Caetano; co-orientador Patrícia Ianella. Brasília, 2026.
82 p.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Universidade de Brasília, 2026.

1. Carcinocultura. 2. Chip de genotipagem. 3. Citocromo c oxidase subunidade 1. 4. Endogamia. 5. Marcadores moleculares SNP. I. Rodrigues Caetano, Alexandre, orient. II. Ianella, Patrícia, co-orient. III. Título.

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

ESTRUTURA POPULACIONAL E DIVERSIDADE GENÉTICA DO
CAMARÃO-GIGANTE-DA-MALÁSIA (*Macrobrachium rosenbergii*) NO BRASIL

FERNANDA CORTEZ RORIZ PONTES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS ANIMAIS, COMO PARTE DOS
REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO
GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS ANIMAIS.

APROVADA POR

ALEXANDRE RODRIGUES CAETANO, Doutor (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia) (ORIENTADOR)

RENATO CAPARROZ, Doutor (Universidade de Brasília) (EXAMINADOR INTERNO)

EDUARDO LUÍS CUPERTINO BALLESTER, Doutor (Universidade Federal do Paraná) (EXAMINADOR EXTERNO)

BRASÍLIA/DF,
23 DE FEVEREIRO DE 2026

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores, Dr. Alexandre Rodrigues Caetano e Dra. Patrícia Ianella, agradeço profundamente pela oportunidade de aprendizado, pela confiança depositada em mim e pela orientação científica ao longo da execução deste estudo. Sou grata pela disponibilidade, pelo rigor acadêmico, pelas discussões construtivas e pelos ensinamentos que extrapolam este trabalho e que levarei comigo ao longo da minha trajetória profissional.

Aos meus pais, Luciana e Guilherme, agradeço por todo o apoio, incentivo, paciência e compreensão ao longo da minha formação acadêmica. O suporte de vocês foi fundamental para que eu pudesse chegar até aqui.

Ao meu irmão Gabriel, agradeço o apoio, companheirismo e incentivo constantes ao longo dessa caminhada.

Aos membros da banca examinadora, Prof. Dr. Renato Caparroz e Prof. Dr. Eduardo Luís Cupertino Ballester, agradeço por terem gentilmente aceitado contribuir para a avaliação deste trabalho, por meio de considerações, sugestões e do tempo dedicado, indispensáveis para o aprimoramento desta dissertação. Ao Prof. Dr. Renato Caparroz, agradeço ainda pelos ensinamentos durante a graduação, período em que tive a oportunidade de ser sua aluna, e registro minha admiração por sua trajetória acadêmica e científica.

Ao Dr. Fabricio da Silva Morgado, agradeço pelo incentivo constante, pela confiança e por ter reconhecido e estimulado meu potencial ao longo da minha trajetória na ciência. Sou grata pelos ensinamentos, pelas conversas, pelo apoio contínuo ao longo dos anos e pela amizade construída, que foram fundamentais para minha formação acadêmica e pessoal.

Aos amigos que conheci na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Káifer, Noeliton, Maysa e Luidy agradeço sinceramente pelas contribuições diretas e indiretas para a realização deste trabalho. Seja pelo compartilhamento de materiais, pelas discussões técnicas, pelo auxílio na resolução de dúvidas ou simplesmente por tornarem os dias de trabalho mais leves e agradáveis, a convivência com vocês foi essencial durante esse período.

À Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, agradeço pela infraestrutura, pelo suporte técnico e pelo ambiente profissional que possibilitaram a realização desta pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), agradeço o suporte financeiro concedido durante o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço aos produtores/pesquisadores de camarão-gigante-da-malásia que gentilmente coletaram e forneceram as amostras utilizadas na execução deste estudo.

Por fim, agradeço a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desta importante etapa da minha vida acadêmica e profissional.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
1.1 INTRODUÇÃO	14
1.2 OBJETIVOS	17
1.2.1 Objetivo geral	17
1.2.2 Objetivo específico	17
1.3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
1.3.1 Aspectos gerais do Gigante-da-Malásia (<i>M. rosenbergii</i>)	18
1.3.2 Reprodução da espécie.....	20
1.3.3 Nomenclatura e taxonomia	21
1.3.4 Histórico e status global da espécie	23
1.3.5 Histórico, cultivo e distribuição da espécie no Brasil	24
1.3.6 Histórico de introdução no Peru	26
1.3.7 Uso do marcador mtCOI	27
1.3.8 Marcadores SNP e genotipagem BioTools Inc.	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
CAPÍTULO 2 – POPULATION STRUCTURE AND GENETIC DIVERSITY OF THE GIANT FRESHWATER PRAWN (<i>Macrobrachium rosenbergii</i>) IN BRAZIL.....	40
2.1 RESUMO.....	41
2.2 ABSTRACT	43
2.3 INTRODUCTION	45
2.4 MATERIAL AND METHODS.....	47
2.4.1 Source of samples	47
2.4.2 Sample processing	47
2.4.3 mtCOI amplification and sequencing	48
2.4.4 mtCOI sequence analysis	48
2.4.5 SNP mining and assay design.....	50
2.4.6 SNP genotyping	50
2.4.7 Data Quality Control	50
2.4.8 Nuclear SNPs statistical analysis	51
2.5 RESULTS	52
2.5.1 MtDNA diversity	52
2.6 Nuclear DNA diversity	55
2.6.1 Genetic structure.....	58
2.7 DISCUSSION.....	62
2.7.1 Mitochondrial origins of the stocks	63

2.7.2	Nuclear genetic structure and diversity	65
2.7.3	Methodological considerations and ascertainment bias	67
2.7.4	Implications for selective breeding and monitoring of feral populations	68
	REFERENCES	70
	CAPÍTULO 3 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	80
3.1	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	81

RESUMO

ESTRUTURA POPULACIONAL E DIVERSIDADE GENÉTICA DO CAMARÃO-GIGANTE-DA-MALÁSIA (*Macrobrachium rosenbergii*) NO BRASIL

O camarão-gigante-da-malásia (*Macrobrachium rosenbergii*) é uma das espécies de água doce mais importantes economicamente no mundo. Apesar da rápida expansão inicial no Brasil após sua introdução na década de 1970, a espécie nunca atingiu seu potencial produtivo. Nesse contexto, a disponibilização de informações sobre a diversidade e a estrutura genética do germoplasma atualmente em uso pelo setor produtivo no país pode subsidiar estratégias de manejo reprodutivo e programas de melhoramento genético, contribuindo para a retomada do interesse no cultivo da espécie. Os estudos sobre a espécie existentes no país baseiam-se majoritariamente em populações ferais e no uso exclusivo do marcador mitocondrial COI. Apesar de sua utilidade em inferência filogenéticas, o marcador COI pode apresentar limitações na resolução para distinguir plantéis de cativeiro caso ocorram processos intensos de deriva genética e gargalos de introdução, que favorecem a fixação de linhagens, fenômeno esperado nas populações de cativeiro brasileiras pelos registros de introdução da espécie no país. Inversamente, a integração de marcadores nucleares, como os SNPs, possibilita uma avaliação mais robusta da estrutura populacional, uma vez que sua natureza neutra, caráter numeroso e ampla distribuição ao longo do genoma conferem maior resolução genômica para detectar a variabilidade remanescente e a diferenciação entre estoques. Este estudo teve como objetivo caracterizar a diversidade genética e a estrutura populacional de quatro plantéis de *M. rosenbergii* cultivados no Brasil, por meio da análise integrada do gene mitocondrial COI e de um painel nuclear de SNPs, utilizando uma população feral brasileira e uma população de cativeiro do Peru como referências comparativas. O sequenciamento do gene COI de 192 indivíduos provenientes de seis populações resultou em 167 sequências de alta qualidade com 590 pb. As análises mitocondriais revelaram três linhagens ancestrais distintas, representadas por três haplótipos, separando as populações em: (i) plantéis brasileiros de cativeiro, (ii) população feral brasileira e (iii) população de cativeiro peruana. A diversidade haplotípica foi detectada exclusivamente na população feral do Pará (PA), que apresentou diversidade haplotípica moderada ($H_d = 0,420 \pm 0,082$). O painel validado de 96 SNPs apresentou maior poder de resolução para a avaliação da estrutura e da variabilidade genética. As análises de 187 indivíduos de seis populações identificaram cinco clusters genéticos (melhor $K = 5$, ΔK de Evanno). As médias de heterozigosidade observada e esperada foram de 0,342 e 0,347,

respectivamente. A diferenciação genética par a par (F_{st}) variou de 0,009 (RN–RJ) a 0,545 (PR–SM). As análises de parentesco, baseadas no estimador Triadic Likelihood, indicaram que os plantéis são formados predominantemente por indivíduos não aparentados; entretanto, efeitos fundadores pronunciados foram detectados, especialmente na população PR, evidenciados pela elevada proporção de SNPs monomórficos. De modo geral, o uso integrado de um painel de SNPs de baixa densidade e do marcador mitocondrial COI mostrou-se eficaz para a avaliação da diversidade genética e da estrutura populacional em plantéis cultivados de *M. rosenbergii*, fornecendo informações essenciais para o monitoramento genético e o desenvolvimento futuro de programas de melhoramento genético da espécie.

PALAVRAS-CHAVE: 1. Carcinocultura 2. Chip de genotipagem. 3. Citocromo c oxidase subunidade 1. 4. Endogamia. 5. Marcadores moleculares.

ABSTRACT

POPULATION STRUCTURE AND GENETIC DIVERSITY OF THE GIANT FRESHWATER PRAWN (*Macrobrachium rosenbergii*) IN BRAZIL

The giant Malaysian prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) is one of the most economically important freshwater species in the world. Despite its rapid initial expansion in Brazil after its introduction in the 1970s, the species never reached its productive potential. In this context, making information available on the diversity and genetic structure of the germplasm currently used by the productive sector in the country can support reproductive management strategies and genetic improvement programs, contributing to a renewed interest in cultivating the species. Existing studies on the species in the country are mainly based on feral populations and the exclusive use of the mitochondrial marker COI. Despite its usefulness in phylogenetic inference, the COI marker may have limitations in resolution for distinguishing captive stocks if intense genetic drift processes and introduction bottlenecks occur, which favor the fixation of lineages, a phenomenon expected in Brazilian captive populations based on records of the species' introduction into the country. Conversely, the integration of nuclear markers, such as SNPs, allows for a more robust assessment of population structure, since their neutral nature, numerous character, and wide distribution throughout the genome confer greater genomic resolution to detect remaining variability and differentiation between stocks. This study aimed to characterize the genetic diversity and population structure of four *M. rosenbergii* stocks cultivated in Brazil, through the integrated analysis of the mitochondrial COI gene and a nuclear SNP panel, using a Brazilian feral population and a captive population from Peru as comparative references. Sequencing of the COI gene from 192 individuals from six populations resulted in 167 high-quality sequences with 590 bp. Mitochondrial analyses revealed three distinct ancestral lineages, represented by three haplotypes, separating the populations into: (i) Brazilian captive stocks, (ii) Brazilian feral population, and (iii) Peruvian captive population. Haplotype diversity was detected exclusively in the feral population of Pará (PA), which presented moderate haplotype diversity ($H_d = 0.420 \pm 0.082$). The validated panel of 96 SNPs showed greater resolving power for the evaluation of genetic structure and variability. Analyses of 187 individuals from six populations identified five genetic clusters (best $K = 5$, Evanno's ΔK). The mean observed and expected heterozygosity values were 0.342 and 0.347, respectively. Pairwise genetic differentiation (F_{st}) ranged from 0.009 (RN–RJ) to 0.545 (PR–SM). Relatedness analyses, based on the Triadic Likelihood estimator, indicated that herds are

predominantly formed by unrelated individuals; however, pronounced founder effects were detected, especially in the PR population, evidenced by the high proportion of monomorphic SNPs. Overall, the integrated use of a low-density SNP panel and the mitochondrial marker COI proved effective for assessing genetic diversity and population structure in cultivated *M. rosenbergii* stocks, providing essential information for genetic monitoring and the future development of breeding programs for the species.

KEYWORDS: 1. Genotyping chip. 2. Cytochrome c oxidase subunit 1. 3. Inbreeding. 4. Molecular markers. 5. Shrimp farming.

CAPÍTULO 1
INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 INTRODUÇÃO

A aquicultura no Brasil tem seu início provável datado no século XVII, mas o sistema de produção permaneceu uma atividade de subsistência até o final da década de 1980, exercida por pequenos fazendeiros, majoritariamente na região nordeste do Brasil. Com a consolidação da tecnologia do cultivo do camarão branco do pacífico (*Penaeus vannamei*) na década de 1990, muitos desses fazendeiros se voltaram para a criação da espécie e abandonaram a tradicional forma de produção de espécies aquáticas baseada na subsistência. A partir de então, a aquicultura se desenvolveu e se diversificou no país, resultando no cultivo de mais de 60 espécies destinadas ao consumo e ao mercado ornamental (Valenti et al., 2021). Atualmente, a aquicultura no país é dividida no cultivo de cinco grandes grupos: peixes de água doce, camarões marinhos, moluscos marinhos bivalves, rãs e camarões de água doce, este último composto majoritariamente pelo cultivo da espécie asiática *Macrobrachium rosenbergii*, conhecido pelos nomes populares camarão-gigante-da-malásia, camarão-da-malásia e lagostim-de-água-doce (Valenti et al., 2021).

O camarão-gigante-da-malásia, *M. rosenbergii*, é uma das espécies de crustáceos de água doce de maior importância econômica no mundo, com produção documentada em 57 países e territórios. Em 2023, a produção mundial da espécie atingiu quase 356 mil toneladas (com um valor líquido de mercado de ~US\$ 3 bilhões de dólares), o que representou aproximadamente 2,6% de toda a produção global de crustáceos naquele ano. Esta produção global total foi estimada em cerca de 13,69 milhões de toneladas (~US\$ 108,08), sendo composta por 79 espécies e grupos taxonômicos distintos (FAO, 2025).

No Brasil, a espécie teve sua introdução inicial no final da década de 1970 pela Universidade Federal de Pernambuco para experimentação e apresentou rápida expansão inicial, propagando a carcinicultura de água doce por todo o território nacional (Lobão & Rojas, 1985; Cavalcanti, 1998). No entanto, a produção nacional da espécie nunca atingiu seu potencial produtivo (Valenti et al., 2021), principalmente em comparação a países com condições climáticas e de recursos semelhantes, a exemplo da China (FAO, 2023). Esse cenário contrasta com as características vantajosas do cultivo da espécie, como sua grande adaptabilidade a uma faixa ampla de salinidade e temperatura (Barman et al., 2012), o clima quente ao longo de todo o ano na maior parte do país, o que possibilita a produção o ano inteiro (Marques & Moraes-Valenti, 2012), a sustentabilidade da produção, que pode ser feita em

policultivo com outras espécies aquáticas, a possibilidade de produção sob diferentes níveis tecnológicos e o grande mercado consumidor (New et al., 2010).

Embora a estagnação da carcinicultura de água doce no Brasil seja resultado de um conjunto de fatores técnicos, econômicos e logísticos (Marques & Moraes-Valenti, 2012; Valenti et al., 2021), a disponibilidade de informações genéticas confiáveis sobre os plantéis cultivados representa uma ferramenta estratégica para subsidiar ações de melhoramento genético e manejo reprodutivo, capazes de contribuir para a retomada do interesse produtivo da espécie. A compreensão da variabilidade genética existente em plantéis de reprodutores mantidos em cativeiro é fundamental para o desenvolvimento de programas de melhoramento genético eficientes e sustentáveis, porque a seleção artificial aplicada sobre plantéis derivados de bases genéticas estreitas pode levar rapidamente à perda adicional de variabilidade genética, à redução da heterozigosidade e ao aumento da depressão endogâmica, comprometendo a expressão de características fenotípicas desejáveis e limitando o progresso genético a longo prazo (Pillai et al., 2021).

No Brasil, as informações disponíveis na literatura sobre o germoplasma introduzido de *M. rosenbergii* baseiam-se majoritariamente em estudos realizados a partir de materiais provenientes de populações ferais, avaliadas por meio do marcador mitocondrial citocromo c oxidase subunidade I (COI) (Iketani et al., 2011), o que deixa uma lacuna de conhecimento sobre o material atualmente utilizado pelo setor produtivo. Apesar de sua utilidade em inferências filogeográficas, a aplicação exclusiva do COI pode carecer de poder de resolução para acessar detalhadamente a variabilidade genética e monitorar efeitos estocásticos ou de manejo em cativeiro, como endogamia e estruturação populacional. Por possuir herança materna exclusiva e ser haploide, o genoma mitocondrial apresenta um tamanho efetivo populacional correspondente a cerca de um quarto do genoma nuclear, tornando-o mais suscetível à deriva genética e à rápida erosão da diversidade. Caso ocorra essa erosão, o marcador simplesmente deixa de ser informativo, uma vulnerabilidade inerente ao fato de o COI representar um único e pequeno locus não recombinante (~7% do genoma mitocondrial). Tais restrições metodológicas podem ser severamente limitantes ao avaliar populações introduzidas. Considerando que o histórico de introdução da espécie no país se restringe a apenas dois eventos documentados, espera-se que esses plantéis possuam uma base genética estreita e sejam altamente suscetíveis a gargalos populacionais (*bottlenecks*) e potenciais efeitos fundadores.

Para superar as limitações inerentes ao uso exclusivo do COI, a aplicação de marcadores nucleares, com destaque para os *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs), surge como uma ferramenta altamente eficaz. Os SNPs caracterizam-se por serem extremamente numerosos e estarem amplamente distribuídos ao longo do genoma. Ao atuarem como marcadores neutros à seleção, eles oferecem um elevado poder de resolução para investigar a estruturação populacional, refletindo os padrões demográficos de forma robusta e independente de pressões seletivas (Morin et al., 2004; DeSalle et al., 2017). Nesse contexto, a utilização combinada dos SNPs com o COI permite uma avaliação muito mais abrangente da diversidade genética (Lima et al., 2025). Enquanto o COI pode ser utilizado como um marcador importante para a verificação de gargalos genéticos (*bottlenecks*) e identificação da origem das linhagens, os SNPs fornecem o detalhamento genômico necessário para compreender a estruturação atual dos plantéis. Diante desse cenário, torna-se evidente a necessidade de estudos que avaliem a diversidade genética de populações de *M. rosenbergii* mantidas em cativeiro no Brasil, utilizando abordagens genômicas integradas para subsidiar estratégias futuras de manejo e melhoramento genético.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Investigar a diversidade, a estrutura genética e a origem de plantéis cultivados de *M. rosenbergii* no Brasil utilizando abordagens genômicas complementares, de modo a subsidiar estratégias de manejo reprodutivo e melhoramento genético da espécie.

1.2.2 Objetivo específico

- a. Obter amostras de *M. rosenbergii* de diferentes populações e regiões geográficas.
- b. Investigar a origem das linhagens introduzidas no país e detectar possíveis assinaturas de gargalos populacionais (*bottlenecks*) utilizando o marcador mitocondrial citocromo c oxidase subunidade I (COI).
- c. Estimar os parâmetros de diversidade genética (como heterozigosidade e consanguinidade) e a estruturação intra e interpopulacional por meio de um painel de marcadores nucleares (*Single Nucleotide Polymorphisms* - SNPs).
- d. Avaliar e contrastar os padrões demográficos revelados pelos marcadores mitocondrial e nucleares, considerando as diferenças de herança e a complementaridade das informações geradas.
- e. Validar um painel de SNPs de baixa densidade quanto à sua aplicabilidade como ferramenta de monitoramento genético para o setor produtivo.

1.3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.3.1 Aspectos gerais do Gigante-da-Malásia (*M. rosenbergii*)

O camarão gigante-da-malásia (*M. rosenbergii*) é um crustáceo decápode de água doce pertencente ao gênero *Macrobrachium*, o maior gênero da família Palaemonidae. Esse gênero compreende aproximadamente 230 espécies descritas até o momento e reúne todas as espécies de camarões dulcícolas utilizadas em sistemas de aquicultura e em estudos experimentais (Holthuis & Ng, 2010). A espécie *M. rosenbergii* possui uma extensa distribuição natural em regiões tropicais e subtropicais do Sul e Sudeste Asiático, estendendo-se até o Pacífico Ocidental. Essa distribuição abrange rios costeiros desde o noroeste da Índia, atravessando o Sul e o Sudeste da Ásia, até o Norte ao Sul do Vietnã, incluindo também a Península Malaia (Hurwood et al., 2014) (Figura 1.1).

Os machos da espécie podem atingir um comprimento total de 320 mm, da ponta do rostro à ponta do télson, enquanto as fêmeas podem chegar a 250 mm. O corpo é tipicamente verde-acinzentado a marrom-acinzentado, às vezes apresentando um tom mais azulado, com listras irregulares brancas, marrons e cinzas frequentemente dispostas em um padrão quase longitudinal. Indivíduos menores apresentam cores mais vivas e os muito grandes, cores mais escuras. O tórax é composto por cinco pernas verdadeiras, os pereópodes, típicos dos Decapoda. Os dois primeiros possuem pinças, ou quelas, sendo por isso denominados quelípedes. O segundo par de quelípedes é o maior e mais forte de todos os pereópodes, justificando o nome do gênero, formado pela junção de duas palavras gregas: *makros*, que significa longo ou grande; e *brakhion*, que significa braço. Além do tamanho grande, o segundo par de quelípedes apresenta numerosos espículas, sem diferenciação de tamanho dentro do par de apêndices. O abdômen é composto por seis pares de pleópodes, os quais são usados para nadar e, em fêmeas ovígeras, para fixar os numerosos ovos sob o abdômen (Brown et al., 2010).

A espécie apresenta dimorfismo sexual e os sexos podem ser distinguidos pelo aparecimento dos gonóporos em juvenis. Fêmeas maduras apresentam cabeças e pinças proporcionalmente menores que os machos, além de uma câmara incubadora, presente no abdômen. Os machos sexualmente maduros apresentam desenvolvimento sequencial que dá origem a três morfotipos, que se traduzem também em castas: quela azul (BC = *Blue Claw*); quela laranja (OC = *Orange Claw*); e macho pequeno (SM = *small male*). Os machos pequenos (SM), que ocupam a mais baixa posição social, possuem taxas de crescimento baixas e quelas translúcidas. À medida em que crescem, se transformam em machos OC, caracterizados pelo

seu rápido crescimento. Quando o maior macho OC se torna maior que o maior macho BC mais próximo, ele se torna um macho BC e seu crescimento rápido cessa, tornando-se o macho dominante. Tais morfotipos não dependem de idade, e sim de um crescimento individual heterogêneo, ocorrendo os três grupos na mesma idade (New, 2002; Brown et al., 2010; Ibrahim, 2023).

A



B

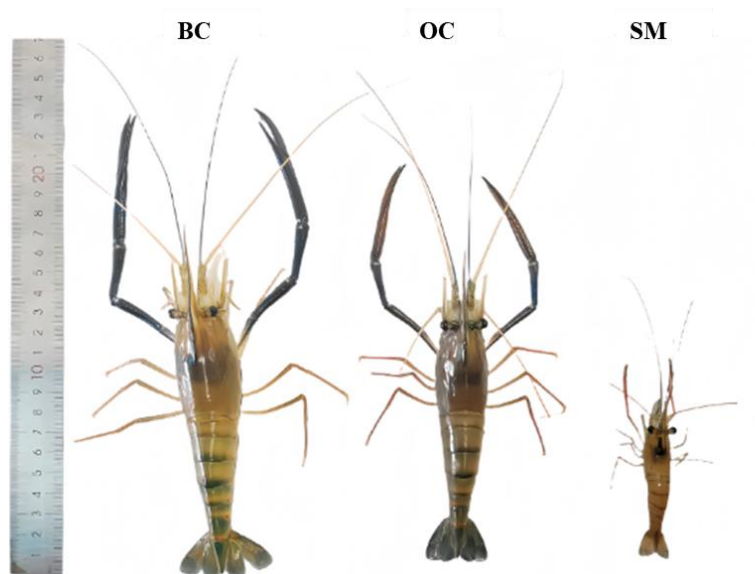


Figura 1.1 *M. rosenbergii* (camarão gigante-da-malásia). (A) Aspecto geral da espécie. (B) Morfotipos dos machos. Da esquerda para a direita: quela azul (BC), quela laranja (OC) e macho pequeno (SM). Fonte: Adaptado de (A) Silva-Oliveira et al. (2011) e (B) Li et al. (2025).

1.3.2 Reprodução da espécie

Sob condições naturais, a reprodução ocorre o ano todo, apesar de haver picos relacionados a condições ambientais. Em regiões tropicais, esses picos coincidem com o início da estação chuvosa, enquanto em áreas temperadas ocorrem durante o verão. O ciclo de vida se inicia com a cópula, quando o macho (preferencialmente o maior BC, mas todos os morfotipos são capazes de fertilizar a fêmea) deposita uma massa gelatinosa de sêmen (espermatóforo) na região ventral torácica do corpo da fêmea. Após algumas horas, os ovos saem pelos gonóporos e são guiados para a câmara de incubação. Durante este processo, são fertilizados pelo sêmen aderido ao corpo da fêmea. Os ovos são mantidos na câmara por um período de até três semanas. (New, 2002; Brown et al., 2010).

O número de ovos que uma fêmea é capaz de liberar é dependente de seu tamanho, e esse número pode alcançar de 80.000 até 100.000 ovos quando a fêmea está completamente madura. As larvas de *M. rosenbergii* necessitam de água salobra para sobreviverem, e, por isso, as fêmeas ovígeras migram para regiões estuarinas para que os ovos lá eclodam e sejam liberados como larvas planctônicas. Após vários estágios intermediários, as larvas se transformam em pós-larvas (PL), que passam a assumir um hábito bêntico, e então iniciam a migração a montante, em direção a regiões de água doce (New, 2002; Brown et al., 2010).

Em cativeiro, o ciclo produtivo se inicia com a obtenção de fêmeas ovígeras em viveiros de engorda ou da captura em águas naturais onde o gigante da malásia é nativo. Normalmente, as fêmeas são usadas como reprodutoras apenas uma vez. Após, são descartadas ou vendidas (FAO, 2002; Daniels et al., 2010). Em sistema bem controlados, as fêmeas são dispostas em tanques em compartimentos que previnem seu acesso as larvas que eclodem dos ovos. Após a eclosão, as larvas são direcionadas a outros compartimentos, os tanques de cultura larval, onde passam por 11 estágios larvais até sofrerem metamorfose para o estágio de pós-larva (PL), em um período que dura de 16 a 35 dias. Esse sistema de eclosão e criação das larvas geralmente possui água salobra 12 ‰, devido à necessidade das larvas por água salobra para sua sobrevivência. Embora muitos fazendeiros abasteçam os viveiros de engorda com PL jovens, muitos cultivam as PL em berçários antes de transferi-los para os viveiros (Figura 1.2) (Daniels et al., 2010).

Durante o inverno em climas temperados, machos e fêmeas reprodutores são mantidos em instalações internas com manejo adequado de forma a garantir saúde e

sobrevivência por até seis meses, e podem ser de três tipos. Machos e fêmeas podem ser mantidos juntos em tanques comunitários a uma razão de um ou dois machos BC ou dois ou três machos OC para cada 20 fêmeas, a uma densidade total de estocagem de um indivíduo por 40L. Machos normalmente desenvolvem um harém e o defendem, junto de seu território, de outros machos (Daniels et al., 2010).



Figura 1.2. Viveiros de engorda do camarão-gigante-da-malásia (*M. rosenbergii*), na região de Silva-Jardim, RJ, Brasil. Fonte: Point do Camarão (disponível em: <https://pointdocamarao.com.br/produtos/precos/>).

1.3.3 Nomenclatura e taxonomia

A história taxonômica de *M. rosenbergii* é marcada por revisões sucessivas, associadas à ampla distribuição da espécie no Indo-Pacífico e à presença de variação morfológica e genética relacionada a padrões biogeográficos bem definidos. A espécie foi originalmente descrita por De Man (1879) como *Palaemon rosenbergii*, com localidade-tipo na Nova Guiné (Holthuis & Ng, 2010).

Desde o final do século XIX, discutia-se a possibilidade de que populações distribuídas a oeste e a leste de importantes barreiras biogeográficas do Indo-Pacífico representassem unidades taxonômicas distintas (Holthuis & Ng, 2010). Johnson (1973) formalizou essa hipótese ao propor a subdivisão da espécie em duas formas geográficas: uma forma ocidental, distribuída desde a costa leste da Índia até a Indonésia ocidental, e uma forma oriental, ocorrendo nas Filipinas, Indonésia oriental, Papua-Nova Guiné e norte da Austrália. Essa separação acompanha aproximadamente a Linha de Huxley, reconhecida como um limite biogeográfico relevante para diversos táxons, incluindo organismos dulcícolas.

Evidências filogeográficas baseadas em marcadores mitocondriais, aliadas à reavaliação de caracteres morfológicos, confirmaram que essas duas formas representam espécies distintas (de Bruyn et al., 2004; Wowor & Ng, 2007). Revisões nomenclaturais subsequentes e decisões da Comissão Internacional de Nomenclatura Zoológica estabilizaram a nomenclatura, mantendo o nome *M. rosenbergii* para a espécie ocidental amplamente cultivada e reconhecendo a espécie oriental como *Macrobrachium spinipes* (Wowor & Ng, 2008; Ng & Wowor, 2011). Dessa forma, o nome *M. rosenbergii* refere-se atualmente à espécie distribuída a oeste da Linha de Huxley, correspondente à forma ocidental do complexo originalmente descrito (Figura 1.3). Essa espécie é a mais amplamente cultivada em escala global e constitui a base da carcinicultura de água doce em diversos países, incluindo o Brasil.

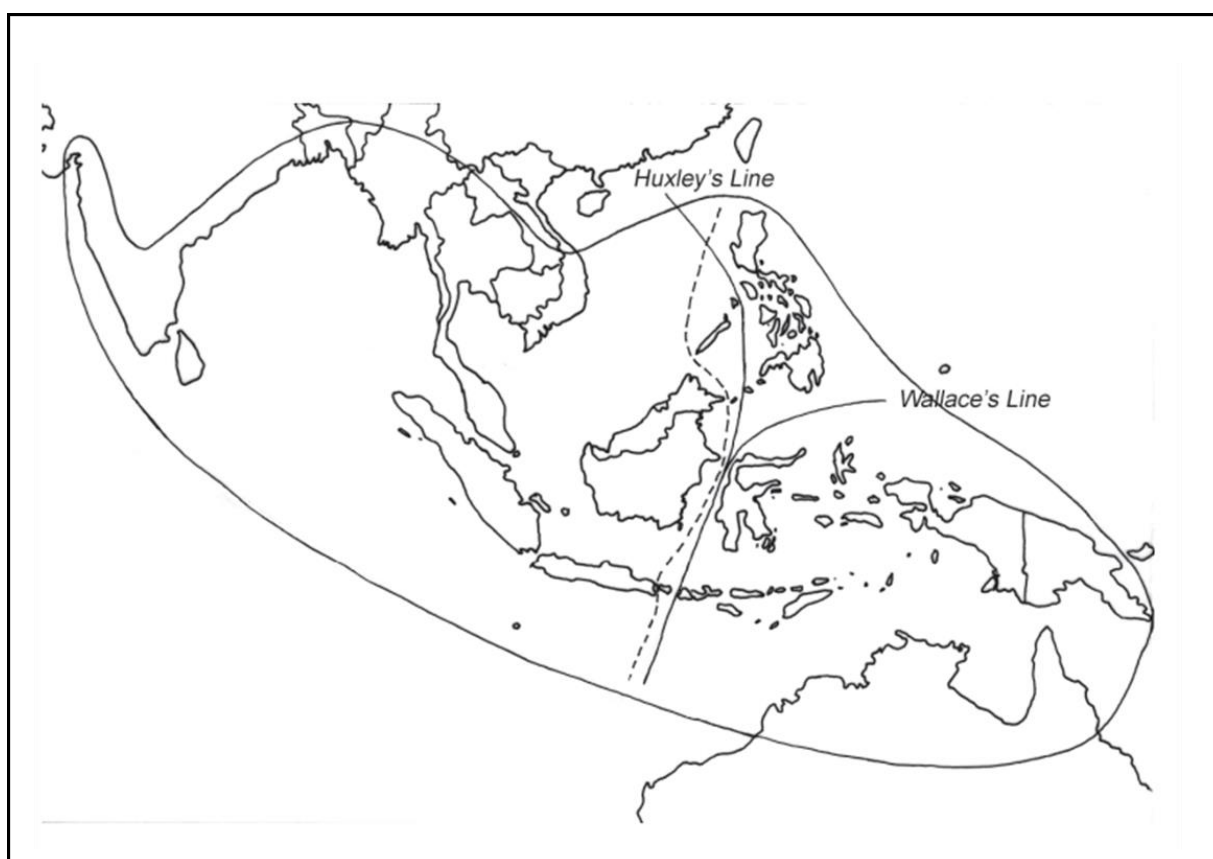


Figura 1.3. Mapa da distribuição natural de *M. rosenbergii* (à esquerda da linha pontilhada) e de *M. spinipes* (à direita da linha pontilhada). Linha pontilhada = limite da distribuição das duas espécies. Fonte: Wowor e Ng (2007).

1.3.4 Histórico e status global da espécie

A aquicultura moderna do *M. rosenbergii* teve seu início em 1961, no Instituto de Pesquisa de Pesca Marinha, em Penang, Malásia, quando Shao-Wen Ling, um pesquisador especialista da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), descobriu que as larvas de *M. rosenbergii* necessitavam de condições salobras para sobreviverem. A descoberta, por tentativa e erro, de que a adição de sal ou molho de soja na água era essencial para a sobrevivência larval levou à criação de larvas até seu estágio final em 1962, e seu crescimento em lagoas em 1963. Nos anos seguintes, a notícia do sucesso se espalhou por todo o mundo e o interesse no cultivo dos camarões de água doce levou à criação de projetos de pesquisa e desenvolvimento na maioria dos países da Ásia, Europa, África e nas Américas (New, 2010).

Em 1965, Takuji Fujimura iniciou uma pesquisa no Centro de Pesquisa Pesqueira Anuenue (AFRC) em Honolulu, Havaí, que tornou o cultivo comercial dos camarões de água doce possível. Com menos de 36 indivíduos fundadores provenientes da Malásia, Fujimura e seus colegas conduziram experimentos em larga escala em lagoas de terra e desenvolveram tecnologias de cultivo em massa. Este trabalho estabeleceu a reputação do Havaí como um líder de cultivo de camarões de água doce, o que levou à introdução de espécimens do Havaí em diversos países do hemisfério Oeste (Fast & Leung, 2003).

Atualmente, o camarão-gigante-da-malásia consolidou-se como uma das espécies de crustáceos de água doce de maior importância econômica mundial, com produção documentada em 57 países e territórios. Segundo dados da FAO (2025), obtidos por meio do software FishStatJ, a produção mundial da espécie atingiu aproximadamente 356 mil toneladas em 2023, com um valor líquido de mercado de US\$ 3 bilhões. Esse volume representou cerca de 2,6% de toda a produção global de crustáceos no referido ano, a qual foi estimada em 13,69 milhões de toneladas e US\$ 108,08 bilhões em valor de mercado, abrangendo um total de 79 espécies e grupos taxonômicos registrados (FAO, 2025).

Apesar de sua ampla distribuição, a maior parte da produção permanece concentrada no Sul e no Sudeste Asiático, com a China liderando o volume global em 2023 (196 mil toneladas; US\$ 2 bilhões), seguida por Bangladesh (58 mil toneladas; US\$ 353,01 mil). No Brasil, estima-se que cerca de 150 toneladas tenham sido produzidas no mesmo ano, com um valor de mercado estimado em US\$ 450,51 mil (FAO, 2023).

1.3.5 Histórico, cultivo e distribuição da espécie no Brasil

A introdução inicial da espécie no Brasil se deu em 1977, quando o Departamento de Oceanografia da Universidade Federal de Pernambuco, com apoio da Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) importou 800 pós-larvas cedidas pela AFRC para realizar estudos da viabilidade do cultivo da espécie em larga escala. A espécie apresentou grande capacidade de adaptação às condições climáticas e o trabalho pioneiro tornou possível a propagação da carcinicultura de água doce por todo o território nacional, produzindo pós-larvas, realizando pesquisas e prestando assistência técnica aos novos produtores (Lobão & Rojas, 1985; Cavalcanti, 1998). Por volta do mesmo período, uma segunda introdução ocorreu no Brasil, em 1981. Neste ano, a empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (PESAGRO-Rio) importou 1000 pós-larvas de uma fazenda particular da Flórida, EUA com o objetivo inicial de testar o cultivo da espécie. Em seguida, o objetivo era diversificar a agricultura tradicional e aumentar a renda dos fazendeiros com um produto de alto valor agregado. Poucos animais sobreviveram, mas foram suficientes para iniciar o primeiro plantel reprodutor (Thomas & Lacroix, 1991).

Dentro da série histórica disponibilizada pelo FishStatJ, que abrange o período de 1950 a 2023, observa-se que a produção brasileira desse crustáceo atingiu seus maiores níveis no final da década de 1980 e início da década de 1990, quando chegou a aproximadamente 700 toneladas nos anos 1989, 1993 e 1994. Nas décadas seguintes, porém, houve um declínio acentuado, com a produção estimada estabilizando-se em torno de 100 toneladas entre 2008 e 2017, e posteriormente em cerca de 150 toneladas de 2018 a 2023. Dados não oficiais obtidos de pequenos produtores, entretanto, apontam que a produção brasileira foi subestimada dentro da série histórica. Apesar disso, um declínio acentuado da produção do país a partir do final da década de 1990 é certo (New & Kutty, 2010; Marques & Moraes-Valenti, 2012).

As principais razões apontadas para o declínio da atividade no Brasil incluem: a desconexão da cadeia produtiva, evidenciada pela dificuldade de transporte de pós-larvas (PL) até as fazendas e pela disponibilidade limitada de rações não flutuantes de baixo custo; a ausência ou inadequação de estratégias de marketing; a ascensão das fazendas de camarão marinho; a expansão do cultivo de diversas espécies de peixes; a oferta de camarões de baixa qualidade por algumas fazendas, o que gerou má reputação e consequente redução de lucros; e,

por fim, a descontinuação de programas de assistência governamental voltados ao cultivo de camarões de água doce (Valenti, 2007; Marques & Moraes-Valenti, 2012; Valenti et al. 2021).

Apesar das limitações observadas no desenvolvimento da carcinicultura de água doce no Brasil, o potencial da atividade ainda está longe de ser plenamente explorado. As condições climáticas do país são amplamente favoráveis ao cultivo do camarão-gigante-da-Malásia, exceto nas regiões sul e sudeste. Isso possibilita a produção ao longo de todo o ano e confere boa viabilidade econômica à atividade (Marques & Moraes-Valenti, 2012; Valenti et al., 2021). Além disso, a espécie apresenta grande potencial para cultivo em sistemas integrados de aquicultura multitrófica (IMTA), uma vez que habita o fundo dos viveiros e pode se alimentar dos resíduos orgânicos provenientes de outras espécies cultivadas (Marques et al., 2016). Diversos estudos já demonstraram a viabilidade do policultivo do camarão com peixes de água doce, no Brasil e em outros países (New & Valenti, 2017). No Brasil, Santos e Valenti (2002), demonstraram que a criação concomitante de *M. rosenbergii* com a Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) a uma densidade de 10.000/há por um período de 175 dias não afetou a produção final da tilápia, nem necessitou de alimentação adicional, o que aumentou a sustentabilidade do sistema.

Do ponto de vista ambiental, além do aumento da sustentabilidade do sistema pelo policultivo com outras espécies, o cultivo de camarões de água doce também apresenta impactos ecológicos reduzidos quando comparado à carcinicultura marinha. Esses organismos não podem ser cultivados em densidades tão elevadas quanto as utilizadas no cultivo de camarões marinhos, o que resulta em menor produtividade por área, porém com manejo menos intensivo em mão de obra e menor potencial de desperdício ou uso inadequado de recursos naturais. Além disso, a possibilidade de fechamento completo do ciclo reprodutivo em cativeiro constitui um componente fundamental da sustentabilidade da atividade, eliminando a necessidade de captura de reprodutores selvagens (New et al., 2010).

Em regiões continentais, a carcinicultura de água doce também se mostra mais vantajosa do que o cultivo de camarões marinhos, uma vez que não requer o uso de água salina após a fase larval. A utilização de água salobra ou salinizada em áreas interiores pode acarretar salinização do solo, comprometendo outras atividades agrícolas, o que não ocorre no cultivo de *M. rosenbergii*. Dessa forma, a produção de camarões de água doce é mais compatível com o desenvolvimento de tecnologias ambientalmente responsáveis e oferece aos produtores a oportunidade de explorar nichos de mercado específicos, competindo com camarões marinhos em segmentos diferenciados (New et al., 2010).

Além disso, *M. rosenbergii* pode ser cultivado sob diferentes níveis tecnológicos, de acordo com o tipo e o volume de investimento disponível. A atividade pode ser conduzida tanto por empreendimentos comerciais de maior escala, gerando renda e empregos, quanto por pequenas unidades familiares, que contribuem diretamente para o fortalecimento da economia local. A carcinicultura de água doce é particularmente adequada para negócios familiares de longo prazo, podendo ser praticada por populações rurais com baixo nível de especialização técnica, produzindo alimento acessível a diferentes classes sociais e permitindo integração com sistemas agrícolas, como o cultivo de arroz e a piscicultura (New et al., 2010).

Além de estar presente em sistemas de cultivo, o camarão gigante-da-malásia também ocorre em ambientes naturais no Brasil, muito provavelmente em decorrência de escapes de fazendas aquícolas. Devido à sua alta fecundidade e ampla tolerância a variações de temperatura e salinidade, a espécie apresenta grande capacidade de estabelecimento em habitats naturais, especialmente naqueles que se assemelham às condições de sua área de origem (Iketani et al., 2016; Oliveira & Santos, 2021).

Oliveira e Santos (2021), ao avaliarem a distribuição da espécie 43 anos após sua primeira introdução no país, identificaram sua presença em ambientes naturais de oito estados brasileiros, além de registros de cultivo em 13 estados. Entre as regiões com maior sucesso de estabelecimento destacam-se o Pará e o Maranhão, onde as condições ambientais, caracterizadas por altas temperaturas ao longo do ano e pela proximidade das áreas de introdução com zonas estuarinas de elevada salinidade, favorecem o fechamento completo do ciclo de vida da espécie.

1.3.6 Histórico de introdução no Peru

A primeira introdução do camarão gigante-da-malásia (*M. rosenbergii*) no Peru ocorreu em abril de 1983, por iniciativa da Universidad Nacional Agraria La Molina, que importou juvenis da espécie provenientes de Israel. No entanto, apenas cerca de metade dos animais sobreviveu ao transporte, o que motivou uma nova importação, desta vez oriunda do Panamá, na América Central (J. C. Gastelu, pers. commun.). Essa introdução teve como objetivo o desenvolvimento de pesquisas voltadas à avaliação da adaptação da espécie às condições locais, com vistas à sua inserção no mercado interno e, potencialmente, à exportação, resultando na implantação de uma unidade experimental de larvicultura (Nava & Vicencio, 1987).

A partir dessa iniciativa, empresas privadas como Agroindustrias Siete Raíces e Durhan Mayo S.A. instalaram larviculturas que, inicialmente, operaram na região costeira do país. Posteriormente, as instalações da Agroindustrias Siete Raíces foram desativadas em decorrência de dificuldades técnicas, enquanto as da Durhan Mayo S.A. foram transferidas para o vilarejo de Las Palmas, no distrito de Banda de Shilcayo, província de San Martín, passando a operar sob o nome de Laboratorio Calipuy (Arce Saavedra, 1995; Alva Florián, 2015). Esse laboratório foi estabelecido em 1989 com o objetivo de fornecer pós-larvas para cultivo próprio e, atualmente, é conhecido como Acuacultura Las Palmas S.A.C., marcando o início da criação comercial do camarão gigante-da-malásia na região de San Martín (Miglio et al., 2021). O cultivo da espécie concentrou-se nessa região em função das condições climáticas e hidrográficas favoráveis, embora, mais recentemente, a atividade tenha se expandido para outras regiões do país (Prieto Dueñas et al., 2021).

1.3.7 Uso do marcador mtCOI

O DNA mitocondrial tem sido amplamente utilizado em estudos evolutivos desde o século passado, principalmente devido às suas características particulares. Por ser haploide, herdado exclusivamente pela linhagem materna e não sofrer recombinação, o mtDNA apresenta um comportamento clonal. É justamente essa ausência de recombinação alélica que torna a sua genética mais simples, permitindo o rastreamento direto de linhagens evolutivas (DeSalle et al., 2017). Além disso, possui tamanho reduzido, o que facilita a anotação gênica, e um alto número de cópias por célula, o que permite a amplificação mesmo a partir de tecidos degradados (DeSalle et al., 2017).

Embora o genoma mitocondrial como um todo apresente uma taxa de mutação cerca de quatro vezes maior que a do DNA nuclear (DeSalle et al., 2017), o gene que codifica a citocromo c oxidase subunidade 1 (COI) possui regiões funcionalmente conservadas (Folmer et al., 1994). Essa conservação possibilita sua amplificação por *primers* bem estabelecidos, como os universais descritos por Folmer et al. (1994), capazes de amplificar um fragmento de aproximadamente 710 pares de base em uma ampla gama de invertebrados.

No entanto, a dinâmica evolutiva do DNA mitocondrial é fortemente ditada pelo seu tamanho efetivo populacional. Devido à sua natureza haploide e herança materna, seu tamanho efetivo corresponde a aproximadamente um quarto do genoma nuclear (DeSalle et al., 2017). Como consequência direta desse tamanho populacional reduzido, o mtDNA torna-se

extremamente sensível à deriva genética. Isso faz com que ele responda de forma drástica a instabilidades demográficas, registrando fortes sinais de gargalos populacionais (*bottlenecks*) de maneira intensa e precoce. No entanto, o grande revés dessa sensibilidade é que a diversidade genética é erodida rapidamente; uma vez que a variação original é perdida e o marcador se fixa (como ocorre em severos efeitos fundadores), ele torna-se não informativo para eventos subsequentes. Ou seja, ao esgotar sua variabilidade no gargalo inicial, o mtDNA perde o poder de resolução para detectar a estruturação populacional fina e as divergências de curto prazo que se formam posteriormente entre os plantéis (Sadler et al., 2023).

Apesar dessa vulnerabilidade metodológica, o COI permanece um marcador valioso para acessar a bagagem histórica das linhagens. Quando utilizado em combinação com marcadores nucleares, contribui significativamente para a reconstrução de rotas de introdução e para a detecção da magnitude de eventos de deriva genética, oferecendo uma perspectiva fundamental e complementar em estudos de genética de populações (Sadler et al., 2023).

Historicamente, diversos estudos utilizando o marcador COI foram conduzidos com *Macrobrachium rosenbergii* em sua área de distribuição natural. De Bruyn et al. (2005) analisaram a variação intraespecífica desse marcador, fornecendo uma das primeiras visões abrangentes da estrutura filogeográfica da espécie. Posteriormente, Hurwood et al. (2014) ampliaram essa abordagem ao incluir localidades adicionais, cobrindo toda a distribuição natural. Além disso, os autores integraram marcadores microssatélites ao COI, o que permitiu contornar as limitações do genoma mitocondrial e conferir maior resolução na detecção da estrutura genética populacional.

Em escalas geográficas mais restritas, abordagens combinadas também se mostraram eficazes. Em Bangladesh, Alam et al. (2017) obtiveram resultados robustos sobre a estrutura e a diversidade genética ao integrar o COI com a análise de SNPs obtidos por sequenciamento ddRAD. Na Índia, especificamente no lago Vembanad, o COI foi empregado por Jose et al. (2023) para inferir a origem das populações locais por meio de comparações com os dados publicados por de Bruyn et al. (2005) e Hurwood et al. (2014). Na China, o marcador foi utilizado por Thanh et al. (2015) para comparar a diversidade genética de populações de cativeiro com populações naturais, evidenciando os efeitos do manejo reprodutivo sobre a variabilidade.

No Brasil, o uso desse marcador mitocondrial forneceu os primeiros indícios sobre o histórico de introdução da espécie. Iketani et al. (2011) compararam os haplótipos encontrados em populações ferais nos estados do Pará e da Bahia, bem como em indivíduos do

Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP), aos haplótipos asiáticos (de Bruyn et al., 2005). Com base nos resultados, os autores sugeriram a ocorrência de pelo menos duas introduções independentes da espécie no país, provenientes de diferentes estoques naturais, o que pode ter favorecido o sucesso de estabelecimento das populações ferais.

1.3.8 Marcadores SNP e genotipagem BioTools Inc.

Os polimorfismos de nucleotídeo único (*Single Nucleotide Polymorphisms*, SNPs) referem-se a variações em uma única base nitrogenada ao longo de uma sequência de DNA. Em uma definição estrita, para uma variação ser considerada um SNP, todos os alelos têm de estar a uma frequência de pelo menos 1%, mas variantes raras (<1%) também são frequentemente tratadas como SNPs. Embora cada posição do DNA possa apresentar quatro possibilidades de bases nitrogenadas (A, T, C ou G), os SNPs são predominantemente bialélicos. Isso se deve à baixa probabilidade de ocorrência de duas mutações independentes em um mesmo locus, além do viés dos mecanismos mutacionais, que favorecem transições, que ocorrem entre purinas ($A \leftrightarrow G$) ou pirimidinas ($C \leftrightarrow T$) em relação às transversões (purina $\leftrightarrow$ pirimidina) (Vignal et al., 2002; Morin et al., 2004; Kockum et al., 2023).

Os SNPs têm se destacado como marcadores genéticos em estudos de genética de populações por serem altamente abundantes no genoma, proporcionando ampla cobertura genômica, e por estarem frequentemente associados a regiões neutras ou quase neutras. Essas características tornam os SNPs particularmente eficientes para detectar variações nas frequências alélicas entre populações, permitindo a inferência da diversidade intraespecífica e da estrutura populacional de forma mais acurada quando comparados a outros marcadores moleculares, como os microssatélites (Sadler et al., 2023). Nos últimos anos, a descoberta desses marcadores foi amplamente facilitada pelo uso de técnicas de Sequenciamento de Nova Geração (*Next Generation Sequencing*, NGS), por meio de abordagens como o Sequenciamento de DNA Associado a Sítios de Restrição (RADseq, incluindo ddRADseq), sequenciamento de RNA ou Sequenciamento do Genoma Completo (*Whole Genome Sequencing*, WGS). Entretanto, a aplicação dessas metodologias ainda é limitada em países em desenvolvimento e em espécies não modelo, principalmente em função dos custos, da infraestrutura laboratorial necessária e da complexidade das análises bioinformáticas envolvidas (Morin et al., 2004; Alam et al., 2017; Sadler et al., 2023).

No contexto do camarão-gigante-da-malásia (*M. rosenbergii*), alguns estudos utilizaram SNPs para avaliar a diversidade e a estrutura genética da espécie. Alam et al. (2016), por exemplo, analisaram a diversidade genética e a estrutura populacional de *M. rosenbergii* em rios de Bangladesh a partir de 106 SNPs distribuídos aleatoriamente pelo genoma, obtidos por ddRADseq. Mais recentemente, Du et al. (2023) e Shen et al. (2024) avaliaram o status genético das principais linhagens cultivadas na China por meio de WGS.

Diante da vantagem dos SNPs como marcadores, plataformas de genotipagem que utilizam conjuntos flexíveis de baixa densidade de marcadores pré-selecionados tornaram-se uma alternativa de baixo custo e alto rendimento para estudos que buscam avaliar parentesco, diversidade genética e estruturação populacional (Silva et al., 2022; Araújo Júnior et al., 2023). Esse tipo de abordagem é particularmente adequado em espécies com informação genômica previamente disponível, pois permite a genotipagem direta de variantes já descobertas, tendo em vista o enfoque no monitoramento entre indivíduos e populações, dispensando, assim, o uso de metodologias de alto custo voltadas à descoberta de variantes, como o sequenciamento de genoma completo.

Nesse contexto, a tecnologia da Standard BioTools (anteriormente Fluidigm Corporation) destaca-se pelo alto padrão analítico e pela capacidade de genotipar simultaneamente um grande número de amostras a um custo operacional acessível. A plataforma utiliza um sistema de Circuito Fluídico Integrado (*Integrated Fluidic Circuit*, IFC), que automatiza reações em cadeia da polimerase (*Polymerase Chain Reaction*, PCR) e é compatível com os ensaios TaqMan™ e SNP Type™. Os chips IFC são fabricados em diferentes arquiteturas, permitindo a execução simultânea de diferentes números de reações, que pode chegar a até 9.216 reações (96.96 *Dynamic Array* IFC). Apesar dessas variações, os componentes essenciais do sistema, como os poços destinados aos ensaios e às amostras, são comuns a todas as arquiteturas (Figura 1.4) (Standard BioTools Inc., 2023).

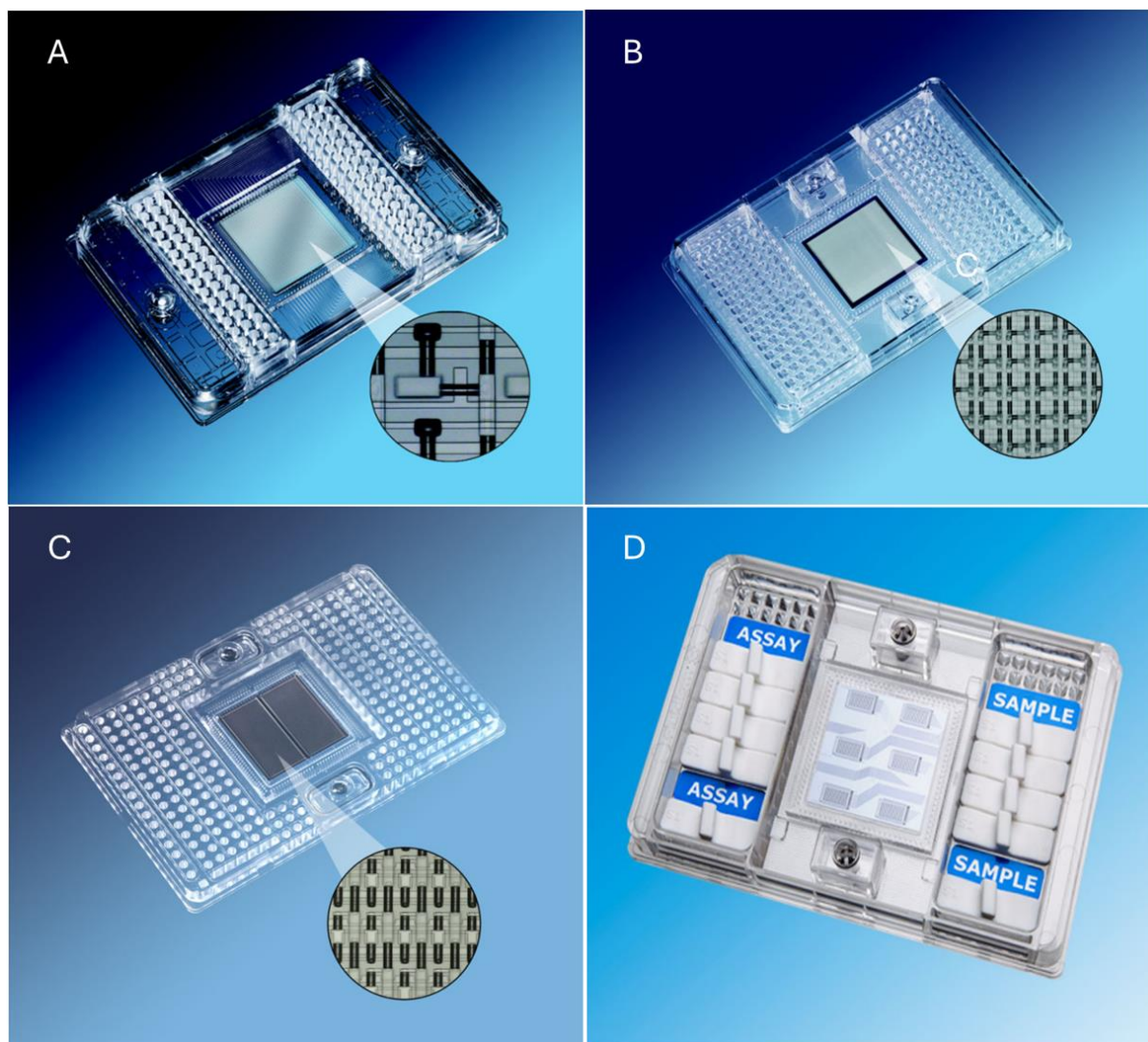


Figura 1.4. Integrated Fluidic Circuit (IFC) Components. (A) 48.48 Dynamic Array IFC. (B) 96.96 Dynamic Array IFC. (C) 192.24 Genotyping IFC. (D) Flex Six Genotyping IFC. Fonte: Adaptado de Standard Biotech Inc. (2023) (disponível em: <https://fluidigm.my.salesforce.com/sfc/p/#700000009DAw/a/4u0000019kFV/J5w6q0CKYdITv5ebT5PYx8Ai2T5oGz.CiYtyMxHAWFg>).

O processo de genotipagem utilizando o ensaio SNP Type™, realizado no IFC, é precedido por uma etapa de amplificação alvo-específica (*Specific Target Amplification*, STA), cujo objetivo é enriquecer os amplicons que contêm os SNPs de interesse. Essa amplificação é realizada utilizando *primers forward* STA e *primers* reversos específicos do locus (*Locus-Specific Primer*, LSP) (Kim et al., 2017). O ensaio de genotipagem emprega dois *primers* alelo-específicos (*Allele-Specific Primers*, ASP1 e ASP2), um *primer* reverso comum (LSP) e sondas fluorescentes associadas a cada alelo do SNP, marcadas com os fluoróforos FAM (eixo Y) e HEX (eixo X) (Figura 1.5). Os *primers* ASP1 e ASP2 atuam como *primers forward* e apresentam, em suas extremidades 5', sequências complementares às sondas fluorescentes FAM (ASP1) ou HEX (ASP2), enquanto a extremidade 3' contém a base

complementar ao SNP alvo. O *primer* LSP atua como *primer* reverso da região de interesse (Kim et al., 2017; Hagen et al., 2021).

A genotipagem ocorre por meio da repetição sucessiva de três etapas cíclicas. Na primeira etapa, ocorre a ligação e extensão a partir do *primer* alelo-específico (ASP1 ou ASP2), em conjunto com o *primer* reverso comum. Na segunda etapa, o *primer* LSP se liga ao produto gerado pelo ASP, produzindo uma sequência complementar à sonda fluorescente correspondente ao alelo específico. Na terceira etapa, a sonda livre na solução hibridiza ao produto amplificado, promovendo a separação do fluoróforo de seu *quencher* e sua incorporação ao produto da reação. A liberação acumulada dos fluoróforos resulta em sinais fluorescentes alelo-específicos, que são detectados pelo módulo EP1™ da Standard BioTools e analisados no software de análise de genotipagem da empresa (Figura 1.6) (Smith & Maughan, 2015; Seo et al., 2020).

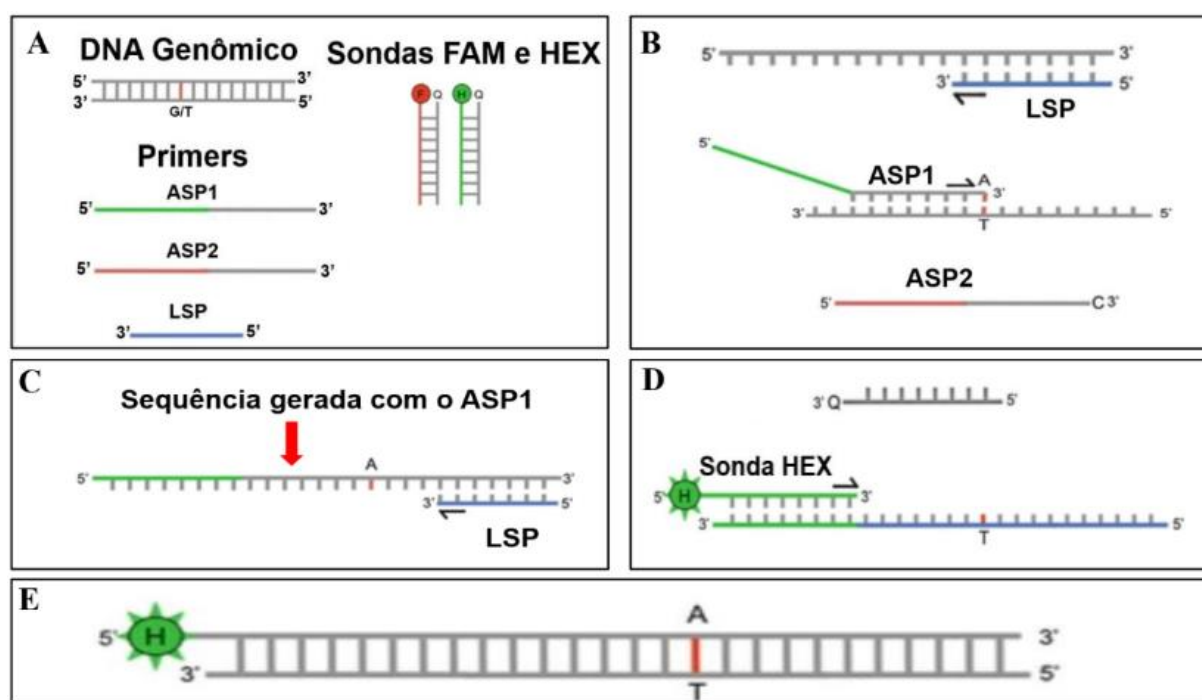


Figura 1.5. Diagrama detalhando o processo de genotipagem que ocorre dentro do chip (IFC) da BioTools Inc. utilizando o ensaio SNP Type™. (A). Componentes necessários para a genotipagem. (B) Primeira etapa do processo de genotipagem, que consiste na ligação do *primer* comum LSP e do *primer* alelo-específico, neste caso ASP1, às fitas desnaturadas. (C) Segunda etapa do processo de genotipagem, que consiste na amplificação da fita complementar à ASP1, a partir de LSP, gerando um produto com sequência complementar à sonda HEX. (D) Terceiro e último passo, que consiste na liberação do fluoróforo de seu *quencher* e sua incorporação ao produto final, emitindo fluorescência. (E) Produto final da reação alelo específica. Fonte: Smith & Maughan (2015), com adaptação feita por Araújo (2022).

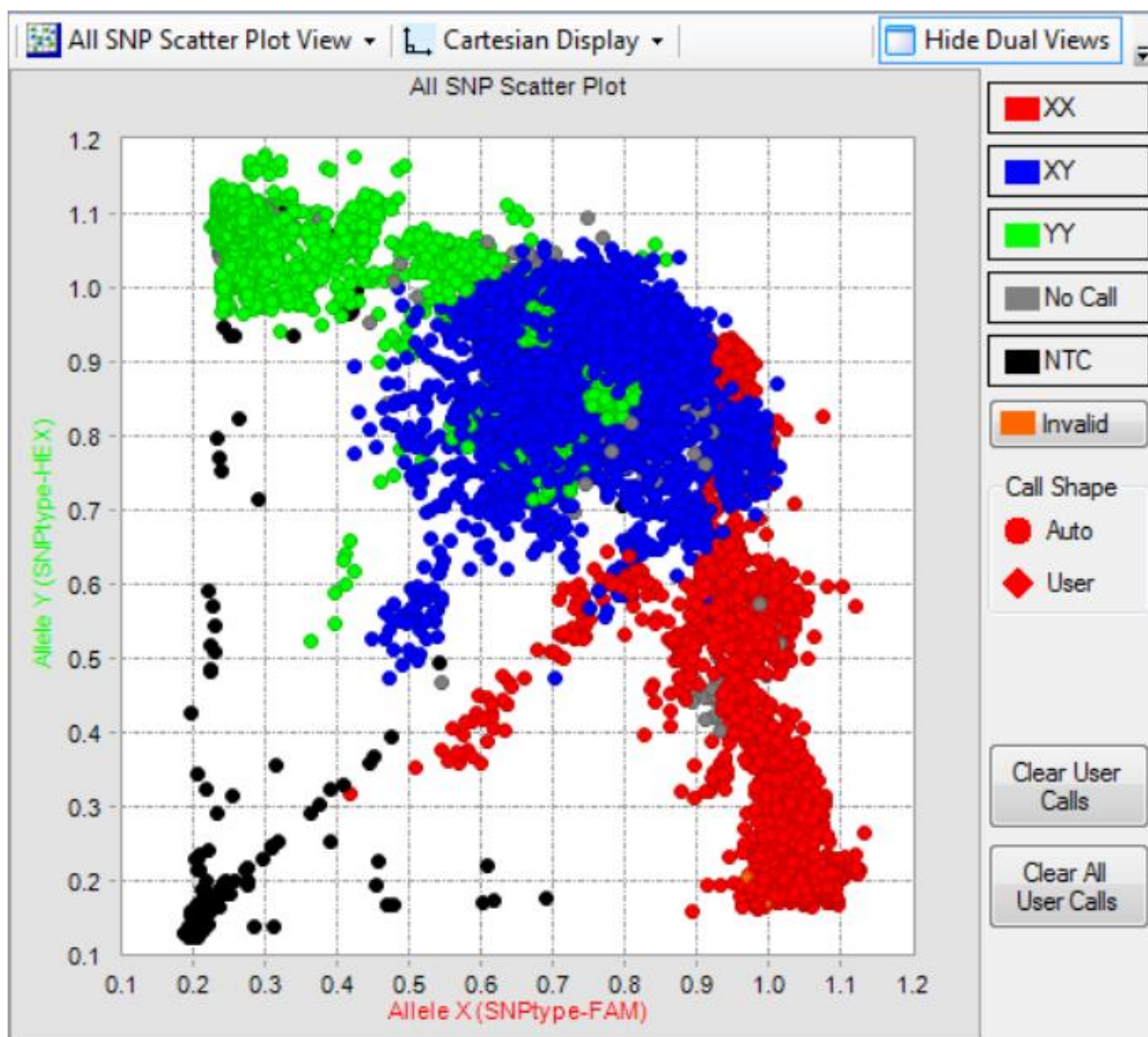


Figura 1.6. Formato de visualização padrão dos resultados plotados. Cada ponto representa a atribuição de um genótipo. Fonte: Standard BioTools Inc. (2023).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALAM, M. M. M.; WESTFALL, K. M.; PÁLSSON, S. Historical demography and genetic differentiation of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* in Bangladesh based on mitochondrial and ddRAD sequence variation. **Ecology and Evolution**, v. 7, n. 12, p. 4326–4335, 2017. DOI: 10.1002/ece3.3023.
- ALVA FLORIÁN, V. E. **Proceso productivo de *Macrobrachium rosenbergii* “camarón tropical” desde larva hasta pre-cría en la granja camaronera Las Palmas, Tarapoto - San Martín**. Tesis (Biólogo Pesquero). Universidad Nacional de Trujillo, 2015. Disponible en: https://biblioteca.imarpe.gob.pe/opac_css/index.php?lvl=notice_display&id=14513. Acesso em: 16 jan. 2026.
- ARAÚJO JÚNIOR, N. T. D. **Estrutura populacional e diversidade genética de reprodutores de truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) no Brasil usando marcadores SNPs**. Brasília: Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2022. Dissertação (Mestrado em Ciências Animais). Disponível em: <https://repositorio.unb.br/handle/10482/46333>. Acesso em: 14 jan. 2026.
- ARAÚJO JÚNIOR, N. T.D.; IANELLA, P.; YOSHINAGA, T. T.; BUTZGE, A. J.; CAETANO, A. R. Population structure and genetic diversity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) broodstocks from Brazil using SNP markers. **Aquaculture Reports**, v. 31, p. 101689, 2023. DOI: 10.1016/j.aqrep.2023.101689.
- ARCE SAAVEDRA, T. **Estudio de factibilidad técnico-Económico para la instalación de un larvario – Laboratorio productor de semilla de camarón gigante de agua dulce, en la provincia de San Martín**. 1995. Tese (Ingeniero Agroindustrial) -Universidad Nacional de San Martín, Tarapoto, 1995. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11458/110>. Acesso em: 16 jan 2026.
- BARMAN, H K; PATRA, S K; DAS, V; MOHAPATRA, S D; JAYASANKAR, P; MOHANTHA, C; PANDA, R P; RATH, S. N. Identification and characterization of differentially expressed transcripts in the gills of freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) under salt stress. **The Scientific World Journal**, v. 2012, article ID 149361, 9 p., 2012. DOI: 10.1100/2012/149361.
- BROWN, J. H.; NEW, M. B.; ISMAEL, D. Biology. In: NEW, M. B.; VALENTI, W. C.; TIDWELL, J. H.; D’ABRAMO, L. R.; KUTTY, M. N. (Eds.). **Freshwater prawns: Biology and farming**. Oxford: Wiley-Blackwell, 2010. p. 18-39. ISBN 978-1-4051-4861-0.
- CAVALCANTI, L. B. Histórico. In: VALENTI, W. C. (Ed.). **Carcinicultura de água doce: tecnologia para produção de camarões**. Brasília: IBAMA/FAPESP, 1998. p. 17-20.
- DANIELS, W. H.; CAVALLI, R. O.; SMULLEN, R. P. Broodstock management. In: NEW, Michael B.; VALENTI, Wagner C.; TIDWELL, James H.; D’ABRAMO, Lawrence R.; KUTTY, M. Najmudeen (eds.). **Freshwater prawns: biology and farming**. Oxford: Wiley-Blackwell, 2010. p. 60–82.
- DE BRUYN, M.; NUGROHO, E.; HOSSAIN, M. M.; WILSON, J. C.; MATHER, P. B. Phylogeographic evidence for the existence of an ancient biogeographic barrier: the Isthmus of Kra Seaway. **Heredity**, v. 94, n. 3, p. 370–378, 2005. DOI: 10.1038/sj.hdy.6800613.

DE BRUYN, M.; WILSON, John A.; MATHER, Peter B. Huxley's line demarcates extensive genetic divergence between eastern and western forms of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 30, p. 251–257, 2004. DOI: 10.1016/S1055-7903(03)00176-3.

DESALLE, R.; SCHIERWATER, B.; HADRYN, H. MtDNA: the small workhorse of evolutionary studies. **Frontiers in Bioscience (Landmark Edition)**, v. 22, p. 873–887, 2017. DOI: 10.2741/4522.

DU, T.; QI, H.; LIN, K.; PENG, X.; GAO, Q.; YANG, G.; YI, S.; TANG, Q. Comprehensive evaluation of germplasm resources of nine *Macrobrachium rosenbergii* strains in China. **Aquaculture Reports**, v. 33, p. 101755, 2023. DOI: 10.1016/j.aqrep.2023.101755.

FAO. **FishStatJ: global fishery and aquaculture production statistics (1950–2023)**. Rome: FAO, 2023. Disponível em: <https://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstatj>. Acesso em: 09 jan. 2026.

FAO. *Macrobrachium rosenbergii*. In: NEW, M. B. **Cultured aquatic species fact sheets**. Editado e compilado por Valerio Crespi e Michael New. CD-ROM (multilingual). Roma: FAO, 2009.

FAST, A. W.; LEUNG, P. S. Rise and fall of freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) culture in Hawaii: 1965–1999. **Reviews in Fisheries Science**, v. 11, n. 3, p. 243–290, 2003.

NEW, M. B. **Farming freshwater prawns: a manual for the culture of the giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*)**. Rome: FAO, 2002. 212 p. (FAO Fisheries Technical Paper, n. 428). Disponível em: <https://www.fao.org/3/y4100e/y4100e.pdf>. Acesso em: 16 jan 2026.

HAGEN, S. H.; HENNESEN, J.; ALTFELD, M. Assessment of escape from X chromosome inactivation and gene expression in single human immune cells. **STAR Protocols**, Amsterdam, v. 2, n. 3, p. 100641, 20 jul. 2021. DOI: 10.1016/j.xpro.2021.100641. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8319808/>. Acesso em: 09 jan. 2026.

HOLTHUIS, L. B.; NG, P. K. L. Nomenclature and Taxonomy. In: NEW, M. B.; VALENTI, W. C.; TIDWELL, J. H.; D'ABRAMO, L. R.; KUTTY, M. N. (eds.). **Freshwater Prawns: Biology and Farming**. Oxford: Wiley-Blackwell, 2009. p. 12–17.

HURWOOD, D. A.; DAMMANNAGODA, S.; KROSCHE, M. N.; JUNG, H.; SALIN, K. R.; YOUSSEF, M. A.-B. H.; DE BRUYN, M.; MATHER, P. B. Impacts of climatic factors on evolution of molecular diversity and the natural distribution of wild stocks of the giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). **Freshwater Science**, v. 33, n. 1, p. 217–231, 2014. DOI: 10.1086/675243.

IBRAHIM, S.; ZHONG, Z.; LAN, X.; LUO, J.; TANG, Q.; XIA, Z.; YI, S.; YANG, G. Morphological diversity of different male morphotypes of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879). **Aquaculture Journal**, v. 3, n. 2, p. 133–148, 2023. DOI: 10.3390/aquacj3020012.

IKETANI, G.; PIMENTEL, L.; SILVA-OLIVEIRA, G. C.; MACIEL, C.; VALENTI, W. C.; SCHNEIDER, H.; SAMPAIO, I. The history of the introduction of the giant river prawn,

Macrobrachium cf. *rosenbergii* (Decapoda, Palaemonidae), in Brazil: new insights from molecular data. **Genetics and Molecular Biology**, v. 34, n. 1, p. 142-151, 2011.

JOHNSON, D. S. Notes on some species of the genus *Macrobrachium* (Crustacea: Decapoda: Caridea: Palaemonidae). **Journal of the Singapore National Academy of Science**, v. 3, n. 3, p. 273–291, 1973. Disponível em: <https://decapoda.nhm.org/pdfs/25862/25862.pdf>. Acesso em: 16 jan 2026.

JOSE, D.; MAHADEVAN, H.; BIJOY, V. M.; KURUP, Madhusoodana. Linking genetic lineages of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* to their global populations. **Fisheries Science**, v. 90, 2024. DOI: 10.1007/s12562-024-01750-9.

KIM, S.-G.; LEE, J.; KANG, B.-C.; et al. Development of Fluidigm SNP Type genotyping assays for marker-assisted breeding of chili pepper (*Capsicum annuum* L.). **Horticultural Science and Technology**, Seoul, v. 35, n. 4, p. 465–479, 2017. DOI: 10.12972/kjhst.20170050. Disponível em: <https://cdn.apub.kr/journalsite/sites/kshs/2017-035-04/N0130350409/N0130350409.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2026. KOCKUM, Ingrid; HUANG, Jesse; STRIDH, Pernilla. Overview of genotyping technologies and methods. **Current Protocols**, v. 3, n. 4, p. e727, 2023. DOI: 10.1002/cpz1.727. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/cpz1.727>. Acesso em: 13 jan. 2026.

LI, L.; HU, D.; YU, J.; ZHENG, X.; CAI, M.; GAO, Q.; YI, S. Metabolomic profiling reveals social hierarchy-specific metabolite differences in male *Macrobrachium rosenbergii*. **Animals**, Basel, v. 15, n. 13, p. 1917, 29 jun. 2025. DOI: 10.3390/ani15131917.

LIMA, G. M.; BOZA, B. R.; QUEIROZ, L. D.; IKETANI, G.; MACIEL, C. M. T.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F.; VALENTI, W. C.; SAMPAIO, I.; CRUZ, V. P.; MACIEL, C. R. Structure and genetic diversity of the *Macrobrachium amazonicum* species complex. **Scientific Reports**, v. 15, art. 31815, 2025. DOI: 10.1038/s41598-025-17666-y. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-025-17666-y>. Acesso em: 9 nov. 2025.

LOBÃO, V. L.; TORRES ROJAS, N. E. **Camarões de água doce: da coleta ao cultivo e à comercialização**. São Paulo: Ícone, 1985. 112 p.

MARQUES, H. L. A.; MORAES-VALENTI, P. M. C. Current status and prospects of farming the giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii* (De Man 1879) and the Amazon river prawn *Macrobrachium amazonicum* (Heller 1862)) in Brazil. **Aquaculture Research**, v. 43, n. 7, p. 984–992, 2012. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2011.03032.x.

MARQUES, H. L. A.; NEW, M. B.; BOOCK, M.; BARROS, H. P.; et al. Integrated freshwater prawn farming: State-of-the-art and future potential. **Reviews in Fisheries Science & Aquaculture**, v. 24, n. 3, p. 264–293, jul. 2016. DOI: 10.1080/23308249.2016.1169245.

MIGLIO, M. C.; ZAGA, B.; GASTELU, J. C.; SEVERI, W.; PEIXOTO, S. Survival and metamorphosis of giant river prawn *Macrobrachium rosenbergii* larvae in a commercial recirculation system with artificial seawater. **Aquaculture Research**, v. 52, n. 12, p. 6063-6073, 2021. DOI: 10.1111/are.15468.

MORIN, P. A.; LUIKART, G.; WAYNE, R. K. SNPs in ecology, evolution and conservation. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 19, n. 4, p. 208–216, 2004. DOI: 10.1016/j.tree.2004.01.009.

NAVA, H.; VICENCIO, R. Producción masiva de post-larvas de la especie *Macrobrachium rosenbergii* en el Perú. In: VERRETH, J. A. J.; CARRILLO, M.; ZANUY, S.; HUISMAN, E. A. (ed.). **Investigación acuícola en América Latina: aquaculture research in Latin America**. Wageningen: Pudoc, 1987. p. 209–214. Nota: Anais do Workshop sobre aquicultura na América Latina, organizado pela International Foundation for Science (IFS), Estocolmo, Suécia, realizado em Lima, Peru.

NEW, M. B.; D'ABRAMO, L.R.; VALENTI, W. C.; SINGHOLKA, S. Sustainability of freshwater prawn culture. In: NEW, Michael B.; TIDWELL, James H.; D'ABRAMO, Louis R.; KUTTY, Methil N. (eds.). **Freshwater prawns: biology and farming**. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd., 2010. p. 524–530.

NEW, M. B. History and global status of freshwater prawn farming. In: NEW, Michael B.; VALENTI, Wagner Cotroni; TIDWELL, James H.; D'ABRAMO, Louis R.; KUTTY, Methil Narayanan (eds.). **Freshwater prawns: biology and farming**. Chichester, UK: Wiley-Blackwell, 2010. p. 1–11.

NEW, M. B.; KUTTY, Methil N. Commercial freshwater prawn farming and enhancement around the world. In: NEW, Michael B.; VALENTI, Wagner Cotroni; TIDWELL, James H.; D'ABRAMO, Louis R.; KUTTY, Methil N. (eds.). **Freshwater prawns: biology and farming**. Chichester, UK: Wiley-Blackwell, 2010. p. 316–345. DOI: 10.1002/9781444314649.

NEW, M. B.; VALENTI, W. C. Tilapia–*Macrobrachium* polyculture. In: PERSCHBACHER, P. W.; STICKNEY, R. R. (Eds.). **Tilapia in intensive co-culture**. First Edition. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd., 2017. p. 156-185.

NEW, M. B.; VALENTI, W. C. **Farming freshwater prawns: a manual for the culture of the giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*)**. Rome: FAO, 2002. 212 p. (FAO Fisheries Technical Paper, n. 428). Disponível em: <https://www.fao.org/3/y4100e/y4100e.pdf>. Acesso em: 16 jan 2026.

NG, P. K. L.; WOWOR, D. *On the nomenclature of the palaemonid names Palaemon spinipes* Desmarest, 1817, *Palaemon spinipes* Schenkel, 1902, and *Macrobrachium wallacei* Wowor & Ng, 2008 (Crustacea: Decapoda: Caridea). **Zootaxa**, v. 2904, p. 66–68, 2011. DOI: 10.11646/zootaxa.2904.1.3.

OLIVEIRA, C. D. L.; SANTOS, L. V. R. Distribution of the giant river prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879) in Brazil: 43 years after its introduction. **Nauplius**, v. 29, p. e2021007, 2021. DOI: 10.1590/2358-2936e2021007.

PILLAI, B. R.; PONZONI, R. W.; DAS MAHAPATRA, K.; PANDA, D. Genetic improvement of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*: A review of global status. **Reviews in Aquaculture**, v. 14, n. 3, p. 1285–1299, 2022. DOI: 10.1111/raq.12650

POINT DO CAMARÃO. **Preços dos produtos**. Disponível em: <https://pointdocamarao.com.br/produtos/precos/>. Acesso em: 9 jan. 2026.

PRIETO DUEÑAS, C.; GANOZA CHOZO, F.; ALVAREZ VELIZ, J.; GONZALES MOLINA, L.; DIBUCHO ÁLVAREZ, O. Guía para obtención de post-larvas de *Macrobrachium rosenbergii* camarón gigante de Malasia en ambiente controlado. **Informe Instituto del Mar del Perú**, v. 48, n. 1, p. 67-79, 2021. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12958/3529>. Acesso em: 16 jan. 2026.

SADLER, D. E.; WATTS, P. C.; UUSI-HEIKKILÄ, S. The Riddle of How Fisheries Influence Genetic Diversity. **Fishes**, v. 8, n. 10, p. 510, 13 out. 2023. DOI: 10.3390/fishes8100510.

SEO, J.; LEE, G.; JIN, Z.; KIM, B.; CHIN, J. H.; KOH, H. Development and application of indica-japonica SNP assays using the Fluidigm platform for rice genetic analysis and molecular breeding. **Molecular Breeding**, Amsterdam, v. 40, p. 39, 2020. DOI: 10.1007/s11032-020-01123-x. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11032-020-01123-x>. Acesso em: 14 jan. 2026.

SHEN, Q.; YU, J.; WANG, R.; GAO, Q.; TANG, Q.; YI, S.; YANG, G. Genome resequencing reveals genetic status of *Macrobrachium rosenbergii* populations in China. **Aquaculture Reports**, v. 38, p. 102356, 2024. DOI: 10.1016/j.aqrep.2024.102356.

SILVA, N. M. L.; IANELLA, P.; YAMAGISHI, M. E. B.; ROCHA, J. L.; TEIXEIRA, A. K.; FARIAS, F. G.; GUERRELHAS, A. C.; CAETANO, A. R. Development and validation of a low-density SNP panel for paternity and kinship analysis and evaluation of genetic variability and structure of commercial Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) populations from Brazil. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 560, p. 738540, 2022. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2022.738540. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0044848622006561>. Acesso em: 14 jan. 2026.

SILVA-OLIVEIRA, G. C.; READY, J. S.; IKETANI, G.; BASTOS, S.; GOMES, G.; SAMPAIO, I.; MACIEL, C.; VALENTI, W.; SCHNEIDER, H. The invasive status of *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879) in Northern Brazil, with an estimation of areas at risk globally. **Aquatic Invasions**, v. 6, n. 3, p. 319-328, 2011. DOI: 10.3391/ai.2011.6.3.08.

SMITH, S.; MAUGHAN, P. J. SNP genotyping: principles and methods. In: BATLEY, J. (org.). **Plant genotyping: methods and protocols**. New York: Humana Press, 2015. p. 243–256. (Methods in Molecular Biology, v. 1245). DOI: 10.1007/978-1-4939-1966-6_18.

STANDARD BIOTOOLS INC. **SNP Genotyping Analysis User Guide**. South San Francisco, CA: Standard BioTools Inc., 2023. Disponível em: <https://fluidigm.my.salesforce.com/sfc/p/#700000009DAw/a/4u0000019kFV/J5w6q0CKYdITv5ebT5PYx8Ai2T5oGz.CiYtyMxHAWFg>. Acesso em: 16 jan 2026.

THANH, H. N.; LIU, Q.; ZHAO, L.; ZHANG, H.; LIU, J. Genetic diversity of cultured populations of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) in China using mtDNA COI and 16S rDNA markers. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 62, p. 261–269, 2015. DOI: 10.1016/j.bse.2015.09.011.

THOMAS, J. E.; LACROIX, D. G. Culture of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* in the state of Rio de Janeiro, Brazil, from 1981 to 1990. In: **AQUACULTURE 91 – World**

Aquaculture Society Meeting. San Juan, Puerto Rico, 16–20 June 1991. Anais [...]. San Juan: World Aquaculture Society, 1991.

VALENTI, W. C.; BARROS, H. P.; MORAES-VALENTI, P. M. C.; BUENO, G. W.; CAVALLI, R. O. Aquaculture in Brazil: past, present and future. **Aquaculture Reports**, v. 19, p. 100611, 2021. DOI: 10.1016/j.aqrep.2021.100611.

VALENTI, W. C. Current status of freshwater prawn culture in Brazil. In: NAIR, C. M.; NAMBUDIRI, D. D.; JOSE, S.; SANKARAN, T. M.; JAYACHANDRAN, K. V.; SALIN, K. R. (Eds.). **Freshwater prawns: Advances in biology, aquaculture and marketing**. New Delhi: Allied Publishers, 2007. p. 105–110

VIGNAL, A.; MILAN, D.; SANCRISTOBAL, M.; EGGEN, A. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. **Genetics Selection Evolution**, v. 34, n. 3, p. 275–305, 2002. DOI: 10.1186/1297-9686-34-3-275.

WOWOR, D.; NG, P. K. L. The giant freshwater prawns of the *Macrobrachium rosenbergii* species group (Crustacea: Decapoda: Caridea: Palaemonidae). **The Raffles Bulletin of Zoology**, v. 55, n. 2, p. 321–336, 2007.

WOWOR, D.; NG, P. K. L. *Palaemon rosenbergii* De Man, 1879 (currently *Macrobrachium rosenbergii*; Crustacea, Decapoda): proposed conservation of usage by designation of a neotype. **Bulletin of Zoological Nomenclature**, v. 65, n. 4, p. 288–293, 2008.

CAPÍTULO 2
POPULATION STRUCTURE AND GENETIC DIVERSITY OF THE GIANT
FRESHWATER PRAWN (*Macrobrachium rosenbergii*) IN BRAZIL

2.1 RESUMO

ESTRUTURA POPULACIONAL E DIVERSIDADE GENÉTICA DO CAMARÃO-GIGANTE-DA-MALÁSIA (*Macrobrachium rosenbergii*) NO BRASIL

Fernanda Cortez Roriz Pontes¹, Orzenil Bonfim da Silva Junior², Eduardo Luis Cupertino Ballester³, Patrícia Ianella⁴, Alexandre Rodrigues Caetano⁵

- 1 Bióloga/ Mestranda em Ciências Animais – Programa de Pós-Graduação em Ciências Animais/UnB – Brasília/DF
2 Biólogo/ Doutor – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
3 Biólogo/ Doutor – Universidade Federal do Paraná
4 Bióloga/ Doutora – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
3 Zootecnista/ Doutor – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

O camarão-gigante-da-malásia (*Macrobrachium rosenbergii*) é uma das espécies de crustáceos de água doce mais importantes economicamente no mundo. Entretanto, no Brasil, a espécie nunca atingiu seu potencial produtivo, como observado em outros países, nos quais as condições ambientais e de recursos são igualmente favoráveis, a exemplo da China. Embora essa estagnação resulte de fatores técnicos, econômicos e logísticos, a escassez de informações genéticas sobre os plantéis utilizados pelo setor produtivo limita o desenvolvimento de estratégias de manejo reprodutivo e de melhoramento genético, ferramentas que poderiam contribuir para a retomada do interesse produtivo pela espécie. Nesse contexto, o presente estudo investigou a diversidade e a estrutura genética de quatro populações brasileiras de cativeiro, uma população brasileira feral e uma população de cativeiro peruana, utilizando de forma integrada o marcador mitocondrial COI e um painel de SNPs de baixa densidade. Adicionalmente, buscou-se validar o painel genômico quanto à sua aplicabilidade em análises genéticas voltadas ao setor produtivo. A filtragem do sequenciamento do gene COI de 192 indivíduos das seis populações diferentes resultou em 167 amostras com 590 pb. As análises mitocondriais indicaram a presença de três linhagens ancestrais distintas, representadas por três haplótipos, que separam as populações em: (i) populações brasileiras de cativeiro, (ii) população feral brasileira e (iii) população de cativeiro peruana. Apenas a população feral do Pará (PA) apresentou mais de um haplótipo, com diversidade haplotípica moderada ($H_d = 0,420 \pm 0,082$). O painel de 96 SNPs desenvolvido e validado apresentou maior poder de resolução

para a avaliação da estruturação e da variabilidade genética, separando os 187 indivíduos analisados, pertencentes às seis populações, em cinco clusters genéticos (Best K pelo método de Evanno $\Delta K = 5$). As médias das heterozigosidades observada e esperada foram de 0,342 e 0,347, respectivamente. As estimativas de diferenciação genética (F_{st}) variaram de 0,009 a 0,545, correspondendo às comparações entre as populações RN–RJ e PR–SM, respectivamente. As análises de parentesco, baseadas no estimador *Triadic Likelihood*, indicaram que os plantéis são formados majoritariamente por indivíduos não aparentados. No entanto, foram identificados efeitos fundadores relevantes, especialmente na população PA, evidenciados pela elevada proporção de SNPs monomórficos, refletindo a redução da variabilidade genética associada à formação de novos plantéis a partir de plantéis pré-existentes. O uso integrado do painel de SNPs de baixa densidade e do gene mitocondrial COI mostrou-se efetivo para a avaliação da estrutura e da variabilidade genética dos plantéis analisados, fornecendo subsídios essenciais para o desenvolvimento de programas de melhoramento genético.

PALAVRAS-CHAVE: . Chip de genotipagem. 2. Citocromo c oxidase subunidade 1. 3. Endogamia. 4. Marcadores moleculares. 5. Carcinocultura.

2.2 ABSTRACT

POPULATION STRUCTURE AND GENETIC DIVERSITY OF THE GIANT FRESHWATER PRAWN (*Macrobrachium rosenbergii*) IN BRAZIL

Fernanda Cortez Roriz Pontes¹, Orzenil Bonfim da Silva Junior², Eduardo Luis Cupertino Ballester³, Patrícia Ianella⁴, Alexandre Rodrigues Caetano⁵

1 Biologist – Programa de Pós-Graduação em Ciências Animais/UnB – Brasília/DF

2 Bioinformatics / PhD – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

3 Biologist / PhD – Universidade Federal do Paraná

4 Biologist / PhD – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

3 Animal Scientist / PhD – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

The giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) is one of the most economically important freshwater crustacean species worldwide. However, in Brazil, the species has never reached its full productive potential, as observed in other regions where environmental and resource conditions are equally favorable, such as in Southeast Asia. Although this stagnation results from technical, economic, and logistical factors, the scarcity of genetic information on the broodstocks used by the productive sector limits the development of reproductive management and genetic improvement strategies, tools that could contribute to renewed productive interest in the species. In this context, the present study investigated the genetic diversity and structure of four Brazilian captive populations, one Brazilian feral population, and one Peruvian captive population, using an integrated approach combining the mitochondrial COI marker and a low-density SNP panel. Additionally, the study sought to validate the genomic panel regarding its applicability in genetic analyses aimed at the productive sector. Filtering of the COI gene sequencing data from 192 individuals across the six populations resulted in 167 samples with 590 bp. Mitochondrial analyses indicated the presence of three distinct ancestral lineages, represented by three haplotypes, which separated the populations into: (i) Brazilian captive populations, (ii) the Brazilian feral population, and (iii) the Peruvian captive population. Only the feral population from Pará (PA) exhibited more than one haplotype, with moderate haplotypic diversity ($H_d = 0.420 \pm 0.082$). The developed and validated panel of 96 SNPs showed greater resolution for assessing population structure and genetic variability, separating the 187 analyzed individuals from the six populations into five

genetic clusters (best K according to the Evanno method, $\Delta K = 5$). Mean observed and expected heterozygosities were 0.342 and 0.347, respectively. Estimates of genetic differentiation (F_{st}) ranged from 0.009 to 0.545, corresponding to comparisons between the RN–RJ and PR–SM populations, respectively. Kinship analyses based on the Triadic Likelihood estimator indicated that broodstocks are predominantly composed of unrelated individuals. However, relevant founder effects were identified, especially in the PA population, evidenced by a high proportion of monomorphic SNPs, reflecting reduced genetic variability associated with the formation of new broodstocks from pre-existing ones. The integrated use of a low-density SNP panel and the mitochondrial COI gene proved effective for assessing the genetic structure and variability of the analyzed broodstocks, providing essential support for the development of genetic improvement programs.

KEYWORDS: 1. Genotyping chip. 2. Cytochrome c oxidase subunit 1. 3. Inbreeding. 4. Molecular markers. 5. Shrimp farming.

2.3 INTRODUCTION

The giant freshwater prawn (GFP), *Macrobrachium rosenbergii*, is one of the most economically important freshwater crustacean species worldwide, with documented production in 57 countries and territories. In 2023, global output reached approximately 356 thousand metric tons, with a net market value of US\$ 3 billion (FAO, 2025). This production represented roughly 2.6% of the total global crustacean output for that year, which was estimated at 13.69 million metric tons (US\$ 108.08 billion), encompassing a diverse group of 79 species and taxonomic categories reported by the FAO (2025).

In Brazil, the species was first introduced in the late 1970s by the Federal University of Pernambuco (UFPE) for experimental purposes and showed rapid initial expansion with the spreading of freshwater prawn farming throughout the national territory (Lobão & Rojas, 1985; Cavalcanti, 1998). However, national production has never reached its productive potential considering available resources and ideal production areas. The species is highly adaptable to a wide range of salinity and temperature conditions (Barman et al., 2012). The warm climate prevailing throughout most of the country could allow for year-round production (Marques & Moraes-Valenti, 2012). GFP production under different technological levels (New et al., 2010), especially with more sustainable production systems implemented in polyculture with other aquatic species have great potential to supply Brazil's expanding consumer market for seafood.

Although the stagnation of freshwater prawn farming in Brazil results from a combination of technical, economic, and logistical factors (Marques & Moraes-Valenti, 2012; Valenti et al., 2021), the availability of reliable genetic information on cultivated broodstocks represents a strategic tool to support reproductive management and genetic improvement actions, potentially contributing to renewed production interest in the species. Understanding the genetic structure of captive broodstocks is essential for the development of efficient and sustainable breeding programs, as selection for production traits applied to stocks derived from narrow genetic bases can rapidly lead to further losses of genetic variability, reduced heterozygosity, and increased inbreeding depression, thereby compromising the expression of desirable phenotypic traits and limiting long-term genetic progress (Pillai et al., 2021).

Available information on the *M. rosenbergii* germplasm introduced in Brazil is based on samples from feral populations, assessed using the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I (COI) marker (Iketani et al., 2011), leaving a knowledge gap regarding the

genetic status of broodstocks currently used by the productive sector. Despite its utility in phylogeographic inferences, the exclusive application of COI lacks the resolving power to accurately assess genetic variability and monitor stochastic or captive management effects, such as inbreeding and population structure. Because it is haploid and maternally inherited, the mitochondrial genome has an effective population size of approximately one-quarter that of the nuclear genome, making it highly susceptible to genetic drift and the rapid erosion of diversity. If such erosion occurs, the marker simply becomes uninformative, a vulnerability inherent to the fact that COI represents a single non-recombining locus. This methodological restriction becomes severely limiting when evaluating introduced populations, such as the cultivated stocks in Brazil. Considering that the species' introduction history in the country is restricted to only two documented events (Sadler et al., 2023), these broodstocks are expected to possess a narrow genetic base and be highly susceptible to population bottlenecks and potential founder effects.

To overcome the limitations inherent to the exclusive use of mitochondrial markers, the application of nuclear markers, particularly Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs), emerges as a highly effective tool. SNPs are extremely numerous and widely distributed throughout the genome. By acting as neutral markers to selection, they offer high resolving power to investigate population structure, reflecting demographic patterns robustly and independently of selective pressures (Morin et al., 2004; DeSalle et al., 2017). In this context, the combined use of SNPs and COI allows for a much more comprehensive assessment of genetic diversity (Lima et al., 2025). While COI serves as an important marker for verifying genetic bottlenecks and identifying lineage origins, SNPs provide the genomic detail necessary to understand the current structure of the broodstocks.

Given this scenario, the present study aimed to characterize the genetic diversity and population structure of *M. rosenbergii* in Brazil. To this end, we sampled individuals from different commercial broodstocks and locations across the country, alongside reference populations (a Brazilian feral population and a Peruvian captive stock) to provide comparative structural support and validate the genomic markers. Furthermore, through this integrated approach, the study aimed to validate a low-density SNP panel regarding its applicability as an accessible and efficient genetic monitoring tool for the commercial sector.

2.4 MATERIAL AND METHODS

2.4.1 Source of samples

A total of 168 individuals were obtained from five different populations in Brazil (Table 2.1). Captive broodstocks were sampled from aquaculture farms located in the states of Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, São Paulo and Paraná. A feral population was sampled from the Patal River, located in the state of Pará, corresponding to the same sampling site previously described by Iketani et al. (2016). In addition, 24 samples from a farm in San Martín, Peru, were used as an outgroup, totaling 192 individuals from 6 different populations.

Table 2.1 Sampling information of all *M. rosenbergii* individuals genotyped

Population Code	Sample Origin	Population origin	Number of animals
PA	Patal River, Pará State, Brazil	Wild	31
PR	Universidade Federal do Paraná (UFPR), Brazil	Captive	30
SP	Commercial Hatchery, São Paulo State, Brazil	Captive	20
RN	Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Brazil	Captive	17
RJ	Commercial Hatchery, Rio de Janeiro State, Brazil	Captive	70
SM	Commercial Hatchery, San Martín, Peru	Captive	24
Total			192

2.4.2 Sample processing

Prior to processing, all samples were stored in 90% ethanol at -20°C. Total DNA was extracted from muscle tissue from all samples with a modified protocol based on Boyce et al. (1989), using Hexadecyltrimethylammonium bromide (CTAB). Tissue samples (~1 cm³) were submerged in 500 µL of extraction buffer (100 mM Tris-HCl, pH 8.0; 1.4 M NaCl; 0.02 M EDTA; 2% CTAB; 0.2% 2-mercaptoethanol) at room temperature, followed by the addition of proteinase K (10 ng/µl) and incubation at 60°C for one hour. To ensure proper enzymatic digestion, the tubes were vortexed every 20 minutes during incubation. After incubation, the tubes were centrifuged at 14,000 rpm for two minutes and the supernatant was transferred to a

new set of tubes containing 500 µl of chloroform-isoamyl alcohol (24:1). The solutions were gently homogenized and again centrifuged at 14,000 rpm for 15 minutes. After centrifugation, the upper phase of the solution from each tube was transferred to a third set of tubes with 250 µl of isopropanol (pre-cooled at -20°C) for precipitation. After this step, the tubes were stored at -4°C for 30 minutes. A DNA pellet was obtained after centrifugation at 14,000 for 30 minutes, and the resulting supernatant was discarded. To wash the pellet, 1 mL of cold 75% ethanol (-20°C) was added and the tubes were centrifuged for two minutes at 14,000 rpm. This step was carried out a second time, with 100% ethanol. The supernatant was discarded, and the pellet was air-dried at room temperature. Finally, the DNA pellet was resuspended in 100 µL of TE buffer (Tris-EDTA, pH 8.0) and 6 µL of RNase (10mg/ml).

2.4.3 mtCOI amplification and sequencing

Polymerase chain reactions (PCR) primers LCO1490 and HCO2198 (Folmer et al., 1994) were used to amplify a fragment with ~709 base pairs (bp) from the cytochrome c oxidase subunit I (COI) mtDNA gene from each of the studied samples. Each reaction mix contained 3 µL of ~10ng/µL DNA, 0.8 µL of 25mM MgCl₂, 1 µL of 10X PCR reaction buffer (20mM Tris-HCl pH 8.0 at 25°C, 100mM KCl, 0.1mM EDTA, 1mM DTT, 50% glycerol, 0.5% Tween® 20 and 0.5% Nonidet®-P40), 0.8 µL of 2.5 mM deoxynucleotides (dNTPs), 0.15 µL of each 10 µM forward and reverse primers, 0.1 µL of 5U/µL *Taq* polymerase, and 4 µL of double distilled (dd) H₂O, to reach a final volume of 10 µL. PCR amplifications were performed under the following conditions: initial denaturation at 94°C for 5 min, followed by 35 cycles of 1 min at 94°C, 1 min at 53°C and 72°C for 1 min. A final extension step was carried out at 72°C for 10 minutes. PCR products were purified with ExoSAP-IT™ PCR Product Cleanup Reagent (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) and sequenced with a DNA sequencer ABI 3100 (Applied Biosystems), using a Big Dye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems), following manufacturer's specifications. Sequencing was performed using both forward and reverse primers in independent reactions.

2.4.4 mtCOI sequence analysis

DNA sequencing trace files were analyzed using Phred/Phrap/Consed (Ewing et al., 1998a,b; Gordon et al., 1998). The *M. rosenbergii* isolate SF872 mitochondrion, complete

genome (GenBank Accession number MW602628.1) was used as a reference sequence. Each phd.1 file generated by Phred, containing base calls with assigned quality scores, was also analyzed in the CodonCode Aligner software V.11.0.2 demo (CodonCode Corporation, Centerville, MA, USA), where each corresponding forward and reverse sequences were edited manually and assembled into a consensus sequence.

To perform the statistical analyses, consensus sequences from each of the 192 individuals were trimmed to the same length covering 590 base pairs corresponding to positions 107 to 696 of the reference sequence. A total of 25 samples were excluded from subsequent analyses because obtained sequences did not meet the aforementioned parameters (Table 2.2).

Table 2.2. Sampling information of all *Macrobrachium rosenbergii* individuals with cytochrome c oxidase subunit I (COI) mtDNA sequences

Population code	Sample Origin	Population origin	Number of animals
PA	Patal River, Pará State, Brazil	Wild	25
PR	Universidade Federal do Paraná (UFPR), Brazil	Captive	27
SP	Commercial Hatchery, São Paulo State, Brazil	Captive	20
RN	Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Brazil	Captive	17
RJ	Commercial Hatchery, Rio de Janeiro State, Brazil	Captive	54
SM	Commercial Hatchery, San Martín, Peru	Captive	24
Total			167

Consensus sequences were analyzed with MEGA V.12.0.11 (Kumar et al., 2024) and DNASP V.6.12.03 (Rozas et al., 2017). Haplotypes described by de Bruyn et al. (2005) and Hurwood et al. (2014), which cover the species' complete natural distribution, were used as comparison.

A median joining network with all haplotypes was constructed in PopArt software (Leigh & Bryant, 2015). The analysis of molecular variance (AMOVA) was conducted in Arlequin V.3.5.2.2 (Excoffier & Lischer, 2010), with 10,000 permutations. Fst distances between all analyzed populations were also conducted in Arlequin V.3.5.2.2 (Excoffier & Lischer, 2010).

2.4.5 SNP mining and assay design

To identify SNPs suitable for genotyping assay development, publicly available experimental datasets generated from *M. rosenbergii* populations from the species' center of origin were mined. These datasets included RNA-seq libraries (BioProject PRJNA550272, DOI: 10.1186/s12864-019-6102-6) and low-coverage whole-genome sequencing (lcWGS) data (PRJNA717376), which were aligned to the reference genome for variant discovery. At the time this study was initiated, a complete *M. rosenbergii* genome was not available; therefore, the genome of the closely related species *Macrobrachium nipponense* was used as the reference sequence for read alignment and SNP calling. After variant identification and stringent filtering across both datasets, a final set of 192 evenly spaced SNPs distributed across all chromosomes was selected and submitted for SNP Type™ assay design and synthesis by Standard BioTools (South San Francisco, CA, USA).

2.4.6 SNP genotyping

Genotyping was carried out in accordance with Standard BioTools' recommended protocols for use with EP1™ platform. Each sample was pre-amplified with pools of Locus-Specific Primers (LSP) and Specific Target Amplification (STA) primers, designed for two independent sets of 96 target SNP loci. The diluted, pre-amplified products were then loaded onto two 96.96 Integrated Fluidic Circuits (IFC) together with their respective SNP Type™ assays, each containing Allele Specific Primers (ASP) and LSP primers, which serve as forward and reverse primers, respectively. After amplification, both IFCs were scanned with Standard BioTools EP1™ system, and genotype calls were generated using Fluidigm SNP genotyping analysis software (Standard BioTools Inc., 2023).

2.4.7 Data Quality Control

Genotype calls with confidence values below 80% were excluded from the initial dataset. Subsequently, markers and samples with call rates (CR) lower than 85% were also removed, as well as markers with minor allele frequency (MAF) lower than 0.01 across all populations. Subsequently, markers with extreme deviations from Hardy-Weinberg ($p < 0.0001$) were also removed if this deviation appeared in more than two populations. Finally, Linkage

disequilibrium (LD) pruning was performed using a sliding window of 50 markers, removing one marker from each pairwise comparison when LD (r^2) > 0.5.

2.4.8 Nuclear SNPs statistical analysis

Estimates for Observed (H_o) and Expected (H_e) Heterozygosities, Minor Allele Frequencies (MAF), F_{is} (Coefficient of Inbreeding), pairwise F_{st} values and Analysis of molecular variance (AMOVA) were calculated with Arlequin V.3.5.2.2 (Excoffier & Lischer, 2010). An UPGMA tree was constructed with the obtained pairwise F_{st} values between all analyzed populations using MEGA V.12.0.11 (Kumar et al., 2024)

The genetic structure within and between the studied populations was evaluated using STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard et al., 2000) executed using EasyParallel (Zhao et al., 2020). Analyses were conducted considering the admixture model and correlated allele frequencies (Falush et al., 2003). K values were set to 1–6, with 20 repetitions each, burn-in of 100,000 and 100,000 Markov-Monte Carlo Chains (MCMC) repetitions after burn-in. Graphical representations of the clusters were generated through the main pipeline in Clumpak (Kopelman et al., 2015) and the most likely number of clusters were obtained running for best K in Clumpak as well. In addition, Principal Component Analysis (PCA) was performed with the software SNP & Variation Suite v8.x (Golden Helix, Inc., Bozeman, MT).

The Triadic Likelihood Estimator (Wang, 2011) was used to estimate kinship relationships between individuals within populations using Coancestry V1.0.1.11 (Wang, 2011). Kinship estimates were categorized into four distinct classes based on the values of the r_{xy} coefficient and probability-based estimators, according to the following thresholds: (i) $r_{xy} \geq 0.50$; (ii) $0.25 \leq r_{xy} \leq 0.49$; (iii) $0.125 \leq r_{xy} \leq 0.249$; and (iv) $0 \leq r_{xy} < 0.125$. (Milligan, 2003; Wang, 2007; Loughnan et al., 2016).

2.5 RESULTS

2.5.1 MtDNA diversity

Three haplotypes were observed among analyzed samples (Table 2.3). Haplotype names were assigned according to de Bruyn et al. (2005) and Hurwood et al. (2014).

Table 2.3. Haplotypes identified in the mtCOI gene sequences analyzed in comparison with the reference sequence (MW602628.1) deposited in GenBank

Haplotype	SNP position in relation to the reference sequence MW602628.1											
	141	186	195	201	312	393	396	420	498	537	618	694
MW602628.1	A	G	C	A	T	A	T	A	A	A	G	C
Hap12	*	*	*	*	*	*	*	*	*	G	*	*
Hap29	*	A	T	G	C	G	C	G	G	G	A	T
Hap34	G	A	T	G	C	G	C	G	G	G	A	T

Hap12 was observed in all animals from PR, SP, RN and RJ while Hap29 was observed in all animals from SM. Both Hap12 and Hap34 were observed in PA (Table 2.2 and Figure 2.1). Nucleotide and Haplotype diversities for all sampling locations are presented in table 2.2.



Figure 2.1. Geographic distribution of mtCOI haplotypes across Peruvian (SM) and Brazilian populations (PR, SP, RJ, PA, RN). Circle size is proportional to the number of samples, and colors represent different haplotypes (Hap12, Hap29, Hap34) as indicated in the legend.

Table 2.4. Estimated haplotype and nucleotide diversities of the mtCOI DNA of all analyzed populations.

Pop.	No. of animals	Hd	π	f(Hap12)	f(Hap29)	f(Hap34)
PR	27	0	0	1	0	0
PA	25	0.420 ± 0.082	0.008 ± 0.004	0.280 ± 0.092	0	0.720 ± 0.092
SP	20	0	0	1	0	0
RN	17	0	0	1	0	0
RJ	54	0	0	1	0	0
SM	24	0	0	0	1	0
Total	167					

MtCOI Pairwise F_{st} estimates (Figure 2.4a) revealed maximum genetic differentiation between the Brazilian captive populations (PR, RJ, RN and SP) and the Peruvian captive population (SM), which was subsequently used as an outgroup in the following analyses, reflecting the absence of shared SNPs between the haplotypes of these groups. The lowest differentiation was observed between the feral population (PA) and the population from Peru (SM) ($F_{st} = 0.338$), explained by a single nucleotide difference between the haplotype found in SM (Hap29) and the most seen haplotype in PA (Hap34). Comparisons between the feral population and the Brazilian captive populations revealed high differentiation ($F_{st} = 0.668\text{--}0.797$). No genetic substructure was detected among the Brazilian captive populations analyzed.

In the UPGMA tree based on mtCOI F_{st} values, all captive Brazilian populations were clustered together, showing no detectable evolutionary distance among them. Conversely, the feral (PA) and Peruvian (SM) populations were grouped in a separate branch, displaying moderate genetic differentiation (Figure 2.5a).

The AMOVA based on the mtCOI gene revealed that most of the genetic variation was attributed to differences among populations, which accounted for 85.57% of the total molecular variance, while only 14.43% was attributed to variation within populations (Table 2.5). The overall fixation index was $F_{st} = 0.856$ ($p\text{-value} = 1 \times 10^{-6}$).

The results of the haplotype network analysis are presented in Figure 2.2, which also includes the haplotypes previously identified in the species' center of origin (de Bruyn et al 2005; Hurwood et al., 2014). The network reveals three distinct branches that broadly correspond to the species' natural geographic distribution.

Table 2.5. AMOVA results based on mtCOI gene sequences analyzed

Source of variation	d.f.	Sum of squares	Variance components	Percentage of variation
Among populations	5	274.991	2.042	85.57
Within populations	161	55.440	0.344	14.43
Total	166	330.431	2.386	

Hap12, which was detected in all samples from the Brazilian captive populations, is positioned at the center of the left clade. In contrast, Hap29 and Hap34, identified in SM and PA, respectively, are located within the central branch, separated by a single transition.

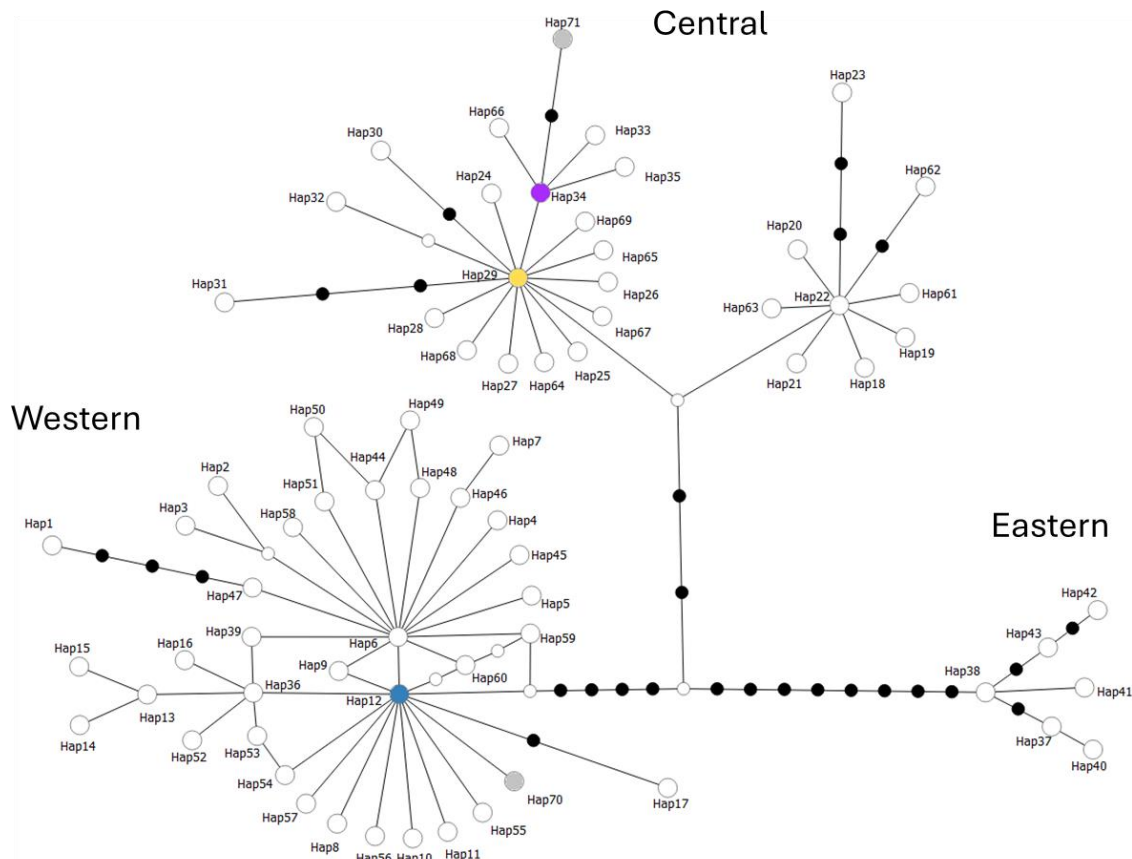


Figure 2.2. Median-joining network analysis of haplotypes found in Brazil (PA, PR, SP, RN, RJ) and Peru (SM), against the haplotypes found in the species' center of origin. Clades are assigned as their corresponding geographic regions. White circles represent haplotypes found only in the species' native distribution region. Small white circles represent inferred intermediate haplotypes. Mutations are shown as 1-step edges. Haplotype 12 (blue) was found in all samples from PR, SP, RN and RJ. Hap29 (yellow) was found in all samples from SM. PA population comprised haplotypes 12 as 34 (purple). Haplotypes Hap70 and Hap71, in grey, were found in Brazil in a previous study by Iketani et al. (2011).

2.6 Nuclear DNA diversity

Data quality control and filtering resulted in a final dataset of 95 SNPs and 187 animals. One additional SNP was incorporated to complete the 96-SNP panel. MAF distributions across all populations are presented in Table 2.6 and Figure 2.3. Populations PR, SM and SP exhibited a higher number of SNPs with low MAF in comparison to the other three populations, as reflected in the MAF average per population, which ranged from 0.137 (SM) to 0.228 (PA). Allele frequencies by population are presented in Supplementary Material S1. PA and SM were the only populations with private alleles, with four and two alleles, respectively.

Table 2.6. Distribution of minor allele frequencies (MAF) for all 96 SNP markers across six populations in percentage

Population	MAF Interval					MAF Average
	0.00-0.09	0.10-0.19	0.20-0.29	0.30-0.39	0.40-0.50	
PR	54	11	5	14	17	0.159
PA	22	20	21	22	15	0.228
SP	41	14	15	11	20	0.185
RN	29	21	16	17	17	0.214
RJ	25	20	20	15	20	0.227
SM	57	9	12	14	8	0.137
Total MAF Average						0.192

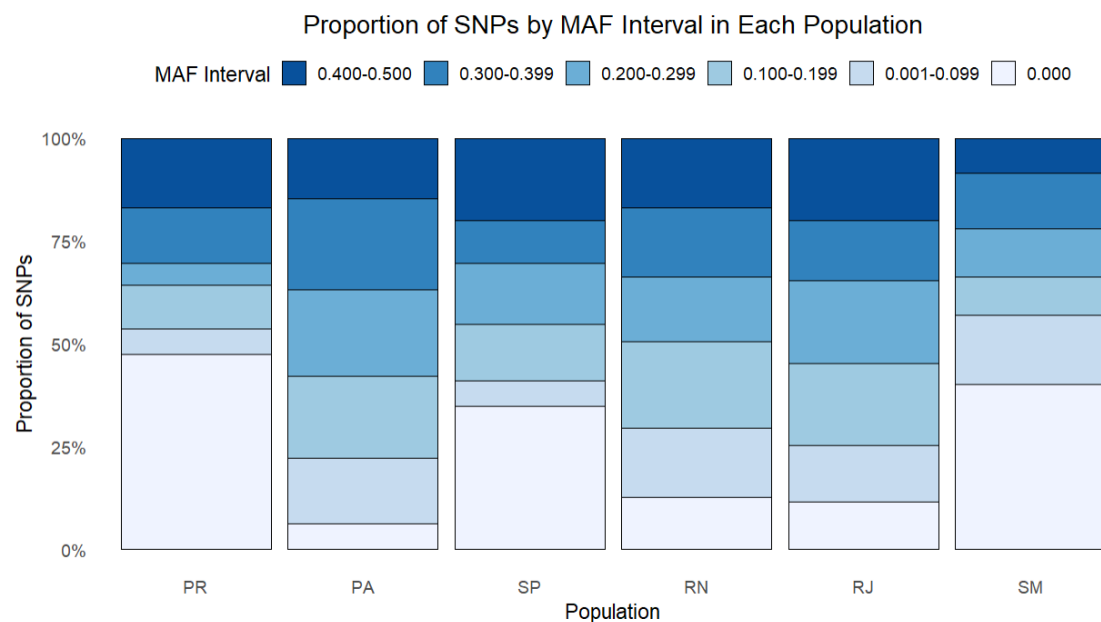


Figure 2.3. Distribution of the 96 analyzed SNPs across minor allele frequency (MAF) intervals for six populations (PR, PA, SP, RN, RJ and SM).

Estimates of observed (H_o) and expected heterozygosity (H_e), as well as Fisher's inbreeding coefficient (F_{is}) and their respective p -values, are presented in Table 2.7. Populations PA, RN and RJ showed positive inbreeding coefficients. Significant p -values were observed only for PA and RJ.

Table 2.7. Genetic diversity and inbreeding of the six populations of *M. rosenbergii*

Population	H_o	H_e	F_{is}
PR	0.444	0.377	-0.188
PA	0.295	0.338	0.126*
SP	0.384	0.377	-0.062
RN	0.325	0.342	0.041
RJ	0.334	0.346	0.044*
SM	0.359	0.318	-0.077
Mean	0.342	0.347	-0.019

* $p < 0.05$

AMOVA revealed that most of the molecular variance was observed within individuals (72.06%), followed by the variance observed among populations (26.84%). The variation observed among individuals within populations accounted for only 1.10% of the total molecular variance (Table 2.8). Overall fixation indices, F_{is} , F_{st} and F_{it} , were 0.015 (p -value = 0.193 $\pm$ 0.012), 0.268 (p -value = 1×10^{-6}) and 0.279 (p -value = 1×10^{-6}), respectively.

Table 2.8. AMOVA results based on the Nuclear SNP panel.

Source of variation	d.f.	Sum of squares	Variance components	Percentage of variation
Among populations	5	1210.469	3.968	26.84
Among individuals within populations	181	1987.108	0.163	1.10
Within individuals	187	1992.000	10.652	72.06
Total	373	5189.578	14.784	

Pairwise F_{st} comparisons among the six populations are shown in Figure 2.4b. Comparisons between Brazilian captive populations (PR, SP RN and RJ) against the Peruvian

captive population (SM) presented the highest values among all comparisons (0.545, 0.530, 0.464 and 0.419, respectively), followed by the comparison between the feral population (PA) against SM (0.367). Among the Brazilian populations, the highest Fst value was between PR and SP (0.345), whereas the lowest was found between RN and RJ (0.009).

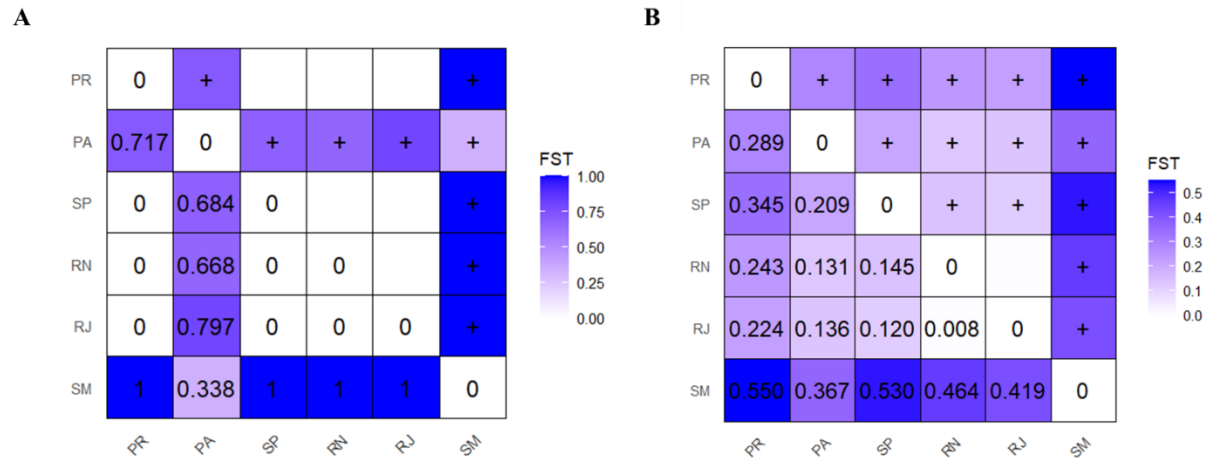


Figure 2.4. Pairwise Fst values among the six populations of *M. rosenbergii* based on **(A)** mitochondrial (mtCOI) and **(B)** nuclear SNP markers. The color gradient represents genetic differentiation, where darker colors indicate higher Fst values. Significant pairwise comparisons ($p < 0.05$) are indicated by “+”.

In the UPGMA tree generated from Fst estimates, the Peruvian population was positioned on a separate branch from the Brazilian populations. Within the Brazilian branch, PR was the most genetically distant population, followed by the feral population (PA), SP, RJ, and RN. RJ and RN showed the greatest genetic similarity (Figure 2.5b)

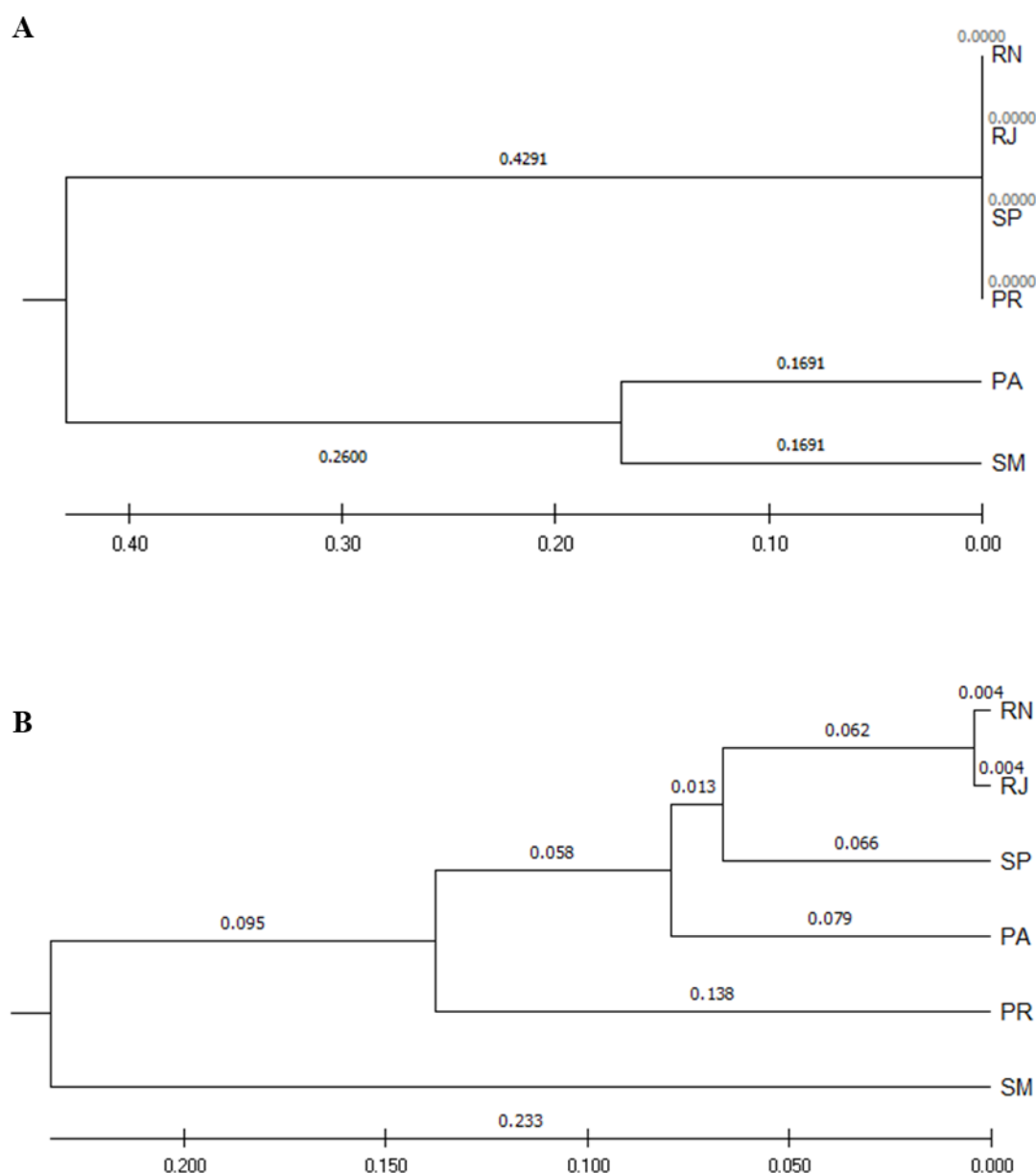


Figure 2.5. UPGMA tree generated with pairwise F_{st} values calculated with (A) mtDNA COI sequences; (B) the nuclear SNP panel.

2.6.1 Genetic structure

STRUCTURE analysis identified $K = 5$ as the most probable number of genetic clusters, according to the Evanno ΔK method (Figure 2.6b; ΔK peak at $K = 4$). The STRUCTURE bar plots for $K = 2$ –6 are shown in Figure 2.6a. At $K = 2$, the Peruvian population (SM) is assigned to a distinct cluster relative to the Brazilian populations (PR, PA, SP, RN, RJ), with minor admixture between SM and PA. At $K = 3$, PR forms a distinct cluster. Increasing to

$K = 4$, the feral population (PA) is placed in a fourth independent cluster. At the optimal $K = 5$, SP forms a distinct cluster from RN and RJ, whereas $K = 6$ fails to resolve additional structure.

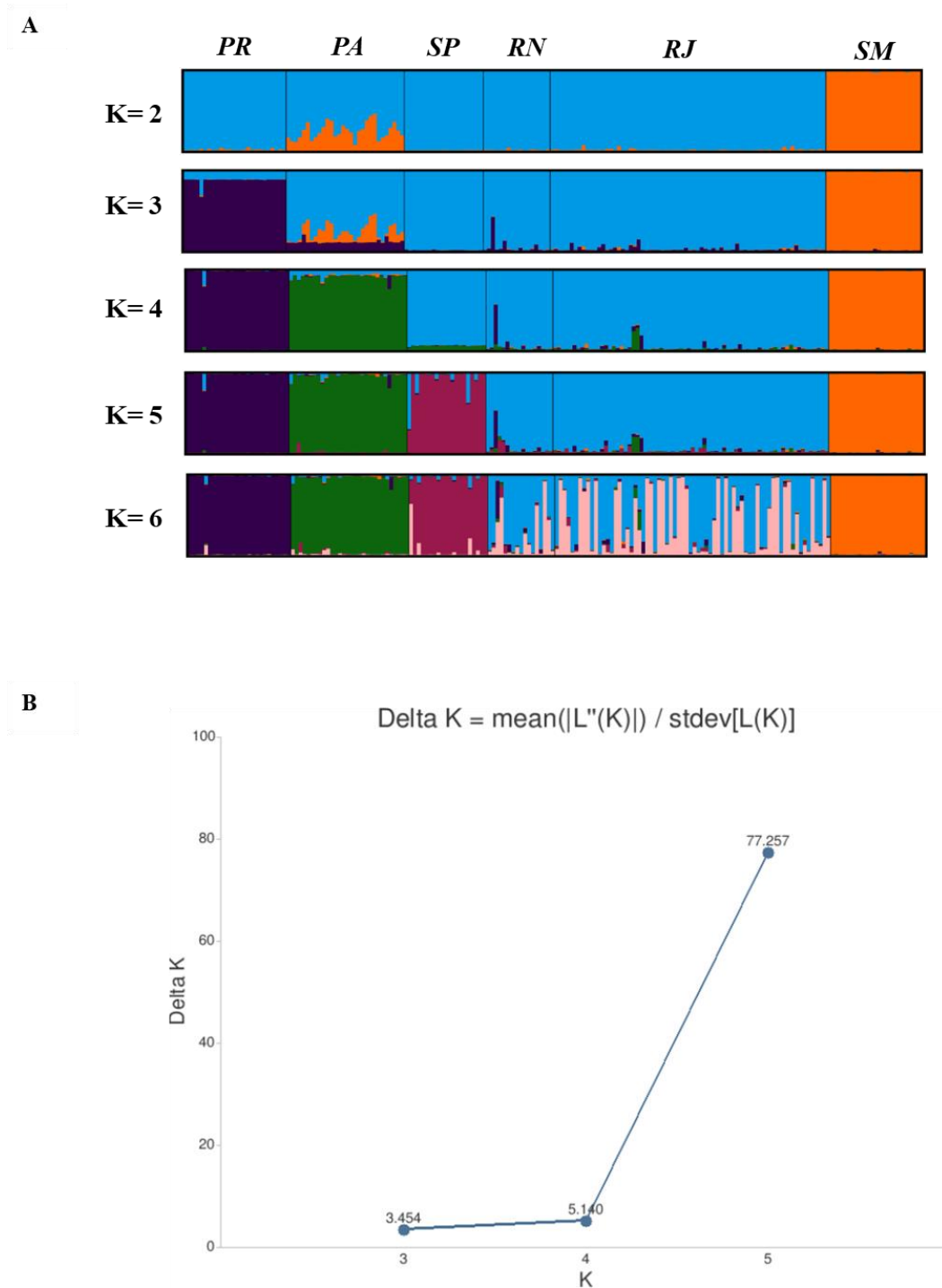


Figure 2.6. (A) STRUCTURE barplots showing the genetic structure of all six populations for $K = 2$ – 6 . Each vertical bar represents an individual. Colors correspond to inferred clusters. **(B)** Evanno ΔK values across tested K ; the ΔK peak at $K = 4$ indicates the uppermost hierarchical structure.

PCA revealed four major clusters, with SM, PR, and PA each forming distinct clusters. SP, RN, and RJ overlapped within a fourth cluster. Among all populations, PA showed the most dispersed distribution in the analysis (Figure 2.7).

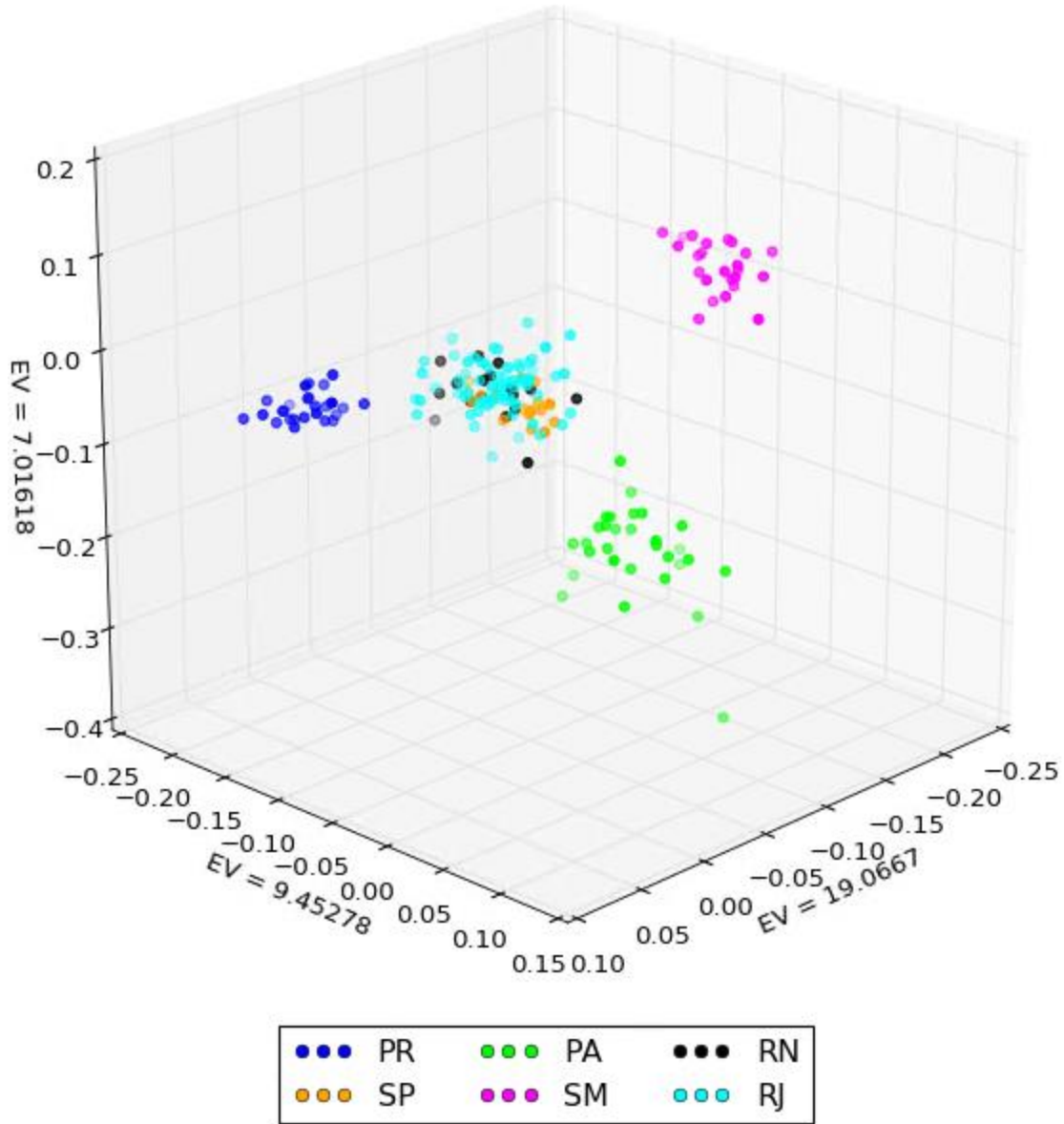


Figure 2.7. Three-dimensional Principal Component Analysis (PCA) based on genotypic data from the nuclear SNP panel across six populations.

Table 2.9 presents the frequency of pairwise kinship relationships among individuals from each population categorized by kinship level. RN and PA had the highest percentages of low or unrelated individuals ($0 \leq r_{xy} < 0.125$), with 86.8% and 82.3% respectively, whereas PR showed the lowest percentage (60.0%). SP presented the highest percentage of full siblings ($r_{xy} \geq 0.50$) (4.7%). Two pairwise comparisons in population PA exhibited extremely high relatedness coefficients (0.947 and 0.945) (Figure 2.8).

Table 2.9. Relatedness estimates (Triadic Likelihood estimator) for the six GFP populations, in percentages

Population	$r_{xy} \geq 0.50$	$0.25 \leq r_{xy} \leq 0.49$	$0.125 \leq r_{xy} \leq 0.249$	$0 \leq r_{xy} < 0.125$	Total
PR	2.2	16.6	21.2	60.0	100
PA	0.5	1.4	15.9	82.3	100
SP	4.7	15.8	12.6	66.8	100
RN	0.0	1.5	11.8	86.8	100
RJ	0.3	4.1	17.3	78.3	100
SM	1.1	10.9	18.1	69.9	100

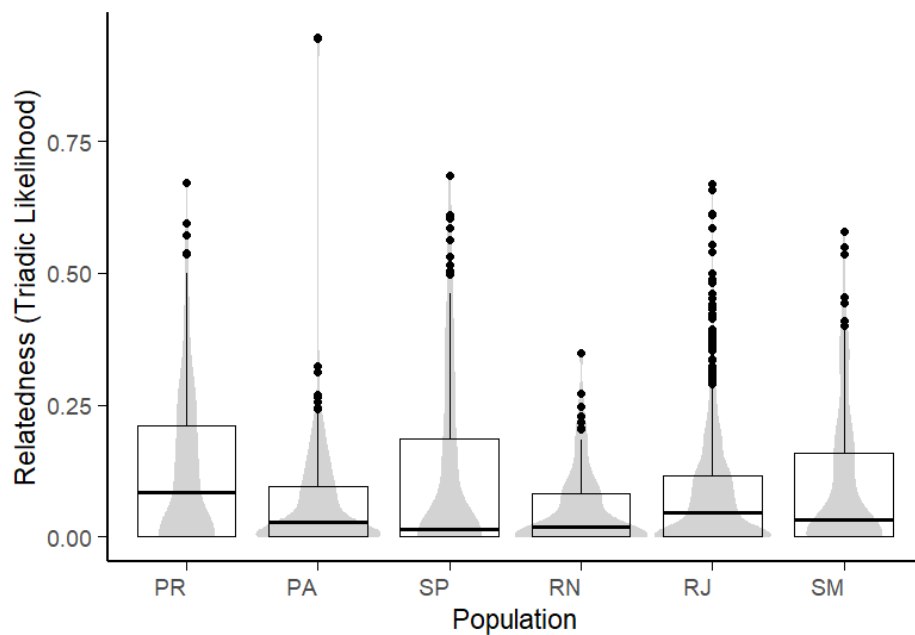


Figure 2.8. Relatedness estimates showing the percentages of kinship relationships across all six GFP populations.

2.7 DISCUSSION

The present study investigated the genetic structure and diversity of four Brazilian captive populations, one Brazilian feral population, and one Peruvian captive population using a low-density SNP panel and mitochondrial COI sequences. Results obtained from nuclear and mitochondrial DNA revealed distinct yet complementary patterns of genetic structure and diversity across the six evaluated populations. Mitochondrial data (COI) grouped the populations into three major clusters: (1) the four Brazilian captive populations, which were entirely monomorphic for a single lineage (Haplotype 12); (2) the Brazilian feral population, which shared Haplotype 12 but also harbored a unique lineage (Haplotype 34); and (3) the Peruvian captive population, characterized by a distinct lineage (Haplotype 29). Consequently, while COI showed no evidence of differentiation among the Brazilian cultivated stocks, the low-density SNP panel provided a much higher-resolution view, detecting subtle genomic divergences that successfully partitioned these populations into four distinct clusters.

These contrasting findings perfectly illustrate the methodological expectations regarding the resolving power of each marker. The complete lack of mitochondrial differentiation among the four Brazilian broodstocks (all fixed for Haplotype 12) corroborates the hypothesis that the rapid erosion of diversity, driven by founder effects during the species' introduction, rendered the single-locus COI marker uninformative for assessing recent demographic structure. Because the mitochondrial genome loses variation more rapidly under genetic drift (Sadler et al., 2023), it captured only the broader, historical lineage separations between the Brazilian and Peruvian stocks, as well as the residual diversity in the feral environment.

In contrast, the wider genomic representation and neutrality of the nuclear SNPs successfully bypassed this severe bottleneck effect. This high-resolution approach allowed the detection of the fine-scale population structure currently existing among the captive stocks, which the mitochondrial DNA could no longer resolve (Morin et al., 2004).

Therefore, the combined use of mitochondrial and nuclear markers provides complementary insights, allowing a more comprehensive understanding of the evolutionary and management processes shaping captive and wild populations, as demonstrated in recent studies on the genus *Macrobrachium* (Alam et al., 2016; Lima et al., 2025) and other aquatic species (Nowland et al., 2019; Syaifudin et al., 2019).

2.7.1 Mitochondrial origins of the stocks

The single COI haplotype found in all Brazilian captive populations of *M. rosenbergii* (Hap12, Hd = 0) can have its origin traced to Sri Lanka (Bandattara River), Bangladesh (Raimangal River and Meghna River), and Thailand (Kraburi River), where this haplotype was initially reported (de Bruyn, 2005; Hurwood et al., 2014), suggesting an origin in one of those localities.

Current findings were compared with results reported by de Bruyn et al. (2005) because the authors carefully selected sampling sites free from potentially non-native germplasm, as *M. rosenbergii* is a highly important commercial species across Southeast Asia (Du et al. 2023). However, because their sampling did not encompass the entire natural range of the species, additional data from Sri Lanka and India (Hurwood et al., 2014) were also considered. These comparisons were interpreted with caution, since the same level of control regarding the exclusion of exotic germplasm was not applied in that study.

The first and most well-documented introduction of *M. rosenbergii* in Brazil occurred when the Oceanography Department of the Federal University of Pernambuco imported 800 post-larvae from Hawaii, which had been originally sourced from Malaysia in 1977 (Lobão, 1985; New & Singholka, 2002). A second introduction took place in 1981, when the Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio de Janeiro (PESAGRO-Rio) imported 1000 animals from a private farm in the State of Florida, USA, to the region of Silva Jardim and Rio Bonito, in the State of Rio de Janeiro (Thomas & Lacroix, 1991). The commercial hatchery from Rio de Janeiro sampled in this study is located in Silva Jardim and most likely had their larvae derived from PESAGRO's project. This commercial hatchery later supplied broodstock to UFPR in 2010, and subsequently to UFRN and the commercial hatchery in São Paulo. Therefore, as seen in the mtDNA analysis, the presence of Hap12 in the analyzed Brazilian farms suggests the Florida stock brought to Brazil in 1981 may have included specimens from Thailand, Sri Lanka or Bangladesh, where this haplotype have been previously described in native stocks.

Iketani et al. (2011) reported results similar to what was observed. The same haplotype was observed in samples collected in the Aquaculture Center of the São Paulo State University (CAUNESP), in Jaboticabal, São Paulo. The collected samples were reported to have been derived from broodstocks obtained from PESAGRO as well. Under coalescent principles, this haplotype can be considered ancestral regarding the haplotypes identified at the

extremities of the median-joining network, which is further supported by the fact that Hap12 is one of the most frequent western haplotypes in the center of origin of the species (de Bruyn et al., 2005; Hurwood et al., 2014). This suggests that Brazilian captive stocks retain an early mitochondrial lineage derived from the initial introduction. The presence of only this haplotype may suggest a strong founder's effect from the farm in Florida where the animals were obtained and the subsequent absence of new germplasm introductions into Brazilian broodstocks, which may have ultimately resulted in the propagation of one single broodstock line as a consequence of genetic drift events over successive generations.

The presence of COI haplotypes Hap12 and Hap34 ($H_d = 0.420 \pm 0.082$) in individuals from PA suggests this feral population may be descendant from at least two independent introductions. Unlike Hap12, Hap34 can have its origin traced back to Kalimantan (Barito River) and Vietnam (Mekong River) (de Bruyn et al., 2005; Hurwood et al., 2014). It is likely that escapees from aquaculture facilities using either broodstocks from PESAGRO-Rio (Hap12) and/or from the first germplasm introduction in Brazil, coming from Hawaii (Hap34), have been interbreeding to establish this population in Pará State. However, since records indicate that the Hawaiian stock was originally sourced from Malaysia and considering that Hap34 is found in lineages from Kalimantan and Vietnam, this second origin remains uncertain.

These haplotypes, Hap12 and Hap34, had previously been reported in the same locality in 2011, along with Hap70 and Hap71, which were referred to as Hap36 and Hap37 by Iketani et al. (2011). Notably, the latter two have only been detected in Brazil and are absent from the species' native range, possibly indicating invasion success in Brazilian territory (Iketani et al., 2011). In the median-joining network analysis, we chose to rename these Brazilian haplotypes in order to avoid confusion, since Hurwood et al. (2014) expanded the original dataset of de Bruyn et al. (2005) by describing 34 additional haplotypes from the species' center of origin, including different haplotypes that were also labeled Hap36 and Hap37 in their study. Iketani et al. (2011), when finding Hap34 in Brazilian feral stocks, suggested that the first introduction could in fact involve a Malaysian lineage, which would agree with the historical records, given Hap34 is differed from Hap29 (most common central haplotype; Hurwood et al., 2014) by only a single transition, especially because Hap29 was also found in Brazil, in Colares, Pará (Iketani et al., 2011).

While Brazilian captive populations presented only Hap12, the exclusive presence of Hap29 in the Peruvian population (SM) indicates a distinct genetic history, more similar to that of the Brazilian feral population (PA). This pattern of differentiation was

corroborated by the AMOVA, which indicated that most of the genetic variation is distributed among populations rather than within them, and by the estimated pairwise F_{st} distances: PR, SP, RN and RJ are genetically indistinguishable ($F_{st} = 0.000$), while PA and SM are more closely related (pairwise $F_{st} = 0.338$), grouping together in the UPGMA tree. In contrast, the Peruvian sample remains clearly distinct from the Brazilian captive populations ($F_{st} = 1.000$). Unlike the Brazilian populations, the SM population may have its origin traced to Malaysia (Semenyih and Bahand Rivers), Vietnam (Dongnai and Mekong Rivers), and Indonesia (Musi River), where it has been previously recorded (de Bruyn et al., 2005). Historical records support this distinct lineage, as it follows a different introduction route, tracing back to Israel and Panama (Nava & Vicencio, 1987).

2.7.2 Nuclear genetic structure and diversity

In contrast to the mitochondrial COI marker, the analysis based on the final set of 96 SNPs provided a higher-resolution view of the genetic structure among the analyzed populations, offering a more accurate understanding of their evolutionary history. Moreover, the validated SNP panel proved itself considerably more effective for estimating genetic diversity levels, capturing variation that the COI marker was unable to detect.

In this sense, STRUCTURE, PCA, and F_{st} analyses revealed that, unlike the mtCOI, the PR population exhibits a distinct genetic composition compared with the other captive populations. Also, the best K value suggested five as the most likely number of clusters in STRUCTURE, instead of only three genetic clusters, pointed by mitochondrial analysis. This differentiation is supported by the pairwise F_{st} values between SP and RJ (0.120) and between SP and RN (0.145). Such patterns of differentiation may reflect both the passage of time since population isolation and the influence of founder effects.

The UPGMA tree summarizes what would have happened in the first scenario: considering that the commercial broodstock supplier from RJ provided post-larvae to PR in 2010, and later to SP and RN, the PR population was the first to become isolated, which likely led to its genetic differentiation from the others, followed by SP and, subsequently, RN. Alternatively, this pattern can also be a consequence of genetic drift during the initial transfers from RJ to PR and SP, in which a limited number of individuals may not have represented the full genetic diversity of the source population. This is supported by the allele fixation observed in the derived populations, which consequently leads to loss of genetic diversity.

STRUCTURE analyses showed that at $K=2$ PA is more genetically similar to SP, RN and RJ than PR is to these captive populations. This pattern could reflect genetic admixture in the wild between lineages carrying haplotypes Hap12 and Hap34, as suggested by mitochondrial analyses, and/or shared nuclear ancestry between the founding lineages. This similarity of PA with SP, RN and RJ, stronger than that observed for PR against these same populations, supports that PR experienced a severe founder effect, which led to its isolation into a distinct cluster in STRUCTURE analyses starting from $K = 2$.

The presence of four private alleles in PA further indicates that this population includes individuals derived from an alternative introduction of GFP in Brazil. In contrast, PR does not possess private alleles, or any other Brazilian captive stock. In this way, although PA diverged from the other Brazilian populations in STRUCTURE after PR, and F_{st} values between PA and RJ, SP, and RN were lower than those observed for PR against the same populations, PA retains a distinct and more diverse genetic background, which is common amongst exotic species which have experienced multiple introduction events (Iketani et al., 2011).

Despite the observed patterns showing greater genetic similarity among Brazilian captive broodstocks than between the Brazilian captive populations and the feral or the Peruvian populations, some Brazilian populations exhibited remarkably high F_{st} values (0.345), indicating substantial differences in allele frequencies. Similar levels of genetic structure have been reported in domesticated GFP populations from China from different lineages introduced from abroad (based on genome-wide SNPs; Shen et al., 2024) and Thailand, with improved stocks (using microsatellite loci; Chareontawee et al., 2007). On the other hand, despite some genetic structure detected among populations, most of the genetic variation is still distributed within individuals, which is expected given the common origin of the Brazilian captive populations.

Regarding genetic diversity, the 96 SNP panel revealed that only the PA and RJ populations exhibited a significant loss of diversity, as indicated by mean $H_o < H_e$ and positive F_{is} values, which may be a consequence of accumulated inbreeding. However, kinship analysis revealed that most individuals within these populations were unrelated, indicating that inbreeding can likely be ruled out as the main cause of reduced heterozygosity.

A possible explanation to this pattern involves the Wahlund effect (Wahlund, 1928), which may apply to the RJ population, as STRUCTURE analysis at $K = 6$ suggests the presence of two distinct genetic clusters in the population. In contrast, the PA population

displayed a homogeneous STRUCTURE pattern, suggesting that the Wahlund effect is unlikely to account for its positive F_{is} value. Another possible explanation to this deficiency in observed heterozygotes for PA is the presence of null alleles specific to this population, as it has a different genetic background, as pointed out by mtDNA analysis. The presence of null alleles results in heterozygous loci being genotyped as homozygous and are likely to be due to mutations in the annealing sites of primer-binding sequences (Kanaka et al., 2023), thus leading to a spurious excess of homozygotes.

Nevertheless, it is important to note that although PR, SP, RN, and SM did not show significant reductions in heterozygosity, this does not necessarily reflect the actual amount of genetic variation within these populations (Templeton & Read, 1994). In fact, PA and RJ exhibit higher genetic variation, as they possess a greater number of polymorphic loci, including private alleles. This pattern is consistent with their genetic background, since RJ served as the source stock for the subsequent Brazilian captive populations, and PA comprises at least two distinct mitochondrial lineages.

2.7.3 Methodological considerations and ascertainment bias

Some methodological limitations inherent to the SNP discovery process must be considered to fully contextualize the findings presented above. The use of a non-target reference genome (*M. nipponense*) for SNP discovery restricted variant detection to genomic regions that are conserved between the two species. Because only a small proportion of SNPs are expected to remain polymorphic since the divergence of these species, this approach may lead to inaccuracies in allele frequency estimates for the identified loci. Consequently, many loci were fixed or nearly fixed within *M. rosenbergii*, resulting in a high proportion of monomorphic markers in the genotyping assay, which were subsequently excluded. However, the retained SNPs represent predominantly older variants, reducing the panel's ability to capture population-specific or recently arisen diversity within *M. rosenbergii*. This represents a form of ascertainment bias, as the SNP selection process disproportionately retained older, conserved variants (Lachance & Tishkoff, 2013).

A second source of ascertainment bias derives from the fact that SNP discovery was conducted using individuals from the species' center of origin, a non-random subset of the global diversity. This tends to underrepresent rare alleles and retain older variants as well, potentially leading to an underestimation of diversity in Brazilian populations, including alleles

associated with local adaptation. Importantly, the most severe form of ascertainment bias, when SNP discovery is performed in derived, low-diversity populations, is minimized here, as the ancestral range is genetically more diverse.

Despite the probable absence of Brazilian-specific variants due to SNP discovery being conducted with individuals from the species' center of origin, this does not invalidate the panel nor diminish the strength of our findings. Although alleles that may have emerged or increased in frequency after the species' introduction into Brazil were not captured, a panel developed from local populations would only refine, rather than overturn, the patterns described here. The validated SNP panel still proved highly informative, being capable of detecting genetic structure consistent with their introduction histories. Furthermore, it showed strong power to detect genetic bottlenecks resulting from successive founding events, as new hatcheries were created from previous ones. This was reflected in the high rates of monomorphism observed among the introduced populations. Moreover, as all populations were submitted to the same set of markers, their relative diversities are directly comparable and therefore remain biologically meaningful.

2.7.4 Implications for selective breeding and monitoring of feral populations

Understanding the existing genetic variability in captive stocks is essential for developing effective breeding programs. The establishment of captive stocks from small numbers of founders reduces initial effective population sizes and starting genetic diversity, increasing the risk of inbreeding in early generations (Templeton & Read, 1994; Chareontawee et al. 2007). Artificial selection of stocks derived from narrow genetic bases can quickly lead to subsequent significant losses of genetic variation, reducing heterozygosity and increasing the risk of inbreeding depression. Such loss constrains the improvement of desirable phenotypic traits and limits the potential for long-term genetic progress (Pillai et al., 2021). In this context, access to comprehensive genomic information for the GFP would greatly support selective breeding strategies and help revive interest in the species' aquaculture. Obtained results suggest that genetic management of broodstocks in the studied hatcheries successfully avoided the accumulation of inbreeding, as most of the broodstocks are composed of unrelated individuals and low levels of F_{is} .

Additionally, since *M. rosenbergii* is considered invasive and widely distributed across several states, the periodic genetic analysis of feral specimens collected in the wild using

the nuclear SNP panel would greatly contribute to monitoring and managing these individuals. The detection of ovigerous females in estuarine regions suggests that the species has successfully established self-sustaining populations capable of completing their reproductive cycle in the environment (Oliveira & Santos, 2021). Moreover, the climatic similarity between these invaded regions and the species' native habitat may further facilitate establishment and expansion, reinforcing the need for continuous genetic monitoring and containment strategies to prevent further spread of aquaculture lineages into natural ecosystems.

Acknowledgments: We are extremely grateful to Karina Ribeiro, PhD (Universidade Federal do Rio Grande do Norte), Cristiana Ramalho Maciel, PhD (Universidade Federal do Pará), María Cristina Miglio Toledo, PhD (Universidade Nacional Agraria, La Molina, Peru), Caio Gomez Rodrigues, PhD (Camarões Brasil) and Sydney Torres da Silva (Point do Camarão - Aquicultura Santa Helena) for sending *M. rosenbergii* samples to be analyzed in our study.

REFERENCES

- ALAM, M. M.; WESTFALL, K. M.; PÁLSSON, S.; et al. Historical demography and genetic differentiation of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* in Bangladesh based on mitochondrial and ddRAD sequence variation. **Ecology and Evolution**, v. 7, n. 12, p. 4326-4335, 2017. DOI: 10.1002/ece3.3023.
- BARMAN, H. K.; PATRA, S. K.; DAS, V.; MOHAPATRA, S. D.; JAYASANKAR, P.; MOHANTHA, C.; PANDA, R. P.; RATH, S. N. Identification and characterization of differentially expressed transcripts in the gills of freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) under salt stress. **The Scientific World Journal**, v. 2012, article ID 149361, 9 p., 2012. DOI: 10.1100/2012/149361.
- BOYCE, T. M.; ZWICK, M. E.; AQUADRO, C. F. Mitochondrial DNA in the bark weevils: size, structure and heteroplasmy. **Genetics**, v. 123, n. 4, p. 825–836, 1989. Disponível em: <https://www.genetics.org/content/123/4/825>. Acesso em: 23 jan. 2026.
- CAVALCANTI, L. B. Histórico. In: VALENTI, W. C. (Ed.). **Carcinicultura de água doce: tecnologia para produção de camarões**. Brasília: IBAMA/FAPESP, 1998. p. 17-20.
- CHAREONTAWEE, K.; POOMPUANG, S.; NA-NAKORN, U.; KAMONRAT, W. Genetic diversity of hatchery stocks of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) in Thailand as revealed by microsatellite DNA analysis. **Aquaculture**, v. 271, p. 121-129, 2007. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2007.07.055. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848607005558>. Acesso em: 9 nov. 2025.
- CODONCODE CORPORATION. **CodonCode Aligner**, versão 11.0.2. Centerville, MA, EUA, [s.d.]. Disponível em: <https://www.codoncode.com/aligner/>. Acesso em: 23 jan. 2026.
- DE BRUYN, M.; NUGROHO, E.; HOSSAIN, M. et al. Phylogeographic evidence for the existence of an ancient biogeographic barrier: the Isthmus of Kra Seaway. **Heredity**, v. 94, p. 370–378, 2005. DOI: 10.1038/sj.hdy.6800613.
- DU, T.; QI, H.; LIN, K.; PENG, X.; GAO, Q.; YANG, G.; YI, S.; TANG, Q. Comprehensive evaluation of germplasm resources of nine *Macrobrachium rosenbergii* strains in China. **Aquaculture Reports**, v. 33, p. 101755, 2023. DOI: 10.1016/j.aqrep.2023.101755.
- EWING, B.; GREEN, P. Base-calling of automated sequencer traces using phred. I. Accuracy assessment. **Genome Research**, v. 8, n. 3, p. 175–185, 1998a. DOI: 10.1101/gr.8.3.175. Disponível em: <https://genome.cshlp.org/content/8/3/175>. Acesso em: 23 jan. 2026.
- EWING, B.; HILLIER, L.; WENDL, M. C.; GREEN, P. Base-calling of automated sequencer traces using phred. II. Error probabilities. **Genome Research**, v. 8, n. 3, p. 186–194, 1998b. DOI: 10.1101/gr.8.3.186. Disponível em: <https://genome.cshlp.org/content/8/3/186>. Acesso em: 23 jan. 2026.
- EXCOFFIER, L.; LISCHER, H. E. L. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources**, v. 10, p. 564–567, 2010.

FALUSH, D.; STEPHENS, M.; PRITCHARD, J. K. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. **Genetics Society of America**, v. 164, n. 4, p. 1567–1587, 2003.

FAO. **FishStatJ: global fishery and aquaculture production statistics (1950–2023)**. Rome: FAO, 2023. Disponível em: <https://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstatj>. Acesso em: 09 jan. 2026.

FLUIDIGM CORPORATION. **SNP Genotyping User Guide (PN 68000098 Q1)**. 2018. Disponível em: <<https://fluidigm.my.salesforce.com/sfc/p/#700000009DAw/a/4u0000019kFV/J5w6q0CKYdITv5ebT5PYx8Ai2T5oGz.CIYtyMxHAWFg>>. Acesso em: 19 jan 2026

GOLDEN HELIX, INC., BOZEMAN, M. **SNP & Variation Suite** v8.x, [s.d.]. Available in: <www.goldenhelix.com> Access in Jan. 2024.

GORDON, D.; ABAJIAN, C.; GREEN, P. Consed: a graphical tool for sequence finishing. **Genome Research**, v. 8, n. 3, p. 195–202, 1998. DOI: 10.1101/gr.8.3.195. Disponível em: <https://genome.cshlp.org/content/8/3/195>. Acesso em: 23 jan. 2026.

HURWOOD, D. A.; DAMMANNAGODA, S.; KROSCHE, M. N.; JUNG, H.; SALIN, K. R.; YOUSSEF, M. A.-B. H.; DE BRUYN, M.; MATHER, P. B. Impacts of climatic factors on evolution of molecular diversity and the natural distribution of wild stocks of the giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). **Freshwater Science**, v. 33, n. 1, p. 217–231, 2014. DOI: 10.1086/675243.

IKETANI, G.; PIMENTEL, L.; SILVA-OLIVEIRA, G. C.; MACIEL, C.; VALENTI, W. C.; SCHNEIDER, H.; SAMPAIO, I. The history of the introduction of the giant river prawn, *Macrobrachium cf. rosenbergii* (Decapoda, Palaemonidae), in Brazil: new insights from molecular data. **Genetics and Molecular Biology**, v. 34, n. 1, p. 142–151, 2011.

IKETANI, G.; AVIZ, M. A. B.; MACIEL, C.; VALENTI, W.; SCHNEIDER, H.; SAMPAIO, I. Successful invasion of the Amazon Coast by the giant river prawn, *Macrobrachium rosenbergii*: evidence of a reproductively viable population. **Aquatic Invasions**, v. 11, n. 3, p. 277–286, 2016. DOI: 10.3391/ai.2016.11.3.06.

KAJUNGIRO, R. A.; PALAIOKOSTAS, C.; PINTO, F. A. L.; MTOLERA, M.; MOCHI, A. J.; HOUSTON, R. D.; DE KONING, D. J. Population structure and genetic diversity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) strains cultured in Tanzania. **Frontiers in Genetics**, v. 10, art. 1269, 20 dez. 2019. DOI: 10.3389/fgene.2019.01269. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/genetics/articles/10.3389/fgene.2019.01269/full>. Acesso em: 9 nov. 2025.

KANAKA, K. K.; SUKHIJA, N.; GOLI, R. C.; SINGH, S.; GANGULY, I.; DIXIT, S. P.; DASH, A.; MALIK, A. A. On the concepts and measures of diversity in the genomics era. **Current Plant Biology**, v. 33, p. 100278, 2023. DOI: 10.1016/j.cpb.2023.100278. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214662823000075>. Acesso em: 23 jan. 2026.

KUMAR, S.; TAMURA, K.; TAUTZ, D.; NEI, M.; STECHER, G. Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 12 for adaptive and green computing. **Molecular Biology and**

Evolution, v. 41, p. 1–9, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/molbev/msae263>. Acesso em: 11 jun. 2025.

LACHANCE, J.; TISHKOFF, S. A. SNP ascertainment bias in population genetic analyses: why it is important, and how to correct it. **BioEssays**, v. 35, n. 9, p. 780–786, 2013. DOI: 10.1002/bies.201300014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3849385/>. Acesso em: 23 jan. 2026.

LEIGH, J. W.; BRYANT, D. POPART: full-feature software for haplotype network construction. **Bioinformatics**, v. 31, n. 12, p. 1110–1112, 2015. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu605. Disponível em: <https://academic.oup.com/bioinformatics/article/31/12/1110/196142>. Acesso em: 23 jan. 2026.

LIMA, G. M.; BOZA, B. R.; QUEIROZ, L. D.; IKETANI, G.; MACIEL, C. M. T.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F.; VALENTI, W. C.; SAMPAIO, I.; CRUZ, V. P.; MACIEL, C. R. Structure and genetic diversity of the *Macrobrachium amazonicum* species complex. **Scientific Reports**, v. 15, art. 31815, 2025. DOI: 10.1038/s41598-025-17666-y. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-025-17666-y>. Acesso em: 9 nov. 2025.

LOBÃO, V. L.; ROJAS, N. E. T. **Camarões de água doce: da coleta ao cultivo e à comercialização**. São Paulo: Ícone, 1985. 112 p. (Coleção Brasil Agrícola). Ilustrações de Olga Maria Marcelino; fotografias de Pedro José da Silva. 1. ed.

LOUGHNAN, S. R.; SMITH-KEUNE, C.; JERRY, D. R.; BEHEREGARAY, L. B.; ROBINSON, N. A. Genetic diversity and relatedness estimate for captive barramundi (*Lates calcarifer*, Bloch) broodstock informs efforts to form a base population for selective breeding. **Aquaculture Research**, v. 47, n. 11, p. 3570–3584, 2016. DOI: 10.1111/are.12807.

MARQUES, H. L. A.; MORAES-VALENTI, P. M. C. Current status and prospects of farming the giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii* (De Man 1879) and the Amazon river prawn *Macrobrachium amazonicum* (Heller 1862)) in Brazil. **Aquaculture Research**, v. 43, n. 7, p. 984–992, 2012. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2011.03032.x.

MILLIGAN, B. G. Maximum-likelihood estimation of relatedness. **Molecular Ecology Notes**, v. 3, n. 3, p. 487–492, 2003. DOI: 10.1046/j.1471-8286.2003.00521.x. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/>. Acesso em: 23 jan. 2026.

MORIN, P. A.; LUIKART, G.; WAYNE, R. K. SNPs in ecology, evolution and conservation. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 19, n. 4, p. 208–216, 2004. DOI: 10.1016/j.tree.2004.01.009. Acesso em: 9 nov. 2025.

NAVA, H.; VICENCIO, R. Producción masiva de post-larvas de la especie *Macrobrachium rosenbergii* en el Perú. In: VERRETH, J. A. J.; CARRILLO, M.; ZANUY, S.; HUISMAN, E. A. (ed.). **Investigación acuícola en América Latina: aquaculture research in Latin America**. Wageningen: Pudoc, 1987. p. 209–214. Nota: Anais do Workshop sobre aquicultura na América Latina, organizado pela International Foundation for Science (IFS), Estocolmo, Suécia, realizado em Lima, Peru.

NEW, M. B. **Farming freshwater prawns: a manual for the culture of the giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*)**. Rome: FAO Fisheries Technical Paper No. 428, 2002. 212 p. Disponível em: <https://www.fao.org/3/y4100e/y4100e00.htm>. Acesso em: 15 out. 2025.

NEW, M. B.; D'ABRAMO, L. R.; VALENTI, W. C.; SINGHOLKA, S.. Sustainability of freshwater prawn culture. In: NEW, Michael B.; TIDWELL, James H.; D'ABRAMO, Louis R.; KUTTY, Methil N. (eds.). **Freshwater prawns: biology and farming**. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd., 2010. p. 524–530.

NEW, M. B. Freshwater prawns: status of global aquaculture, 1987. Bangkok: Network of Aquaculture Centres in Asia, 1988. (NACA Technical Manual, 6).

NEW, M. B.; SINGHOLKA, S. **Farming freshwater prawns: a manual for the culture of the giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*)**. Rome: FAO Fisheries Technical Paper No. 428, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2002. 212 p. Disponível em: <https://www.fao.org/4/y4100e/y4100e00.htm>. Acesso em: 9 nov. 2025.

NOWLAND, S. J.; SILVA, C. N. S.; SOUTHGATE, P. C.; STRUGNELL, J. M. Mitochondrial and nuclear genetic analyses of the tropical black-lip rock oyster (*Saccostrea echinata*) reveals population subdivision and informs sustainable aquaculture development. **BMC Genomics**, v. 20, art. 711, 2019. DOI: 10.1186/s12864-019-6052-z. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6740020/>. Acesso em: 9 nov. 2025.

OLIVEIRA, C. D. L.; SANTOS, L. V. R. Distribution of the giant river prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879) in Brazil: 43 years after its introduction. **Nauplius**, v. 29, p. e2021007, 2021. DOI: 10.1590/2358-2936e2021007.

PILLAI, B. R. Genetic improvement of giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*: a review of global status. **Reviews in Aquaculture**, v. 14, n. 3, p. 1285-1299, 2022.

ROZAS, J. et al. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. **Molecular Biology and Evolution**, v. 34, n. 12, p. 3299–3302, 2017. DOI: 10.1093/molbev/msx248.

SADLER, D. E.; WATTS, P. C.; UUSI-HEIKKILÄ, S. The riddle of how fisheries influence genetic diversity. **Fishes**, v. 8, n. 10, art. 510, 2023. DOI: 10.3390/fishes8100510. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2410-3888/8/10/510>. Acesso em: 9 nov. 2025.

SHEN, Q.; YU, J.; WANG, R.; GAO, Q.; TANG, Q.; et al. Genome resequencing reveals genetic status of *Macrobrachium rosenbergii* populations in China. **Aquaculture Reports**, v. 38, article 102356, 2024.

STANDARD BIOTOOLS INC. **SNP Genotyping Analysis User Guide**. South San Francisco, CA: Standard BioTools Inc., 2023. Disponível em: <https://fluidigm.my.salesforce.com/sfc/p/#700000009DAw/a/4u0000019kFV/J5w6q0CKYdITv5ebT5PYx8Ai2T5oGz.CIYtyMxHAWFg>. Acesso em: 16 jan 2026

SYAIFUDIN, M.; BEKAERT, Michaël; TAGGART, John B.; BARTIE, Kerry L.; WEHNER, Stefanie; PALAIOKOSTAS, Christos; KHAN, M. G. Q.; SELLY, Sarah L. C.; HULATA, Gideon; D'COTTA, Helena; BAROILLER, Jean-Francois; McANDREW, Brendan J.; PENMAN, David J. *Species-specific marker discovery in tilapia*. **Scientific Reports**, v. 9, art.

13001, 2019. DOI: 10.1038/s41598-019-48339-2. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-48339-2>. Acesso em: 9 nov. 2025.

TEMPLETON, A. R.; READ, B. The elimination of inbreeding depression in a captive herd of Speke's gazelle. **Conservation Biology**, v. 8, n. 3, p. 679–690, 1994. DOI: 10.1046/j.1523-1739.1994.08030679.x. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/>. Acesso em: 23 jan. 2026.

THOMAS, J. E.; LACROIX, Denis. Culture of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* in the State of Rio de Janeiro, Brazil, from 1981 to 1990. In: **Proceedings of the World Aquaculture Society Meeting**, San Juan, Puerto Rico, 16–20 June 1991. Ifremer, 1991. Disponível em: <https://archimer.ifremer.fr/doc/00040/15168/>. Acesso em: 9 nov. 2025.

VALENTI, W. C.; BARROS, H. P.; MORAES-VALENTI, P. M. C.; BUENO, G. W.; CAVALLI, R. O. Aquaculture in Brazil: past, present and future. **Aquaculture Reports**, v. 19, p. 100611, 2021. DOI: 10.1016/j.aqrep.2021.100611.

WAHLUND, S. Zusammensetzung von Populationen und Korrelationserscheinungen vom Standpunkt der Vererbungslehre aus betrachtet. **Hereditas**, v. 11, n. 1, p. 65–106, 1928. DOI: 10.1111/j.1601-5223.1928.tb02483.x. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1601-5223.1928.tb02483.x>. Acesso em: 23 jan. 2026.

WANG, J. COANCESTRY: a program for simulating, estimating and analysing relatedness and inbreeding coefficients. **Molecular Ecology Resources**, v. 11, n. 1, p. 141–145, 2011. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2010.02885.x. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/>. Acesso em: 23 jan. 2026.

WANG, J. Triadic IBD coefficients and applications to estimating pairwise relatedness. **Genetics**, v. 176, n. 3, p. 1411–1420, 2007. DOI: 10.1534/genetics.106.064485. Disponível em: <https://www.genetics.org/>. Acesso em: 23 jan. 2026.

WOWOR, D.; NG, Peter K. L. The giant freshwater prawns of the *Macrobrachium rosenbergii* species group (Crustacea: Decapoda: Caridea: Palaemonidae). **Raffles Bulletin of Zoology**, v. 55, n. 2, p. 321–336, 2007. DOI: 10.5281/zenodo.5333838.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Supplementary Material S1. Allele frequencies by population by marker

Allele/n	PR	PA	SP	RN	RJ	SM
N	26	30	20	17	70	24
2	0.981	0.583	0.250	0.824	0.664	1.000
4	0.019	0.417	0.750	0.176	0.336	0.000
N	26	30	20	17	70	24
1	0.538	0.450	0.200	0.676	0.721	0.667
3	0.462	0.550	0.800	0.324	0.279	0.333
N	26	28	14	17	68	24
1	1.000	0.661	0.143	0.853	0.846	0.750
3	0.000	0.339	0.857	0.147	0.154	0.250
N	26	30	20	17	70	24
3	0.481	0.800	0.825	0.588	0.586	0.979
4	0.519	0.200	0.175	0.412	0.414	0.021
N	26	30	20	17	70	24
2	0.000	0.000	0.150	0.059	0.093	0.125
4	1.000	1.000	0.850	0.941	0.907	0.875
N	25	29	20	17	69	23
2	0.520	0.414	0.275	0.147	0.159	0.000
4	0.480	0.586	0.725	0.853	0.841	1.000
N	26	30	20	17	70	24
1	0.000	0.167	0.000	0.000	0.000	0.000
4	1.000	0.833	1.000	1.000	1.000	1.000
N	26	25	20	13	68	22
2	0.500	0.640	0.500	0.500	0.500	0.500
4	0.500	0.360	0.500	0.500	0.500	0.500

Allele/n	PR	PA	SP	RN	RJ	SM
N	26	30	20	17	70	24
2	0.481	0.650	0.750	0.529	0.443	0.958
4	0.519	0.350	0.250	0.471	0.557	0.042
N	26	30	20	17	70	24
1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.271
3	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.729
N	26	30	20	17	70	24
1	0.731	0.000	0.250	0.235	0.114	0.354
3	0.269	1.000	0.750	0.765	0.886	0.646
N	26	30	20	17	70	24
2	0.000	0.950	0.425	0.676	0.536	0.938
4	1.000	0.050	0.575	0.324	0.464	0.063
N	26	30	20	17	70	24
2	0.000	0.183	0.000	0.000	0.000	0.000
4	1.000	0.817	1.000	1.000	1.000	1.000
N	26	30	20	17	70	24
1	1.000	0.767	0.675	0.824	0.779	0.000
3	0.000	0.233	0.325	0.176	0.221	1.000
N	25	30	19	17	68	24
2	0.420	0.150	0.500	0.647	0.588	0.000
4	0.580	0.850	0.500	0.353	0.412	1.000
N	26	30	20	17	69	24
3	1.000	0.383	0.425	0.853	0.739	0.375
4	0.000	0.617	0.575	0.147	0.261	0.625

Allele/n	PR	PA	SP	RN	RJ	SM
N	26	30	20	17	70	24
2	0.558	0.100	0.200	0.088	0.107	0.458
4	0.442	0.900	0.800	0.912	0.893	0.542
N	26	30	20	17	70	23
1	0.000	0.017	0.000	0.088	0.014	0.261
3	1.000	0.983	1.000	0.912	0.986	0.739
N	22	26	19	17	60	24
2	0.159	0.212	0.132	0.206	0.558	0.542
4	0.841	0.788	0.868	0.794	0.442	0.458
N	26	30	20	17	70	24
2	0.962	0.683	0.900	0.676	0.629	0.000
4	0.038	0.317	0.100	0.324	0.371	1.000
N	26	30	20	17	70	24
1	0.000	0.100	0.000	0.029	0.107	0.188
3	1.000	0.900	1.000	0.971	0.893	0.813
N	26	25	20	17	70	24
1	0.500	0.740	0.500	0.500	0.179	1.000
3	0.500	0.260	0.500	0.500	0.821	0.000
N	26	30	20	16	68	20
3	1.000	0.783	0.975	0.813	0.699	0.400
4	0.000	0.217	0.025	0.188	0.301	0.600
N	26	30	20	17	69	24
2	1.000	0.967	1.000	0.824	0.877	0.625
4	0.000	0.033	0.000	0.176	0.123	0.375
N	25	28	20	17	69	24
1	0.120	0.393	0.875	0.941	0.841	0.000
3	0.880	0.607	0.125	0.059	0.159	1.000
N	26	30	20	17	70	24
2	0.000	0.133	0.000	0.000	0.000	0.000
4	1.000	0.867	1.000	1.000	1.000	1.000

Allele/n	PR	PA	SP	RN	RJ	SM
N	26	29	20	17	70	24
1	1.000	0.862	1.000	1.000	1.000	1.000
3	0.000	0.138	0.000	0.000	0.000	0.000
N	26	30	20	17	70	24
1	0.000	0.583	0.525	0.588	0.629	0.208
4	1.000	0.417	0.475	0.412	0.371	0.792
N	26	29	17	17	62	24
1	0.000	0.310	0.412	0.647	0.621	0.292
3	1.000	0.690	0.588	0.353	0.379	0.708
N	24	30	20	16	69	24
3	0.604	0.500	0.000	0.125	0.254	1.000
4	0.396	0.500	1.000	0.875	0.746	0.000
N	24	27	16	17	69	24
1	0.604	0.741	0.500	0.559	0.674	1.000
3	0.396	0.259	0.500	0.441	0.326	0.000
N	26	30	20	17	70	24
1	0.365	0.617	0.950	0.853	0.714	0.208
2	0.635	0.383	0.050	0.147	0.286	0.792
N	26	30	20	17	70	24
1	0.846	0.617	0.650	0.824	0.786	0.500
3	0.154	0.383	0.350	0.176	0.214	0.500
N	25	30	20	17	70	21
1	0.880	0.850	0.875	0.912	0.929	0.643
3	0.120	0.150	0.125	0.088	0.071	0.357
N	26	29	20	17	69	24
2	1.000	0.897	1.000	1.000	1.000	0.792
4	0.000	0.103	0.000	0.000	0.000	0.208
N	26	30	20	16	70	24
2	0.692	0.967	1.000	0.750	0.764	0.063
4	0.308	0.033	0.000	0.250	0.236	0.938

Allele/n	PR	PA	SP	RN	RJ	SM
N	26	30	20	16	70	24
2	0.000	0.133	0.000	0.094	0.093	0.000
3	1.000	0.867	1.000	0.906	0.907	1.000
N	24	29	20	17	68	24
1	0.000	0.000	0.000	0.029	0.059	0.292
3	1.000	1.000	1.000	0.971	0.941	0.708
N	25	30	20	17	70	24
2	0.460	0.083	0.000	0.206	0.136	0.979
4	0.540	0.917	1.000	0.794	0.864	0.021
N	26	28	19	17	68	24
3	1.000	0.786	0.421	0.853	0.816	1.000
4	0.000	0.214	0.579	0.147	0.184	0.000
N	26	29	20	17	69	23
1	0.615	0.793	0.925	0.647	0.681	0.565
3	0.385	0.207	0.075	0.353	0.319	0.435
N	26	30	19	17	68	24
1	0.212	0.317	0.000	0.441	0.250	0.750
3	0.788	0.683	1.000	0.559	0.750	0.250
N	25	30	20	17	69	24
2	1.000	0.483	0.625	0.588	0.587	0.083
4	0.000	0.517	0.375	0.412	0.413	0.917
N	25	25	17	17	62	19
2	1.000	1.000	1.000	0.941	0.895	1.000
4	0.000	0.000	0.000	0.059	0.105	0.000
N	26	28	18	17	59	24
2	1.000	0.375	0.167	0.647	0.551	0.771
4	0.000	0.625	0.833	0.353	0.449	0.229
N	26	29	20	17	69	23
1	0.788	0.414	0.075	0.559	0.304	0.000
3	0.212	0.586	0.925	0.441	0.696	1.000

Allele/n	PR	PA	SP	RN	RJ	SM
N	26	30	20	17	70	23
3	0.500	0.383	0.600	0.441	0.479	0.391
4	0.500	0.617	0.400	0.559	0.521	0.609
N	26	30	20	16	70	24
2	0.135	0.683	0.325	0.531	0.550	0.313
3	0.865	0.317	0.675	0.469	0.450	0.688
N	26	29	20	17	69	24
1	0.000	0.155	0.300	0.176	0.159	1.000
3	1.000	0.845	0.700	0.824	0.841	0.000
N	26	30	20	17	70	24
1	0.654	0.317	0.000	0.029	0.029	0.000
4	0.346	0.683	1.000	0.971	0.971	1.000
N	26	30	20	17	70	24
1	0.981	0.800	1.000	0.676	0.750	0.979
3	0.019	0.200	0.000	0.324	0.250	0.021
N	24	30	19	17	66	19
1	0.625	0.517	0.895	0.647	0.553	0.632
3	0.375	0.483	0.105	0.353	0.447	0.368
N	26	28	20	17	68	24
1	0.827	0.839	1.000	1.000	1.000	0.646
3	0.173	0.161	0.000	0.000	0.000	0.354
N	26	30	20	17	69	24
2	0.115	0.067	0.725	0.647	0.717	0.125
4	0.885	0.933	0.275	0.353	0.283	0.875
N	26	30	20	17	70	24
1	0.019	0.467	0.900	0.265	0.286	1.000
3	0.981	0.533	0.100	0.735	0.714	0.000
N	24	29	17	15	59	24
2	1.000	0.138	1.000	0.833	0.881	0.125
4	0.000	0.862	0.000	0.167	0.119	0.875

Allele/n	PR	PA	SP	RN	RJ	SM
N	26	30	20	17	69	24
2	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.917
4	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.083
N	26	30	20	17	69	24
2	0.981	0.817	0.700	0.824	0.754	0.563
4	0.019	0.183	0.300	0.176	0.246	0.438
N	26	30	19	17	70	24
2	1.000	0.733	0.763	0.912	0.921	1.000
3	0.000	0.267	0.237	0.088	0.079	0.000
N	25	30	19	16	70	23
1	0.180	0.317	0.079	0.219	0.321	0.304
3	0.820	0.683	0.921	0.781	0.679	0.696
N	26	30	19	17	70	23
1	1.000	0.700	0.737	0.353	0.436	0.935
2	0.000	0.300	0.263	0.647	0.564	0.065
N	26	30	20	17	70	24
2	0.808	0.217	0.200	0.382	0.329	0.813
4	0.192	0.783	0.800	0.618	0.671	0.188
N	26	29	20	17	68	22
3	1.000	0.862	1.000	1.000	0.993	0.909
4	0.000	0.138	0.000	0.000	0.007	0.091
N	26	30	19	17	67	24
2	1.000	0.383	0.605	0.765	0.716	0.792
3	0.000	0.617	0.395	0.235	0.284	0.208
N	26	30	20	17	70	24
1	0.615	0.767	1.000	0.853	0.793	0.000
4	0.385	0.233	0.000	0.147	0.207	1.000
N	25	29	20	16	69	24
2	1.000	0.724	1.000	0.875	0.862	0.896
4	0.000	0.276	0.000	0.125	0.138	0.104

Allele/n	PR	PA	SP	RN	RJ	SM
N	25	29	17	14	68	24
1	0.000	0.052	0.412	0.107	0.074	0.000
3	1.000	0.948	0.588	0.893	0.926	1.000
N	26	30	20	17	70	23
3	1.000	0.683	1.000	0.971	0.950	0.978
4	0.000	0.317	0.000	0.029	0.050	0.022
N	26	30	20	17	68	24
1	0.212	0.283	0.475	0.206	0.184	0.375
3	0.788	0.717	0.525	0.794	0.816	0.625
N	24	26	19	16	63	23
1	0.979	0.962	0.947	0.938	0.833	1.000
3	0.021	0.038	0.053	0.063	0.167	0.000
N	26	30	17	17	68	24
1	0.115	0.600	0.471	0.676	0.412	0.896
3	0.885	0.400	0.529	0.324	0.588	0.104
N	26	30	20	17	70	23
1	0.346	0.983	0.350	0.706	0.536	1.000
2	0.654	0.017	0.650	0.294	0.464	0.000
N	26	29	20	17	70	24
2	0.500	0.897	1.000	0.971	0.929	0.000
4	0.500	0.103	0.000	0.029	0.071	1.000
N	26	30	20	17	70	24
1	0.404	0.533	0.225	0.265	0.443	0.042
2	0.596	0.467	0.775	0.735	0.557	0.958
N	26	30	20	16	70	24
1	0.000	0.083	0.000	0.188	0.157	0.813
3	1.000	0.917	1.000	0.813	0.843	0.188
N	26	30	20	17	70	24
1	0.519	0.600	0.350	0.441	0.479	1.000
3	0.481	0.400	0.650	0.559	0.521	0.000

Allele/n	PR	PA	SP	RN	RJ	SM
N	26	30	16	16	66	23
3	0.000	0.800	0.594	0.438	0.295	0.326
4	1.000	0.200	0.406	0.563	0.705	0.674
N	26	30	20	17	70	24
1	0.000	0.433	0.750	0.265	0.379	1.000
3	1.000	0.567	0.250	0.735	0.621	0.000
N	26	30	20	17	70	24
2	0.000	0.083	0.000	0.000	0.000	0.063
4	1.000	0.917	1.000	1.000	1.000	0.938
N	25	30	20	17	70	24
1	1.000	0.983	1.000	0.971	0.936	1.000
3	0.000	0.017	0.000	0.029	0.064	0.000
N	26	30	20	17	70	24
2	0.500	0.167	0.750	0.118	0.157	0.042
3	0.500	0.833	0.250	0.882	0.843	0.958
N	26	29	20	17	70	24
2	0.000	0.086	0.500	0.147	0.300	0.646
4	1.000	0.914	0.500	0.853	0.700	0.354
N	26	30	20	17	68	24
2	0.000	0.317	0.125	0.265	0.257	0.000
4	1.000	0.683	0.875	0.735	0.743	1.000
N	26	30	20	17	67	24
2	1.000	0.617	0.550	0.765	0.784	0.000
4	0.000	0.383	0.450	0.235	0.216	1.000
N	24	30	19	17	69	24
1	0.750	0.250	0.289	0.441	0.435	0.000
3	0.250	0.750	0.711	0.559	0.565	1.000
N	26	30	20	17	70	24
1	0.635	0.783	0.575	0.618	0.764	1.000
3	0.365	0.217	0.425	0.382	0.236	0.000

Allele/n	PR	PA	SP	RN	RJ	SM
N	26	29	20	17	69	24
1	0.538	0.138	0.450	0.265	0.210	0.000
4	0.462	0.862	0.550	0.735	0.790	1.000
N	26	30	20	17	70	24
1	0.462	0.267	0.550	0.588	0.693	0.000
2	0.538	0.733	0.450	0.412	0.307	1.000
N	26	28	19	17	69	24
1	1.000	0.786	1.000	1.000	1.000	0.063
4	0.000	0.214	0.000	0.000	0.000	0.938
N	26	30	20	17	69	24
1	0.385	0.250	0.625	0.647	0.471	0.000
3	0.615	0.750	0.375	0.353	0.529	1.000
N	26	30	20	17	70	24
1	0.000	0.350	0.000	0.059	0.043	0.000
4	1.000	0.650	1.000	0.941	0.957	1.000
N	26	30	20	17	70	24
1	0.000	0.517	0.000	0.000	0.000	0.083
2	1.000	0.483	1.000	1.000	1.000	0.917
N	26	29	20	17	70	24
2	1.000	0.034	0.825	0.500	0.493	0.000
4	0.000	0.966	0.175	0.500	0.507	1.000
N	26	30	20	17	70	24
1	0.385	0.183	1.000	0.794	0.829	0.167
3	0.615	0.817	0.000	0.206	0.171	0.833
N	26	30	20	17	70	24
2	0.346	0.067	0.175	0.353	0.386	0.438
4	0.654	0.933	0.825	0.647	0.614	0.563

CAPÍTULO 3

CONSIDERAÇÕES FINAIS

3.1 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O camarão-gigante-da-malásia é uma das espécies de crustáceos mais economicamente importantes do mundo. No Brasil, seu cultivo se deu início na década de 1970, mas, apesar das inúmeras vantagens do cultivo da espécie, o potencial produtivo da espécie nunca foi alcançado no país, como em países com semelhantes condições climáticas e disponibilidade de recursos, o quais expandiram suas indústrias, a exemplo da China e outros países do sudoeste da Ásia.

Apesar da estagnação da produção do camarão de água doce se dever a uma combinação de fatores logísticos, técnicos e econômicos, a disponibilização de informações genéticas sobre o material atualmente em uso pelo setor produtivo representa uma ferramenta estratégica para promover o manejo reprodutivo e o desenvolvimento de programas de melhoramento genético da espécie, o que potencialmente poderia retomar o interesse produtivo da espécie.

Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo investigar a diversidade e estrutura genética de quatro populações de cativeiro brasileiras, uma população brasileira feral e uma população de cativeiro peruana, por meio do uso integrado do gene mitocondrial COI e de um painel de SNPs de baixa densidade, tendo em vista o subsídio de ações voltadas ao manejo reprodutivo e o melhoramento genético da espécie. Adicionalmente, o estudo buscou validar o painel genômico desenvolvido, com vistas ao seu potencial uso futuro no setor produtivo.

Os resultados obtidos apontam para a existência de três linhagens ancestrais, verificadas pelo uso do gene mitocondrial, que separam as populações em: (1) populações de cativeiro brasileiras; (2) população feral brasileira; e (3) população de cativeiro peruana. De forma complementar, o painel de SNPs de baixa densidade conseguiu aumentar o poder de resolução das análises de estruturação genética, separando ainda cada população de cativeiro brasileira, com exceção da população da população do RN, que ainda se mantém indistinta da população original a todas as populações de cativeiro analisadas: RJ. Ademais, o painel indica para a presença de importantes efeitos fundadores à medida que novas populações foram fundadas a partir de plantéis já existentes, o que representa uma ameaça para a diversidade genética existente na espécie. Além disso, o estabelecimento de populações de cativeiro fundadas a partir de um pequeno número de indivíduos pode levar à redução do tamanho efetivo populacional e à diversidade genética inicial, aumentando o risco de depressão endogâmica. No

entanto, o painel verificou baixos níveis de endogamia dentro dos planteis, indicando que o manejo reprodutivo da espécie vem minimizando o acasalamento de indivíduos aparentados.

Por fim, conclui-se que o uso integrado do painel de SNPs, juntamente ao gene mitocondrial COI mostrou-se efetivo para avaliar a estrutura e a variabilidade genéticas existentes dentro dos plantéis, o que é essencial para o desenvolvimento de programas de melhoramento genético eficazes. A seleção artificial de populações a partir de bases genéticas estreitas pode levar rapidamente a perdas de variabilidade genética e à depressão endogâmica, o que restringe a melhoria de características fenotípicas e limita o potencial do melhoramento genético da espécie.