

Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Biológicas
Departamento de Biologia Geral
Programa de Pós-Graduação em Genética



TESE DE DOUTORADO

Impacto de Usinas Hidrelétricas e do rompimento de Barragem de Rejeitos na estrutura genética populacional de peixes: Um estudo com *Prochilodus costatus* no Rio Paraopeba.

Autora: Adriana Heloísa Pereira

Orientador: Prof. Dr. Evanguedes Kalapothakis

Co-orientadora: Dra. Juliana da Silva Martins Pimentel

Belo Horizonte

2021

Adriana Heloísa Pereira

Impacto de Usinas Hidrelétricas e do rompimento de Barragem de Rejeitos na estrutura genética populacional de peixes: Um estudo com *Prochilodus costatus* no Rio Paraopeba.

Tese apresentada ao curso de Doutorado em Genética do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção de título de Doutora em Genética

Orientador: Prof. Dr. Evanguedes Kalapothakis

Co-orientadora: Dra. Juliana da Silva Martins Pimentel

Belo Horizonte

2021

043 Pereira, Adriana Heloísa.

Impacto de Usinas Hidrelétricas e do rompimento de Barragem de Rejeitos na estrutura genética populacional de peixes: um estudo com *Prochilodus costatus* no Rio Paraopeba [manuscrito] / Adriana Heloísa Pereira. – 2021.

109 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Prof. Dr. Evanguedes Kalapothakis. Co-orientadora: Dra. Juliana da Silva Martins Pimentel.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Genética.

1. Genética. 2. Variação Genética. 3. Centrais Hidrelétricas. 4. Represas. 5. *Prochilodus costatus* - Teses. I. Kalapothakis, Evanguedes. II. Pimentel, Juliana da Silva Martins. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 575



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Genética

FOLHA DE APROVAÇÃO

"Impacto de Usinas Hidrelétricas e rompimento de Barragem de Rejeitos na estrutura genética populacional de peixes: Um estudo com *Prochilodus costatus* no Rio Paraopeba"

Adriana Heloisa Pereira

Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Evanguedes Kalapothakis - Orientador
UFMG

Juliana da Silva Pimentel - Coorientador
Faculdade Pitágoras

Álvaro Cantini Nunes
UFMG

Fernanda Antunes Carvalho
UFMG

Aline Torres de Azevedo Chagas
PC Minas

Leonardo Cardoso Resende
AMPL0 Engenharia

Luciana Werneck Zuccherato
Hospital Mario Penna

Belo Horizonte, 24 de junho de 2021.



Documento assinado eletronicamente por **Juliana da Silva Martins Pimentel, Usuário Externo**, em 25/06/2021, às 19:23, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Aline Torres de Azevedo Chagas, Usuário Externo**, em 25/06/2021, às 19:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luciana Werneck Zuccherato, Usuário Externo**, em 25/06/2021, às 21:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Leonardo Cardoso Resende, Usuário Externo**, em 26/06/2021, às 11:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fernanda Antunes Carvalho, Professora do Magistério Superior**, em 28/06/2021, às 11:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Alvaro Cantini Nunes, Membro**, em 28/06/2021, às 15:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Evanguedes Kalapothakis, Presidente**, em 02/07/2021, às 16:36, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0804650** e o código CRC **DACD41B2**.

Agradecimentos

Ao Programa de Pós-Graduação em Genética, pela oportunidade.

Ao professor Evanguedes Kalapothakis, pela confiança em meu trabalho por ter me acolhido carinhosamente, pela paciência e por todos os ensinamentos que pude obter nesses anos em que compus o LBMM.

À toda a equipe do Laboratório de Biotecnologia e Marcadores Moleculares, por também terem me acolhido tão bem e estarem sempre dispostos a me ajudar. Em especial à minha linda co-orientadora Ju, por ter me dado todo o suporte. Fico muito feliz e tenho muito orgulho por fazer parte de uma equipe unida, amiga e coesa como o Kalapogruppo!

À agência de fomento, CEMIG, pelo apoio financeiro, sem o qual a realização deste trabalho não teria sido possível.

Ao Laboratório de Ictiologia do Prof. Dr. Gilmar Bastos Santos da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, que auxiliaram na coleta dos espécimes de *Prochilodus costatus*.

Ao querido Carlos Bernardo Mascarenhas Alves por ter auxiliado na coleta dos espécimes e por todo conhecimento que me foi transmitido em nossas longas conversas sobre a espécie.

À você meu amor Juliano, e minha filha Luna. Obrigada pela paciência, pelo incentivo, pela força e por compreender minhas ausências. Valeu a pena todo sofrimento e todas as renúncias que tivemos e enfrentamos juntos.

“Um cientista em seu laboratório não é um mero técnico: ele também é uma criança que enfrenta fenômenos naturais que o impressionam como se fossem contos de fadas”.

— Marie Curie

Resumo

Uma das espécies endêmicas encontradas na bacia do Rio São Francisco é o peixe *Prochilodus costatus*, conhecido popularmente como curimba, caracterizado como sendo uma espécie migradora e um recurso importante para as comunidades de pesca artesanal local. Além disso, esta espécie pode desempenhar um papel ecológico importante, considerando o seu hábito detritívoro, que envolve o processamento de sedimentos, representando uma espécie-chave para programas de conservação. Os padrões genéticos da espécie sugerem um evento demográfico recente que vem moldando a história evolutiva das populações de *P. costatus* na bacia do Rio Paraopeba. O Rio Paraopeba sofre com diversas ações antrópicas como mineração, esgoto industrial e esgoto doméstico, pesca excessiva, destruição de corredores e drenagem para apoiar o desenvolvimento agrícola e em 2019 foi palco do maior desastre ambiental do Brasil com o Rompimento da barragem de rejeitos de mineração na cidade de Brumadinho. Buscando compreender o padrão evolutivo da espécie e a ação antrópica sobre o perfil genético, analisamos indivíduos coletados anterior e posterior à construção da Barragem de Retiro Baixo, na foz do Rio Paraopeba e as consequências que o rompimento da barragem Córrego do Feijão traria para estrutura e diversidade populacional na espécie de *P. costatus*. As análises indicam que as populações pré e pós implantação da UHE de Retiro Baixo tenham passado por um gargalo populacional recente, o que pode ser atribuído não apenas a implantação da barragem de Retiro Baixo como também pela criação do reservatório de Três Marias bem como as mudanças nos fatores abióticos, como a poluição que influenciaram a migração da espécie e a sobrevivência ao longo da bacia. Já os estudos pós rompimento da barragem do Córrego do Feijão demonstram uma significativa perda de diversidade em todos os *loci* estudados, o que compromete a sobrevivência da espécie.

Palavras chaves: Diversidade Genética, Impacto, Usina Hidrelétrica, Rio Paraopeba, Curimba, Barragem

Abstract

One of the endemic species found in the São Francisco River basin is the fish *Prochilodus costatus*, popularly known as curimba, characterized as being a migratory species and an important resource for the local artisanal fishing communities. In addition, this species can play an important ecological role, considering its detritivorous habit, which involves the processing of sediments, representing a key species for conservation programs. The genetic patterns of the species suggest a recent demographic event that has been shaping the evolutionary history of *Prochilodus costatus* populations in the Paraopeba River basin. Seeking to understand the evolutionary pattern of the species and the anthropic action on the genetic profile, we analyzed individuals collected before and after the construction of the Retiro Baixo Dam, at the mouth of the Paraopeba River and the consequences that the rupture of the Córrego do Feijão dam would bring to structure and population diversity in the species of *P. costatus*. The analyzes indicate that the pre and post implantation populations of the Retiro Baixo HPP have experienced a recent population bottleneck, which can be attributed not only to the implantation of the Retiro Baixo dam but also to the creation of the Três Marias reservoir as well as the changes abiotic factors, such as pollution that influenced species migration and survival along the basin. Studies after the rupture of the Córrego do Feijão dam demonstrate a significant loss of diversity in all the studied *loci*, which compromises the survival of the species.

Keywords: Genetic Diversity, Impact, Hydroelectric Power Plant, Paraopeba River, Curimba, Dam

Lista de Figuras

- Figura 1:** Diferença morfológica encontrada em um exemplar coletado pós o rompimento da barragem Córrego do Feijão. Em (A) um espécime considerado morfológicamente normal e em (B) um espécime com grande deformidade no aparelho bucal. 24
- Figura 2:** *Prochilodus costatus*..... 25
- Figura 3:** Rio Paraopeba e as localidades onde as amostras de *P. costatus* foram coletadas. (1) coleta a Jusante da Usina Hidrelétrica de Retiro Baixo, (2) Jusante da Cachoeira do Choro, (3) Jusante da Termoelétrica de Igarapé, (4) Jusante da PCH Salto do Paraopeba, (5) Ponte da Taquara, (6) São Joaquim de Bicas, (7) Rio Manso, (8) Condomínio Rio Manso, (9) Jusante de Brumadinho, (10) Montante de Brumadinho e (11) Ribeirão Macacos. As coletas prévias à construção da barragem de Retiro Baixo foram feitas nos pontos 2 e 3, enquanto que as coletas posteriores à construção da barragem de Retiro Baixo foram feitas nos pontos 1, 3 e 4. As coletas pós rompimento da barragem Córrego do Feijão ocorreram nos pontos 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 11 35
- Figura 4:** Representação esquemática da estratégia de genotipagem, obtenção do amplicon individualizado e fluxograma das análises de bioinformática. 40
- Figura 5:** DNA genômico extraído de *P. costatus*. Eletroforese em gel de agarose 0,7% corado com brometo de etídeo e revelado em luz UV mostrando resultado obtido após a extração de DNA de *P. costatus*. Aplicação de 8 µL de amostra de DNA genômico **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 6:** A título de ilustração, resultado de amplificação dos *locus* ProC44, com tamanho de 153pb esperados. Eletroforese em gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídeo. **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 7:** Comparação da distribuição das frequências alélicas para 8 *loci* de microssatélites entre as duas populações de *P. costatus* analisadas..... 55
- Figura 8:** Análise de variância molecular (AMOVA) entre as populações de *P. costatus* pré e pós construção da Barragem de Retiro Baixo..... 66
- Figura 9:** Atribuição de DAPC e subsequente agrupamento de indivíduos com clusters ótimos de $K = 3$, para amostras coletadas pré barramento da UHE de Retiro Baixo. Parcela de DAPC para cinco perfis genéticos atribuídos, cada um indicado por cores diferentes. Gráficos de pizza indicam a proporção de indivíduos de cada população (CC/2007 e IGA/2006) atribuído aos conjuntos genéticos relativos criados pelo DAPC. 67

Figura 10: Atribuição de DAPC e subsequente agrupamento de indivíduos com clusters ótimos de $K = 14$, para amostras coletadas pós UHE de Retiro Baixo. Parcela de DAPC para 11 perfis genéticos atribuídos, cada um indicado por cores diferentes. Gráficos de pizza indicam a proporção de indivíduos de cada grupo amostral (SAL/2014, SAL/2015, IGA/2014, IGA/2015, RBA/2014 e RBA/2015) atribuído aos conjuntos genéticos relativos criados pelo DAPC. 68

Figura 11: Agrupamento populacional por DAPC nas amostras pré barramento. Foram utilizados 7 componentes principais e 1 função discriminante. Plot da estrutura Bayesiana para 8 *loci* de microssatélites para 71 indivíduos relacionados. Gráfico de barras mostrando a designação da população dividido pela designação a priori da população. As cores indicam a contribuição percentual dos indivíduos das populações para os clusters atribuídos (eixo y), sendo os indivíduos representados por cada linha (eixo x). As linhas pretas superiores separam as populações das quais os indivíduos pertencem..... 69

Figura 12: Agrupamento populacional por DAPC pós barramento. Foram utilizados 11 componentes principais e 5 funções discriminantes. Plot da estrutura Bayesiana para 8 *loci* de microssatélites e 285 indivíduos relacionados. Gráfico de barras mostrando a designação da população dividido pela designação a priori da população. As cores indicam a contribuição percentual dos indivíduos das populações para os clusters atribuídos (eixo y), sendo os indivíduos representados por cada linha (eixo x). As linhas pretas superiores separam as populações das quais os indivíduos pertencem..... 70

Figura 13: Distribuição dos pools gênicos apresentados no artigo “Genetic evaluation of migratory fish: Implications for conservation and stocking programs”. Mostrando a diferença do Rio Paraopeba, concentrando um perfil genético único em comparação com outros pontos do Alto da Bacia do Rio São Francisco..... 71

Figura 14: Análise do perfil genético da amostragem de pré construção da Barragem de Retiro Baixo em comparação com 114 amostras cedidas pelo P&D455 localizado a montante do Rio São Francisco, mostrando que pré instalação da UHE de Retiro Baixo a diversidade genética do Rio Paraopeba já se diferenciada do restante do Alto da Bacia do Rio São Francisco. .. 72

Figura 15: Comparação da distribuição das frequências alélicas para oito *loci* de microssatélites entre as populações anterior e posterior à Barragem de Retiro Baixo e posterior rompimento da Barragem da Mina do Feijão..... 74

Figura 16: Análise da variância molecular (AMOVA) encontrada na população pós rompimento da Barragem do Córrego do Feijão..... 82

Figura 17: Atribuição de DAPC e subsequente agrupamento de indivíduos com clusters ótimos de $K = 3$, para amostras coletadas pós rompimento da barragem de Córrego do Feijão. Parcela

de DAPC para 9 perfis genéticos atribuídos, cada um indicado por cores diferentes. Gráficos de pizza indicam a proporção de indivíduos de cada grupo amostral (MBRUM, JBRUM, RM, SJB, RM, CRM, PTAQ, CC, RBA e IGA) atribuído aos conjuntos genéticos relativos criados pelo DAPC.

..... 84

Figura 18: Agrupamento populacional por DAPC. Foram utilizados 10 componentes principais e 9 funções discriminantes. Plot da estrutura Bayesiana para 8 *loci* de microssatélites para 94 indivíduos relacionados. Gráfico de barras mostrando a designação da população dividido pela designação a priori da população. As cores indicam a contribuição percentual dos indivíduos das populações para os clusters atribuídos (eixo y), sendo os indivíduos representados por cada linha (eixo x). As linhas pretas superiores separam as populações das quais os indivíduos pertencem.

..... 85

Lista de Tabelas

Tabela 1: Dados das amostras <i>P. costatus</i> utilizadas no presente estudo. As cores indicam à qual grupo as amostras pertencem: Rosa – Anterior a construção da barragem RBA, Azul – Posterior à construção da barragem RBA e Laranja posterior ao rompimento da barragem Córrego do Feijão em Brumadinho, totalizando 450 amostras analisadas.	36
Tabela 2: <i>Primers</i> usados na amplificação de marcadores de microssatélites selecionados para a genotipagem de <i>P. costatus</i>	38
Tabela 3: Genotipagem dos indivíduos de 01 a 71 obtidos por amplificação seguida por sequenciamento massivo de DNA em plataforma Illumina. O zero indica que o genótipo não foi localizado.....	42
Tabela 4: Genotipagem dos 285 indivíduos de <i>P. costatus</i> obtidos por amplificação seguida por sequenciamento massivo de DNA em plataforma Illumina. O zero indica que o genótipo não foi localizado.....	44
Tabela 5: Genotipagem dos indivíduos de 01 a 94 obtidos por amplificação seguida por sequenciamento massivo de DNA em plataforma Illumina. O zero indica que o genótipo não foi localizado.....	51
Tabela 6: Distribuição de alelos por <i>locus</i>	56
Tabela 7: Frequências alélicas observadas e esperadas para o <i>locus</i> ProC10 pré e pós barramento	57
Tabela 8: Frequências alélicas observadas e esperadas para o <i>locus</i> ProC18 pré e pós barramento	57
Tabela 9: Frequências alélicas observadas e esperadas para o <i>locus</i> ProC22 pré e pós barramento	58
Tabela 10: Frequências alélicas observadas e esperadas para o <i>locus</i> ProC36 pré e pós barramento	59
Tabela 11: Frequências alélicas observadas e esperadas para o <i>locus</i> ProC37 pré e pós barramento	60
Tabela 12: Frequências alélicas observadas e esperadas para o <i>locus</i> ProC44 pré e pós barramento	61
Tabela 13: Frequências alélicas observadas e esperadas para o <i>locus</i> ProC48 pré e pós barramento	62
Tabela 14: Frequências alélicas observadas e esperadas para o <i>locus</i> ProC49 pré e pós barramento	63

Tabela 15: Diversidade genética avaliada nas populações de <i>P. costatus</i> estudadas.....	65
Tabela 16: Frequências alélicas observadas e esperadas para o <i>locus</i> ProC10 pós rompimento da barragem B1 da Mina Córrego do Feijão	75
Tabela 17: Frequências alélicas observadas e esperadas para o <i>locus</i> ProC18 pós rompimento da barragem B1 da Mina Córrego do Feijão	76
Tabela 18: Frequências alélicas observadas e esperadas para o <i>locus</i> ProC22 pós rompimento da barragem B1 da Mina Córrego do Feijão	77
Tabela 19: Frequências alélicas observadas e esperadas para o <i>locus</i> ProC36 pós rompimento da barragem B1 da Mina Córrego do Feijão	78
Tabela 20: Frequências alélicas observadas e esperadas para o <i>locus</i> ProC37 pós rompimento da barragem B1 da Mina Córrego do Feijão	78
Tabela 21: Frequências alélicas observadas e esperadas para o <i>locus</i> ProC48 pós rompimento da barragem B1 da Mina Córrego do Feijão	79
Tabela 22: Frequências alélicas observadas e esperadas para o <i>locus</i> ProC49 pós rompimento da barragem B1 da Mina Córrego do Feijão	80
Tabela 23: Distribuição de alelos por <i>locus</i>	81

Lista de Abreviaturas

A Adenina
C Citosina
CC Cachoeira do Choro
°C Graus Celsius
CRM Condomínio Rio Manso
DMSO Dimetilsulfóxido
DNA Ácido desoxirribonucleico
dNTP Desoxi (nucleotídeo) 5' -trifosfato
F *Primer* tipo forward
G Guanina
GB Gigabytes
He Heterozigossidade
HRM High Resolution Melting
IGA Igarapé
JBRUM Jusante de Brumadinho
LBMM Laboratório de Biotecnologia e Marcadores Moleculares
MBRUM Montante de Brumadinho
mg Miligrama
mL Mililitros
mM Mili-molar
mtDNA DNA mitocondrial
NGS Next Generation Sequencing
ng Nanograma
nm Nanômetro
nM Nano-molar
pb Pares de base
R *Primer* tipo reverse
Pcmol Pico-molar
PCH Pequena Central Hidrelétrica
PCR Reação em Cadeia da Polimerase
pH Potencial Hidrogenionte
PTAQ Ponte da Taquara

RBA Retiro Baixo

RIBMAC Ribeirão Macacos

RM Rio Manso

rRNA RNA ribossomal

SAL Salto do Paraopeba

SJB São Joaquim de Bicas

SNP Single nucleotide polymorphism

T Timina

TAE Tampão Tris, Ácido acético, EDTA

Taq *Thermus aquaticus*

Taq DNA polimerase DNA polimerase termoestável de *Thermus aquaticus*

TE Tampão Tris e EDTA

Tris Tris (hidroximetil) aminometano

tRNA RNA transportador

UHE Usina Hidrelétrica

UV Ultra-violeta

Sumário

Resumo	8
Abstract	9
Lista de Figuras	10
Lista de Tabelas	13
Lista de Abreviaturas	15
1. Introdução.....	19
1.1 O impacto das Usinas Hidrelétricas	19
1.2 As Usinas instaladas no Rio Paraopeba	21
1.2.1 A Pequena Central Hidrelétrica de Salto do Paraopeba.....	21
1.2.2 A Usina Termelétrica de Igarapé.....	21
1.2.3 A Usina Hidrelétrica de Retiro Baixo	22
1.2.4 A Usina Hidrelétrica de Três Marias.....	22
1.3 O desastre do rompimento da Barragem da Mina Córrego do Feijão em Brumadinho	23
1.4 Gênero <i>Prochilodus</i>	24
1.4.1 <i>Prochilodus costatus</i>	25
1.5 Bacia do Rio São Francisco.....	26
1.6 O Rio Paraopeba	28
1.7 O sequenciamento massivo de DNA e obtenção de marcadores moleculares para técnicas de genotipagem	28
1.7.1 Simple Sequence Repeats (SSR)	30
1.8 Análise de variabilidade genética e a manutenção da diversidade de espécies pesqueiras	30
2. Justificativa	32
3. Objetivos.....	32
3.1 Objetivos específicos	33
4. Metodologia	33
4.1 Área de Estudo	33
4.2 Coleta de material de <i>Prochilodus costatus</i>	34
4.3 Licença de coleta	37
4.4 Obtenção de DNA.....	37
4.5 Desenvolvimento dos marcadores	37
4.6 Genotipagem NGS.....	38

4.7 Análises de Bioinformática (NGS).....	39
4.8 Análise de genética de populações.....	41
5. Resultados.....	42
5.1. Análises de Bioinformática.....	42
5.2 Comparação das amostras anterior e posterior à Construção da Barragem da Usina Hidrelétrica de Retiro Baixo	54
5.2.1 Diversidade Genética.....	54
5.2.2 Avaliação dos resultados por <i>locus</i>	56
5.2.3 Diversidade populacional	65
5.3 Estrutura populacional	66
5.4 Comparação das amostras anteriores à construção à Usina Hidrelétrica de Retiro Baixo com produto publicado por Pimentel et al. 2020.....	70
5.5 Análise de amostras de <i>P. costatus</i> coletados ao longo da Subbacia do Rio Paraopeba posterior ao rompimento da barragem B1 da Mina Córrego do Feijão	73
5.5.1 Diversidade Genética.....	73
5.5.2 Avaliação dos resultados por <i>locus</i>	75
5.5.3 Estrutura Populacional	82
6. Discussão	86
6.1 O impacto da instalação da UHE de Retiro Baixo	86
6.2 Avaliação do Impacto do desastre de Brumadinho	89
7. Conclusão.....	91
8. Referências Bibliográficas.....	92
Anexo 1: Publicação em Primeira Autoria	104

1. Introdução

1.1 O impacto das Usinas Hidrelétricas

Nas últimas décadas, devido à crescente demanda por energia, ao crescimento da população mundial e ao desenvolvimento da indústria, muitos rios vêm sofrendo represamento para a construção de usinas hidrelétricas. O Brasil possui cerca de 15% da água doce do mundo, e sua rede hidrológica é ampla, densa e complexa. Seus rios apresentam alto potencial de geração de energia, pois a maioria deles são rios de planalto e, além das rupturas de declividade no leito, sua extensão, largura e profundidade também são grandes. As usinas hidrelétricas geram mais energia do que outras fontes de energia renováveis, como a energia eólica. Além disso, o nível de poluição das usinas hidrelétricas é inferior ao das usinas térmicas ou nucleares (Lopes & Bedore 2008).

O Brasil ainda consome grande parte da energia elétrica proveniente das usinas hidrelétricas. Como resultado, muitos rios brasileiros se tornaram uma série de barragens, causando fragmentação de habitat, inundações em grande escala, mudanças no ambiente natural e qualidade da água (Petts, 1989; Martins & Tamada, 2000). Grandes reservatórios são algumas das principais fontes que afetam os recursos pesqueiros e podem ser considerados a principal ameaça à proteção dos peixes migradores de água doce. A barragem provoca mudanças nas condições hidrológicas e bloqueia as rotas de migração dos peixes, que precisam se mover rio acima durante a reprodução para desovar e reter nutrientes (Larinier, 2000; Lopes & Bedore 2008).

O rio e sua planície de inundação são considerados um sistema indivisível. O sistema inclui ambientes lóticos, ambientes permanentemente lenticos e uma planície de inundação; cada um tem características únicas que são diferentes em um ecossistema específico. Nestes ambientes existem lagoas marginais, que ocupam as depressões laterais do rio e mantêm conexão constante ou intermitente com o rio (Junk et al., 1989). Durante as cheias, as lagoas são submersas, formando canais para habitats ricos porque obtêm nutrientes e matéria orgânica do rio. Estas lagoas são consideradas excelentes viveiros para muitos peixes migradores (Welcomme, 1979; Agostinho et al., 1993; Vazzoler et al., 1997; Mediros & Maltchik 2001).

Os efeitos observados nos trechos superiores incluem a inundação de cachoeiras, que se deve à eliminação de barreiras naturais e a expansão da área da bacia do lago, o que leva à introdução de espécies nos trechos superiores e à disseminação de espécies sedentárias (Agostinho, 1994). Os impactos a jusante incluem o controle do nível de água para fins de

barragens, que geralmente causam mudanças que são prejudiciais à ictiofauna local, interferem nos refúgios, forrageamento e desova (Martins, 2000; Arantes et al., 2010a). Uma diminuição nas populações de peixes foi encontrada em vários rios da América do Sul. Entre outros fatores, isso se deve à falha no recrutamento devido ao bloqueio das rotas de migração dos peixes (Pompeu et al., 2008).

Observa-se geralmente que as espécies sedentárias e de médio porte dominam, em detrimento das espécies migrantes e das espécies de grande porte (Agostinho et al., 1999). A migração desempenha um papel fundamental no sucesso da reprodução dos peixes migradores. De acordo com o tipo (reprodução ou alimentação), direção (rio acima ou rio abaixo) e forma (passivo ou ativo), os padrões de migração variam (Pavlov et al., 2002). As espécies herbívoras são caracterizadas pelo isolamento entre os nichos de reprodução, alimentação e crescimento (Northcote, 1984). Em espécies como as curimbas, todo o ciclo de vida vem da água doce do sistema fluvial. Os criadouros e os locais de alimentação podem ser separados por vários quilômetros (Pimentel et al., 2020).

A migração tem um papel importante no sucesso reprodutivo da espécie, pois promove o encontro e a alta concentração de ambos os sexos em áreas apropriadas para a fertilização e desenvolvimento dos ovos (Sivasundar et al, 2001; Agostinho et al, 2004). Entretanto, a migração dos peixes vem sendo comprometida pela construção de usinas hidrelétricas nas últimas décadas, especialmente na região Sudeste do Brasil. Devido a isso, esses peixes tiveram sua dinâmica reprodutiva comprometida e muitos estudos e medidas mitigadoras foram exigidas das agências que exploram esse tipo de atividade. As espécies mais afetadas pela construção do reservatório são aquelas que dependem da migração de longo prazo para se reproduzir, pois as barragens podem causar mudanças no fluxo do rio e nas características físicas e químicas, o que pode impedir ou atrasar a migração para cima e levar ao declínio. Mesmo a extinção de espécies que dependem do movimento vertical em certas fases do seu ciclo de vida (Larinier, 2001).

Em rios da região neotrópica, espécies de Characiformes e Siluriformes são comumente observadas. Essas espécies usam a parte baixa do rio como principal ambiente alimentar e, durante a estação chuvosa, fêmeas e machos migram para áreas de altitude para reprodução (Martins, 2000). Os alevinos encontram um ambiente ideal de crescimento na lagoa marginal e possuem bons recursos e condições para crescerem. Outro fator da migração reprodutiva é que o movimento nem sempre ocorre em uma direção. Avanços e recuos na migração ser devido ao esgotamento e/ou repouso, linhas de corrente desfavoráveis ou estagnação por intransponibilidade, como uma barragem sem sistema de transposição de peixes (Martins, 2000).

Nos neotrópicos, os peixes são muito afetados pela construção de reservatórios, pelo despejo de águas residuais agrícolas, domésticas e industriais nos rios e pela degradação das matas ciliares. O ciclo biológico dessas espécies está relacionado ao ciclo hidrológico do rio, ou seja, o ciclo de enchentes e secas que também sofrem alterações com a construção de barragens. Acima da barragem, a área é permanentemente inundada pelo reservatório. Abaixo da barragem, a inundação diminui ou ocorre em momento errado. Além de atrapalhar o estímulo da desova, também altera a conectividade entre o rio e a área de reprodução (Carosfeld et al., 2003). O impacto das represas sobre as espécies de peixes já foi comprovado em todo o mundo (Morita e Yamamoto, 2001; Neraas e Spruell, 2001; Heggenes & Roed, 2006; Reid et al., 2008), geralmente, o declínio populacional é devido à transição de um ambiente fluvial para um ambiente lacustre, e também ao isolamento de peixes migratórios de áreas de desova e alimentação. Se habitats importantes forem perdidos ou inacessíveis, essa ruptura pode levar à extinção local (Godinho & Godinho, 1994; Neraas & Spruell, 2001).

1.2 As Usinas instaladas no Rio Paraopeba

1.2.1 A Pequena Central Hidrelétrica de Salto do Paraopeba

Construída no município de Jeceaba entre os anos de 1949 e 1956 pela empresa Horizontes Energia S.A. tendo atualmente CEMIG como subsidiária, a Pequena Central Hidrelétrica (PCH) Salto do Paraopeba possui duas unidades de geração de energia, com potência nominal de 2,46 MW (CEMIG, 20-20) e é a barreira física que se encontra mais próxima à nascente do Rio Paraopeba.

A usina estava desativada até março de 2001, quando a CEMIG realizou reparos buscando solucionar as paralisações causadas pela chegada constante de sedimentos ao reservatório e consequente acúmulo de entulhos na entrada do circuito de geração e nas proximidades do vertedouro (Vale, 2014). Em 2006, em função dos problemas operacionais, devido ao assoreamento do trecho fluvial do rio, a usina encontra-se fora de operação comercial. Em 2016 deu-se início a um processo de reabilitação da PCH Salto do Paraopeba e as obras de reabilitação ainda se encontram em andamento (CEMIG, 20-20).

1.2.2 A Usina Termelétrica de Igarapé

A Usina Termelétrica Igarapé foi construída e operada pela Companhia Energética de Minas Gerais (CEMIG) em Minas Gerais. A usina está localizada em Juatuba, Brasil, na região metropolitana de Belo Horizonte em Minas Gerais. A primeira usina termelétrica (CEMIG, 2006). Movida a óleo, possui capacidade total de 131.000 kW instalada única usina que a CEMIG opera com combustíveis fósseis. A termelétrica de Igarapé foi projetada para garantir maior confiabilidade ao sistema energético da empresa em períodos hidrológicos adversos. A usina usa água tratada para operação, a qual é captada por meio do barramento Rio Paraopeba no terreno da usina. Para a preservação da ictiofauna e para permitir o fluxo gênico de peixes a montante e a jusante do barramento, a CEMIG construiu uma escada para possibilitar a passagem de peixes de jusante para montante (CEMIG, 2006).

1.2.3 A Usina Hidrelétrica de Retiro Baixo

A Usina Hidrelétrica de Retiro Baixo (RBA) foi construída no baixo curso do Rio Paraopeba, situada entre os municípios de Curvelo e Pompeu (CEMIG, 2006). A usina foi construída pela empresa Retiro Baixo Energética S/A no período de 2007 a 2010 entrando em operação também em 2010. Para a criação do reservatório foi necessário inundar uma área de 22,58km² de extensão. O projeto sofreu uma modificação para a aproximação do vertedouro das estruturas do circuito hidráulico e do leito do Rio Paraopeba com o objetivo de diminuir a possibilidade de um bolsão de água parada que poderia acarretar a mortandade de peixes e o favorecimento de vetores transmissores de doenças (ANAEL, 2005). Como medida mitigativa pela criação do reservatório, foi realizado a implantação de um elevador que possibilite de forma mecânica a passagem de peixes de jusante para montante, que inclui um elevador para a retirada dos animais aglomerados durante o período de manutenção possibilitando assim o resgate da ictiofauna local (CEMIG, 2006).

1.2.4 A Usina Hidrelétrica de Três Marias

A Usina Hidrelétrica de Três Marias, foi construída de 1957 a 1962, está localizada na parte central de Minas Gerais, compreendendo os municípios de São Gonçalo do Abaeté, Felixlândia, Morada Nova de Minas, Biquinhas, Paineiras, Pompéu, Martinho Campos, Abaeté e Três Marias, tendo partes de seus municípios alagados e formando o Circuito Turístico do Lago de Três Marias. (CEMIG, 2006). A usina foi inaugurada em 1962, com sua barragem medindo

2.700 metros de comprimento formando um reservatório de 21 bilhões de metros cúbicos de água. (CEMIG, 2006).

1.3 O desastre do rompimento da Barragem da Mina Córrego do Feijão em Brumadinho

A ruptura da barragem de rejeitos foi considerada anteriormente um evento raro, mas apenas nos últimos cinco anos, o Brasil enfrentou dois grandes desastres envolvendo a ruptura de rejeitos de ferro: a Barragem de Fundão (5 de novembro de 2015) e a Barragem de Brumadinho. 25 de janeiro de 2019) (Armstrong et al., 2019). Infelizmente, o risco de desastre de outra barragem do Brasil também é alto. O último "Relatório Anual de Barragens" lista 45 barragens brasileiras com alto risco de ruptura, incluindo 5 barragens de rejeitos de mineração (Filho e Dias, 2019). Em 5 de novembro de 2015, a barragem de Fundão de propriedade da BHP-Vale rompeu, vazando no meio ambiente mais de 50 milhões de metros cúbicos de lama contendo rejeitos de minério, matando 19 pessoas. (Cordeiro et al., 2019). O desastre também causou a perda de matas ciliares, o que aumentou a erosão na orla do período chuvoso, o que pode atrasar a recuperação ambiental da água do Rio Doce.

Em 25 de janeiro de 2019, o Rio Paraopeba foi palco do maior acidente industrial do século e um dos maiores desastres ambientais de mineração do país com rompimento da barragem B1 de Brumadinho, causando ao menos 270 mortes. A barragem de rejeitos controlada pela Vale S.A., denominada mina Córrego do Feijão, era classificada pela empresa como de "baixo risco" e "alto potencial de poder destrutivo".

Brumadinho é uma das cidades onde está localizada a Reserva do Parque Estadual Serra do Rola Moça. A barragem rompida estava localizada em uma zona tampão criada pelo parque em 1994 para proteger as seis nascentes que foram destruídas pela lama. Pelo menos 12 milhões de metros cúbicos de rejeitos de minério foram espalhados.

A onda de rejeitos contaminou o Rio São Francisco, que além de Minas Gerais passa por outros quatro estados brasileiros como descrito anteriormente, mas antes atingiu barragens das Usinas Hidrelétricas de Retiro Baixo, em Pompéu e da Usina Hidrelétrica de Três Marias em Três Marias.

Após o rompimento da barragem, os níveis de metais pesados no Rio Paraopeba aumentaram - por exemplo, os níveis de mercúrio estavam 21 vezes mais altos do que os níveis aceitáveis. Segundo dados do Instituto Nacional de Florestas (IEF), o rejeito cobre uma área de vegetação permanentes ao longo dos cursos d'água (Filho e Dias, 2019).

Apesar do desastre de Brumadinho, a saúde do Rio Paraopeba ainda não foi avaliada em detalhes e não há estudos suficientes para mensurar o prejuízo (Figura 1) causado pela lama que se alastrou pela bacia que já sofria com tantos danos ambientais como o Rio Paraopeba.

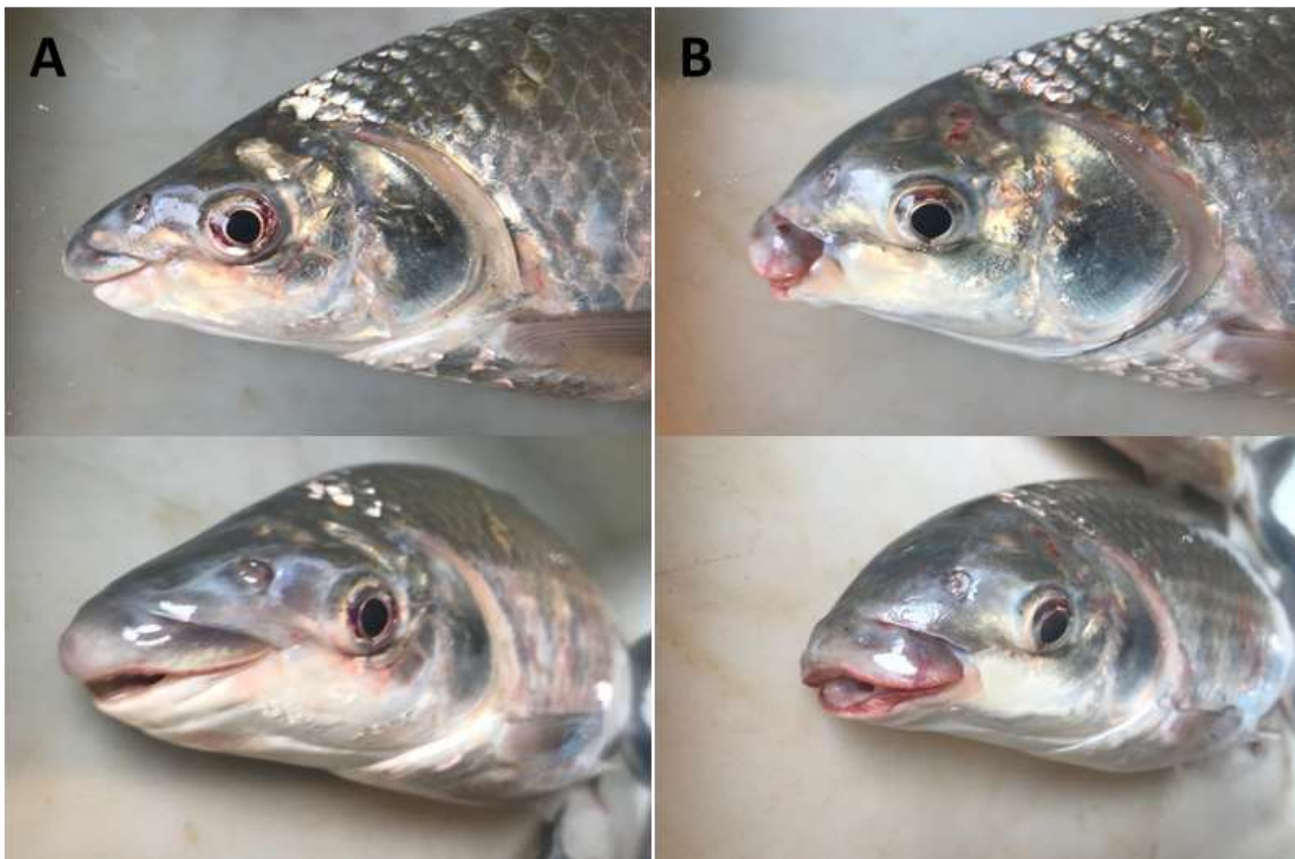


Figura 1: Diferença morfológica encontrada em um exemplar coletado pós o rompimento da barragem Córrego do Feijão. Em (A) um espécime considerado morfológicamente normal e em (B) um espécime com grande deformidade no aparelho bucal.

Fonte: Carlos Bernardo Mascarenhas Alves, Arquivo Pessoal, 2020.

1.4 Gênero *Prochilodus*

Os peixes do gênero *Prochilodus* pertence à ordem Characiformes uma das maiores e mais diversas ordens, sendo espécies exclusivas de água doce. É distribuída do sul da América do Norte à América do Sul central e África. É a maior nos principais sistemas de drenagem neotropical. Diversidade (Buckup, 1998). Characiformes são importantes para a pesca, incluindo a família *Prochilodontidae*, que se distingue por sua abundância natural, ampla distribuição na América do Sul e alta capacidade migratória (Melo, 2011).

A família é conhecida por ser monofilética (Vari, 1983; Castro & Vari, 2004) e contém três gêneros: *Ichthyoelephas* (Posada Arango, 1909) - *Semaprochilodus* (Fowler, 1941), *Prochilodus* (Agassiz, 1829). Existem 13 espécies nos rios costeiros e na bacia do Rio São Francisco, Brasil e Guiana (Castro e Vari, 2003; 2004; Melo, 2011).

Os peixes da família Prochilodontidae podem ser encontrados em diversos habitats, desde lagoas que correm em direção às margens de grandes rios, até rios montanhosos de média velocidade que aparecem em águas escuras, claras e brancas (Castro & Vari, 2003). Quanto à alimentação, são considerados iliógrafos, e se alimentam de detritos e sedimentos (plantas, animais e detritos presos à vegetação, rochas e outras superfícies) acumulados em superfícies subaquáticas. Foi verificada a adaptabilidade anatômica da família a este método de alimentação, como alterações na mandíbula, arco e sistema digestivo (Bowen, 1984; Bowen et al., 1984; Araújo-Lima et al., 1986). A posse deste tipo de recursos alimentares abundantes em águas neotropicais é a explicação mais provável para a abundância de dentículos em peixes de água doce (Castro & Vari, 2003; 2004). Portanto, no ambiente de água doce da América do Sul é considerado um dos componentes mais importantes da pesca comercial e de subsistência (Lowe-McConnel, 1975; Goulding, 1981; Vari, 1983).

1.4.1 *Prochilodus costatus*

A espécie *Prochilodus costatus* (Figura 2) Valenciennes, 1850, foi classificado primeiramente como *P. affinis* Reinhardt, 1874, comumente conhecido como curimatã-pioa ou curimba, e relacionado filogeneticamente à *P. argenteus* (Castro e Vari, 2004).



Figura 2: *Prochilodus costatus*

Fonte: Melo, B., 2011.

Endêmico da Bacia do Rio São Francisco, a espécie tem importância comercial para a pesca profissional, alcançando 6 kg de peso corporal, sendo as fêmeas maiores que os machos (Sato et al., 1996). É também considerado migrador de longa distância (Sato & Godinho, 2003), alcançando aproximadamente 200 km linearmente (Alves, 2007), principalmente na estação reprodutiva (Camargo & Petrere; 2001). Seu hábito detritívoro que envolve a transformação de sedimentos (Flecker; 1996) contribui para um importante papel ecológico, o que o torna uma espécie-chave para programas para a conservação (Carvalho-Costa et al., 2008).

Em bacias hidrográficas da América do Sul, diferentes espécies de populações de *Prochilodus* têm sido estudadas usando marcadores moleculares nucleares e mitocondriais, que se tornaram um importante modelo para a pesquisa genética de peixes. No primeiro estudo com o objetivo de estudar a estrutura genética de populações, Revaldaves et al. (1997) utilizaram seis *loci* polimórficos de isoenzimas em três subgrupos de *P. lineatus* no Alto Paraná. A baixa taxa de fixação, distância genética e alta identidade genética indicam que existe uma única unidade reprodutiva com alto fluxo gênico na planície de inundação deste estudo (Melo, 2011).

A estrutura populacional e a variabilidade genética populacional comprovada por marcadores microsatélites têm sido amplamente utilizadas em estudos evolutivos de vários peixes (Chistiakov et al., 2006; Oliveira et al., 2009), incluindo alguns neotrópicos de água doce (Barroso et al., 2005; Hatanaka Et al., 2006; Hrbek et al., 2007; Abreu et al., 2009; Calcagnotto & DeSalle, 2009; Matsumoto & Hilsdorf, 2009; Pereira et al., 2009; Hausdorf et al., 2011). Os biomarcadores mais comumente usados são regiões mitocondriais e os polimorfismos de microsatélites específicos.

1.5 Bacia do Rio São Francisco

A Bacia do São Francisco, com área de drenagem de 639.219 km², se estende pelos Estados de Minas Gerais, Bahia, Goiás, Pernambuco, Sergipe e Alagoas, além do Distrito Federal (ANA, 2002; Pereira *et al.*, 2007). O São Francisco possui a maior bacia hidrográfica em extensão contida inteiramente no território brasileiro, cobrindo 7,6% do território nacional, estando localizado do sudeste ao nordeste, com domínios ecológicos variando de Mata Atlântica até Cerrado e Caatinga (Kohler, 2003; Melo, 2011). Na divisa entre Sergipe e Alagoas o Rio é conduzido ao Oceano Atlântico, onde em meio a praias, mangues e dunas ocorre o desague do rio (CEMIG, 2006).

Abastecendo cerca de 14 milhões de habitantes, a bacia do São Francisco banha 504 municípios, sendo a maior parte deles situados em Minas Gerais (>200) e Bahia (>100) (CEMIG,

2006). Além disso, a Bacia do São Francisco possui 36 afluentes mais importantes, dentre os quais, apenas 19 são perenes, sobressaindo na margem direita, os rios Pará, Paraopeba, Velhas e Verde Grande e, pela margem esquerda, os rios Abaeté, Paracatu, Urucuia, Pandeiros, Carinhanha, Corrente e Grande (ANEEL, 1998). Devido suas dimensões a Bacia do São Francisco foi dividida em quatro regiões conforme os desníveis existentes ao longo da calha do rio principal. O trecho da nascente até a cidade de Pirapora - MG, é chamado de Alto São Francisco, de Pirapora até a cidade de Remanso – BA, Médio São Francisco, de Remanso a cidade de Paulo Afonso- BA é chamado de Submédio São Francisco e seguindo até sua foz, no Oceano Atlântico, Baixo São Francisco (CEMIG, 2006).

A porção central é caracterizada por numerosas planícies aluviais e lagoas marginais, importantes berçários para o recrutamento de peixes migradores. Desde 1976, o crescimento do desenvolvimento econômico na Bacia do São Francisco tem sido caracterizado principalmente pela agricultura irrigada (ONS, 2004). Além da irrigação, o potencial hidrelétrico do São Francisco aumentou, por meio de instalações de usinas hidrelétricas ao longo de sua extensão. Nos últimos anos, outras atividades antrópicas ocorreram na Bacia do São Francisco, como degradação do solo, desmatamento, poluição industrial e doméstica, mineração, destruição de várzeas e lagoas marginais pela agricultura (Sato et al. 1987; Menezes, 1996).

A Bacia do Rio São Francisco representa um ponto importante no desenvolvimento dos estados que o abrange. No entanto, aspectos ecológicos importantes relacionados aos peixes na bacia, como forrageamento e criadouros, comportamento e distância de propagação entre habitats, ainda são pouco conhecidos (Sato & Godinho, 2003; Pereira et al., 2007).

A Bacia também é extremamente importante para o ciclo de vida de vários peixes migratórios e endêmicos na bacia, como *Salminus franciscanus* Lima e Britski 2007 (dourado), *Prochilodus costatus* (curimatá-pioa), *Prochilodus argenteus*, Spix e Agassiz, 1829 (curimatá-pacu) (Castro & Vari, 2007; Lima & Britski, 2007). Outras espécies difundidas também usam essa área como área migratória, como *Pimelodus maculatus*, Lacépède, 1803 (mandi amarelo) e *Pseudoplatystoma corruscans*, Spix e Agassiz, 1829 (surubim) (Godinho & Kynard, 2006; Neto, 2008). Todas essas espécies migram para reprodução durante a estação chuvosa de outubro a março, e sua manutenção depende do sucesso dessas migrações (Sato et al., 2003b; Cemig, 2006).

1.6 O Rio Paraopeba

O Rio Paraopeba é um dos principais afluentes do Rio São Francisco (CEMIG, 2006). Sua nascente está localizada na zona sul da cidade de Cristiano Ottoni, e sua foz está localizada na barragem de Três Marias em Felixlândia, Minas Gerais. O comprimento do rio é de 510km, a área de drenagem da sub-bacia é de 13.643km², percorrendo 35 municípios (CEMIG, 2006). Seus principais afluentes são os rios Macaúbas, Camapuã, Betim, Manso e Serra Azul. As três últimas foram represadas, formando os três reservatórios que compõem o sistema Paraopeba: sistema Vargem das Flores, sistema Rio Manso e sistema Serra Azul (SUPRAM,2010).

O Rio Paraopeba também contém mais da metade dos peixes endêmicos do Rio São Francisco (51%). Essas espécies estão constantemente sob ameaça devido às atividades antrópicas, como mineração, esgoto industrial e esgoto doméstico, pesca excessiva, destruição de corredores e drenagem para apoiar o desenvolvimento agrícola (Drummond et al., 2005). Devido à rica abundância de espécies e à ocorrência de espécies ameaçadas de extinção, a sub-bacia do Rio Paraopeba é uma área prioritária com importante significado de conservação biológica em Minas Gerais (Drummond et al., 2005).

A principal característica da sub-bacia hidrológica do Rio Paraopeba é a existência dos seguintes tipos de uso da água: abastecimento doméstico e industrial, irrigação, mineração, pesca e piscicultura. Esses usos estão relacionados às principais atividades econômicas da bacia (Sabino et al., 2008). Nas últimas décadas do século XVII, a Bacia do Paraopeba começou a ser ocupada em função da busca por recursos minerais. Com o passar do tempo, a principal atividade da região foi a mineração. A área passou a realizar atividades de pecuária e, a partir daí, passou a ser utilizada como rota de transporte e comércio (CETEC, 1983; Schvartzman, 2002).

1.7 O sequenciamento massivo de DNA e obtenção de marcadores moleculares para técnicas de genotipagem

Tecnologias baseadas em sequenciamento de DNA em larga escala (Next Generation Sequencing-NGS) têm sido usadas em ecologia molecular porque podem gerar rapidamente grandes quantidades de dados. Vários estudos usando NGS foram conduzidos e aplicados a estudos de genética de populações e conservação, incluindo espécies não-modelo (ou seja, espécies cujo conhecimento do genoma é pobre ou inexistente). Métodos usando NGS têm sido usados para diferentes fins, incluindo nova montagem de genomas de espécies não modelo para

genes mitocondriais e regiões de microssatélites em grande escala, o estudo de códigos de barras de DNA e a identificação de marcadores moleculares. (Johnson et al., 2014).

Em relação aos marcadores microssatélites, é possível identificar centenas de regiões microssatélites e milhares de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) a partir dos dados gerados em uma única rodada de sequenciamento (Ekblom e Galindo 2011).

Ferramentas moleculares modernas e eficazes tornaram possível a análise genética em grande escala e se tornaram um método de rotina em muitos laboratórios em todo o mundo (Poke et al., 2005). Esta última é uma região do DNA que contém polimorfismos (sequência ou comprimento) e difere muito entre os indivíduos, por isso é fácil estudar e analisar as diferenças entre eles. De acordo com Ferreira et al. (1998), ao verificar o padrão genético dos marcadores, de acordo com a lei de herança de Mendel, os marcadores específicos são definidos como marcadores genéticos. Os marcadores moleculares genéticos têm sido amplamente utilizados entre os biólogos. A escolha dos marcadores utilizados depende da natureza da informação (dominância, codominância, ploidia), dos equipamentos disponíveis no laboratório e do nível de variabilidade do marcador, ou seja, não importa o quanto ainda são muito poucas as atitudes (Anne, 2006; Barroca, 2009). A maior vantagem do uso de marcadores nucleares encontrados em regiões não codificantes de proteínas é seu alto grau de polimorfismo, que é caracterizado por um alto grau de heterozigosidade (Schlötterer, 2000; Zane et al., 2002; Ellegren, 2004;). Quase todas as mutações levam a um aumento do polimorfismo, exceto mutações na região codificadora, que podem ser eliminadas por seleção (Chenuil, 2006; Barroca, 2009).

Há, uma variedade de técnicas de biologia molecular que podem ser usadas para detectar a variabilidade genética no nível da sequência de DNA, como RFLP, AFLP, RAPD, microssatélites e microssatélites (Parker et al., 1998). Com o desenvolvimento e o progresso da tecnologia de biologia molecular, novos marcadores foram localizados nas regiões do genoma nuclear e mitocondrial. Esses marcadores têm muitas aplicações na pesquisa biológica: reconstrução filogenética, teste de paternidade, perícia, posicionamento e pesquisa de variabilidade genética populacional. Em genética de conservação, eles são úteis no planejamento e monitoramento de programas de reprodução em cativeiro, compreensão dos sistemas de acasalamento, detecção da estrutura geográfica da variação genética, gerenciamento do fluxo gênico e compreensão dos fatores que contribuem para a hereditariedade (Vrijenhoek, 1998).

1.7.1 Simple Sequence Repeats (SSR)

Os microssatélites se tornaram um dos marcadores moleculares mais comumente usados para analisar a diversidade genética e populacional (Barroca, 2009; Schlötterer, 2004, Pimentel et al., 2020). Seu potencial e o uso da amplificação por PCR têm produzido uma ampla gama de aplicações em ciências biológicas e genética individual (Jarne & Lagoda, 1996; Sunnucks, 2000; Barroca, 2009). Suas características Mendelianas, sua alta variabilidade (o número médio de alelos por *locus* é grande), sua alta incidência de heterozigiosidade (H_e) e o rápido desenvolvimento de métodos estatísticos, podem ser usados para se analisar dados de microssatélites na bioinformática (Sunnucks, 2000; Ellegren, 2004). A distribuição e o tamanho dos *loci* microssatélites podem variar significativamente entre populações e até mesmo entre indivíduos (Ellegren, 2004). Os amplicons microssatélites variam não apenas no comprimento e no número de unidades de repetição, mas também em termos de sua rigidez, consistente com o aumento dos padrões de repetição. Devido a muitos alelos não consensuais com tamanhos inconsistentes, eles têm uma alta taxa de mutação e são polimórficos em populações naturais, que podem ser usados para pesquisas populacionais (Urquhart et al., 1993; Gill et al., 1994; Lászick et al., 2001; Reid et al., 2003; Butler et al. 2009).

1.8 Análise de variabilidade genética e a manutenção da diversidade de espécies pesqueiras

Segundo a pesquisa de Hilsdorf et al. (2006), a proteção de um determinado recurso aquático requer o conhecimento de variáveis fisiológicas, comportamentais e ecológicas, essenciais para determinar a sobrevivência da espécie e seu modo de reprodução em diferentes ambientes. (Danzmann et al., 1991).

A definição de populações locais, subpopulações e espécies (Dizon et al., 1992) pode comprometer em termos de homogeneidade genética, importância do isolamento reprodutivo e potencial de desenvolvimento (Gulland, 1969; Smith et al., 1990). Para os recursos pesqueiros, devido a fatores políticos e socioeconômicos, essa definição se confunde. (Hilsdorf et al., 2006).

Portanto, a sobrepesca dos recursos pesqueiros pode afetar várias populações. Do ponto de vista genético, o conceito de população atribuía essa alta probabilidade à unidade biológica, que considerava o isolamento reprodutivo, a diferenciação genética de outras populações, a especialização ecológica e a adaptabilidade local (Thorpe et al., 2000; Hilsdorf et al. Pessoas,

2006). Os fatores que podem determinar o isolamento genético de uma determinada população dependem do poder evolutivo, como seleção natural, fluxo gênico, deriva genética, mutação e o tempo necessário para que esses processos ocorram (Chakraborty & Leimar, 1987). Em peixes, a estrutura genética dentro e entre as populações da mesma espécie é afetada pelo fluxo gênico e pelo tamanho efetivo da população (Gyllensten, 1985).

Ainda de acordo com o estudo de Hilsdorf et al. (2006), a extinção de espécies em águas continentais e mesmo a redução de populações de peixes comercialmente valiosas deve-se principalmente à degradação e / ou fragmentação do ecossistema (Beverton, 1992; Agostinho et al., 1994), portanto, sua recuperação biológica é difícil. A restauração da diversidade genética dentro e entre as populações pode ser um fator decisivo para a sobrevivência de uma espécie a médio e longo prazo. A capacidade de uma espécie de se adaptar a ambientes em mudança depende muito do nível de diversidade genética encontrado (Solé-Cava, 2001).

As diferenças genéticas dependem de vários fatores que fazem com que a população seja homogênea ou heterogênea. Por exemplo, o estudo do fluxo gênico entre populações pode mostrar até que ponto as populações podem ser geneticamente conectadas ou separadas. A avaliação da estrutura genética de espécies distribuídas em uma ou várias bacias hidrológicas determina a intensidade do fluxo gênico entre as populações. Se a troca gênica entre as duas populações for limitada e sob pressão da sobrepesca, a possibilidade de recuperação de seus genes é muito pequena e a pesca pode entrar em colapso (Hilsdorf et al., 2006).

Os programas de conservação devem garantir, que as medidas mitigadoras adotadas pelas UHE's sejam eficientes na manutenção da biodiversidade local. Para isso, duas principais estratégias de manejo vêm sendo realizadas pelas UHE's: repovoamento e sistemas de transposição de peixes (STP) (Paiva, 2007). O repovoamento consiste na reprodução de peixes em cativeiro, reintrodução dos mesmos nos reservatórios (Agostinho et al., 2007), objetivando restaurar as populações de peixes originais e viabilizar a produção pesqueira (Vieira & Pompeu, 2001). Entretanto, existem muitas questões relativas à eficiência do repovoamento quanto a preservação da diversidade genética e a possibilidade de introdução de doenças, além de aspectos ecológicos e econômicos (Hickley, 1994), apesar de ser amplamente utilizado para a restauração de populações nos reservatórios (Araki et al., 2007; Madeira et al., 2005; Salvanes & Braithwait, 2006; Fraser, 2008). Hoje em dia, são conhecidos diversos tipos de STPs como, escadas, elevadores, elevadores com caminhão-tanque, eclusas, canais naturais e seminaturais. A aplicação de um ou outro varia conforme a especificidade, características da barragem e do rio, e quanto às espécies-alvo de peixes a serem transpostas (Larinier, 2000; Lopes & Silva, 2012). Entretanto, em muitos casos, a escolha do STP não considera a biologia das espécies de peixes

presentes no rio. Porém, não há objetivos claros da necessidade da construção de um STP (Agostinho et al., 2007), pois existem equívocos judiciais quanto à obrigatoriedade da construção destes. Um STP poderia, conforme o caso, impactar negativamente a ictiofauna local (Agostinho et al., 2004; Agostinho et al., 2007; Pelicice & Agostinho, 2008).

2. Justificativa

Uma das espécies endêmicas encontradas na Bacia do Rio São Francisco é o peixe *Prochilodus costatus* caracterizado como sendo uma espécie migradora (Froese e Pauly, 2006) e um recurso importante para as comunidades de pesca artesanal da região (Camargo e Petrere Jr, 2001). Além disso, essa espécie pode desempenhar um papel ecológico importante, considerando o seu hábito detritívoro, que envolve o processamento de sedimentos (Flecker, 1996), representando uma espécie-chave para programas de conservação. Tendo em vista a eficiência na identificação de populações de *Prochilodus* utilizando microssatélites polimórficos, considerando as extensões das regiões marginais ameaçadas do Rio São Francisco, propomos estudos de diversidade genética, em grupos populacionais que apresentam perturbações antrópicas como a alteração da paisagem promovida pela implantação de usinas hidrelétricas e pelo desastre do rompimento da barragem B1 do Córrego do Feijão, em Brumadinho, que causaram relevantes impactos para a fauna local. O estudo dos impactos causados por 30 empreendimentos de grande porte na diversidade das espécies é essencial para a avaliação de iniciativas futuras.

3. Objetivos

Avaliar os impactos causados com a instalação da Usina Hidrelétrica de Retiro Baixo, e o desastre de Brumadinho com o rompimento da Barragem da Mina Córrego do Feijão na Sub-bacia do Rio Paraopeba, na diversidade genética e estrutura populacional da espécie de peixe *Prochilodus costatus*.

3.1 Objetivos específicos

- i) Avaliar o impacto na diversidade genética de *P. costatus* no Rio Paraopeba pré e pós à construção e ativação da UHE de Retiro Baixo.
- ii) Avaliar se houve alteração na diversidade genética da população de *P. costatus* pós instalação da UHE Retiro Baixo com outras amostras do Rio São Francisco descritas em trabalhos anteriores.
- iii) avaliar os impactos causados no perfil genético de *P. costatus* pós o rompimento da barragem B1 da Mina de Córrego do Feijão no Rio Paraopeba

4. Metodologia

Grande parte da metodologia utilizada neste trabalho foi desenvolvida no LBMM (Laboratório de Biotecnologia e Marcadores Moleculares da UFMG) pela equipe do projeto GT (455) intitulado: “Desenvolvimento de tecnologia aplicada à manutenção do estoque pesqueiro de populações nativas de espécies migradoras na região de influência da UHE Três Marias: estudo genético e de migrações reprodutivas”. Este projeto foi realizado em parceria com a Cemig e PUC Minas, e o trabalho descrito aqui é o resultado deste projeto maior.

4.1 Área de Estudo

O Rio Paraopeba, possui uma extensão aproximada de 510 km e uma área de drenagem de 13,642 km² (CETEC, 1983), sendo um dos afluentes mais importantes do Rio São Francisco no interior do estado de Minas Gerais. Com sua nascente ao sul do município de Cristiano Otoni, possui cerca de 510 Km de extensão até sua foz no município de Felixlândia, Minas Gerais (CETEC, 1983; Schwartzman, 2002). A região possui uma área que corresponde a 2,5% da área total do Estado de Minas Gerais e sedia os seguintes municípios: Belo Vale, Betim, Bonfim, Brumadinho, Cachoeira da Prata, Caetanópolis, Casa Grande, Congonhas, Conselheiro Lafaiete, Cristiano Otoni, Crucilândia, Entre Rios de Minas, Esmeraldas, Florestal, Fortuna de Minas, Ibirité, Igarapé, Inhaúma, Itatiaiuçu, Jeceaba, Juatuba, Mar de Espanha, Marilac, Materlândia, Moeda, Ouro Branco, Paraopeba, Pequi, Piedade dos Gerais, Queluzito, Rio Manso, São Brás do Suaçuí, São Joaquim de Bicas, São José da Varginha e Sarzedo (Sabino et al., 2008).

O Rio Paraopeba possui duas represas antigas na sua porção superior: a Pequena Central Hidrelétrica (PCH) Salto do Paraopeba (Alves, 2007) e a Usina Termelétrica de Igarapé e uma terceira construída recentemente na sua porção mais baixa: Usina Hidrelétrica (UHE) de Retiro Baixo.

4.2 Coleta de material de *Prochilodus costatus*

As amostras de *P. costatus* foram coletadas ao longo da Sub-Bacia do Rio Paraopeba, anterior à construção da barragem para a UHE de Retiro Baixo compreendendo 71 amostras em duas localidades (Figura 3a): a jusante da Usina Termelétrica de Igarapé (46 indivíduos) no ano hidrológico de 2005/2006 e a jusante da Cachoeira do Choro (25 indivíduos) no ano hidrológico de 2006/2007. E posterior à construção da UHE de Retiro Baixo compreendendo 285 indivíduos, que foram coletadas em três localidades (Figura 3b): a jusante da Pequena Central Hidrelétrica de Salto do Paraopeba (52 indivíduos), a Jusante da Usina Termelétrica de Igarapé (154 indivíduos) e a jusante da Usina Hidrelétrica de Retiro Baixo (79 indivíduos), nos anos hidrológicos de 2014/2015 e 2015/2016, amostrando assim, os trechos de alto, médio e baixo do rio, respectivamente (Tabela 1). Houve também a avaliação a espécie de *P. costatus* ao longo da subbacia do Paraopeba pós o rompimento da Barragem B1 (Figura 3c), da Mina Córrego do Feijão, onde 94 indivíduos foram coletados em 10 pontos distintos durante os anos de 2019 e 2020, sendo eles: Montante de Brumadinho (Dois indivíduos), Jusante de Brumadinho (20 indivíduos), Rio Manso (Dois indivíduos), Condomínio Rio Manso (Três indivíduos), São Joaquim de Bicas (Oito indivíduos), Ribeirão Macacos (39 indivíduos), Ponte da Taquera (Oito indivíduos), Cachoeira do Choro (Dois indivíduos), Jusante da Usina Hidrelétrica de Retiro Baixo (Oito indivíduos), Jusante da Termelétrica de Igarapé (Dois indivíduos). Um pequeno fragmento da nadadeira caudal foi retirado e fixado em etanol para análises moleculares, sem o sacrifício dos animais utilizados para as análises de sequenciamento massivo de DNA (NGS).

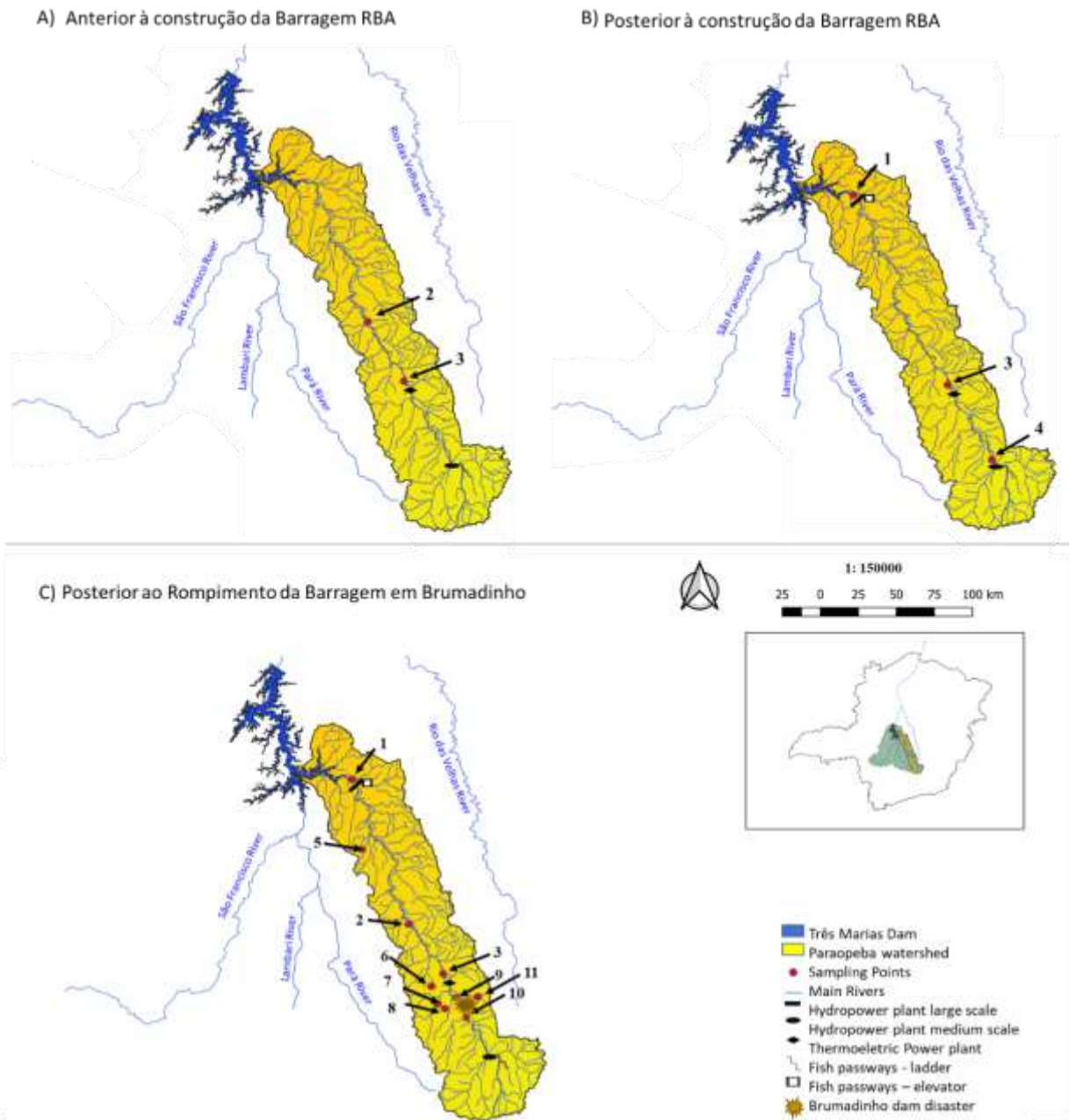


Figura 1: Rio Paraopeba e as localidades onde as amostras de *P. costatus* foram coletadas. (1) coleta a Jusante da Usina Hidrelétrica de Retiro Baixo, (2) Jusante da Cachoeira do Choro, (3) Jusante da Termoelétrica de Igarapé, (4) Jusante da PCH Salto do Paraopeba, (5) Ponte da Taquara, (6) São Joaquim de Bicas, (7) Rio Manso, (8) Condomínio Rio Manso, (9) Jusante de Brumadinho, (10) Montante de Brumadinho e (11) Ribeirão Macacos. As coletas prévias à construção da barragem de Retiro Baixo foram feitas nos pontos 2 e 3, enquanto que as coletas posteriores à construção da barragem de Retiro Baixo foram feitas nos pontos 1, 3 e 4. As coletas pós rompimento da barragem Córrego do Feijão ocorreram nos pontos 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 11

Tabela 1: Dados das amostras *P. costatus* utilizadas no presente estudo. As cores indicam à qual grupo as amostras pertencem: Rosa – Anterior a construção da barragem RBA, Azul – Posterior à construção da barragem RBA e Laranja posterior ao rompimento da barragem Córrego do Feijão em Brumadinho, totalizando 450 amostras analisadas.

PONTOS	NOME	CÓDIGO	REGIÃO	ANO HIDROLÓGICO DE	
				COLETA	N AMOSTRAL
1	Jusante UHE Retiro Baixo	RBA	Foz	2014/2015	38
				2015/2016	41
				2019/2020	8
2	Jusante Cachoeira do Choro	CC	Central	2006/2007	25
				2019/2020	2
3	Jusante da Termelétrica Igarapé	IGA	Central	2005/2006	46
				2014/2015	45
				2015/2016	109
				2019/2020	2
4	Jusante da PCH Salto do Paraopeba	SAL	Nascente	2014/2015	47
				2015/2016	5
5	Ponte da Taquara	PTAQ	Central	2019/2020	8
6	São Joaquim de Bicas	SJB	Central	2019/2020	8
7	Rio Manso	RM	Central	2019/2020	2
8	Condomínio Rio Manso	CRM	Central	2019/2020	3
9	Jusante de Brumadinho	JBRUM	Central	2019/2020	20
10	Montante de Brumadinho	MBRUM	Central	2019/2020	2
11	Ribeirão Macacos	RIBMAC	Central	2019/2020	39
Total					450

* As amostras marcadas em rosa foram utilizadas nas análises anterior a construção da barragem de RBA, as em azul foram utilizadas nas análises posterior a construção da barragem de RBA e as em laranja utilizadas nas análises pós rompimento da barragem Córrego do Feijão.

4.3 Licença de coleta

As amostras do peixe *P. costatus* do presente estudo foram coletadas na região de influência da represa de Três Marias (MG), de acordo com a licença permanente de coleta do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), sob número de protocolo: 57204-1 e com a licença provisória do Instituto Estadual de Florestas (IEF) sob número de protocolo: 014.007 2017.

4.4 Obtenção de DNA

A extração de DNA foi realizada seguindo o seguinte protocolo: pedaços de nadadeira de aproximadamente 12,5 mm² de diâmetro foram colocadas em placas de 96 poços e às mesmas foram acrescentados 550 µl de TEN9 (Tris-HCl 50 mM; EDTA 10 mM; NaCl 200 mM), 1% de SDS, e 7 µl de Proteinase K (200 µg/ml). A placa foi incubada a 50 °C overnight, e por fim, o sobrenadante foi retirado e transferido para uma nova placa. O DNA foi então purificado com um kit de purificação Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter), baseado em *beads* magnéticas de afinidade com o DNA, seguindo as instruções do fabricante (Beckman Coulter).

4.5 Desenvolvimento dos marcadores

Sequências de DNA de *P. costatus*, gerados a partir do sequenciamento massivo de DNA (NGS), foram avaliadas *in silico* e regiões contendo microssatélites foram analisadas e selecionadas para desenho de *primers*, através da ferramenta MSATCOMMANDER. Os *primers* foram sintetizados e testados para estabelecimento das melhores condições de amplificação, para que apenas bandas específicas fossem geradas. Os *primers* foram sintetizados e testados para estabelecimento das melhores condições de amplificação, para que apenas bandas específicas fossem geradas. As condições para estabelecimento da especificidade dos marcadores incluíram temperatura de anelamento, diferentes concentrações de DMSO (3, 5 e 7%), diferentes tampões (IC e IV B – Phoneutria) e ciclagem. Os *amplicons* foram avaliados em gel de poliacrilamida 8%, corados com nitrato de prata.

As sequências dos marcadores utilizados neste trabalho, bem como a metodologia de escolha dos melhores *loci* foram divulgados por Pimentel, (2018), como mostrado na tabela a seguir:

Tabela 2: *Primers* usados na aplicação de marcadores de microssatélites selecionados para a genotipagem de *P. costatus*

NAME	Primer F	Primer R	SSR	AMPLICON	BUFFER	AT	DMSO	CYCLE
ProC 10	ATTCCTGTCAATTTCCGGCC	AGGCCCAAACAGAAGGTAGG	ATT	130	IVB	58	0,03	30
ProC 18	GATCAGACCTCAGACGGGAC	GTTGTACGGAGATGCACTGC	CCGT	197	IC	60	0,05	25
ProC 22	AGAGCTGGGATAGGCTCCAGC	CCTGGACAGGCTCCCAGTCC	AATG	130	IVB	64	0,07	25
ProC 36	GACGGAACGTCTTTAGAACC	TCTGCACATGCACGAGCGCGG	AAG	167	IVB	62	0,05	30
ProC 37	TGAAGGTGCACAGGGATAGT	TGTGAAGGTCCTGGAACCCAC	TTTA	130	IVB	62	-	25
ProC 44	CTTAGTGAAGTGGAGCACG	GGTCCAGATTGGGCATATACAC	AAC	183	IC/IVB	58	-	25
ProC 48	AGCTTAGATGTGTACTAAC	GTTGAGCAGTGGTGGGGTAC	AAAG	153	IC	55	-	25
ProC 49	GGTGTTTGGTTAATCACCCC	AGAGATGTGCTTATGCACGC	AAAG	146	IVB	62	0,07	25

Fonte: Pimentel, et al., 2018 (Adaptado).

4.6 Genotipagem NGS

As PCRs foram divididas em duas etapas: PCR sem adaptador (PCR1) e PCR com adaptador (PCR2) (protocolo illumina 16S), como padronizado por Pimentel, et al. 2018. Foram realizados PCRs individuais de cada *loci* selecionado. A reação teve um volume final de 25µl composta por 12,5µl de kit premix IVB Pht 2x, 8,5 µl de água ultrapura, 2,0µl de mix de *primers* (5 pcmol/µl) e 2,0 µl de DNA molde (~10ng/µl). A ciclagem foi realizada no termociclador (Veriti® 96 - Well Thermal Cycler, Applied Biosystems) e as condições de amplificação da PCR1 consistiram em uma desnaturação a 95°C por cinco minutos, seguida de 30 ciclos de desnaturação a 95°C por 20 segundos, anelamento dos *primers* a 55°C por 30 segundos e extensão a 72°C por 30 segundos, seguida por último pela extensão a 72°C por 10 minutos.

A amplificação dos *primers* com adaptador (PCR2) foi realizada no termociclador Veriti® 96 - Well (Thermal Cycler, Applied Biosystems) utilizando 25 µl de uma solução composta por 12,5µl de kit premix IVB Pht 2x, 9,5µl de água ultrapura, 2,0µl de mix de *primers* e 1,0µl de *amplicon* (PCR1), onde foi realizado a desnaturação a 95°C por 5 minutos, seguida de 10 ciclos de desnaturação a 95°C por 20 segundos, anelamento dos *primers* a 55°C por 30 segundos e extensão a 72°C por 30 segundos, seguida por último pela extensão a 72°C por dez minutos.

Para a montagem dos fragmentos a serem sequenciados foi utilizado o protocolo 16S da Illumina. Os amplicons obtidos foram quantificados e a pureza foi observada em espectrofotômetro (Thermo Scientific NanoDrop® 2000) utilizando-se 1,5µL do DNA diluído em 25 µl de Tris- HCl (10mM pH 8,5) e também quantificadas utilizando StepOnePlus System Applied Biosystems® qPCR utilizando o kit KAPA Biosystems (Library Quantification Kit. Illumina®) conforme protocolo especificado do fabricante, normalizando as concentrações em 4,0 nmol/l.

As amostras foram submetidas ao sequenciamento pelo MiSeq® System Illumina, seguindo as especificações do protocolo da Illumina e as reads geradas foram submetidas às análises de bioinformática.

4.7 Análises de Bioinformática (NGS)

Foi utilizado um *pipeline* desenvolvido pela equipe do LBMM, que consiste resumidamente nas seguintes etapas: a genotipagem foi realizada utilizando os 8 *loci*: ProC10, ProC18, ProC22, ProC36, ProC37, ProC44, ProC48 e ProC49, seguindo o método de genotipagem desenvolvido por Pimentel et al. (2018) Os procedimentos subsequentes foram feitos seguindo o 16S Metagenomic Sequencing LibraryB, onde a biblioteca de genotipagem foi preparada adicionando 5 ul de DNA (4 nM) e 5 ul de NaOH 0,2 N a desnaturação das cadeias de DNA durante 5 min. Além disso, a biblioteca de genotipagem foi diluída utilizando tampão específico para atingir a concentração final de 10 pMol de DNA e o volume final de 1000 µL dos quais 600 µL foi finalmente seguido para sequenciação em MiSeq (Figura 4), as leituras obtidas do sequenciamento foram filtradas e selecionadas por qualidade e comprimento através do software PrinSeq-Lite (Schmieder & Edwards, 2011). Além disso, usando Bowtie2 (Sensibilidade anterior), as leituras filtradas foram alinhadas contra uma referência (dados genômicos) para verificar a correspondência do contig com a seqüência de referência. Subseqüentemente, um realinhamento local de todos as leituras filtradas e alinhadas com qualidade (Phred 30) na região do motivo foi realizada pelo Realign targer criador e ferramentas de realinhamento Indel do pacote GATK para aumentar a confiança na detecção de diferentes alelos. O produto dessas etapas foi submetido ao software RepeatSeg (Highnam *et al.* 2012) para identificação de alelos e um arquivo output em .xls foi gerado com os genótipos individualizados da amostragem.

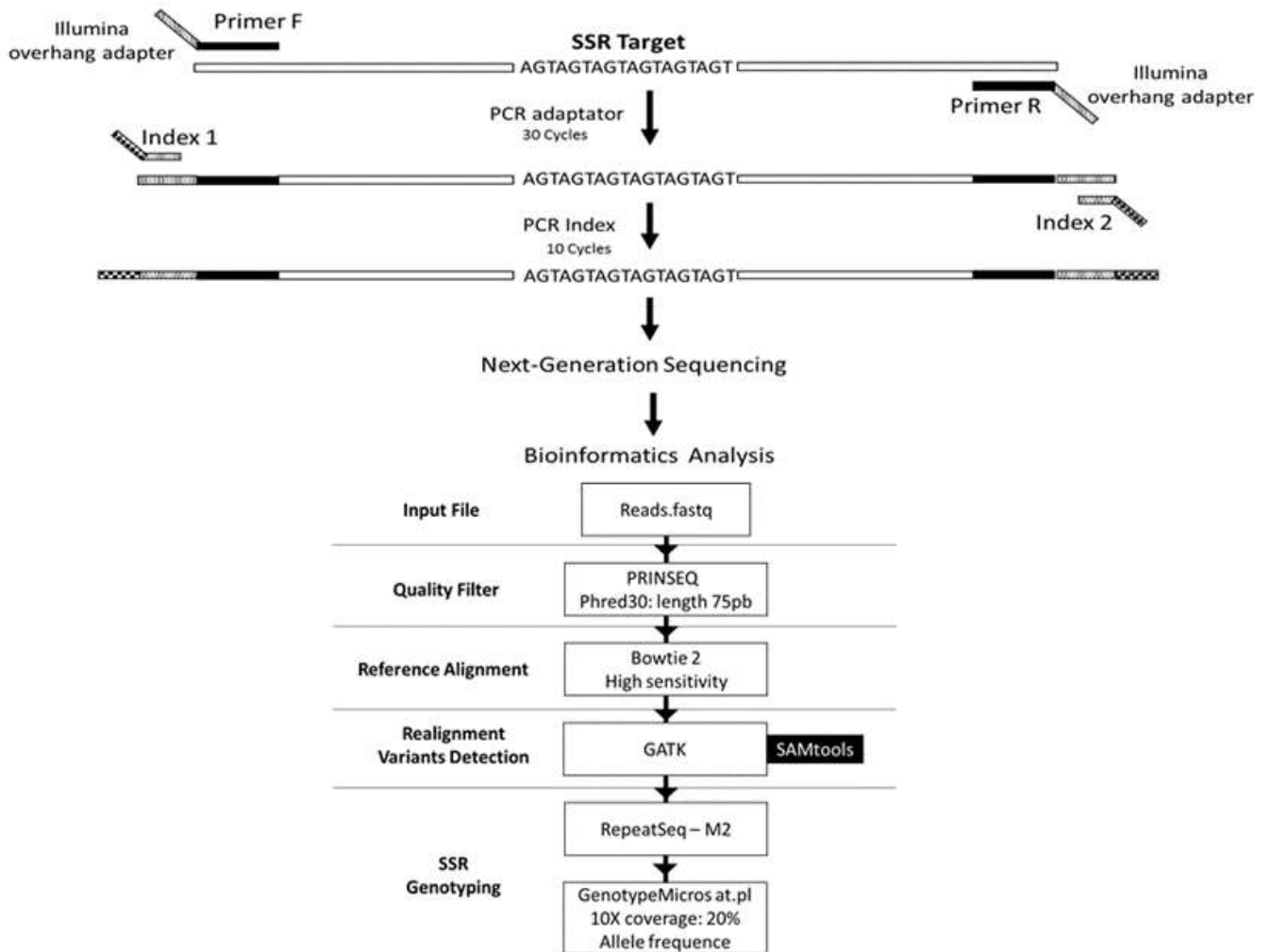


Figura 2: Representação esquemática da estratégia de genotipagem, obtenção do *amplicon* individualizado e fluxograma das análises de bioinformática.

Fonte: Pimentel, et al., 2018

As análises coletadas posterior ao rompimento da barragem Córrego do Feijão foram processadas utilizando o Software PHTSeq – Soluções em Análises de Sequências Genômicas, 2021 (Software em elaboração pela empresa Phoneutria Biotecnologia e Serviços LTDA). Utilizando o default do programa, como qualidade das amostras de PHRED Q30, exclusão de reads com tamanhos menores que 60 nucleotídeos, cobertura de alinhamento mínimo de 90% e genótipos definidos com um peso mínimo de 20 sequências.

4.8 Análise de genética de populações

O GenAIEx versão 6.4 (Peakall e Smouse, 2006) foi usado para estimar o equilíbrio de Hardy-Weinberg. Os cálculos de frequências genotípicas foram feitos manualmente.

Uma análise molecular da variância (AMOVA) foi realizada também no programa GenAIEx versão 6.4 (Peakall e Smouse, 2006) para avaliar a distribuição da variação genética intraespecífica e auxiliar na avaliação da estrutura populacional, cuja análise provém a diferenciação dentro e entre as populações. A significância de cada estatística F foi testada através de 9999 permutações. A análise toma por base a matriz de distância entre pares de indivíduos baseado na estimativa R_{st} , sendo obtida pela soma de quadrados dos desvios totais, entre populações, entre indivíduos dentro da população, e dentro de indivíduos.

A AMOVA foi realizada para avaliar a estrutura genética comparando os locais de amostragem, anterior e posterior da construção da barragem de Retiro Baixo, através dos índices de Weir & Cockerham (1984) e depois a mesma avaliação foi feita para os dados pós rompimento da barragem. O pacote *ade4* (Jombart et al. 2010) para o software R também foi utilizado por permitir a realização de análise DAPC (*Discriminant Analysis of Principal Components*). Uma análise de componentes principais (PCA) e uma análise de discriminante (DA), onde a variação genética é dividida por um componente entre grupos e outro componente dentro do grupo, de modo a maximizar a variação entre grupos e minimizar a variação dentro do grupo. Um método bayesiano de agrupamento foi realizado usando a função *find.clusters* também pelo pacote R *ade4* para avaliar a estrutura populacional desta espécie na Bacia do Rio Paraopeba. O método detecta a gama de possíveis aglomerados K (Knumber de aglomerados de indivíduos caracterizados por frequências alélicas em cada *locus*) presentes no conjunto de dados e para comparar os grupos amostrais. Para isso, através da função *compoplot*, foram feitas duas DAPCs: (i), são calculadas probabilidades de atribuição dos indivíduos a cada um dos K grupos encontrados através da função *find.clusters*; onde foi considerado um modelo admixture relacionando a frequência alélica das populações amostradas, o qual incluiu a informação, a priori, dos locais e indivíduos amostrados de modo que pudéssemos inferir quais eram os indivíduos com genótipos multi*locus* “misturados” de cada local e entre os diferentes locais; e (ii) foi considerado uma estrutura genética separada por regiões, locais do Rio Paraopeba, onde foi possível inferir pool gênicos e conectividade entre as regiões e populações estudadas, são calculadas probabilidades de atribuição dos indivíduos aos grupos/populações previamente estabelecidos. Para atribuir um indivíduo a um determinado grupo ou população, foi considerada uma probabilidade de atribuição maior que 50% (Jombart et al 2010).

5. Resultados

5.1. Análises de Bioinformática

Na Tabela 3, são mostrados os genótipos dos 71 indivíduos avaliados pré barramento, sendo que “0” denota *locus* cujo genótipo não pôde ser obtido por uma falha de amplificação ou por causa de número insuficiente de reads de boa qualidade, os números indicam o tamanho em pares de bases do microssatélite encontrado para cada alelo. Os homozigotos possuem tamanhos idênticos sendo identificados por números idênticos (20-20 – ambos os alelos possuem 20 bases de repetição no microssatélite) e os heterozigotos possuem tamanhos diferentes sendo identificados por números diferentes (23-20 um alelo possui 23 bases e o outro 20 bases de repetição no microssatélite).

Tabela 3: Genotipagem dos indivíduos de 01 a 71 obtidos por amplificação seguida por sequenciamento massivo de DNA em plataforma Illumina. O zero indica que o genótipo não foi localizado e os números o tamanho do fragmento de microssatélite para cada alelo.

Ind/Loci	ProC10	ProC18	ProC22	ProC36	ProC37	ProC44	ProC48	ProC49
06IGA01	23-23	23-23	32-32	22-22	22-22	45-45	0	41-61
06IGA02	20-23	23-23	28-28	13-22	22-31	29-37	38-38	41-41
06IGA03	23-23	23-23	32-32	22-22	0	33-33	0	61-49
06IGA04	23-23	0	36-36	22-22	0	37-45	0	33-33
06IGA05	20-23	0	28-28	22-22	0	45-45	0	37-37
06IGA06	20-23	0	28-32	22-22	0	37-41	0	41-41
06IGA07	0	0	32-40	0	0	0	0	53-53
06IGA08	20-20	27-23	28-28	22-22	27-27	29-29	0	37-53
06IGA09	20-23	23-23	32-44	22-25	31-39	37-37	0	65-65
06IGA10	23-23	23-23	32-36	22-22	0	41-41	0	49-49
06IGA11	23-23	23-27	28-40	19-22	0	41-37	0	53-61
06IGA12	23-23	27-27	0	22-22	0	33-33	0	37-37
06IGA13	23-23	23-23	36-36	22-22	0	41-41	0	41-41
06IGA14	23-23	27-27	0	22-25	0	37-37	0	37-41
06IGA15	23-23	23-23	0	22-22	0	41-49	0	65-65
06IGA16	20-23	27-27	32-36	22-22	27-27	37-37	0	41-41
06IGA17	20-23	0	36-36	22-22	0	0	0	53-33
06IGA18	23-23	0	28-28	19-19	0	57-57	0	53-41
06IGA19	0	0	0	0	0	0	0	37-37
06IGA20	20-23	23-23	36-36	22-22	0	45-45	0	53-41

06IGA21	23-23	23-23	32-36	22-22	0	37-37	0	53-49
06IGA22	23-23	23-23	0	22-22	0	41-49	0	41-37
06IGA23	23-23	23-23	40-36	22-22	23-31	33-37	0	53-53
06IGA24	20-20	27-27	28-40	22-22	27-27	41-41	34-34	41-41
06IGA25	20-20	23-23	32-32	22-25	0	37-37	0	37-49
06IGA26	23-23	23-23	32-28	22-22	0	49-49	34-34	49-41
06IGA27	23-23	23-23	0	22-22	0	53-37	0	0
06IGA28	23-23	23-23	36-32	22-22	27-27	37-37	0	61-61
06IGA29	20-23	23-23	32-36	22-22	39-39	33-33	0	41-41
06IGA30	0	27-23	0	0	0	45-45	0	0
06IGA31	23-23	23-23	28-36	22-22	23-27	29-45	0	41-41
06IGA32	23-26	23-23	32-32	22-22	23-23	41-33	0	41-53
06IGA33	20-23	27-23	32-32	22-25	0	37-37	0	45-45
06IGA34	20-23	27-27	0	22-22	0	37-37	42-38	53-45
06IGA35	20-23	23-27	0	22-22	0	41-41	0	0
06IGA36	20-23	27-23	0	19-22	0	0	0	61-57
06IGA37	20-23	27-27	32-28	22-22	0	37-37	0	0
06IGA38	20-20	23-23	32-36	22-22	0	0	0	0
06IGA39	20-20	23-23	44-36	22-22	0	0	0	37-37
06IGA40	20-23	23-23	28-28	22-22	0	53-53	0	53-57
06IGA41	20-23	23-23	32-28	22-25	0	0	34-34	37-37
06IGA42	20-23	23-23	0	16-22	0	29-37	38-38	33-33
06IGA43	20-20	23-23	44-44	22-22	0	37-37	0	41-61
06IGA44	20-23	27-27	28-32	19-22	0	53-53	0	49-41
06IGA45	23-23	19-19	28-32	22-22	0	37-37	0	61-49
06IGA46	20-23	23-23	36-36	22-22	0	37-37	0	61-57
07CC47	23-26	23-23	32-32	22-22	0	37-37	0	41-41
07CC48	20-23	23-23	36-40	22-22	23-23	33-33	0	53-49
07CC49	23-23	31-31	28-28	22-22	23-23	0	38-34	61-53
07CC50	0	23-27	32-36	22-22	0	37-29	0	0
07CC51	20-23	23-23	44-44	22-22	31-27	53-53	42-42	33-33
07CC52	23-36	23-23	32-32	22-22	27-27	41-41	0	37-53
07CC53	20-23	23-23	32-32	19-22	39-39	37-29	38-38	37-61
07CC54	20-20	23-23	28-28	22-22	23-23	49-37	0	57-57
07CC55	20-23	23-23	28-28	22-25	0	33-41	0	45-53
07CC56	23-36	23-23	32-36	22-22	23-27	33-33	34-34	61-61
07CC57	23-23	23-23	0	22-22	0	37-37	0	53-33
07CC58	20-23	15-15	32-36	22-22	0	29-29	0	65-33
07CC59	20-23	27-23	28-40	22-25	0	37-37	0	37-33
07CC60	20-23	23-23	36-32	22-22	0	37-37	0	61-61
07CC61	20-20	23-23	32-44	22-25	0	49-49	0	41-49
07CC62	23-23	23-23	32-36	22-22	0	0	0	41-41
07CC63	23-23	27-23	36-36	22-22	0	37-37	0	41-49

07CC64	20-23	23-27	32-32	22-22	0	45-45	38-38	61-61
07CC65	20-23	23-23	32-32	22-22	0	41-49	0	33-49
07CC66	20-20	23-27	40-40	22-22	0	37-45	0	53-49
07CC67	23-23	23-23	36-32	22-22	0	41-41	0	41-41
07CC68	20-20	19-23	40-40	22-25	0	41-37	0	37-33
07CC69	20-23	23-23	48-48	22-22	0	41-41	0	53-53
07CC70	20-23	23-23	28-28	10-22	0	0	0	45-61
07CC71	23-23	23-23	40-32	22-22	23-23	0	38-38	33-45

Na Tabela 4 são mostrados os genótipos dos 285 indivíduos avaliados pós barramento, assim como na tabela anterior, “0” indica *locus* cujo genótipo não pôde ser obtido por uma falha de amplificação ou por causa de número insuficiente de reads de boa qualidade. Os homozigotos possuem tamanhos idênticos sendo identificados por números idênticos (20-20 – ambos os alelos possuem 20 bases de repetição no microssatélite) e os heterozigotos possuem tamanhos diferentes sendo identificados por números diferentes (23-20 um alelo possui 23 bases e o outro 20 bases de repetição no microssatélite).

Tabela 4: Genotipagem dos 285 indivíduos de *P. costatus* obtidos por amplificação seguida por sequenciamento massivo de DNA em plataforma Illumina. O zero indica que o genótipo não foi localizado e os números o tamanho do fragmento de microssatélite para cada alelo.

Ind/Loci	ProC10	ProC18	ProC22	ProC36	ProC37	ProC44	ProC48	ProC49
14SAL254	23-23	31-31	40-36	22-22	23-23	45-37	0	57-53
14SAL255	23-20	27-23	40-36	22-22	19-19	37-29	42-38	57-57
14SAL256	20-20	23-23	40-40	22-22	27-23	0	42-38	45-45
14SAL257	23-23	19-19	36-36	2216	31-23	45-37	38-34	0
14SAL258	23-20	23-23	40-36	22-22	23-23	45-33	0	49-49
14SAL259	20-20	19-19	36-36	22-22	23-23	33-33	38-38	45-45
14SAL260	23-20	23-23	36-36	22-22	23-23	0	0	0
14SAL261	23-20	0	36-36	22-22	23-23	37-37	0	4541
14SAL262	23-20	23-23	36-36	22-22	23-23	45-45	0	49-49
14SAL263	23-23	27-27	36-36	22-22	0	37-37	0	0
14SAL264	23-23	23-23	44-44	22-22	31-31	37-37	46-46	57-41
14SAL265	23-20	23-23	36-36	22-22	23-23	49-41	0	41-41
14SAL266	20-20	23-23	36-36	22-22	23-23	37-37	0	0
14SAL267	23-20	23-23	36-36	0	23-23	37-37	0	0
14SAL268	20-20	19-19	36-36	22-22	23-23	41-37	0	49-49
14SAL269	23-20	27-23	36-36	22-22	23-23	0	0	49-49

14SAL270	23-20	23-23	36-36	22-22	27-27	41-41	0	0
14SAL271	23-23	23-23	36-36	22-22	23-23	0	38-38	57-41
14SAL272	23-20	23-23	36-36	22-22	31-31	29-25	0	57-41
14SAL273	23-23	23-23	0	22-22	31-31	41-41	38-38	57-41
14SAL274	23-23	23-23	36-36	22-22	23-23	41-37	0	53-41
14SAL275	20-20	27-27	36-36	22-22	23-23	41-37	0	0
14SAL276	23-20	0	36-36	22-22	31-23	33-33	0	0
14SAL277	20-20	19-19	0	22-22	0	33-25	0	0
14SAL278	20-20	23-19	36-36	22-22	23-23	33-33	0	49-49
14SAL279	23-23	23-23	36-32	22-22	31-31	49-49	0	0
14SAL280	23-23	23-23	40-40	22-22	23-23	37-37	38-38	49-49
14SAL281	23-20	23-23	36-32	0	31-23	0	0	57-53
14SAL282	23-20	23-23	36-36	0	0	37-37	0	45-45
14SAL283	23-20	23-23	44-44	0	0	25-25	0	53-41
14SAL284	23-20	23-23	40-36	0	23-23	41-41	0	0
14SAL285	23-20	23-23	36-36	0	23-23	41-41	0	0
14SAL286	20-20	19-19	36-36	0	0	0	0	0
14SAL287	23-20	27-23	36-36	0	27-27	29-25	38-38	0
14SAL288	23-20	27-27	0	22-22	27-27	0	38-38	0
14SAL289	23-20	27-23	40-36	0	27-27	0	0	41-33
14SAL290	20-20	0	32-32	22-22	23-23	37-29	42-38	41-41
14SAL291	20-20	23-23	36-32	22-22	23-19	37-37	38-38	41-41
14SAL292	0	23-23	36-36	22-22	0	45-33	34-34	53-53
14SAL293	0	27-23	32-32	22-22	31-23	0	38-38	49-37
14SAL294	23-20	23-23	32-32	22-22	0	33-33	34-34	53-53
14SAL295	23-23	23-23	36-36	22-22	23-23	29-29	42-34	61-41
14SAL296	23-23	0	28-28	22-22	31-31	37-29	38-38	33-33
14SAL297	23-20	23-23	40-28	22-22	0	0	38-38	57-53
14SAL298	23-23	23-23	36-28	22-22	27-23	37-37	38-38	57-37
14SAL299	23-20	27-23	32-32	22-22	31-31	29-29	34-34	45-37
14SAL300	23-20	27-19	36-36	25-22	31-27	0	38-30	33-33
15SAL301	23-20	23-23	40-32	22-22	27-27	0	38-38	37-37
15SAL302	23-20	23-19	28-28	22-22	39-23	53-53	38-38	41-41
15SAL303	23-20	0	28-28	22-22	23-23	37-37	38-38	45-41
15SAL304	20-20	31-27	36-28	22-22	23-23	0	46-34	37-37
15SAL305	23-23	31-23	36-28	25-22	39-23	33-29	42-42	57-41
14IGA01	23-20	23-23	36-32	25-22	23-23	37-37	0	41-37
14IGA02	23-23	23-23	0	22-22	0	37-33	34-34	0
14IGA03	20-20	23-23	32-28	22-22	27-27	37-37	34-30	41-37
14IGA04	0	23-23	40-40	22-22	39-23	37-33	0	0
14IGA05	23-23	23-23	28-28	22-22	23-23	37-37	38-38	0
14IGA06	20-20	27-27	44-44	22-22	0	41-41	38-34	0
14IGA07	23-20	23-19	32-32	25-22	31-31	0	0	41-41

14IGA08	23-20	23-19	36-28	22-22	23-23	53-37	0	0
14IGA09	23-20	23-23	32-32	22-22	23-23	49-37	0	0
14IGA10	23-20	23-23	32-32	25-22	23-23	0	34-34	0
14IGA11	23-20	27-27	32-28	22-22	0	0	0	0
14IGA12	20-20	23-23	40-40	22-22	0	45-45	0	0
14IGA13	23-20	0	36-28	22-22	23-23	37-37	46-38	0
14IGA14	23-23	23-23	0	22-22	39-39	49-49	46-38	37-37
14IGA15	23-23	23-23	32-32	22-22	35-35	41-41	0	0
14IGA16	23-20	27-23	32-32	22-22	23-23	0	0	0
14IGA17	23-20	23-23	28-28	22-22	23-23	0	0	61-41
14IGA18	23-20	23-23	40-32	22-22	39-39	37-37	46-34	33-33
14IGA19	23-20	23-15	36-28	22-22	23-23	37-37	38-34	61-53
14IGA20	23-23	23-23	36-36	22-22	19-19	37-37	0	37-37
14IGA21	23-20	0	32-28	25-22	35-23	45-37	0	41-41
14IGA22	23-20	23-23	0	22-22	23-23	37-37	34-34	45-45
14IGA23	23-20	23-23	36-36	22-22	23-23	37-37	38-34	53-33
14IGA24	23-23	27-27	32-32	25-22	31-31	45-45	0	41-41
14IGA25	20-20	23-23	28-28	22-22	23-23	33-33	34-34	0
14IGA26	23-20	23-19	32-32	22-22	23-23	0	0	0
14IGA27	23-20	27-23	28-28	22-22	23-23	37-37	34-34	45-45
14IGA28	23-20	23-23	44-32	22-22	23-23	0	0	53-53
14IGA29	23-20	23-19	28-28	22-22	0	37-37	0	0
14IGA30	23-23	27-23	36-36	22-22	23-23	53-37	0	0
14IGA31	23-20	23-23	0	22-22	23-23	0	38-38	0
14IGA32	23-23	23-23	31-28	22-22	23-23	0	0	33-33
14IGA33	23-20	23-19	0	22-22	27-27	53-53	0	37-37
14IGA34	23-23	23-23	40-40	25-13	35-31	33-33	34-30	0
14IGA35	23-20	27-27	28-28	22-22	23-23	0	0	0
14IGA36	23-20	27-27	32-32	22-22	23-23	0	38-34	45-45
14IGA37	23-23	23-23	36-36	22-22	0	45-37	38-34	0
14IGA38	20-20	23-23	36-36	22-22	23-23	37-37	46-46	0
14IGA39	23-23	23-23	44-32	22-22	23-23	0	0	0
14IGA40	23-20	23-23	32-32	22-22	27-27	37-37	34-34	0
14IGA41	20-20	23-23	36-28	25-22	27-23	37-37	0	53-53
14IGA42	23-20	27-23	40-32	25-22	0	37-37	34-34	0
14IGA43	23-20	27-23	32-32	22-22	23-23	45-45	42-34	41-33
14IGA44	23-23	23-23	36-28	22-22	23-23	37-37	0	41-33
14IGA45	20-20	27-23	28-28	22-22	0	41-33	46-34	0
15IGA46	23-20	23-23	36-32	22-22	0	41-37	0	49-33
15IGA47	23-20	27-23	32-28	22-19	23-23	45-37	0	41-41
15IGA48	23-20	23-19	32-28	22-22	23-23	37-37	0	57-57
15IGA49	20-20	23-23	36-36	22-22	27-23	41-37	38-38	61-61
15IGA50	20-20	23-23	36-32	22-22	27-23	41-37	34-34	0

15IGA51	23-20	27-23	32-28	22-22	31-31	0	34-34	49-49
15IGA52	23-20	27-27	36-36	22-16	31-23	0	0	41-33
15IGA53	20-20	23-23	36-36	22-22	35-35	45-45	38-34	0
15IGA54	20-20	23-23	32-32	22-22	35-27	37-37	34-34	0
15IGA55	23-20	23-19	36-32	22-22	31-23	37-37	0	0
15IGA56	23-20	27-23	32-32	22-22	23-23	37-33	0	41-41
15IGA57	23-20	23-23	36-32	25-19	23-23	37-37	0	0
15IGA58	23-23	23-23	40-32	22-22	31-27	37-37	0	0
15IGA59	23-23	23-23	32-32	22-22	27-23	49-49	0	0
15IGA60	26-20	23-11	28-28	22-22	31-31	37-37	42-30	52-41
15IGA61	23-20	23-23	32-32	22-22	35-31	45-37	0	0
15IGA62	23-20	23-23	40-28	22-22	39-39	37-37	0	37-37
15IGA63	23-23	27-23	32-32	22-22	23-23	0	0	41-41
15IGA64	23-20	23-23	0	22-22	31-23	37-37	0	0
15IGA65	23-20	23-23	36-36	22-22	0	37-37	0	57-41
15IGA66	23-23	23-23	36-36	22-10	23-23	45-45	38-34	0
15IGA67	23-20	27-27	28-28	22-22	27-27	0	42-34	49-49
15IGA68	23-20	23-23	28-28	22-22	31-23	33-33	42-34	53-49
15IGA69	23-20	23-23	36-32	22-22	31-31	41-41	34-34	37-37
15IGA70	23-20	23-23	40-28	0	27-27	33-33	0	0
15IGA71	23-23	27-23	36-32	22-22	23-23	45-45	38-38	0
15IGA72	23-20	23-23	44-32	22-22	31-19	37-37	42-38	33-33
15IGA73	23-20	23-23	32-28	22-22	0	0	0	61-57
15IGA74	23-20	23-23	40-40	22-22	23-23	37-33	34-30	45-45
15IGA75	23-23	23-23	40-32	22-22	39-39	37-33	38-34	57-57
15IGA76	23-23	27-23	36-32	22-22	23-23	41-41	34-34	49-41
15IGA77	20-20	27-23	36-32	22-22	27-27	37-37	38-34	0
15IGA78	23-20	23-23	32-32	22-22	39-27	41-41	34-34	57-45
15IGA79	20-20	23-23	36-36	22-22	31-23	53-37	38-34	61-33
15IGA80	20-20	23-23	36-36	22-22	39-31	37-37	34-30	61-41
15IGA81	23-20	23-23	36-32	22-13	23-23	33-33	0	45-45
15IGA82	23-23	27-23	32-32	22-22	27-27	0	38-34	37-33
15IGA83	23-20	23-23	44-32	22-22	0	41-41	38-30	33-33
15IGA84	20-20	31-27	36-36	22-22	27-27	0	42-38	53-53
15IGA85	23-20	23-19	32-32	22-22	0	33-33	38-34	0
15IGA86	26-23	23-23	40-40	22-22	39-23	45-45	0	57-57
15IGA87	23-23	23-23	36-36	22-22	0	37-37	0	49-49
15IGA88	20-20	27-15	32-32	22-22	23-23	37-33	0	33-33
15IGA89	23-23	27-27	40-40	22-16	0	45-41	0	37-33
15IGA90	23-20	27-23	28-28	22-13	39-31	57-57	34-34	53-53
15IGA91	23-23	23-19	32-32	22-22	23-23	33-33	46-34	37-37
15IGA92	23-23	23-23	36-32	22-22	0	0	38-34	41-41
15IGA93	23-20	27-23	36-36	22-22	23-23	37-37	38-34	41-41

15IGA94	23-20	27-23	32-32	22-22	35-23	53-53	0	41-37
15IGA95	23-20	27-23	32-32	22-22	27-23	37-37	0	41-41
15IGA96	23-20	27-23	40-36	22-22	27-23	37-37	0	41-33
15IGA97	23-20	27-27	36-36	0	23-23	0	38-38	49-41
15IGA98	23-20	23-19	40-36	0	23-23	0	0	57-41
15IGA99	0	27-27	36-36	22-22	27-23	37-37	38-38	45-45
15IGA100	0	23-23	44-36	0	23-23	29-29	46-38	41-41
15IGA101	23-23	23-23	36-36	22-22	23-23	0	0	49-49
15IGA102	23-20	23-23	36-36	0	23-23	0	38-38	45-45
15IGA103	23-20	23-23	0	0	23-23	37-37	38-38	45-45
15IGA104	23-23	23-23	44-40	0	27-27	41-41	0	45-45
15IGA105	23-20	23-23	44-36	0	0	0	38-38	45-41
15IGA106	23-20	23-23	44-32	0	23-23	0	0	57-41
15IGA107	20-20	23-23	36-36	0	23-23	49-41	0	57-53
15IGA108	23-20	23-23	40-28	0	27-23	0	0	57-41
15IGA109	23-20	27-19	40-36	0	23-23	25-25	46-38	57-41
15IGA110	23-20	23-23	36-36	0	23-23	37-37	42-38	53-53
15IGA111	23-20	23-23	0	0	31-23	37-37	0	57-41
15IGA112	23-20	0	32-32	22-22	31-23	37-33	0	41-41
15IGA113	20-20	23-23	36-32	22-19	23-23	0	0	41-41
15IGA114	20-20	27-23	36-36	22-22	0	37-33	38-38	53-53
15IGA115	23-20	23-23	0	22-22	27-23	0	38-38	49-49
15IGA116	23-20	27-23	0	0	23-23	0	38-38	41-41
15IGA117	23-23	23-23	0	0	23-23	45-45	0	53-53
15IGA118	23-20	19-19	31-31	22-22	27-27	0	46-46	57-57
15IGA119	20-20	27-27	40-40	0	27-27	37-37	38-38	49-49
15IGA120	20-20	23-23	40-40	22-22	23-23	45-45	0	57-57
15IGA121	23-20	23-23	36-36	0	23-23	0	0	53-41
15IGA122	23-20	23-23	36-36	0	0	0	38-38	41-41
15IGA123	20-20	19-19	0	0	23-23	0	42-38	41-41
15IGA124	26-23	23-19	36-36	0	23-23	45-37	38-38	41-41
15IGA125	20-20	23-23	44-44	0	23-23	0	38-38	41-41
15IGA126	0	27-23	0	0	23-23	0	42-38	57-41
15IGA127	23-20	23-23	36-32	25-22	23-23	37-33	0	45-45
15IGA128	23-20	23-23	44-36	22-22	0	37-37	0	49-41
15IGA129	23-23	23-23	36-32	22-16	23-23	0	0	41-41
15IGA130	23-20	27-27	44-44	22-22	27-23	0	38-38	57-45
15IGA131	23-23	19-19	32-32	22-22	31-31	0	38-38	5353
15IGA132	23-20	23-23	36-36	0	27-23	25-25	38-38	0
15IGA133	20-20	23-23	0	22-22	23-23	0	4230	49-49
15IGA134	23-23	23-23	36-36	22-22	31-23	41-37	42-38	0
15IGA135	23-20	23-23	40-40	22-22	27-27	45-37	38-38	41-41
15IGA136	20-20	23-23	44-44	22-22	23-23	29-29	0	57-41

15IGA137	0	23-23	36-36	22-22	23-23	0	42-38	4941
15IGA138	23-20	23-23	40-36	22-22	23-23	0	42-38	57-57
15IGA139	23-23	23-23	44-44	22-16	0	37-29	42-42	53-53
15IGA140	23-23	23-23	36-36	0	23-23	45-45	46-46	57-41
15IGA141	20-20	23-23	44-36	22-22	27-27	0	38-38	0
15IGA142	0	27-27	36-36	22-22	23-23	41-37	38-38	57-41
15IGA143	23-20	23-23	36-36	25-22	31-23	33-33	38-38	53-53
15IGA144	23-20	23-23	40-40	22-22	23-23	0	0	49-49
15IGA145	23-20	0	40-40	22-19	0	0	0	0
15IGA146	23-23	23-23	36-36	22-22	23-23	0	0	53-53
15IGA147	23-20	23-23	40-36	22-22	23-23	45-45	38-38	41-41
15IGA148	23-20	27-23	0	22-22	0	29-29	0	53-53
15IGA149	20-20	0	0	22-22	0	0	0	0
15IGA150	20-20	23-23	0	22-22	0	33-33	38-38	41-41
15IGA151	23-20	19-19	0	22-22	0	33-33	0	49-45
15IGA152	23-20	23-23	0	22-22	23-23	37-37	0	53-53
15IGA153	23-20	23-23	40-36	22-22	23-23	0	0	45-41
15IGA154	23-20	23-23	36-36	22-22	23-23	0	0	53-41
14RBA306	23-20	0	36-36	22-22	31-23	37-37	3830	53-37
14RBA307	23-20	23-23	31-31	22-22	39-39	25-25	3030	49-45
14RBA308	23-23	0	36-36	22-22	0	41-41	3434	49-37
14RBA309	23-20	0	32-28	22-22	39-31	37-37	0	49-49
14RBA310	23-20	0	40-32	25-16	0	37-37	46-46	47-49
14RBA311	23-23	0	44-36	25-22	27-27	37-37	38-38	47-37
14RBA312	23-20	27-23	40-32	22-16	23-23	0	42-38	37-33
14RBA313	23-23	0	36-32	22-22	23-23	37-37	0	37-33
14RBA314	23-20	23-23	28-28	22-22	27-27	41-37	38-30	33-33
14RBA315	23-23	23-23	28-28	22-10	27-27	41-41	0	61-53
14RBA316	23-20	23-23	36-36	22-22	27-23	37-37	30-30	49-41
14RBA317	23-20	27-23	36-36	22-22	23-23	45-45	34-34	61-53
14RBA318	20-20	23-23	36-28	22-22	23-23	37-37	38-38	53-53
14RBA319	23-20	27-23	36-32	22-22	39-23	45-33	34-34	37-37
14RBA320	23-23	23-19	44-32	22-16	23-23	37-37	34-34	53-33
14RBA321	23-20	23-23	36-32	25-22	39-31	37-37	38-38	61-41
14RBA322	20-20	23-23	28-28	22-22	23-23	37-37	42-42	41-37
14RBA323	23-20	0	36-32	22-22	23-23	37-37	0	33-33
14RBA324	23-23	23-23	32-28	22-22	0	45-45	38-38	61-53
14RBA325	20-20	0	40-40	22-22	27-27	49-49	34-34	0
14RBA326	20-20	0	32-32	22-22	0	29-29	0	0
14RBA327	23-20	27-23	0	22-22	35-35	0	0	0
14RBA328	23-20	23-19	28-28	0	27-27	33-33	38-38	0
14RBA329	20-20	0	36-36	22-22	39-39	41-37	0	0
14RBA330	0	0	32-32	22-22	39-39	49-37	34-34	0

14RBA331	0	23-23	36-28	22-22	0	29-29	38-38	45-45
14RBA332	0	23-23	32-32	22-22	0	41-25	0	33-33
14RBA333	0	23-19	28-28	22-22	0	0	34-30	0
14RBA334	0	0	40-40	22-22	0	0	34-34	0
14RBA335	0	0	0	22-22	0	33-33	38-34	0
14RBA336	0	23-23	36-28	22-22	0	37-37	42-42	0
14RBA337	23-20	0	0	0	0	37-33	0	0
14RBA338	0	27-23	36-36	22-22	0	49-29	34-34	0
14RBA339	23-20	27-27	36-32	22-22	0	37-37	34-34	0
14RBA340	20-20	23-23	36-36	22-22	0	29-29	46-46	0
14RBA341	23-20	23-23	36-36	22-22	0	37-37	0	0
14RBA342	23-23	27-23	0	22-22	0	41-41	34-34	0
14RBA343	23-20	0	36-32	22-19	0	0	0	0
15RBA345	23-20	23-23	44-36	22-22	0	0	34-34	41-41
15RBA346	23-23	23-23	32-32	22-22	0	37-29	38-38	0
15RBA347	23-20	27-23	36-28	22-22	0	37-33	34-34	0
15RBA348	23-20	0	32-32	22-22	0	45-37	0	0
15RBA349	0	0	32-28	22-19	0	0	38-34	6149
15RBA350	0	27-23	36-32	22-22	0	41-41	34-34	41-41
15RBA351	0	27-27	28-28	22-22	31-31	37-29	42-42	0
15RBA352	0	27-23	36-36	22-22	0	37-37	38-34	0
15RBA353	23-20	0	40-32	22-22	39-23	37-25	38-38	37-37
15RBA354	0	0	36-28	22-22	0	0	38-38	41-41
15RBA355	20-20	23-23	36-36	22-10	0	33-33	34-34	33-33
15RBA356	23-20	27-19	32-32	22-22	0	37-29	0	0
15RBA357	23-20	23-23	36-36	22-22	0	33-33	38-38	0
15RBA358	23-20	27-23	28-28	22-16	0	33-33	42-34	0
15RBA359	0	19-19	0	0	0	37-37	34-34	0
15RBA360	20-20	19-19	40-36	22-22	0	37-37	0	0
15RBA361	20-20	27-23	32-32	22-22	0	0	0	0
15RBA362	23-20	23-23	32-32	22-22	23-23	37-33	0	0
15RBA363	23-23	23-23	32-32	22-22	23-23	37-37	42-42	0
15RBA364	20-20	0	40-32	22-22	27-23	33-33	42-38	0
15RBA365	23-20	23-23	32-28	22-22	39-23	33-29	0	0
15RBA366	23-20	23-19	36-36	0	23-23	0	38-38	0
15RBA367	23-20	27-23	32-32	22-22	23-23	0	38-34	0
15RBA368	23-23	2319	40-36	22-22	23-23	41-37	38-38	0
15RBA369	23-23	23-23	28-28	22-22	31-31	45-29	38-38	0
15RBA370	20-20	23-23	36-28	0	23-23	37-37	38-38	0
15RBA371	23-20	23-23	32-32	25-22	0	37-37	0	0
15RBA372	23-20	23-23	32-32	0	23-23	41-41	0	0
15RBA373	23-20	23-23	32-32	22-19	35-23	0	31-31	0
15RBA374	23-23	0	28-28	22-22	23-23	0	0	33-33

15RBA375	23-23	23-23	32-32	0	31-31	41-41	38-38	0
15RBA376	20-20	23-23	28-28	22-22	39-27	41-37	42-42	0
15RBA377	20-20	0	0	0	23-23	33-33	38-38	49-37
15RBA378	23-20	23-23	36-36	22-22	27-23	37-37	46-34	0
15RBA379	23-23	27-27	40-32	22-22	23-23	0	42-42	0
15RBA380	20-20	0	32-28	22-22	0	41-41	30-30	0
15RBA381	23-23	27-23	32-32	22-22	39-39	37-37	34-34	41-41
15RBA382	23-23	0	0	0	0	0	0	49-37
15RBA383	23-23	0	28-28	22-22	23-23	29-29	0	0
15RBA384	20-20	23-23	36-28	22-22	0	37-37	38-38	0
15RBA385	20-20	23-23	28-28	22-22	0	37-37	38-38	33-33

Na Tabela 5, são mostrados os genótipos dos 94 indivíduos avaliados pós rompimento da Barragem B1 da Mina Córrego do Feijão, sendo que “0” denota *locus* cujo genótipo não pôde ser obtido por uma falha de amplificação ou por causa de número insuficiente de reads de boa qualidade. Os homozigotos possuem tamanhos idênticos sendo identificados por números idênticos (20-20 – ambos os alelos possuem 20pb de repetição no microssatélite) e os heterozigotos possuem tamanhos diferentes sendo identificados por números diferentes (23-20 um alelo possui 23 bases e o outro 20 bases de repetição no microssatélite).

Tabela 5: Genotipagem dos indivíduos de 01 a 94 obtidos por amplificação seguida por sequenciamento massivo de DNA em plataforma Illumina. O zero indica que o genótipo não foi localizado e os números o tamanho do fragmento de microssatélite para cada alelo.

<i>Loci/Ind</i>	ProC10	ProC18	ProC22	ProC36	ProC37	ProC44	ProC48	ProC49
MBRUM	0	23-23	0	0	19-19	0	0	85-85
MBRUM	0	23-23	40-36	0	19-19	0	0	0
RM19/20	20-20	27-27	40-36	0	19-19	0	38-34	93-93
RM19/20	23-23	27-23	40-36	52-52	19-19	0	38-34	93-85
JBRUM19/20	23-23	0	34-20	0	19-19	0	0	93-81
JBRUM19/20	20-20	27-23	28-27	52-52	0	0	0	93-93
JBRUM19/20	23-23	23-23	0	0	0	0	0	89-89
JBRUM19/20	23-23	23-23	36-32	52-52	0	0	0	85-85
JBRUM19/20	23-23	0	36-27	0	19-19	0	0	81-71
JBRUM19/20	0	0	40-32	0	19-19	0	0	93-89
JBRUM19/20	0	0	40-40	52-52	19-19	0	0	93-93
JBRUM19/20	23-23	23-23	36-32	52-52	19-19	0	0	81-81
JBRUM19/20	23-20	23-23	40-36	52-52	19-19	0	0	0
JBRUM19/20	20-20	23-23	40-27	52-52	0	0	0	93-81
JBRUM19/20	20-20	23-27	40-36	52-52	19-19	0	0	93-93

JBRUM19/20	20-20	23-27	40-36	52-52	19-19	0	0	93-93
JBRUM19/20	0	23-27	40-40	52-52	0	0	0	93-93
JBRUM19/20	0	23-27	0	0	0	0	0	93-93
JBRUM19/20	23-23	27-27	40-40	52-52	19-19	0	0	93-93
JBRUM19/20	23-23	23-27	40-36	52-52	19-19	0	0	93-93
JBRUM19/20	23-23	23-27	40-27	52-52	19-19	0	0	93-71
JBRUM19/20	0	23-27	40-40	52-52	19-19	0	0	93-93
JBRUM19/20	0	23-27	40-31	0	19-19	0	0	93-89
JBRUM19/20	23-23	27-27	40-36	52-52	19-19	0	0	93-85
SJB19/20	23-23	23-23	28-27	0	19-19	0	0	93-93
SJB19/20	20-20	0	36-32	0	19-19	0	0	0
SJB19/20	20-23	23-23	31-27	52-52	19-19	0	0	85-85
SJB19/20	23-23	2318	36-28	52-52	19-19	0	0	85-85
SJB19/20	23-23	23-23	36-27	52-52	19-19	0	0	71-81
SJB19/20	23-23	23-23	31-27	0	19-19	0	0	81-71
SJB19/20	23-23	27-23	31-27	52-52	19-19	0	0	89-86
SJB19/20	23-23	23-23	31-15	52-52	19-19	0	0	93-81
IGA19/20	23-23	27-23	31-27	52-52	19-19	0	0	89-85
IGA19/20	23-20	27-23	36-31	0	19-19	0	0	85-85
RIBMAC19/20	20-20	23-23	28-31	0	19-19	0	0	0
RIBMAC19/20	20-20	23-23	28-27	0	19-19	0	42-42	0
RIBMAC19/20	20-20	23-23	0	0	0	0	0	0
RIBMAC19/20	0	23-23	0	0	0	0	0	0
RIBMAC19/20	20-20	23-27	0	60-60	0	0	0	0
RIBMAC19/20	20-20	27-27	0	0	0	0	0	0
RIBMAC19/20	20-20	0	24-27	0	0	0	0	71-71
RIBMAC19/20	20-20	27-27	0	52-52	0	0	0	0
RIBMAC19/20	20-20	23-23	0	52-52	0	0	0	71-71
RIBMAC19/20	23-23	0	27-27	0	19-19	0	0	93-93
RIBMAC19/20	0	27-27	40-36	0	19-19	0	0	93-93
RIBMAC19/20	0	27-23	40-31	0	19-19	0	0	0
RIBMAC19/20	20-20	27-27	40-40	52-52	19-19	0	0	93-71
RIBMAC19/20	23-20	0	40-36	0	19-19	0	0	93-93
RIBMAC19/20	23-20	27-23	40-36	52-52	19-19	0	0	93-93
RIBMAC19/20	23-23	27-27	40-36	52-52	19-19	0	0	93-93
RIBMAC19/20	20-20	27-23	40-36	52-52	19-19	0	0	93-93
RIBMAC19/20	23-20	27-27	40-36	52-52	19-19	0	0	93-93
RIBMAC19/20	23-23	27-23	40-40	0	19-19	0	0	93-89
RIBMAC19/20	23-20	27-23	40-40	52-52	0	0	0	93-93
RIBMAC19/20	23-23	27-23	40-36	0	19-19	0	0	0
RIBMAC19/20	23-20	27-23	40-40	52-52	0	0	0	93-93
RIBMAC19/20	23-20	27-27	40-27	52-52	19-19	0	0	93-93
RIBMAC19/20	23-20	27-27	40-40	0	19-19	0	0	0

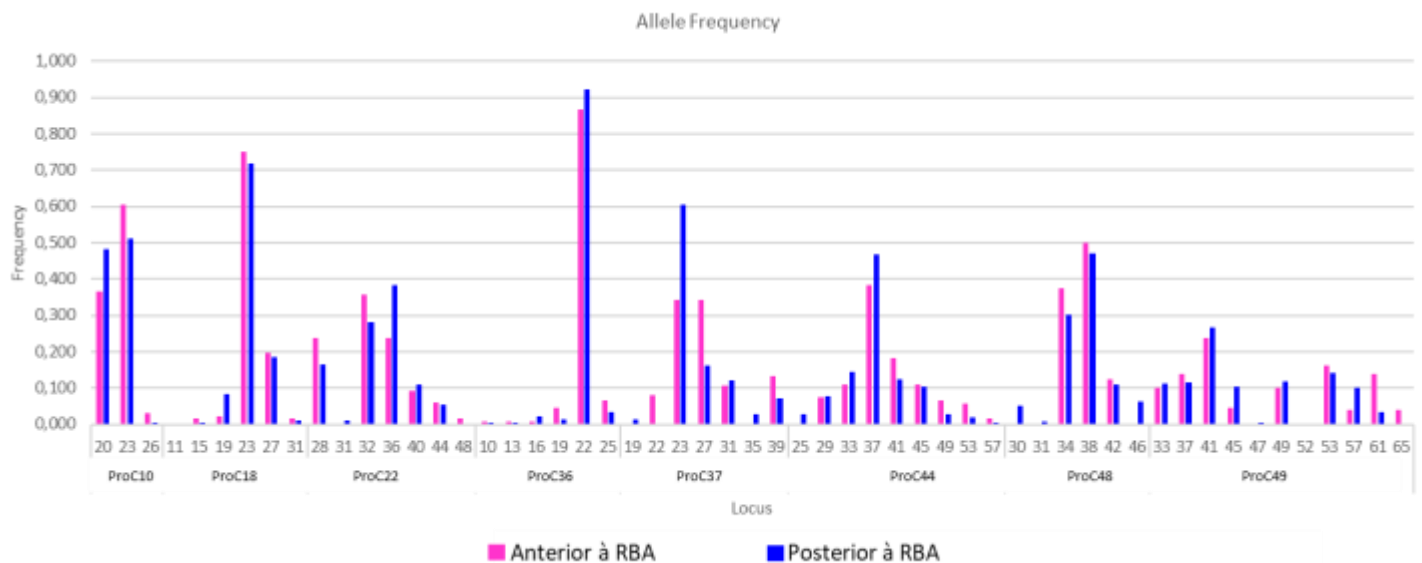
RIBMAC19/20	23-23	0	40-40	0	19-19	0	0	0
RIBMAC19/20	20-20	27-27	40-36	52-52	19-19	0	0	93-93
RIBMAC19/20	23-23	27-23	40-36	52-52	19-19	0	0	93-93
RIBMAC19/20	23-20	27-23	40-40	0	19-19	0	0	93-93
RIBMAC19/20	23-23	0	0	0	19-19	0	0	93-85
RIBMAC19/20	23-23	27-27	40-36	52-52	19-19	0	0	0
RIBMAC19/20	23-23	27-23	40-36	52-52	19-19	0	0	93-71
RIBMAC19/20	23-23	27-23	40-36	52-52	19-19	0	0	0
RIBMAC19/20	23-20	27-23	40-36	52-52	19-19	0	0	93-93
RIBMAC19/20	23-23	27-23	40-40	52-52	0	0	0	93-85
RIBMAC19/20	23-23	27-27	40-36	52-52	19-19	0	0	93-93
RIBMAC19/20	20-20	27-23	40-24	52-52	19-19	0	0	93-81
RIBMAC19/20	23-23	27-23	40-34	0	19-19	0	0	93-89
RIBMAC19/20	23-23	27-27	40-34	52-52	19-19	0	0	93-93
RIBMAC19/20	23-23	27-23	40-34	52-52	19-19	0	0	93-93
PTAQ19/20	23-20	27-27	36-28	42-42	19-19	0	34-28	93-71
PTAQ19/20	20-20	0	0	0	0	0	0	0
PTAQ19/20	0	23-23	0	0	0	0	0	0
PTAQ19/20	0	0	0	0	0	0	0	0
PTAQ19/20	23-23	23-23	31-27	52-52	19-19	0	0	85-81
PTAQ19/20	23-23	2310	40-40	52-52	19-19	0	0	81-81
PTAQ19/20	23-20	27-23	40-34	52-52	19-19	0	0	93-93
PTAQ19/20	23-23	27-23	40-34	52-52	19-19	0	0	93-93
CC19/20	23-23	0	27-27	0	0	0	0	0
CC19/20	23-23	0	0	0	0	0	0	0
RBA19/20	23-23	27-23	40-36	52-52	19-19	0	38-34	93-81
RBA19/20	23-23	27-23	40-40	52-52	19-19	0	42-38	93-93
RBA19/20	23-23	27-27	40-36	0	19-19	0	38-31	93-85
RBA19/20	23-23	27-27	40-36	52-52	19-19	0	38-27	93-93
RBA19/20	23-23	27-23	40-36	52-52	19-19	0	38-38	93-93
RBA19/20	23-23	27-27	40-40	52-52	19-19	0	38-38	0
RBA19/20	23-20	27-23	40-36	52-52	19-19	0	38-11	93-81
RBA19/20	23-23	27-27	40-24	52-52	19-19	0	38-26	93-85
CRM19/20	23-20	23-23	36-31	0	19-19	0	0	93-85
CRM19/20	23-23	27-27	32-27	52-52	19-19	0	0	93-81
CRM19/20	23-20	23-23	40-24	0	19-19	0	0	81-81

5.2 Comparação das amostras anterior e posterior à Construção da Barragem da Usina Hidrelétrica de Retiro Baixo

5.2.1 Diversidade Genética

Ao estimarmos a frequência alélica, observamos que os *loci* são altamente polimórficos com um número de alelos por *locus* variando do menos polimórfico com 3 alelos (*Locus* ProC10) ao mais polimórfico com 11 alelos (*Locus* ProC49). Os *loci* escolhidos apresentaram uma média de 6,87 alelos por *locus*, totalizando 52 alelos (Figura 7).

Figura 3: Comparação da distribuição das frequências alélicas para 8 *loci* de microssatélites entre as duas populações de *P. costatus* analisadas



É possível observar que os alelos que frequência rara na população anterior a construção da barragem se perderam, enquanto que os outros mudaram a sua frequência pós da instalação da barragem. Foi observado que na população pré barramento 3 dos 45 alelos (ProC22 – Alelo 48, ProC37 – Alelo 22 e ProC49 – Alelo 65) eram únicos e raros, não foram amostrados posteriormente. Já na população pós barramento, amostramos 10 alelos (ProC18 – Alelo 11, ProC22 – Alelo 31, ProC37 – Alelos 19 e 35, ProC44 – Alelo 25, ProC48 – Alelos 30, 31 e 46, ProC49 – Alelos 47 e 52) que não foram encontrados nas amostras de pré barramento.

Tabela 6: Distribuição de alelos por locus

*Os resultados em rosa e azul correspondem, respectivamente, aos alelos que são exclusivos de pré e pós barramento da Usina de Retiro Baixo, no Rio Paraopeba.

Pré Barramento			Pós Barramento	
<i>Loci</i>	Alelos	Total	Alelos	Total
PROC10	20, 23, 26	3	20, 23, 26	3
PROC18	15, 19, 23, 27, 31	5	<u>11</u> , 15, 19, 23, 27, 31	6
PROC22	28, 32, 36, 40, 44, <u>48</u>	6	28, <u>31</u> , 32, 36, 40, 44	6
PROC36	10, 13, 16, 19, 22, 25	6	10, 13, 16, 19, 22, 25	6
PROC37	<u>22</u> , 23, 27, 31, 39	5	<u>19</u> , 23, 27, 31, <u>35</u> , 39	6
PROC44	29, 33, 37, 41, 45, 49, 53, 57	8	<u>25</u> , 29, 33, 37, 41, 45, 49, 53, 57	9
PROC48	34, 38, 42	3	<u>30</u> , <u>31</u> , 34, 38, 42, <u>46</u>	6
PROC49	33, 37, 41, 45, 49, 53, 57, 61, <u>65</u>	9	33, 37, 41, 45, <u>47</u> , 49, <u>52</u> , 53, 57, 61	10
Total		45		52
Média		5.6		6.8

5.2.2 Avaliação dos resultados por locus

O locus ProC 10 se mostrou pouco polimórfico nos estudos de diversidade, onde apenas três alelos foram encontrados nas análises pré e pós barramento, são eles: 20, 23 e 26. Cinco combinações de genótipos possíveis foram observadas, os homocigotos para os alelos 20/20 e 23/23 e os heterocigotos para os alelos 20/23, 20/26 e 23/26 (Tabela 7), sendo que a combinação 20/26 só foi encontrada no pós barramento, em um único indivíduo. Quatro indivíduos amostrados no pré barramento e 22 indivíduos amostrados no pós barramento não tiveram seus genótipos identificados para este locus. Partindo do número de indivíduos genotipados, foram calculadas as frequências genotípicas observadas e esperadas baseadas no Equilíbrio de Hardy Weinberg

Tabela 7: Frequências genotípicas observadas e esperadas para o *locus* ProC10 pré e pós barramento

ProC 10	PRÉ BARRAMENTO				PÓS BARRAMENTO			
	Observada		Esperada		Observada		Esperada	
Genótipos	N	Freq.	N	Freq.	N	Freq.	N	Freq.
20/20	10	0,149	19,9	0,084	55	0,209	53,5	0,139
20/23	29	0,432	57,8	0,247	141	0,536	137,2	0,292
20/26					1	0,003	0,76	0,003
23/23	24	0,358	47,9	0,180	63	0,239	61,1	0,152
23/26	4	0,059	7,9	0,024	2	0,007	1,79	0,003
NA	4				22			

Para o *locus* ProC 18 foram encontrados seis alelos, são eles: 11, 15, 19, 23, 27 e 31, sendo que o alelo 11 foi encontrado apenas nas amostras pós barramento. As composições de genótipos foram para homozigotos: 15/15, 19/19, 23/23, 27/27, 31/31, e para heterozigotos: 19/23, 23/27, 23/11, 23/15, 27/15, 27/19, 31/23, 31/27, sendo que o genótipo 15/15 aparece apenas um indivíduo e exclusivamente no pré barramento e os genótipos 23/11, 23/15, 27/15, 31/23, aparecem em um indivíduo cada, 31/27 em dois indivíduos e 27/19 em três indivíduos amostrados no pós barramento (Tabela 8).

Tabela 8: Frequências genotípicas observadas e esperadas para o *locus* ProC18 pré e pós barramento

ProC 18	PRÉ BARRAMENTO				PÓS BARRAMENTO			
	Observada		Esperada		Observada		Esperada	
Genótipos	N	Freq.	N	Freq.	N	Freq.	N	Freq.
15/15	1	0,015	1,92	0,04				
19/19	1	0,015	1,92	0,00022	1	0,004	2	0,0040
19/23	1	0,015	1,92	0,012	18	0,072	9	0,0126
23/23	42	0,655	83,8	0,177	150	0,600	300	0,181
23/27	11	0,171	21,8	0,117	42	0,168	84	0,1567
27/27	7	0,109	13,9	0,019	19	0,076	38	0,0338

31/31	1	0,015	1,92	0,04	1	0,004	2	0,06
23/11					1	0,004	2	0,0017
23/15					1	0,004	2	0,0034
27/15					1	0,004	2	0,0014
27/19					3	0,012	6	0,0235
31/23					1	0,004	2	0,0068
31/27					2	0,008	4	0,0294
NA			7				35	

Para o *locus* ProC22, sete alelos foram detectados: 28, 31, 32, 36, 40, 44 e 48. Esses alelos se agruparam em 19 composições genóticas diferentes com sete homocigotos, são eles: 28/28, 31/31, 32/32, 36/36, 40/40, 44/44 e 48/48 e doze heterocigotos, sendo que o genótipo 28/28 aparece uma única vez. Os genótipos dos indivíduos 21, 25, 27 e 35 não foram localizados (Tabela 9). O *locus* ProC 22 se apresentou com um bom número de alelos para estudos de diversidade além de bons resultados de amplificações em todas as reações.

Tabela 9: Frequências genóticas observadas e esperadas para o *locus* ProC22 pré e pós barramento

ProC 22	PRÉ BARRAMENTO				PÓS BARRAMENTO			
	Observada		Esperada		Observada		Esperada	
Genótipos	N	Freq.	N	Freq.	N	Freq.	N	Freq.
28/28	9	0,152	17,9	0,025	26	0,101	51,7	0,0049
28/32	6	0,101	11,9	0,087	12	0,046	23,5	0,0291
31/28					1	0,003	1,5	0,0008
31/31					2	0,007	3,5	0,03
28/36	1	0,016	1,8	0,054	15	0,058	29,6	0,0351
28/40	3	0,050	5,9	0,016	4	0,015	7,6	0,0116
32/28					12	0,046	23,5	0,0291
32/32	10	0,169	19,9	0,073	43	0,167	85,5	0,0432
32/36	12	0,203	23,9	0,091	24	0,093	47,6	0,1044
32/40	2	0,033	3,8	0,027	10	0,039	19,9	0,0346

32/44	2	0,033	3,8	0,022				
36/36	6	0,101	11,9	0,028	71	0,277	141,8	0,063
36/40	2	0,033	3,8	0,016	13	0,050	25,6	0,041
40/40	1	0,016	1,8	0,002	15	0,058	29,6	0,006
44/32					6	0,023	11,7	0,014
44/36	1	0,016	1,8	0,014	6	0,023	11,7	0,017
44/40					1	0,003	1,5	0,005
44/44	2	0,033	3,8	0,001	6	0,023	11,7	0,0012
48/48	1	0,016	1,8	0,06				
NA	12				29			

O *locus* ProC 36 apresentou seis alelos definidos, são eles: 10, 13, 16, 19, 22 e 25. Esses alelos se apresentaram em dez combinações diferentes sendo dois homocigotos (19/19 e 22/22) e oito heterocigotos (22/10, 22/13, 22/16, 22/19, 25/13, 25/16, 25/19 e 25/22). A combinação 19/19 foi amostrada somente no pré barramento e as combinações 25/13, 25/16 e 25/19 foram amostradas somente pós barramento (Tabela 10). Três indivíduos pré barramento e 43 indivíduos pós barramento não tiveram seus genótipos identificados.

Tabela 10: Frequências genótípicas observadas e esperadas para o *locus* ProC36 pré e pós barramento

ProC 36	PRÉ BARRAMENTO				PÓS BARRAMENTO			
	Observada		Esperada		Observada		Esperada	
Genótipos	N	Freq.	N	Freq.	N	Freq.	N	Freq.
22/10	1	0,014	1,9	0,006	3	0,012	5,8	0,005
22/13	1	0,014	1,9	0,006	2	0,008	3,8	0,005
22/16	1	0,014	1,9	0,006	8	0,033	15,9	0,017
19/19	1	0,014	1,9	0,0012				
22/19	4	0,058	7,8	0,034	6	0,024	11,6	0,013

22/22	51	0,750	102	0,227	206	0,851	411,8	0,243
25/13					1	0,004	1,9	0,0004
25/16					1	0,004	1,9	0,0012
25/19					1	0,004	1,9	0,0009
25/22	9	0,132	17,9	0,062	14	0,005	2,4	0,0345
NA	3				43			

O *locus* ProC 37 apresentou sete alelos definidos, são eles: 19, 22, 23, 27, 31, 25, e 39. Esses alelos se apresentaram em 19 combinações diferentes sendo sete homocigotos: 19/19, 22/22, 23/23, 27/27, 31/31 35/35 e 39/39 e 12 heterocigotos 23/19, 27/23, 31/19, 22/31, 31/23, 31/27, 35/23, 35/27, 35/31, 39,23, 39,27 e 39/31. As combinações 22/22 e 22/31 foram amostradas somente no pré barramento e as combinações 19/19, 23/19, 31/19, 31/27, 31/31, 35/23, 35/27, 35/31, 35/35, 39/23 e 39/27 foram encontradas somente nos indivíduos amostrados pós barramento (Tabela 11). 52 indivíduos no pré barramento e 71 indivíduos pós barramento não tiveram seus genótipos localizados.

Tabela 11:Frequências genotípicas observadas e esperadas para o *locus* ProC37 pré e pós barramento

ProC 37 Genótipos	PRÉ BARRAMENTO				PÓS BARRAMENTO			
	Observada		Esperada		Observada		Esperada	
	N	Freq.	N	Freq.	N	Freq.	N	Freq.
19/19					2	0,009	3,8	0,01
22/22	1	0,052	1,9	0,0006				
23/19					1	0,004	1,7	0,002
23/23	5	0,263	9,9	0,0441	110	0,514	219,9	0,123
27/23	2	0,105	3,9	0,088	16	0,074	31,6	0,071
27/27	6	0,315	11,9	0,044	23	0,107	45,7	0,010
31/19					1	0,004	1,7	0,0006
22/31	1	0,052	1,9	0,004				
31/23	1	0,052	1,9	0,032	14	0,065	27,8	0,059
31/27					2	0,009	3,8	0,017
31/31					14	0,065	27,8	0,007

35/23					3	0,014	5,9	0,009
35/27					1	0,004	1,7	0,002
35/31					2	0,009	3,8	0,002
35/35					3	0,014	5,9	0,00019
39/23					7	0,032	13,6	0,034
39/27					2	0,009	3,8	0,009
39/31	1	0,052	1,9	0,008	4	0,018	7,7	0,008
39/39	2	0,105	3,9	0,002	8	0,037	15,8	0,002
NA	52				71			

O *locus* ProC 44 tem alto e contém nove alelos: 25, 29, 33, 37, 41, 45, 49, 53 e 57. 26 combinações de genótipos possíveis foram observadas sendo nove homocigotos: 25/25, 29/29, 33/33, 37/37, 41/41, 45/45, 49/49, 53/53 e 57/57 e 17 heterocigotos: 29/25, 33/25, 33/29, 37/25, 37/29, 37/33, 41/25, 41/33, 41/37, 45/29, 45/33, 45/27, 45/41, 49/29, 49/37, 49/41 e 53/37 (Tabela 12). As combinações 25/25, 29/25, 33/25, 33/29, 37/25, 37/33, 41/25, 45/33, 45/41 e 49/29 foram encontradas exclusivamente nos indivíduos amostrados pós barramento. Onze indivíduos amostrados pré barramento e 77 amostrados pós barramento não tiveram seus genótipos encontrados.

Tabela 12: Frequências genotípicas observadas e esperadas para o *locus* ProC44 pré e pós barramento

ProC 44 Genótipos	PRÉ BARRAMENTO				PÓS BARRAMENTO			
	Observada		Esperada		Observada		Esperada	
	N	Freq.	N	Freq.	N	Freq.	N	Freq.
25/25					4	0,019	7,9	0,003
29/25					2	0,009	3,7	0,001
29/29	2	0,033	3,9	0,003	9	0,043	17,8	0,002
33/25					1	0,004	1,6	0,003
33/29					2	0,009	3,7	0,009
33/33	1	0,016	1,9	0,0025	21	0,100	41,6	0,009
37/25					1	0,004	1,6	0,010

37/29	4	0,066	7,9	0,027	7	0,033	13,7	0,029
37/33					12	0,057	23,7	0,054
37/37	17	0,283	33,9	0,054	73	0,350	145,6	0,081
41/25					1	0,004	1,6	0,003
41/33	2	0,033	3,9	0,0125	1	0,004	1,6	0,016
41/37	3	0,050	6,0	0,058	12	0,057	23,7	0,048
41/41	7	0,116	1,9	0,015	18	0,086	35,7	0,007
45/29	1	0,016	13,9	0,007	1	0,004	1,6	0,009
45/33					3	0,014	5,8	0,016
45/37	2	0,033	3,9	0,030	9	0,043	17,8	0,050
45/41					1	0,004	1,6	0,014
45/45	5	0,083	9,9	0,004	14	0,067	27,8	0,007
49/29					1	0,004	1,6	0,002
49/37	1	0,016	1,9	0,023	2	0,009	3,7	0,012
49/41	3	0,050	6,0	0,0125	2	0,009	3,7	0,003
49/49	2	0,033	3,9	0,0025	4	0,019	7,9	0,0004
53/37	1	0,016	1,9	0,015	3	0,014	5,8	0,008
53/53	3	0,050	6,0	0,001	3	0,014	5,8	0,0001
57/57	1	0,016	1,9	0,06	1	0,004	1,6	0,004
NA	11				77			

O *locus* ProC 48 apresentou seis alelos nas análises de polimorfismos, são eles: 30, 31, 34, 38, 42 e 46. A distribuição desses alelos se deu da seguinte forma: seis homocigotos: 30/30, 31/31, 34/34, 38/38, 42/42 e 46/46 e oito heterocigotos: 34/30, 38/30, 38/34, 42/30, 42/34, 42/38, 46/34 e 46/38. Nove dessas combinações: 30/30, 31/31, 34/30, 38/30, 42/30, 42/34, 46/34, 46/38 e 46/46 (Tabela 13) foram encontradas somente nos indivíduos amostrados pós barramento. 59 indivíduos amostrados pré barramento e 120 amostrados pós barramento não tiveram seus genótipos encontrados.

Tabela 13: Frequências genotípicas observadas e esperadas para o *locus* ProC48 pré e pós barramento

ProC 48	PRÉ BARRAMENTO		PÓS BARRAMENTO	
	Observada	Esperada	Observada	Esperada

Genótipos	N	Freq.	N	Freq.	N	Freq.	N	Freq.
30/30					3	0,018	5,9	0,001
31/31					1	0,006	1,9	0,009
34/30					5	0,300	99,0	0,017
34/34	4	0,333	7,9	0,043	33	0,200	66,0	0,041
38/30					4	0,024	7,92	0,011
38/34	1	0,083	1,9	0,162	19	0,115	37,9	0,055
38/38	5	0,416	9,9	0,084	57	0,345	113,8	0,018
42/30					2	0,012	3,96	0,007
42/34					5	0,300	99,0	0,034
42/38	1	0,083	1,9	0,048	13	0,078	25,7	0,022
42/42	1	0,083	1,9	0,006	8	0,048	15,8	0,007
46/34					5	0,300	99,0	0,018
46/38					4	0,024	7,92	0,012
46/46					6	0,036	11,8	0,002
NA	59				120			

O *locus* ProC 49 apresentou 11 alelos nas análises de polimorfismos, são eles: 33, 37, 41, 45, 47, 39, 52, 53, 57 e 61. A distribuição desses alelos se deu da seguinte forma: 33/33, 37/37, 41/41, 45/45, 49/49, 53/53, 57/57 e 61/61 combinando em sete homocigotos e 33/45, 37/33, 41/33, 41/37, 45/37, 45/41, 47/37, 47/49, 49/33, 49/37, 49/41, 49/45, 52/41, 53/33, 53/37, 53/41, 53/45, 53/49, 57/37, 57/41, 57/45, 57/53, 61/33, 61/37, 61/41, 61/45, 61/49, 61/53, 61/57 e 65/33 combinando em 30 heterocigotos (Tabela 14). O *locus* ProC 49 de acordo com os resultados é o mais polimórfico de todos os oito *loci* analisados. Seis indivíduos amostrados pré barramento e 106 amostrados pós barramento não tiveram seus genótipos encontrados.

Tabela 14: Frequências genotípicas observadas e esperadas para o *locus* ProC49 pré e pós barramento

ProC 49	PRÉ BARRAMENTO		PÓS BARRAMENTO	
	Observada	Esperada	Observada	Esperada

Genótipos	N	Freq.	N	Freq.	N	Freq.	N	Freq.
33/33	3	0,046	5,9	0,005	13	0,072	25,7	0,013
33/45	1	0,015	1,9	0,004				
37/33	2	0,030	3,9	0,015	14	0,078	27,9	0,020
37/37	5	0,076	9,8	0,010				
41/33					5	0,027	9,6	0,043
41/37	2	0,030	3,9	0,032	4	0,022	7,8	0,033
41/41	10	0,153	19,8	0,025	29	0,162	57,9	0,034
45/37					1	0,005	1,7	0,012
45/41					4	0,022	7,8	0,025
45/45	1	0,015	1,9	0,0009	14	0,078	27,9	0,004
47/37					1	0,005	1,7	0,0008
47/49					1	0,005	1,7	0,0008
49/33	1	0,015	1,9	0,139	1	0,005	1,7	0,020
49/37	1	0,015	1,9	0,018	4	0,022	7,8	0,015
49/41	4	0,061	7,9	0,029	5	0,027	9,6	0,033
49/45					2	0,011	3,9	0,012
49/49	1	0,015	1,9	0,008	15	0,083	29,7	0,007
52/41					1	0,005	1,7	0,0007
53/33	2	0,030	3,9	0,020	2	0,011	3,9	0,018
53/37	2	0,030	3,9	0,027	1	0,005	1,7	0,014
53/41	3	0,046	5,9	0,044	4	0,022	7,8	0,030
53/45	2	0,030	3,9	0,008				
53/49	3	0,046	5,9	0,025	1	0,005	1,7	0,014
53/53	3	0,046	5,9	0,019	16	0,089	31,8	0,006
57/37					1	0,005	1,7	0,11
57/41					15	0,083	29,7	0,23
57/45					2	0,011	3,9	0,008
57/53	1	0,015	1,9	0,008	4	0,022	7,8	0,010
57/57	1	0,015	1,9	0,0009	7	0,039	13,9	0,004
61/33					1	0,005	1,7	0,011
61/37	1	0,015	1,9	0,021				

61/41	2	0,030	3,9	0,034	4	0,022	7,8	0,018
61/45	1	0,015	1,9	0,006				
61/49	2	0,030	3,9	0,019	1	0,005	1,7	0,008
61/53	2	0,030	3,9	0,029	3	0,016	5,7	0,008
61/57	2	0,030	3,9	0,006	1	0,005	1,7	0,006
61/61	4	0,061	7,9	0,011	1	0,005	1,7	0,002
65/33	1	0,015	1,9	0,003				
65/65	2	0,030	3,93	0,0005				
NA			6				106	

5.2.3 Diversidade populacional

Foi possível determinar a Heterozigidade, estatística F e índices de polimorfismo, calculadas para cada grupo pré e pós construção da barragem, considerando os 71 e 285 indivíduos, amostrados respectivamente (Tabela 15). Ambas as populações apresentam valores de F próximos a zero ($F = 0,329$ pós barramento e $F = 0,377$ pré barramento respectivamente) com frequências alélicas semelhantes. O índice I que mostra a medida da diversidade alélica e genética, equivalente ao índice Shannon-Weaver, indica que a população pré barramento é um pouco mais diversa ($I = 1,188$) que a população pós barramento a menos diversa ($I = 1,091$). N_e representa uma estimativa do número de alelos igualmente frequentes em uma população ideal, permitindo comparações significativas de diversidade alélica através de *loci* com diversas distribuições de frequência alélica calculado por *loci* de HE para cada população. O N_e da população de pré barramento ($N_e=3.200$) também se mostrou o maior das populações, indicando que esta população é a que possui a maior diversidade alélica, em contraposição com a população de pós barramento que possui $N_e = 2,759$.

Tabela 15: Diversidade genética avaliada nas populações de *P. costatus* estudadas

Pré barramento de Retiro Baixo									
		N	Na	Ne	I	Ho	He	uHe	F
Total	Mean	25,875	5,125	3,200	1,188	0,345	0,593	0,611	0,377

Pós barramento de Retiro Baixo									
		N	Na	Ne	I	Ho	He	uHe	F
Total	Mean	37,021	4,813	2,759	1,091	0,344	0,561	0,580	0,329

Estimativas adicionais da diferenciação genética entre as populações (AMOVA), mostra que, pré barramento de Retiro Baixo, uma proporção da variação genética (54%) pode ser atribuída a variação entre indivíduos, 46% da variação ocorre devido a diferenças dentro dos indivíduos, e nenhuma proporção é atribuída entre as populações indicando que os pontos de IGA/2006 e CC/2007 correspondem a indivíduos de uma única população (Figura 8). Já nas amostras pós barramento, 57% corresponde a variação entre indivíduos, 38% dentro dos indivíduos e agora é atribuído uma variação de 5% entre as populações.

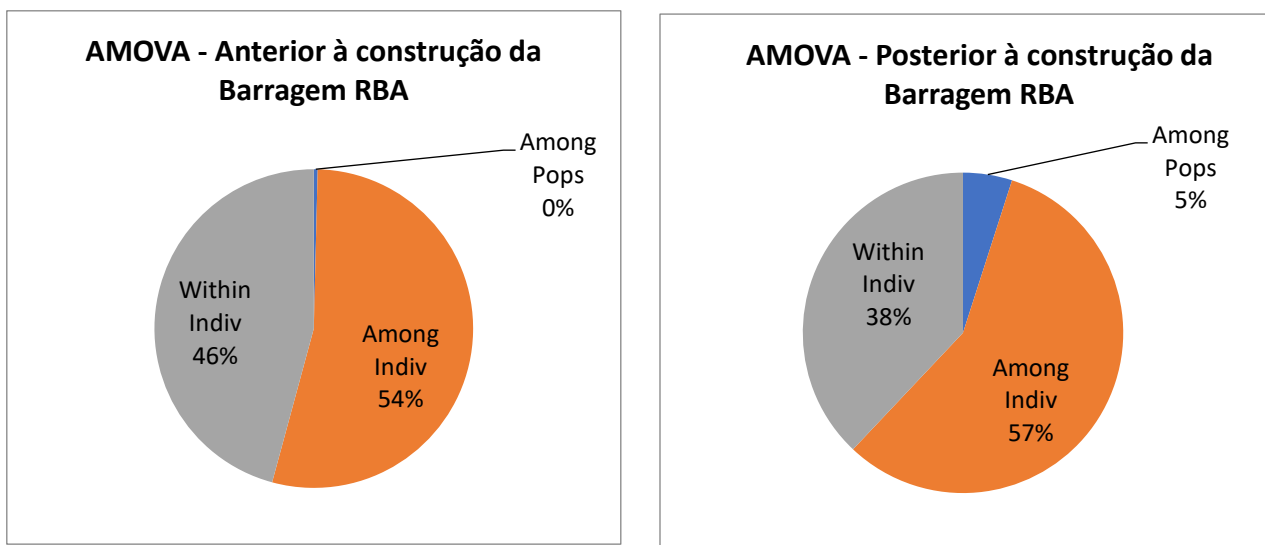


Figura 4: Análise de variância molecular (AMOVA) entre as populações de *P. costatus* pré e pós construção da Barragem de Retiro Baixo.

5.3 Estrutura populacional

O DAPC foi testado em todos os indivíduos com melhor ajuste para os clusters encontrados em $K = 3$ para as populações pré barramento (Figura 9). As populações de CC/2007 e IGA/2006 mostraram a probabilidade de associação que compartilham um mesmo perfil genético composto por 5 pools gênicos em ambas as populações, com a frequência de

distribuição pouco divergente. Os gráficos de pizza mostram a distribuição dos pools gênicos e suas frequências para cada população e os gráficos em barras a distribuição por amostras, onde cada linha representa um indivíduo. A população CC/2007 está dividida em 12% do cluster a, 16% do cluster b e 24% dos clusters 3, 4 e 5. Já na população IGA/2006 há 7% do cluster a, 13% do cluster b e 20% do cluster c, 27% do cluster d e 33% do cluster e.

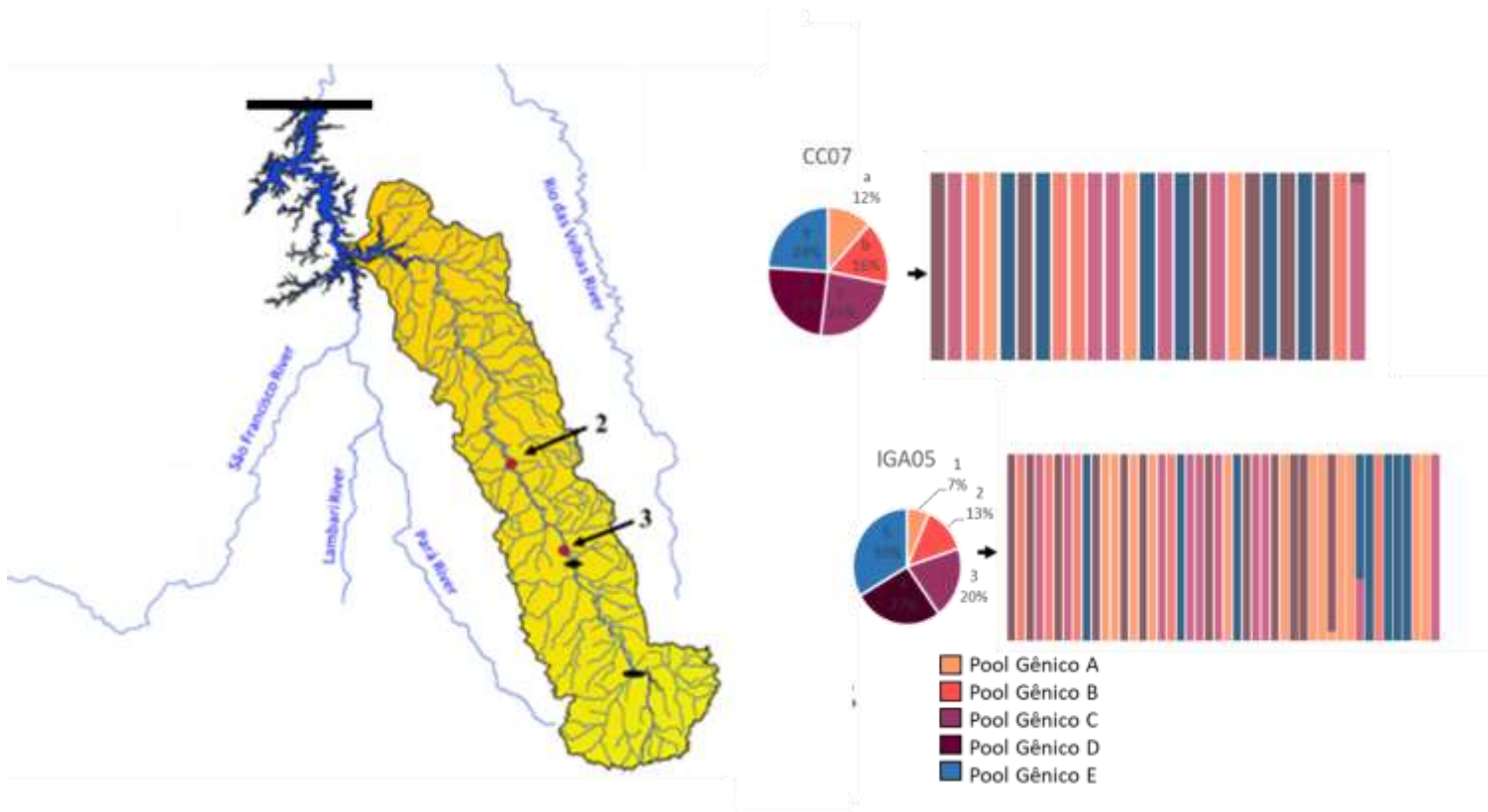


Figura 5: Atribuição de DAPC e subsequente agrupamento de indivíduos com clusters ótimos de $K = 3$, para amostras coletadas pré barramento da UHE de Retiro Baixo. Parcela de DAPC para cinco perfis genéticos atribuídos, cada um indicado por cores diferentes. Gráficos de pizza indicam a proporção de indivíduos de cada população (CC/2007 e IGA/2006) atribuído aos conjuntos genéticos relativos criados pelo DAPC.

Para as populações pós barramento, o melhor ajuste para os clusters foi em $K = 11$. Todas as populações mostraram a probabilidade de associação, compartilhando clusters genéticos composto agora por 11 pools gênicos (Figura 10). Excluindo-se SAL15 (com apenas 5 indivíduos) observamos que os clusters, b, c, h, i e j foram compartilhados por todas as subpopulações. Os demais clusters se divergem nas demais subpopulações. Os gráficos de pizza mostram a distribuição dos pools gênicos e suas frequências para cada população de amostragem e os

gráficos de barras a distribuição por amostras, onde cada linha representa um indivíduo. É possível observar a mudança na frequência dos clusters se ressaltarmos de um ano para o outro. A população RBA/2014 está dividida em 18% do cluster a, 16% do cluster b e c, e 10% do cluster d, 5% do cluster e, 11% do cluster 8 e 8% para os clusters i, j e k, não sendo amostrados os clusters f e g. Já na população RBA/2015 há 5% dos clusters a, d, h e i, 27% do cluster b, 17% do cluster c, 12% do cluster e, 7% do cluster f e 17% do cluster j, não sendo amostrados os clusters g e k. Na população de IGA/2014 encontramos, 20% para o cluster b, 18% para o cluster c, 16% para o e, 13% para o cluster a, 11% para o i, 7% para os clusters h e j, 5% para o 6 e 4 para os clusters g e k não sendo amostrado o cluster d. Quando nos atentamos para SAL/2014 visualizamos 21% para o cluster c, 15% para k, 13% para os clusters g e i, 11% para o d, 9% para o cluster j, 8% para o f, 6% para o h, 4% para o b não sendo observados os clusters a e e. Para SAL/2015, por conter um n amostral insuficiente, só encontramos 3 clusters; a, e e h.

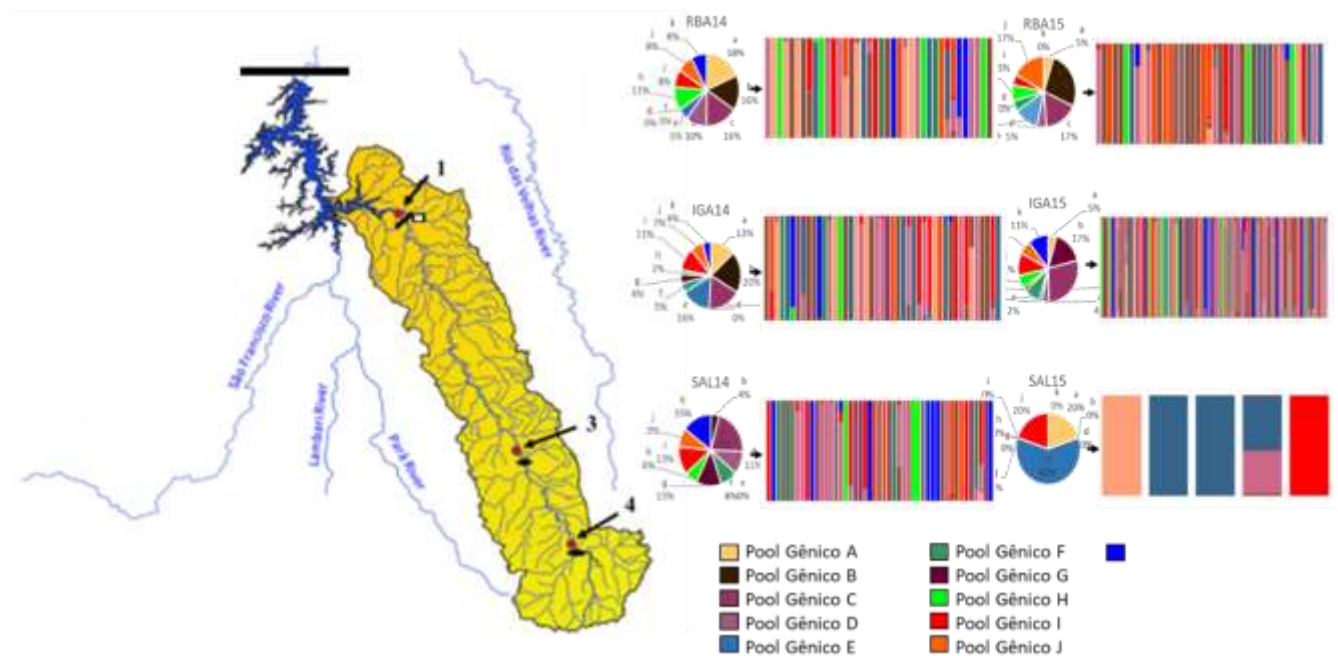


Figura 6: Atribuição de DAPC e subsequente agrupamento de indivíduos com clusters ótimos de $K = 14$, para amostras coletadas pós UHE de Retiro Baixo. Parcela de DAPC para 11 perfis genéticos atribuídos, cada um indicado por cores diferentes. Gráficos de pizza indicam a proporção de indivíduos de cada grupo amostral (SAL/2014, SAL/2015, IGA/2014, IGA/2015, RBA/2014 e RBA/2015) atribuído aos conjuntos genéticos relativos criados pelo DAPC.

A análise de DAPC identificou um total de dois perfis genéticos de *P. costatus* e vários genótipos multi/*loci*. Os indivíduos são agrupados de acordo com sua população da origem. Os clusters são codificados com cores diferentes e a fração de cada cor individual representa a probabilidade de atribuição ao cluster dessa cor (Figura 11). Nas populações de CC07 e IGA06 é possível ver uma mistura das populações não sendo possível distinguir a origem de cada amostragem. Para descrever os dados pré barramento, 7 componentes principais foram gerados e apenas uma função discriminante foi reconhecida.

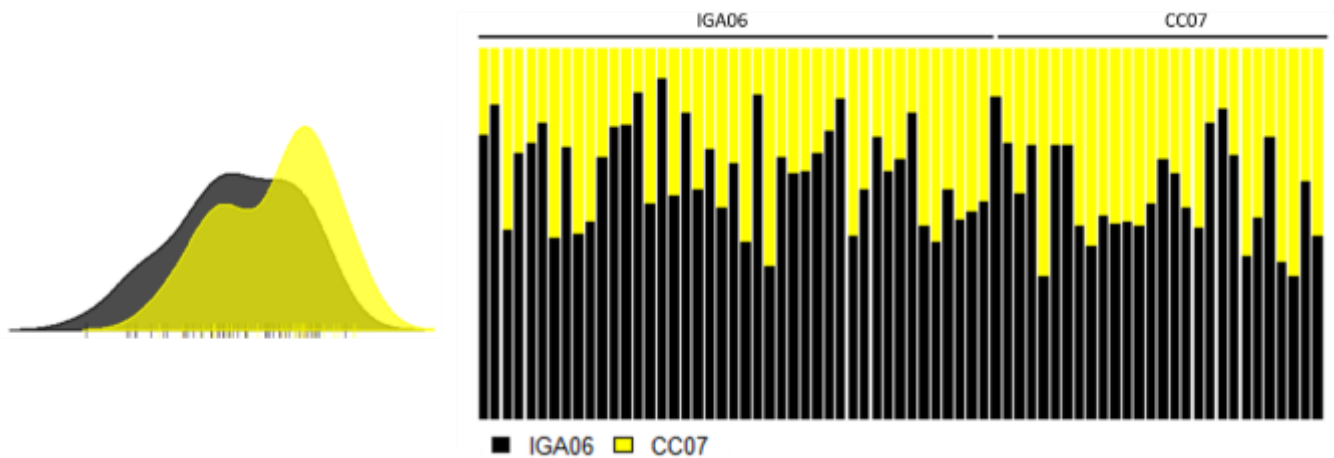


Figura 7: Agrupamento populacional por DAPC nas amostras pré barramento. Foram utilizados 7 componentes principais e 1 função discriminante. Plot da estrutura Bayesiana para 8 *loci* de microssatélites para 71 indivíduos relacionados. Gráfico de barras mostrando a designação da população dividido pela designação a priori da população. As cores indicam a contribuição percentual dos indivíduos das populações para os clusters atribuídos (eixo y), sendo os indivíduos representados por cada linha (eixo x). As linhas pretas superiores separam as populações das quais os indivíduos pertencem.

Já para o período pós barramento, 11 componentes principais foram gerados e 5 funções discriminantes (*eigenvalues*) foram usadas (Figura 12). *Eigenvalues* são correspondentes à razão da variância entre os grupos sobre a variância dentro de grupos para cada função discriminante. Todas as populações aparecem sobrepostas. Os números em destaque representam os indivíduos que, embora pertençam a uma determinada população, possuem características que os diferem do grupo.

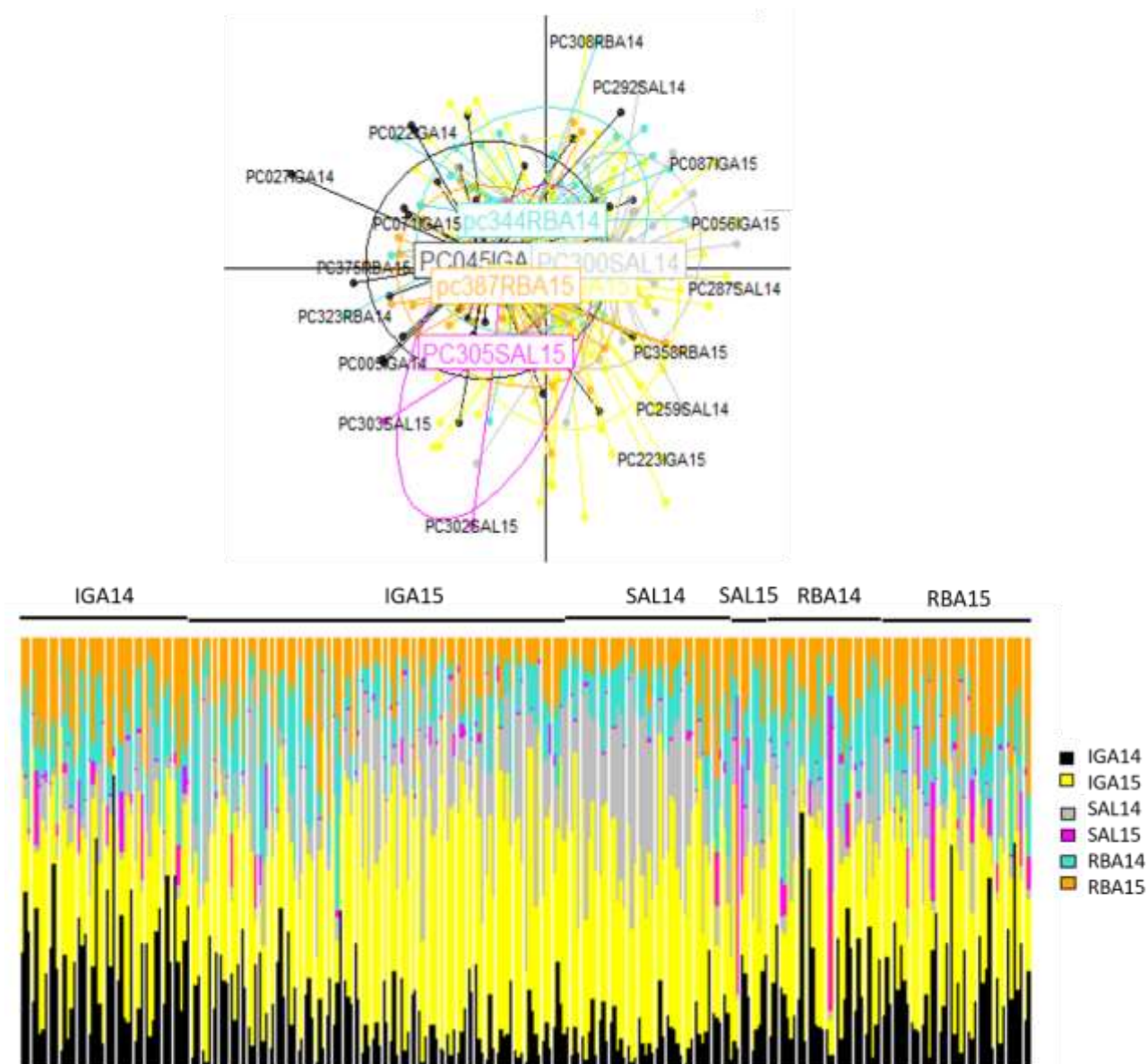


Figura 8: Agrupamento populacional por DAPC pós barramento. Foram utilizados 11 componentes principais e 5 funções discriminantes. Plot da estrutura Bayesiana para 8 *loci* de microssatélites e 285 indivíduos relacionados. Gráfico de barras mostrando a designação da população dividido pela designação a priori da população. As cores indicam a contribuição percentual dos indivíduos das populações para os clusters atribuídos (eixo y), sendo os indivíduos representados por cada linha (eixo x). As linhas pretas superiores separam as populações das quais os indivíduos pertencem.

5.4 Comparação das amostras anteriores à construção à Usina Hidrelétrica de Retiro Baixo com produto publicado por Pimentel et al. 2020

Outro produto do P&D455 foi gerado por Pimentel, et al., 2020 onde amostras de *P. costatus* do Rio Paraopeba foram comparadas com vários pontos do Alto da Bacia São Francisco,

demonstrando que o Rio Paraopeba possui um perfil genético completamente distinto e único em comparação com o restante da bacia do São Francisco (Figura 13). As análises que foram utilizadas para esse estudo, se referem aos anos hidrológicos correspondentes ao período de pós barramento.

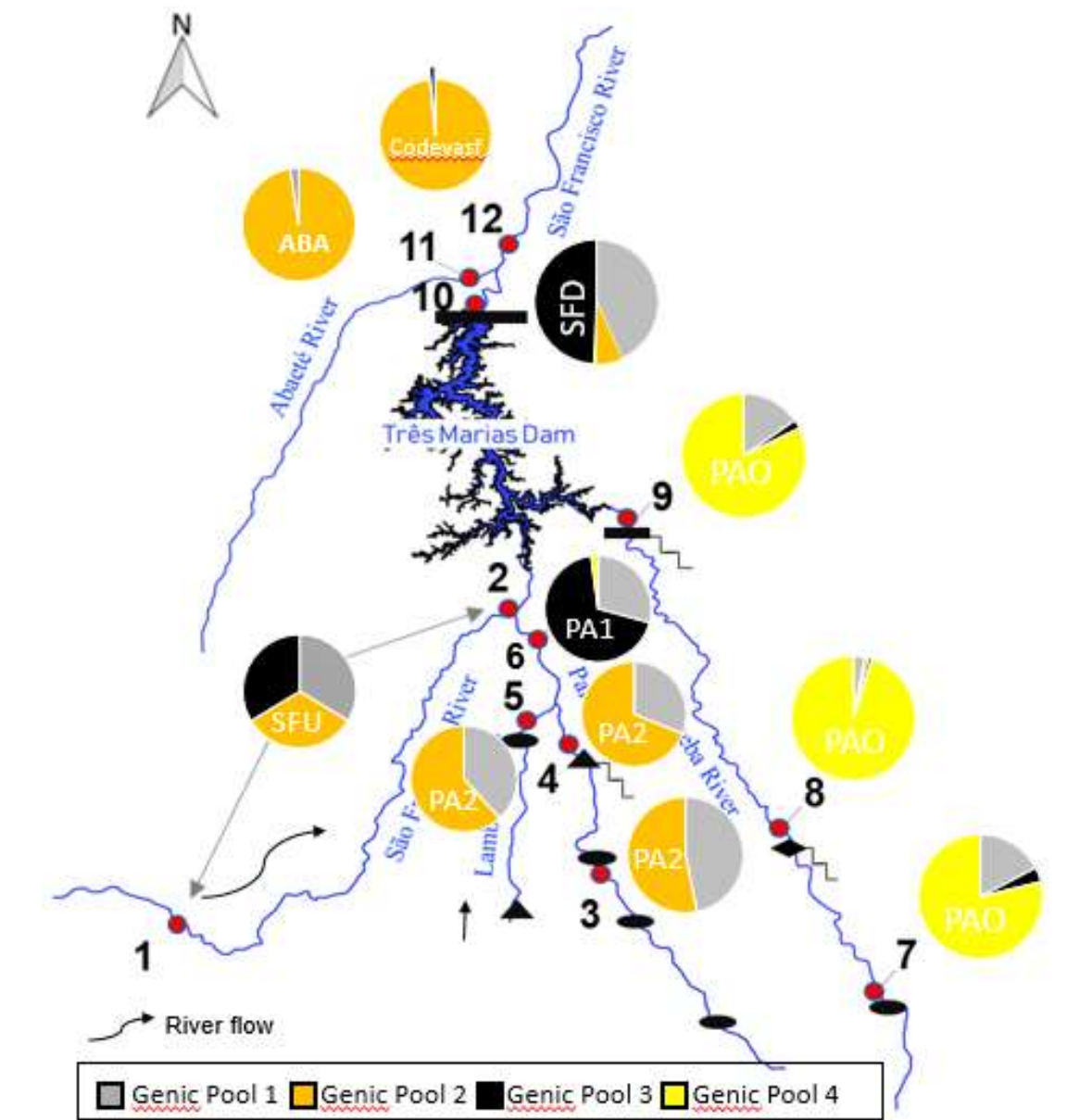
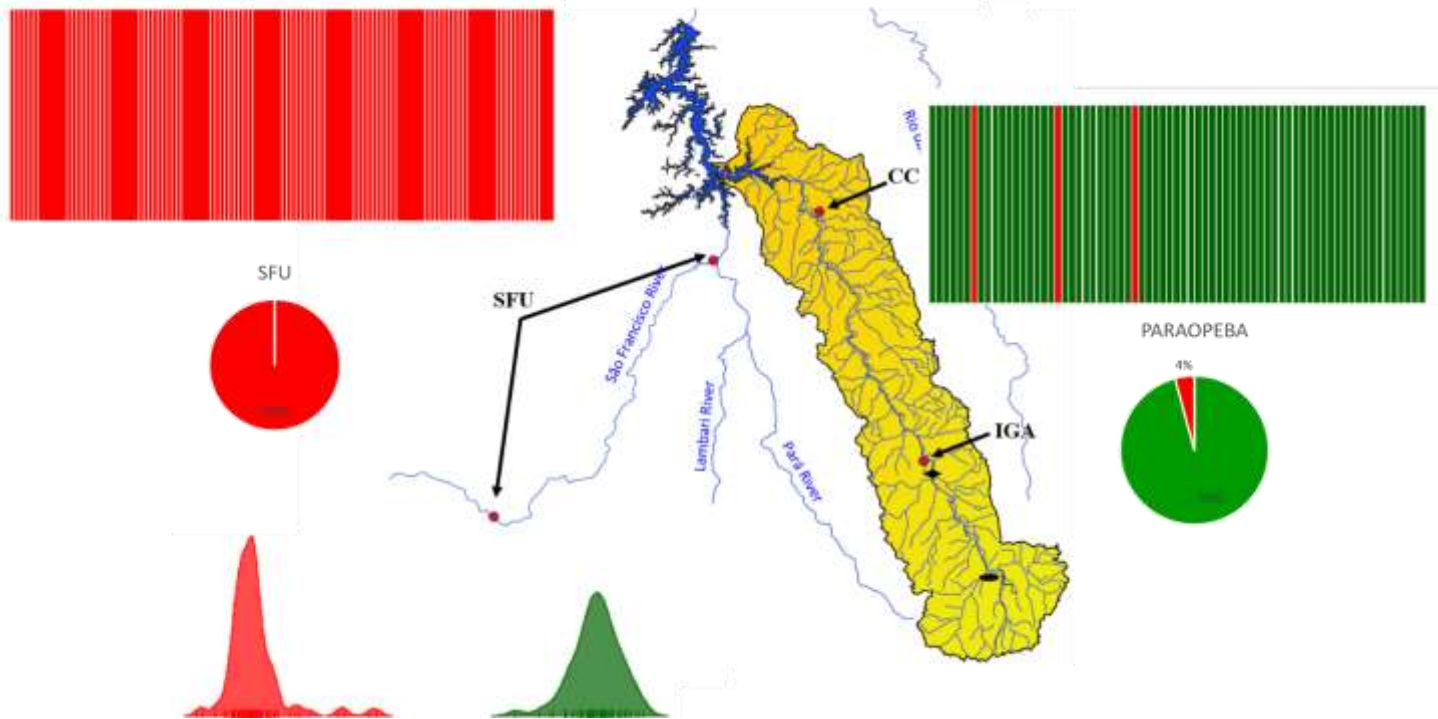


Figura 9: Distribuição dos pools gênicos apresentados no artigo “*Genetic evaluation of migratory fish: Implications for conservation and stocking programs*”. Mostrando a diferença do Rio Paraopeba, concentrando um perfil genético único em comparação com outros pontos do Alto da Bacia do Rio São Francisco.

Fonte: Pimentel, et al., 2020.

Tendo em vista esse resultado, comparamos os dados dos pontos 1 e 2 de Pimentel, et al., 20-20 com a amostragem pré barramento para visualizarmos se a instalação da Barragem de Retiro Baixo foi a causadora da divergência nos perfis genéticos encontrados, ou se a diversidade única do Rio Paraopeba que o difere da bacia do Alto São Francisco foi anterior à esta instalação (Figura14) e tendo como causa da barreira física a construção da represa de Três Marias que



impede que o Rio Paraopeba tenha um fluxo contínuo direto com o Rio São Francisco.

O resultado mostrou que, desde antes mesmo da implantação da barragem de Retiro Baixo o perfil do Rio Paraopeba é divergente do perfil amostrado por Pimentel, et al., 2018 no Alto Rio São Francisco. Das 114 amostras de SFU analisadas, 100% se encontram em um perfil genético único e completamente distinto do perfil de Paraopeba. Já quando olhamos para o perfil de Paraopeba, 96% dos indivíduos (71 amostras) apresentam um perfil genético único do Paraopeba, com exceção de 3 indivíduos (4% da população) que apresentam perfis semelhantes

Figura 10: Análise do perfil genético da amostragem de pré construção da Barragem de Retiro Baixo em comparação com 114 amostras cedidas pelo P&D455 localizado a montante do Rio São Francisco, mostrando que pré instalação da UHE de Retiro Baixo a diversidade genética do Rio Paraopeba já se diferenciava do restante do Alto da Bacia do Rio São Francisco.

ao de SFU, provavelmente advindos de peixamentos realizados antes de 2005 pela CODEVASF, no Rio Paraopeba.

5.5 Análise de amostras de *P. costatus* coletados ao longo da Subbacia do Rio Paraopeba posterior ao rompimento da barragem B1 da Mina Córrego do Feijão

5.5.1 Diversidade Genética

Novamente o Software GenAlex foi utilizado para estimar a frequência alélica onde observamos perda de polimorfismo em todos os *loci*. O *locus* ProC10 apresentou a perda de um alelo (3 ->2); o *locus* ProC18 perdeu 4 alelos mas foi observado um alelo novo (7->4), o *locus* ProC22 perdeu 3 alelos mas observou-se 5 novos alelos se tornando o *locus* mais polimórfico encontrado posterior ao rompimento da barragem (7->10). Para o *locus* ProC 36 não foi encontrado nenhum dos seis alelos encontrados anteriormente mas amostramos três novos alelos (6->3); o *locus* ProC37 que anterior ao rompimento da barragem da Mina Córrego do Feijão, era altamente polimórfico com sete alelos se tornou monomórfico mantendo apenas o alelo 19 (7->1); o *locus* ProC48 (6->8) anteriormente com seis alelos apresentou nas análises pós rompimento da barragem oito alelos, sendo quatro deles alelos não encontrados nas amostras anteriores ao rompimento. E para o *locus* ProC49 (11->6) que anteriormente era o mais polimórfico com 11 alelos agora possui apenas seis, sendo que todos os novos seis alelos não foram observados anteriormente ao rompimento da barragem. Não foi possível observar o *locus* ProC44 para nenhum dos indivíduos amostrados pós o rompimento da barragem do Córrego do Feijão. A média de alelos por *locus* foi de 4,25 de um total de 34 alelos

O software GenAlex foi utilizado para estimar a frequência alélica (Figura 15) encontrada anteriormente na sub-bacia do Rio Paraopeba com a nova frequência encontrada pós o rompimento da barragem da Mina do Córrego do Feijão

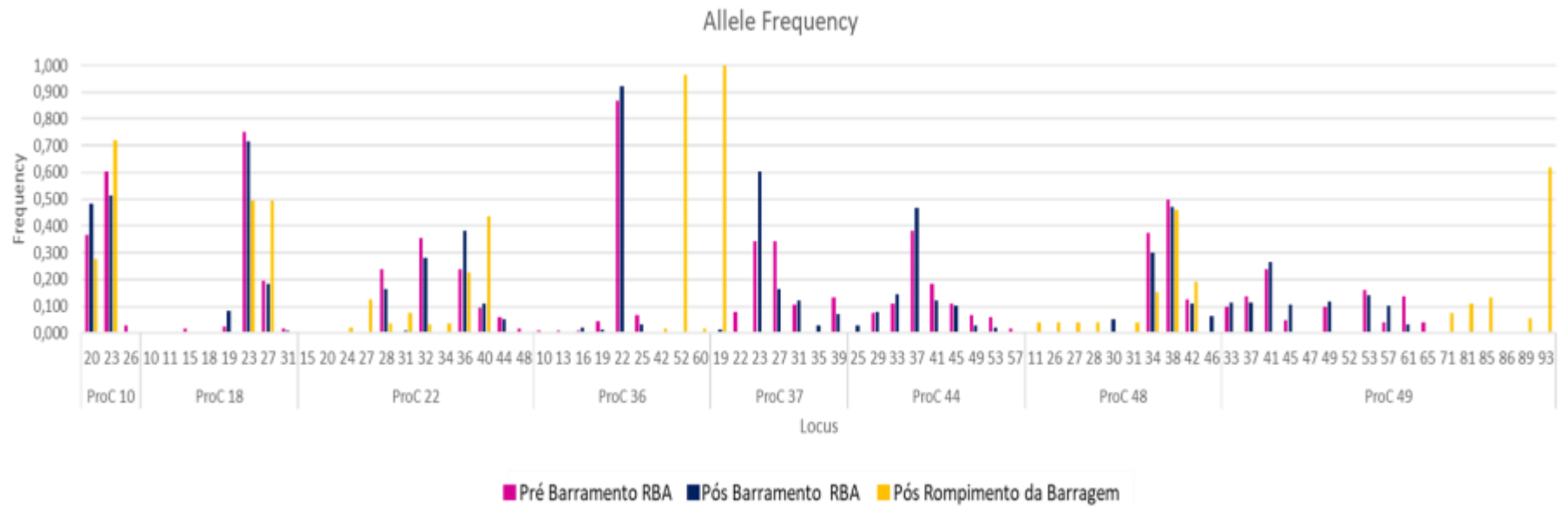


Figura 11: Comparação da distribuição das frequências alélicas para oito *loci* de microssatélites entre as populações anterior e posterior à Barragem de Retiro Baixo e posterior rompimento da Barragem da Mina do Feijão

5.5.2 Avaliação dos resultados por *locus*

O *locus* ProC 10 teve uma redução de alelos, onde apenas dois alelos foram encontrados nas análises pós rompimento da barragem, são eles: 20 e 23. O alelo 26 não foi amostrado. Três combinações de genótipos possíveis foram observadas, os homocigotos para os alelos 20/20 e 23/23 e os heterocigotos para os alelos 20/23, (Tabela 16). Treze indivíduos coletados pós o rompimento da barragem, não tiveram seus genótipos identificados para este *locus*. Partindo do número de indivíduos genotipados, foram calculadas as frequências genotípicas observadas e esperadas baseadas no Equilíbrio de Hardy Weinberg

Tabela 16: Frequências genotípicas observadas e esperadas para o *locus* ProC10 pós rompimento da barragem B1 da Mina Córrego do Feijão

ProC 10	PÓS ROMPIMENTO DA BARRAGEM			
	Observada		Esperada	
Genótipos	N	Freq.	N	Freq.
20/20	19	0,202	37,9	0,036
23/23	45	0,478	89,8	0,108
20/23	17	0,180	33,84	0,125
NA	13			

Para o *locus* ProC 18 foram encontrados quatro alelos, são eles: 10, 18, 23 e 27, sendo que o alelo 10 foi encontrado apenas nas amostras pós rompimento da barragem. Os alelos 11, 15, 19 e 31 não foram amostrados nessa análise. As composições de genótipos foram para homocigotos: 23/23 e 27/27 e para heterocigotos: 23/27, 23/18 e 23/10 sendo que os genótipos 23/18 e 23/10 aparecem em apenas um indivíduo, cada (Tabela 17). Quatorze indivíduos não tiveram seus genótipos localizados.

Tabela 17: Frequências genótípicas observadas e esperadas para o *locus* ProC18 pós rompimento da barragem B1 da Mina Córrego do Feijão

ProC 18	PÓS ROMPIMENTO DA BARRAGEM			
	Observada		Esperada	
Genótipos	N	Freq.	N	Freq.
23/23	21	0,223	41,9	0,097
27/27	21	0,223	41,9	0,091
23/27	36	0,382	71,8	0,189
23/10	1	0,010	1,88	0,003
23/18	1	0,010	1,88	0,003
NA	14			

Para o *locus* ProC22, dez alelos foram detectados: 15, 20, 24, 27, 28, 31, 32, 34, 36 e 40. Os alelos 15, 20, 24, 27 e 34 não haviam sido amostrados anteriormente e já os alelos 44 e 48 não foram identificados nessa análise. Os alelos se agruparam em 19 composições genótípicas diferentes com dois homozigotos, são eles: 27/27 e 40/40, e 17 combinações de heterozigotos: 40/36, 40/34, 40/32, 40/31, 40/27, 40/24, 36/32, 36/31, 36/28, 36/24, 34/20, 32/27, 31/27, 31/15, 28/31, 28/27 e 24/27. Quatorze indivíduos não tiveram seus genótipos localizados (Tabela 18). O *locus* ProC 22 apresentou nesta análise a maior diversidade genotípica mesmo com a não amostragem de dois alelos anteriormente encontrados.

Tabela 18: Frequências genotípicas observadas e esperadas para o *locus* ProC22 pós rompimento da barragem B1 da Mina Córrego do Feijão

ProC 22	PÓS ROMPIMENTO DA BARRAGEM			
	Observada		Esperada	
	N	Freq.	N	Freq.
40/40	15	0,159	29,8	0,088
40/36	27	0,287	53,9	0,113
40/34	5	0,053	9,96	0,015
40/32	1	0,010	1,88	0,015
40/31	2	0,021	3,94	0,034
40/27	3	0,031	5,82	0,046
40/24	3	0,031	5,82	0,015
36/32	3	0,031	5,82	0,0009
36/31	2	0,021	3,94	0,022
36/28	2	0,021	3,94	0,011
36/24	2	0,021	3,94	0,009
34/20	1	0,010	1,88	0,0002
32/27	1	0,010	1,88	0,004
31/27	5	0,053	9,96	0,009
31/15	1	0,010	1,88	0,0005
28/31	1	0,010	1,88	0,003
28/27	3	0,031	5,82	0,004
27/27	2	0,021	3,94	0,006
24/27	1	0,010	1,88	0,004
NA	14			

O *locus* ProC 36 apresentou três novos alelos definidos, são eles: 42, 52 e 60. Esses alelos se apresentaram em três combinações genotípicas, todas homocigotas 42/42 52/52 e 60/60. Sendo que as combinações 42/42 e 60/60 foram encontradas em apenas um indivíduo, cada (Tabela 19). Nenhum dos seis alelos amostrados anteriormente (10, 13, 16, 19, 22 e 25) foram encontrados nesta análise. Trinta e oito indivíduos não tiveram seus genótipos localizados.

Tabela 19: Frequências genótípicas observadas e esperadas para o *locus* ProC36 pós rompimento da barragem B1 da Mina Córrego do Feijão

ProC 36	PÓS ROMPIMENTO DA BARRAGEM			
	Observada		Esperada	
Genótipos	N	Freq.	N	Freq.
42/42	1	0,010	1,88	0,0002 5
52/52	54	0,574	107,9	0,082
60/60	1	0,010	1,88	0,0002 5
NA	38			

O *locus* ProC 37 que nas análises anteriores apresentou sete alelos definidos (19, 22, 23, 27, 31, 25, e 39), agora pós rompimento da barragem apresentou apenas um alelo: 19, o que fez com que um *locus* altamente polimórfico se tornasse monomórfico, resultando em 73 combinações homozigóticas 19/19. (Tabela 20). Vinte e um indivíduos não tiveram seus genótipos localizados.

Tabela 20: Frequências genótípicas observadas e esperadas para o *locus* ProC37 pós rompimento da barragem B1 da Mina Córrego do Feijão

ProC 37	PÓS ROMPIMENTO DA BARRAGEM			
	Observada		Esperada	
Genótipos	N	Freq.	N	Freq.
19/19	73	0,776	145,8	0,159
NA	21			

O *locus* ProC 44 não foi observado por nenhum indivíduo amostrado pós rompimento da barragem B1 da Minas Córrego do Feijão.

O *locus* ProC 48 (Tabela 21) apresentou oito alelos nas análises de polimorfismos, são eles: 11, 26, 17, 28, 31, 34, 38 e 42. A distribuição desses alelos se deu da seguinte forma, dois homocigotos: 38/38 e 42/42 e sete heterocigotos: 38/34, 42/38, 38/31, 38/27, 38/11, 38/26 e 34/28. Sete dessas combinações: 42/42, 42/38, 38/31, 38/27, 38/11, 38/26 e 34/28 foram encontradas somente em um indivíduo, cada. Os alelos 11, 26, 27 e 28 foram exclusivos da análise pós rompimento da barragem e os alelos 30 e 46 amostrados anteriormente não foram identificados nessa análise. Oitenta e dois indivíduos não tiveram seus genótipos encontrados.

Tabela 21: Frequências genotípicas observadas e esperadas para o *locus* ProC48 pós rompimento da barragem B1 da Mina Córrego do Feijão

ProC 48 Genótipos	PÓS ROMPIMENTO DA BARRAGEM			
	Observada		Esperada	
	N	Freq.	N	Freq.
42/42	1	0,010	1,88	0,0001
42/38	1	0,010	1,88	0,0001
38/38	2	0,021	3,94	0,002
38/34	3	0,031	5,82	0,002
38/31	1	0,010	1,88	0,0005
38/27	1	0,010	1,88	0,0005
38/26	1	0,010	1,88	0,0005
38/11	1	0,010	1,88	0,0005
34/28	1	0,010	1,88	0,0002
NA	82			

O *locus* ProC 49 apresentou seis alelos nas análises, são eles: 71, 81, 85, 86, 89 e 93 todos amostrados exclusivamente nas amostras pós rompimento da barragem. A distribuição desses alelos se deu da seguinte forma: 71/71, 81/81, 85/85, 89/89 e 93/93 combinando em cinco homocigotos e 93/85, 93/81, 81/71, 93/89, 93/71, 89/86, 85/81 e 89/85 combinando em oito heterocigotos (Tabela 22). Os dez alelos descritos nas análises anteriores (33, 37, 41, 45, 47, 39, 52, 53, 57 e 61) não foram encontrados nas amostras coletadas pós o rompimento da barragem. Vinte e dois indivíduos não tiveram seus genótipos encontrados.

Tabela 22: Frequências genotípicas observadas e esperadas para o *locus* ProC49 pós rompimento da barragem B1 da Mina Córrego do Feijão

ProC 49 Genótipos	PÓS ROMPIMENTO DA BARRAGEM			
	Observada		Esperada	
	N	Freq.	N	Freq.
93/93	33	0,351	65,9	0,085
93/89	4	0,042	7,89	0,021
93/85	7	0,074	13,9	0,043
93/81	7	0,074	13,9	0,043
93/71	4	0,042	7,89	0,027
89/89	1	0,010	1,88	0,001
89/86	1	0,010	1,88	0,0003
89/85	1	0,010	1,88	0,005
85/85	5	0,053	9,96	0,005
85/81	1	0,010	1,88	0,010
81/81	3	0,031	5,82	0,005
81/71	3	0,031	5,82	0,006
71/71	2	0,021	3,94	0,002
NA	22			

É possível observar uma perda de alelos na população de *P. costatus* no Rio Paraopeba, quando comparamos os alelos descritos anteriormente com as amostras coletadas pós o rompimento da barragem Córrego do feijão. enquanto que os outros mudaram a sua frequência pós da instalação da barragem. Nos anos de 2014, 2015 e 2016 encontramos 52 alelos para os 8 diferentes *loci* estudados, desses, 32 alelos não foram amostrados nessa nova análise (Valor desconsiderando o *locus* ProC44). Essa perda alélica é um indicio de uma drástica redução na diversidade da espécie com um forte efeito gargalo. Em contrapartida 19 alelos não descritos anteriormente foram encontrados.

Tabela 23: Distribuição de alelos por locus

<i>Loci</i>	Alelos	Total	Alelos não amostrados
ProC10	20, 23	2	26
ProC18	<u>10</u> , <u>18</u> , 23 e 27	4	11, 15, 19 e 31
ProC22	<u>15</u> , <u>20</u> , <u>24</u> , <u>27</u> , 28, 31, 32, <u>34</u> , 36 e 40	10	44 e 48
ProC36	<u>42</u> , <u>52</u> e <u>60</u>	3	10, 13, 16, 19, 22 e 25
ProC37	19	1	22, 23, 27, 31, 35 e 39
ProC48	<u>11</u> , <u>26</u> , <u>27</u> , <u>28</u> , 31, 34, 38 e 42	8	30 e 46
ProC49	<u>71</u> , <u>81</u> , <u>85</u> , <u>86</u> , <u>89</u> e <u>93</u>	6	33, 37, 41, 42, 47, 49, 52, 53, 57, 61 e 65
	Total	34	
	Média	4,8	

*Os resultados em laranja, correspondem aos alelos que foram amostrados exclusivamente nas amostras coletadas pós rompimento da barragem Córrego do Feijão, no Rio Paraopeba.

Utilizando a função de frequência e HFP pelo software GenAlex (Tabela 24) foi possível determinar o índice de fixação $F = 0,165$ indicando pouca diferenciação genética nos pontos coletados. O índice I que mostra a medida da diversidade alélica e genética, equivalente ao índice Shannon-Weaver, ($I = 0,417$) nos mostra uma população com pouca diversidade genética. N_e , que indica uma estimativa do número de alelos igualmente frequentes em uma população ideal, foi de $N_e = 1,380$ o que corrobora com os dados de que a população diminuiu ainda mais a diversidade alélica quando comparamos com os resultados encontrados anteriormente ao rompimento da barragem.

Tabela 24: Diversidade genética avaliada nas populações de *P. costatus* estudadas

Pós rompimento a barragem do Córrego do Feijão									
		N	Na	Ne	I	Ho	He	uHe	F
Total	Mean	5,288	1,850	1,380	0,417	0,288	0,239	0,288	0,165

A análise de variância molecular (AMOVA) também foi calculada para as amostras posterior ao rompimento da Barragem Córrego do Feijão. A AMOVA (Figura 16) entre as populações analisadas mostra uma proporção de 52% de variação genética atribuída à variação entre os indivíduos, 37% da variação pode ser encontrada dentro dos indivíduos e 11% da diferença molecular ocorre entre as populações

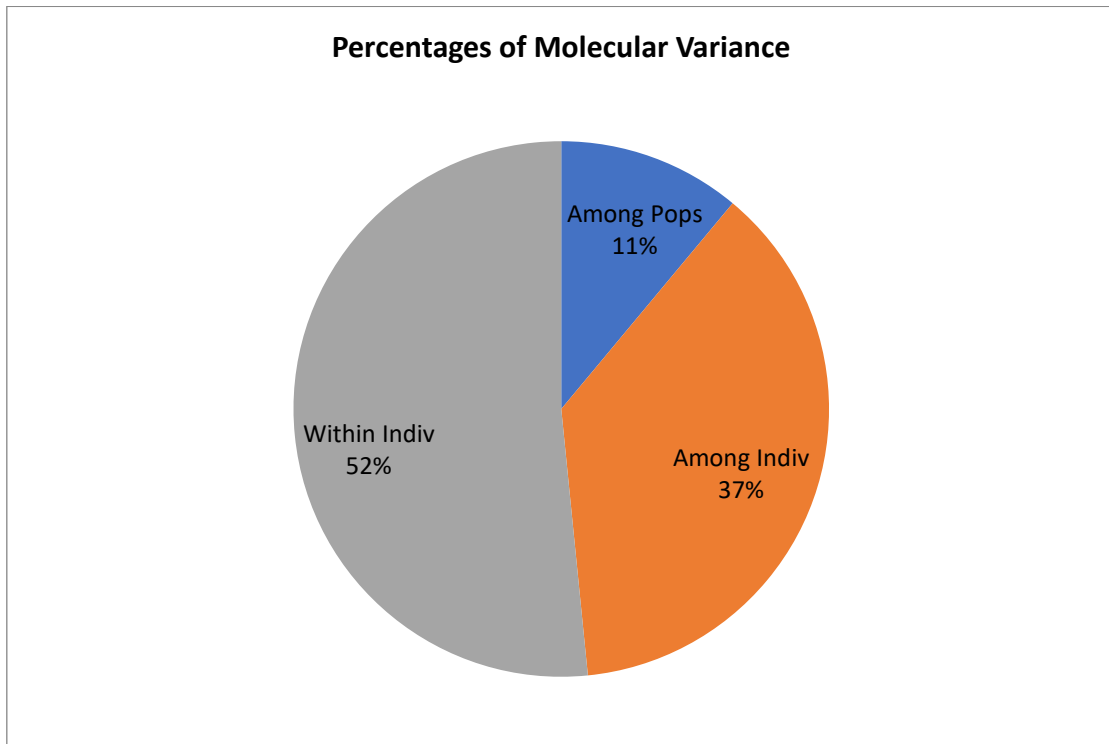


Figura 12: Análise da variância molecular (AMOVA) encontrada na população pós rompimento da Barragem do Córrego do Feijão

Os dados indicam que as diferenças entre os pontos de coletas aumentaram e que as diferenças dentro dos indivíduos aumentaram em relação aos dados anteriores ao rompimento da barragem.

5.5.3 Estrutura Populacional

Com o pacote Adegenet no Software Rstudio, calculamos o DAPC em todos os indivíduos com o melhor ajuste de clusters em $K = 3$. Houve uma grande variação de perfil genético nos pontos de coletas. Ao todo foram encontrados 9 perfis genéticos diferentes distribuídos de formas distintas. Os gráficos de pizza mostram a distribuição dos pools gênicos e suas frequências para

cada população de amostragem e os gráficos de barras a distribuição por amostras, onde cada linha representa um indivíduo (Figura 17). A população de JBRUM apresentou a maior variação de perfis genéticos tendo oito dos nove perfis encontrados sendo, portanto, o mais diverso, e está dividida em 30% do cluster 2, 15% dos clusters 1 e 5, 10% dos clusters 6 e 7 e 5% dos clusters 3 e 4. No ponto de RIBMAC foram encontrados sete perfis genéticos sendo 23% do cluster 7, 20% do cluster 4, 18% dos clusters 2 e 5, 13% do cluster 3, 5% do cluster 6 e 3% do cluster 1. Em PTAQ foram encontrados seis perfis genéticos 25% para os clusters 7 e 9 e 12,5% para os clusters 2, 5, 6 e 8 cada. No ponto SJB cinco perfis foram encontrados, divididos em 25% para os clusters 1, 6 e 9 e 12,5% para os clusters 4 e 5. Já nos pontos à RBA (50% do cluster 4, 38% do cluster 7 e 12% do cluster 2) e CRM (33,3% para os clusters 1, 6 e 9 cada) foram encontrados três perfis genéticos. As populações de MBRUM (50% do cluster 1 e 50% do cluster 6), RM (50% do cluster 5 e 50% do cluster 6), IGA (50% do cluster 1 e 50% do cluster 9), e CC (50% do cluster 1 e 50% do cluster 7), apresentaram apenas dois perfis genéticos distintos, cada, sendo portanto os pontos menos diversos amostrados.

A análise DAPC gerou 10 agrupamentos de componentes principais e 9 funções discriminantes (*eigenvalues*) foram usados. Apesar das populações dos pontos de MBRUM, SJB, PTAQ e IGA possuírem suas diferenças essas não foram suficientes para isolar as populações que se encontram todas sobrepostas (Figura 18).

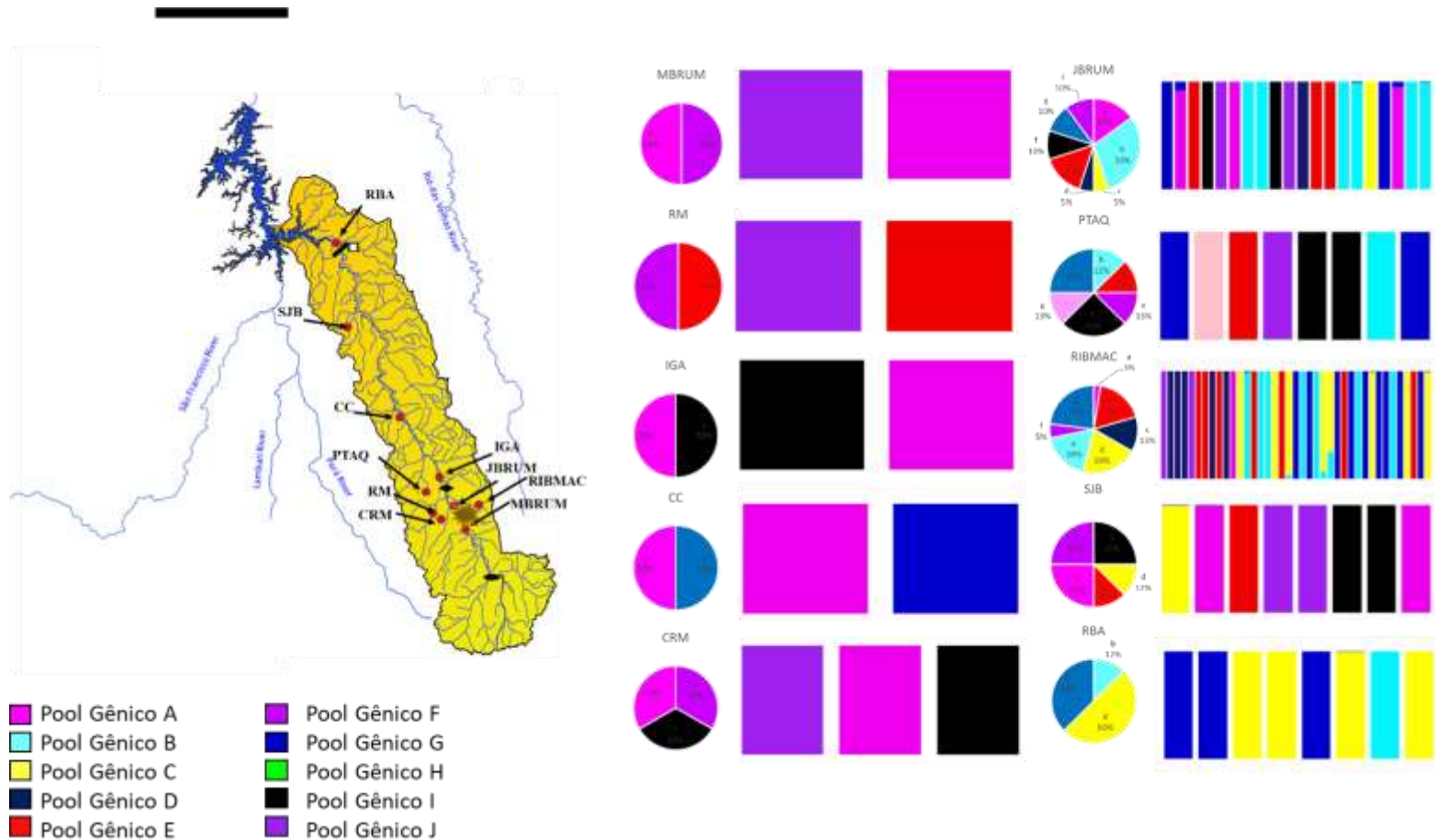


Figura 13: Atribuição de DAPC e subsequente agrupamento de indivíduos com clusters ótimos de $K = 3$, para amostras coletadas pós rompimento da barragem de Córrego do Feijão. Parcela de DAPC para 9 perfis genéticos atribuídos, cada um indicado por cores diferentes. Gráficos de pizza indicam a proporção de indivíduos de cada grupo amostral (MBRUM, JBRUM, RM, SJB, RM, CRM, PTAQ, CC, RBA e IGA) atribuído aos conjuntos genéticos relativos criados pelo DAPC.

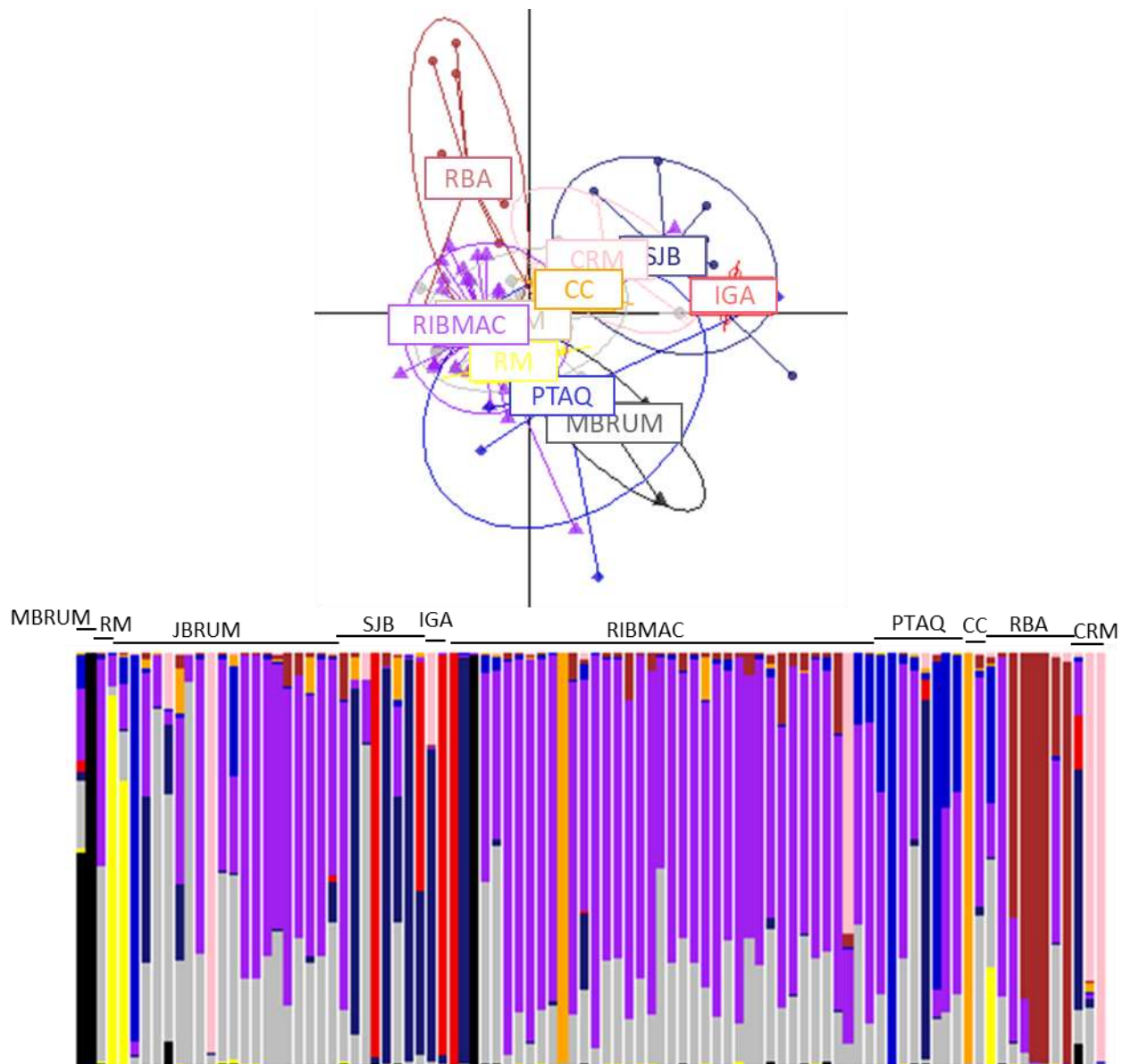


Figura 14: Agrupamento populacional por DAPC. Foram utilizados 10 componentes principais e 9 funções discriminantes. Plot da estrutura Bayesiana para 8 *loci* de microsatélites para 94 indivíduos relacionados. Gráfico de barras mostrando a designação da população dividido pela designação a priori da população. As cores indicam a contribuição percentual dos indivíduos das populações para os clusters atribuídos (eixo y), sendo os indivíduos representados por cada linha (eixo x). As linhas pretas superiores separam as populações das quais os indivíduos pertencem.

6. Discussão

6.1 O impacto da instalação da UHE de Retiro Baixo

As oscilações das populações de *P. costatus* da bacia do Rio Paraopeba nos mostra uma complexa interação de sua diversidade genética contemporânea e, recentes ações antrópicas na região. Este estudo é o primeiro a integrar períodos temporais com a influência das barragens implementadas nas construções de usinas hidrelétricas na diversidade genética de uma população. É um dos poucos estudos empíricos realizados em um rio brasileiro, que apresenta interferência diretamente abiótica e antrópica, que incorpora explicitamente esses fatores que moldaram a evolução desta importante espécie migradora.

O Rio Paraopeba é um dos principais afluentes do Rio São Francisco e uma importante fonte de abastecimento urbano e apesar disso enfrenta índices alarmantes de poluição sendo que 90% dos 35 municípios banhados pelo rio não tratam o esgoto doméstico (Sartori, 2017). A atividade mineradora na região central do estado é também um grave fator e compromete a qualidade da água em rios afluentes do Rio Paraopeba. O volume de lixo é tão grande no rio, que em alguns pontos, como perto do entroncamento do Rio Paraopeba com o Rio Betim, região altamente industrializada, a taxa de oxigenação é nula (Sartori, 2017). Nesse trecho são encontrados lixo orgânico e químico das indústrias metalúrgicas, o que acaba impedindo qualquer tipo de vida aquática. A poluição encontrada pode ser uma das causas do aumento das mutações observadas nas populações recentes (Sartori, 2017).

Este estudo delineou a estrutura genética das populações de *P. costatus* no Rio Paraopeba ao longo de vários anos hidrológicos (Pré barragem RBA: 2005/2006 e 2006/2007 – Pós Barragem RBA: 2014/2015 e 2015/2016). Os dados demonstraram estabilidade populacional com base em DAPC e AMOVA. Comparando a média de H_e ($H_e = 0,593$) detectada aqui para as populações de *P. costatus* pré barragem RBA com a média de H_e pós barragem RBA ($H_e = 0,561$) mostra que a diminuição do heterozigoto interpopulacional pode ser consequência das pressões de seleção que podem estar atuando na frequência de alguns *loci*, e, possivelmente, afetando as frequências alélicas e de heterozigosidade.

A diversidade alélica encontrada variou de um mínimo de 3, obtida para o *locus* ProC 10 até um máximo de 11, obtida para o *locus* proC 49, sendo, portanto, este último

um *locus* mais polimórfico. A diversidade alélica encontrada com os marcadores tri e tetra nucleotídeos utilizados também foi observada nos trabalhos de Melo 2011, Costa et al., 2008. Estimar N_e contemporâneo e passado é importante para sugerir ou inferir perda de diversidade uma vez que permite analisar os níveis de variação genética e seu impacto na aptidão de populações selvagens sob interferência humana (Palstra e Ruzzante 2008). Nosso estudo forneceu evidências de uma redução de N_e ($N_e = 3,200$ pré barragem RBA e $N_e = 2,759$ pós barragem RBA) de *P. costatus* desde que houve a implementação da barragem de RBA. A heterozigosidade observada, pré ($H_o = 0,345$) e pós barragem RBA ($H_o = 0,344$) teve valores médios baixos e significativamente menores do que a Heterozigosidade esperada ($H_e = 0,593$ pré barragem RBA e $H_e = 0,561$ pós barragem RBA) indicando que a população não está em equilíbrio de Hardy e Weinberg. Os valores de H_o são equivalentes aos valores encontrados no trabalho de Pimentel et al., 2020, e equivalentes aos valores encontrados no trabalho de Costa et al., 2008, nesta mesma região, também com *P. costatus*, realizado a mais de 10 anos. Além disso, os valores de $F(is)$ variaram de uma média de 0,377 pré barragem RBA e 0,329 pós barragem RBA, indicando valores de endogamia preocupantes.

Segundo Agostinho et al., (2004), a construção de hidrelétricas impacta as populações de peixes devido à fragmentação espacial e transformação do ambiente, o que pode influenciar diretamente no tamanho efetivo de tais populações.

A espécie *P. costatus* tem sido ameaçado devido à perda e fragmentação de seu habitat natural desde 1960 promovido pela expansão dos programas de construção de usinas hidrelétricas. Mostramos que a instalação da hidrelétrica não apenas de RBA, mas também a UHE de Três Marias contribuiu para graus variáveis de modificações na distribuição da diversidade genética e entre as populações de pré e pós barragem RBA (Campos et al. 2008; Finnengan e Stevens 2008; Hansen et al. 2009; Marie et al., 2010; Perrier et al., 2011b, 2013; Pimentel et al., 2020). No passado recente (1960-80), a população efetiva da *P. costatus* diminuiu repentinamente, o que pode ser devido à fragmentação do meio ambiente causada pela construção da Hidrelétrica de Três Marias. A baixa diversidade alélica causada por este evento ainda é detectada hoje, portanto, programas de repovoamento não parecem ser efetivos na expansão da diversidade genética desta espécie na bacia hidrográfica (Ludwig et al., 2020).

Assim, as oscilações detectadas no passado recente provavelmente são consequência da fragmentação do leito original do Rio São Francisco, e a construção do Reservatório de Três Marias pode ter funcionado como um grande depósito de peixes,

impedindo a conexão do Rio Paraopeba com o restante dos afluentes do Alto Rio São Francisco, causando o isolamento dessa população (Allendorf & Seeb, 2000; Habicht et al. 2004; Ramstad et al. 2004).

A migração e a conectividade entre as populações dos Rio Paraopeba e Rio São Francisco foram comprometidas após a fragmentação do leito original do rio (Sato & Godinho, 2004).

Quando comparamos o perfil genético das amostras deste estudo com o trabalho de Pimentel et al., 2020, podemos perceber que não há subdivisão das amostras do Rio Paraopeba, pré barragem RBA, quando comparada à população avaliada à montante do Rio São Francisco. Assim, é provável que o padrão genético único e os índices de diversidade genética distintos observados no Paraopeba reflitam a implementação da barragem de Três Marias e não apenas à instalação da Barragem de Retiro Baixo. Padrão também observado por Ludwig et al., 2020. Além disso, não há programas de repovoamento no Rio Paraopeba e a pesca está proibida no rio desde 2004 por lei estadual (Decreto nº 43.713, de 14 de janeiro de 2004), o que pode ter contribuído para distinção da população presente no Rio Paraopeba (Veado et al. 2006; De Vilhena et al. 2008; Calazans et al. 2018). O intervalo de tempo (número de gerações para atingir o equilíbrio mutação-deriva após grandes eventos demográficos) pode ter sido suficiente para gerar mudanças significativas nos padrões genéticos nessas populações, fato detectado por Pil et al. (2017) em *P. argentus*, espécie irmã, migradora, também encontrada na bacia do Rio São Francisco.

Deste modo, concluímos que os padrões genéticos apresentados na avaliação da implantação da UHE de Retiro Baixo, nos sugerem que um evento demográfico recente vem moldando a história evolutiva das populações de *P. costatus* na bacia do Rio Paraopeba, e os resultados mostram que as populações têm passado por um recente gargalo populacional, o que pode ser atribuído não apenas a implantação da barragem de Retiro Baixo, como também ao reservatório de Três Marias e as mudanças nos fatores abióticos, como a poluição, que influenciaram a migração e a sobrevivência desta espécie ao longo da bacia.

6.2 Avaliação do Impacto do desastre de Brumadinho

Os resultados apresentados neste trabalho são os primeiros que retratam o impacto da diversidade genética e estrutura populacional de uma espécie após o desastre ocorrido em Brumadinho.

De acordo com os dados deste estudo, é provável que a espécie *P. costatus* tenha sofrido danos na sua estruturação genética. Pelos estudos anteriores aqui mostrados e pelo trabalho de Pimentel et al., 2020 a espécie vinha se diferenciando e apresentando um perfil genético único e próprio no Rio Paraopeba, distinto do restante da bacia do Rio São Francisco. O estudo mostrou que a diversidade do grupo, que já estava reduzida se tornou ainda menor após o rompimento da barragem B1 do Córrego do Feijão o que pode acarretar prejuízos à sobrevivência da espécie. Danos à estrutura genética podem persistir para as gerações subsequentes e causar efeitos nos níveis individual e ecossistêmico (Caritá e Marin-Morales, 2008).

Foi possível observar mudanças no perfil genético da região após rompimento da barragem, já que muitos alelos (35) e combinações genotípicas encontradas antes do desastre não foram identificados. Em contrapartida, 19 novos alelos foram encontrados exclusivamente nas amostras coletadas pós o rompimento da barragem B1 do Córrego do Feijão. Peixes migratórios itérpicos, como *P. costatus* (Sato & Godinho 2004), retornam à sua área de moradia após a época de desova (Braga-Silva et al. 2016). Além disso, é possível que existam sub-populações espalhadas pelas calhas e tributários menores para essa espécie (Lopes, 2017). Como os peixes coletados nesta etapa eram em sua maioria, adultos, esses novos alelos podem ser provenientes de espécimes que anteriormente se encontravam apenas nos rios afluentes da sub-bacia Rio Paraopeba que posterior ao rompimento da barragem saíram de seus leitos originais e migraram para o leito principal do Rio Paraopeba, uma vez que as coletas foram feitas logo após o desastre da barragem, não dando tempo o suficiente para observar a mutação que os rejeitos poderiam causar nos indivíduos nascidos no Rio Paraopeba pós rompimento da barragem. . O surgimento dos novos alelos alterou a Heterozigosidade observada, ($H_o = 0,288$) que teve valores médios maiores que a Heterozigosidade esperada ($H_e = 0,239$) com média, $F = -0,165$, sugerindo excesso de heterozigotos em relação ao modelo de equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Outra evidência de que o surgimento desses novos alelos encontrados pode ser proveniente de peixes que se encontravam nos leitos secundários do Rio Paraopeba foi o fato da coleta ter sido realizada no período migratório do peixe. Diversos fatores interferem

da decisão do indivíduo de *P. costatus* decidir iniciar a migração. Entre eles fotoperíodo, temperatura da água. (Lopes, 2019) onde a turbidez e o pH da água, apesar de serem importantes não interferiram na escolha do indivíduo na decisão de migrar.

A análise de variância molecular (AMOVA) mostrou que a maior parte da variância encontrada (52%) agora é dentro dos indivíduos. Já entre as populações, o componente de variância entre as populações agora é de 11% indicando um aumento na diferenciação dos pontos estudados, quando comparamos com as amostras anteriores.

Este estudo mostrou a presença de nove pool gênicos. Em cinco dos 10 pontos de coleta foram encontrados apenas dois pools. O gráfico de estruturação nos mostra que os pontos a montante de Brumadinho, que não sofreu os impactos dos rejeitos e a Jusante de RBA, mostraram um perfil genético divergente dos outros pontos. Provavelmente foram os locais menos afetados pelos rejeitos e o perfil genético possui características mais próximas com o que foi descrito anteriormente.

As amostras coletadas após o rompimento da barragem, foram difíceis de serem processadas, devido ao alto índice de inibidores presentes nos tecidos coletados, o que justifica o alto índice de genótipos não identificados pelo sequenciamento. A contaminação e acumulação dos metais presentes nos rejeitos da barragem foram encontrados em nos tecidos de diversas espécies de peixes no Rio Paraopeba e podem persistir e se propagar ao longo da cadeia trófica, o que pode atrasar a recuperação deste desastre ambiental (Escobar, 2015). De acordo com Parente et al., 2021, mercúrio e o chumbo foram metais mais concentrados nos músculos dos peixes do Rio Paraopeba. Além disso, Hedayati et al., 2015; Dolci et al., 2017; Tuzuki et al., 2017 mostraram que altas concentrações de metais como o de Manganês, também encontrado com valores elevados no Rio Paraopeba, podem causar efeitos letais, subletais e citogenotóxicos em peixes.

Neste estudo, foi possível observar um indivíduo com alteração na estrutura e morfologia de seu aparelho bucal, mas em nosso estudo não foi possível observar especificadamente modificações genéticas que levariam a essa alteração. Esse tipo de aberração precisa ser melhor estudada. Quadra, et al., 2019 observou efeitos citogenotóxicos, como alterações nos índices mitóticos e de fase, e aumento na frequência de aberrações cromossômicas no desastre de Mariana, com o rompimento da Barragem do Fundão.

Os dados apresentados aqui demonstram a necessidade de monitoramento a longo prazo, de toda bacia hidrográfica do São Francisco devido ao avanço de rejeitos e dos danos observados no Rio Paraopeba em amplas escalas temporais e espaciais para apoiar

estratégias de mitigação e um entendimento profundo dos efeitos que ainda estão ocorrendo neste ecossistema.

7. Conclusão

Este estudo destacou a complexa interação de eventos ecológicos e evolutivos na formação da história de vida de *P. costatus* na sub-bacia do Rio Paraopeba. As populações de *Prochilodus costatus* foram submetidas a um evento de gargalo abrupto no passado recente (1960–80), provavelmente devido à fragmentação ambiental promovida pela construção de barragens hidrelétricas. Os resultados deste trabalho mostram que as populações de *P. costatus* ainda estão sujeitas à depressão por endogamia, devido às mudanças ambientais causadas por ações antrópicas, levantando a questão de quanto tempo essas populações irão persistir. Os principais resultados observados são:

- Pré construção da Barragem de Retiro Baixo havia apenas uma população ao longo do Rio Paraopeba nos pontos amostrados;
- Após a construção da Barragem de Retiro Baixo a população ainda é a mesma e única ao longo de toda a extensão do Rio;
- A população pós construção da Barragem começa a ter uma estruturação, não observada anteriormente;
- Após a construção da Barragem houve um aumento no número de alelos nos *loci* estudados;
- A população do Rio Paraopeba é distinta do Restante da Bacia do Alto São Francisco desde antes da construção da Barragem de Retiro Baixo;
- Pós rompimento da barragem Córrego do Feijão houve uma grande perda alélica nos *loci* estudados;
- Houve uma alteração no perfil genético encontrado pós rompimento da barragem de rejeitos;
- Necessidade de avaliação e monitoramento genético da espécie de *P. costatus* ao longo do Rio Paraopeba e de toda bacia do São Francisco.

8. Referências Bibliográficas

Abreu MM, Pereira LHG, Vila VB, Foresti F & Oliveira C (2009) Genetic variability of two populations of *Pseudoplatystoma reticulatum* from the Upper Paraguay River Basin, *Genetics and Molecular Biology*, 32 (4): 868-873.

Agostinho A.A, Vazzoler A.E.A De M, Gomes L.C, Okada E.K (1993). Estratificación y comportamiento de *Prochilodus scrofa* em distintas fases del ciclo de vida, em la planície de inundação del alto rio Paraná y embalse de Itaipu, Paraná, Brasil. *Rev. Hydrobiol* 26(1): 79-90.

Agostinho A.A. (1994). Pesquisa, monitoramento e manejo da fauna aquática em empreendimentos hidrelétricos. IN Seminário sobre a fauna aquática e setor elétrico brasileiro: gerenciamento de bacias hidrográficas e a fauna aquática. Comitê Coordenador das Atividades de Meio Ambiente do Setor Elétrico – COMASE, ELETROBRÁS. Rio de Janeiro

Agostinho A. A. ; Miranda, L. E. ; Bini, L. M. ; Gomes, L. C. ; Thomaz, S. M. ; Suzuki, H. I.(1999). Patterns of colonization in neotropical reservoirs, and prognoses on aging. IN: J. G. Tundisi; M. Straskraba. (Org.). *Theoretical Reservoir Ecology and its applications*. IIE/Backhuys Publishers/Brazilian Academy of Sciences, São Carlos-SP, p. 227-265

Agostinho, A. A.; Julio JR, H. F.; Petrere JR, M. Itaipu reservoir (Brazil): impacts of the impoundment on the fish fauna and fisheries. In: COWX, I. G. (ed.). *Rehabilitation of freshwater fisheries*. Osney Mead, Oxford: Fishing News Books, 1994. p. 171-184.

Alves CBM (2007) Evaluation of fish passage through the Igarapé Dam fish ladder (Rio Paraopeba, Brazil), using marking and recapture. *Neotropical Ichthyology*, 5 (2): 233-236.

Araújo-Lima CARM, Forsberg BR, Victoria R & Martinelli L (1986) Energy sources for detritivorous fishes in the Amazon. *Science*, 234: 1256-1258.

Anne C. (2006). Choosing the right molecular genetic markers for studying biodiversity: from molecular evolution to practical aspects. *Genética* 127(1-3): 101-120.

Arantes F.P.; Santos H.B.; Rizzo E.; Sato Y.; Bazzoli N. (2010a). Collapse of the reproductive process of two migratory fish (*Prochilodus argenteus* and *Prochilodus costatus*) in the Tres Marias Reservoir, Sao Francisco River, Brazil. *Journal of Applied Ichthyology* 1-7.

Arantes F.P.; Santos H.B.; Rizzo E.; Sato Y.; Bazzoli N. (2010b). Profiles of sex steroids, fecundity, and spawning of the curimatã-pacu *Prochilodus argenteus* in the São Francisco River, downstream from the Três Marias Dam, Southeastern Brazil. *Animal Reproduction Science* 118: 330-336.

Avise, J. C. (1994). *Molecular markers, natural history and evolution*. New York: Chapman e Hall.

Avise, J. C. (2004). *Molecular Markers, Natural History, and Evolution*. 2. ed. Nova York: Sinauer Associates, Inc. 541p.

Barroca, TM., Análise da variabilidade genética de *Prochilodus* spp. (Prochilodontidae) das bacias dos rios Paraopeba, Pará, e Grande, utilizando marcador de complexas repetições hipervariáveis. Tese de doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais, 2012.

Barroso RM, Hilsdorf AWS, Moreira HLM, Cabello PH & Traub-Cseko YM (2005) Genetic diversity of wild and cultured populations of *Brycon opalinus* (Cuvier, 1819) (Characiforme, Characidae, Bryconiae) using microsatellites. *Aquaculture*, 247: 51-65.

Bermingham, E. & Avise, J. C. (1986) Molecular zoogeography of freshwater fishes in the southeastern United States. *Genetics*, n.113, 939-965.

Beverton, R.J.H. *Fish resources; threats and protection*. *Netherlands Journal of Zoology*, v. 42, p. 139-175, 1992.

Bignotto, T. S. et al. Genetic Divergence Between *Pseudoplatystoma corruscans* and *Pseudoplatystoma reticulatum* (Siluriformes: Pimelodidae) In The Paraná River Basin Braz. *J. Biol.* 69 2: 681-689. 2009.

Bowen SH (1984) Detritivory in Neotropical fish communities. In: Zaret TM, Evolutionary ecology of neotropical fresh water fishes, The Hague: W. Junk Publishers, p. 59-66

Bowen SH, Bonetto AA & Ahlgren MO (1984) Microorganisms and detritus in the diet of a typical neotropical riverine detritivore, *Prochilodus platensis* (Pisces, Prochilodontidae). Limnology and Oceanography, 29 (5): 1120-1122.

Buckup PA (1998) Relationships of the Characidiinae and phylogeny of characiform fishes (Teleostei: Ostariophysi). p. 123-144. In: Malabarba LR, Reis RE, Vari RP, Lucena ZM & Lucena CA (Eds.). Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes, Porto Alegre: EDIPUCRS, p. 279-330.

Butler J.M., Hill C.R., Kline M.C., DUEWER D.L., Sprecher C.J., McLaren R.S., Rabbach D.R., Krenke B.E., Storts D.R. (2009). The single most polymorphic STR Locus: SE33 performance in U.S. populations. Forensic Science International: Genetics Suppl 2:23-24

Calcagnotto D & DeSalle R (2009) Population genetic structuring in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) across the Paraná-Paraguay basin: evidence from microsatellites. Neotropical Ichthyology, 7 (4): 607-616.

Camargo SAF & Petrere M (2001) Social and financial aspects of the artisanal fisheries of Middle São Francisco River, Minas Gerais, Brazil. Fish Management and Ecology, 8: 163-171.

Carrillo-Avila, M. Caracterização genética de populações de Jaú (Siluriformes: Pimelodidae) Utilizando Marcadores Mitocondriais E Nucleares, 2009 123p. Tese (Doutorado Em Genética E Evolução) Universidade Federal De São Carlos, São Carlos, 2009.

Carosfeld J., Harvey B., Ross C., Baer A., (2003). Migratory fishes of South America: biology, fisheries and conservation status. World Fisheries Trust, Victoria, 372 p.

Carvalho-Costa LF, Hatanaka T & Galetti PM (2008) Evidence of lack of population substructuring in the Brazilian freshwater fish *Prochilodus costatus*. *Genetics and Molecular Biology*, 31 (1): 377-380

Castro RMC & Vari RP (2003) Family Prochilodontidae. In: Reis RE, Kullander SO & Ferraris Jr. CJ. Check List of the Freshwaters of South and Central America, Porto Alegre, EDIPUCRS, p. 65-70.

Castro RMC & Vari RP (2004) Detritivores of the South American Fish Family Prochilodontidae (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes): A Phylogenetic and revisionary study. *Smithsonian Contributions to Zoology*, n. 622. Smithsonian Books.

Chakraborty, R.; Leimar, O. Genetic variation within a subdivided population. In: *Population Genetics and Fishery Management*. Seattle: University of Washington Press, 1987. p. 89-120

CETEC (1983) Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais. Diagnóstico ambiental do estado de Minas Gerais, Belo Horizonte. 158p.

Chenuil A. (2006). Choosing the right molecular markers for studying biodiversity: from molecular evolution to practical aspects. *Genética* 127:101-120.

Chistiakov DA, Hellemans B, Volckaert FAM (2006) Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. *Aquaculture*, 255: 1-29.

Danzmann, R.G.; Ihssen, P.E.; Herbert, P.D.N. Genetic discrimination of wild and hatchery populations of brook char, *Salvelinus fontinalis* (Mitchill), in Ontario using mitochondrial DNA analysis. *Journal of Fish Biology*, v. 39 (A), p. 69-77, 1991.

Dizon, A.E.; Lockyer, C.; Perrin, W.F.; Demaster, D.P.; Sisson, J. Rethinking the stock concept: a phylogeographic approach. *Conservation Biology*, v. 6, p. 24-36, 1992

Da Silva, BMB; da Silva, Demetrius D e Moreira, MC. Índices para a gestão e planejamento de recursos hídricos na bacia do Rio Paraopeba, Estado de Minas Gerais. *Rev. Ambient. Água* [online]. 2015, vol.10, n.3, pp.685-697. ISSN 1980-993X.

De Freitas, P. D. Estudos de diversidade genética em estoques reprodutores de camarões *Litopenaeus vannamei* Cultivados No Brasil. 2003. 119p Tese (Doutorado em Genética e Evolução) Departamento de Genética e Evolução, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2003.

DeWoody JA, Avise JC (2000) Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *Journal of Fish Biology*, 56: 461- 473.

Drumond, G. M., C. S. Martins, A. B. M. Machado, F. A. Sebaio & Y. Antonini. 2005. Biodiversidade em Minas Gerais: um atlas para sua conservação. Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas. 222p.

Ellegren H. (2004). Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nature Reviews Genetics* 5: 435 – 445.

Ferreira M. E., Grattapaglia D. (1996). Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 2ª ed. EMBRAPA – CENARGEN, Brasília

Ferreira, M.E.; Grattapaglia, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 3 ed. Brasília: Embrapa-Cernagen, 1998. 220p.

Ferguson, M.M. & R.G. Danzmann, 1998. Role of genetic markers in fisheries and aquaculture: useful tools or stamp collecting?. *Can.J. Fish. Aquat. Sci.* 55:1553-1563.

Flecker AS (1996) Ecosystem engineering by a dominant detritivore in a diverse tropical stream. *Ecology*, 77: 1845–1854.

Froese R and Pauly D (2006) Fishbase, versão 21. World wide web publication. Available in www.fishbase.org (access in March 2006).

Froese, R.; D. Pauly. (Eds.).FishBase. World Wide Web Electronic Publication. Disponível em: <<http://www.fishbase.org>>. Acesso em: 17 nov. 2016.

Gill P., Kimpton C. P., d'Aloja E., Andersen J. F., Bar W., Brinkmann B., Holgersson S., Johnsson V., Kloosterman A. D., Lareu M. V., Nellemann L., Pfitzinger H., Phillips C. P., Schmitter H., Schneider P.M., Stenersen M. (1994). Report of the European DNA profiling group (EDNAP)--towards standardisation of short tandem repeat (STR) *loci*. Forensic Science International 65: 51–59.

Godinho H.P., Godinho A.L. (1994). Ecology and conservation of fish in southeastern Brazilian river basins submitted to hydroelectric impoundments. Acta Limnologica Brasiliensa, pp.187- 197, vol V. Workshop: Brazilian programme on conservation and management on inland water.

Goulding M (1981) Man and fisheries on an Amazon frontier. Kluwer Academic Publishers. 137p.

Gyllensten, U.B. The genetic structure of fish: differences in the intraspecific distribution of biochemical genetic variation between marine, anadromous, and freshwater species. Journal of Fish Biology, v. 26, p. 691-699, 1985.

Gulland, J.A. Manual of methods of fish stock assessment. Part I. Fish Population Analysis. FAO Manual of Fishery Science, v. 4, p. 154, 1969.

Hatanaka T & Galetti PM (2003) RAPD markers indicate the occurrence of structured populations in a migratory freshwater fish species. Genetics and Molecular Biology, 26 (1): 19-25.

Hatanaka T, Henrique-Silva F, Galetti PM (2006) Population substructuring in a migratory freshwater fish *Prochilodus argenteus* (Characiformes, Prochilodontidae) from the São Francisco River. Genetica, 126: 153-159.

Hausdorf B, Wilkens H & Strecker U (2011) Population genetic patterns revealed by microsatellite data challenge the mitochondrial DNA based taxonomy of *Astyanax* in Mexico (Characidae, Teleostei). Molecular Phylogenetics and Evolution, 60: 89-97.

Heggenes, J. Roed, K. H. (2006). Do dams increase genetic diversity in brown trout (*Salmo trutta*)? Microgeographic differentiation in a fragmented river. *Ecology of freshwater fish*, 15: 366 -375.

Hilsdorf, AWS, Resende EK., Marques, DKS *Genética e Conservação de Estoques Pesqueiros de Águas Continentais no Brasil: Situação Atual e Perspectivas* Genética e Conservação de Estoques Pesqueiros de Águas Continentais no Brasil: Situação Atual e Perspectivas. Corumbá, 2006 MS

Hrbek T, Crossa M & Farias IP (2007) Conservation strategies for *Arapaima gigas* (Schinz, 1822) and the Amazonian várzea ecosystem. *Brazilian Journal of Biology*, 67(4, suppl.): 909-917

Jarne P. e Lagoda, P.J.L. (1996) Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends in Ecology and Evolution*. 11: 424-429

Junk W.J., Bayley P.B., Sparks R.E., (1989). The flood pulse concept in river-floodplain systems. *Canadian Journal of Fishers and Aquatic* 106: 110-127.

Kohler HC (2003) Aspectos Geoecológicos da Bacia Hidrográfica do São Francisco (Primeira Aproximação na Escala 1:1 000 000) In: Godinho HP & Godinho AL (Org.), *Águas, Peixes e Pescadores do São Francisco das Minas Gerais*. Belo Horizonte, PUC-MG. p.25-35

Lászick A., Sótonyi P., Rand S., Hohoff C. (2001). Frequency data for the STR *locus* ACTBP2 (SE33) in eight populations. *International Journal of Legal Medicine* 115:94-96.

Larinier, M. 2002. Fishways—general considerations. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*, 364:21–27

Lopes J.M., Bedore A.G. (2008). Peixamento como medida ambiental mitigadora do impacto na ictiofauna. *Ação Ambiental (UFV)*, 39:28-34.

Lowe-McConell R (1975) Fish communities in tropical freshwaters. New York, Longman Publishing. 337p.

Martins S.L., Tamada K. (2000). Sistemas para a transposição de peixes (Boletim Técnico da Escola Politécnica da USP, Departamento de Engenharia Hidráulica e Sanitária, BT/PHD/72). São Paulo: EPUSP.

Matsumoto CK & Hilsdorf AWS (2009) Microsatellite variation and population genetic structure of a neotropical endangered Bryconinae species *Brycon insignis* Steindachner, 1877: implications for its conservation and sustainable management. *Neotropical Ichthyology*, 7 (3): 395-402.

Medeiros E. S. F., Maltchick L. (2001). Fish assemblage stability in an intermittently stream from the Brazilian semiarid region. *Austral Ecology* 26:156–164.

Melo, BF de. Genética de populações de *Prochilodus argenteus* e *P. costatus* do médio São Francisco. - Botucatu, 2011 Dissertação (mestrado) – Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2011

Menezes NA (1996) Methods for assessing freshwaters fish diversity. In: Bicudo CEM, Menezes NA (Eds.) Biodiversity in Brazil: a first approach. São Paulo, CNPq, 326p.

Morita K., Yamamoto S., (2001). Effects of habitat fragmentation by damming on the persistence of stream-dwelling charr populations. *Conservation Biology* 5 (16): 1318-1326.

Nelson JS (2006) *Fishes of the World* (4^a ed.) John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, 601 p.

Neraas L. P., Spruell P., (2001). Fragmentation of riverine systems: the genetic effects of dams on bull trout (*Salvelinus confluentus*) in the Clark Fork River system. *Molecular Ecology* 10: 1153-1164.

Northcote T. G. (1984). Mechanisms of Fish Migration In Rivers. IN: J. D. Mc-Cleave; G. P. Arnold; J. J. Dodson & W. H. Neill (Eds.) *Mechanisms of Migration In Fishes*. Plenum Press,

New York and London, 317-355 p.

Oliveira C, Foresti F, Hilsdorf AWS (2009) Genetics of neotropical fish: from chromosomes to populations. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35: 81-100,

Parker, P. G., Snow, A. A., Schug, M. D., Booton, G. C., Furerst, P. A., (1998). What molecules can tell us about populations: choosing and using a molecular marker. *Ecology* 79(2): 361-382.

Pavlov D. S.; Lupandin A. I. & Kostin V. V. (2002). Downstream migration of fish throughdams of hydroelectric power plants. Russian Academy of Science, Moscow, 249p

Pereira LHG, Foresti F & Oliveira C (2009) Genetic structure of the migratory catfish *Pseudoplatystoma corruscans* (Siluriformes: Pimelodidae) suggest homing behavior. *Ecology of Freshwater Fish*, 18: 215-225

Pereira SB., Pruski FF., Da Silva DD., Ramos MM., *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* v.11, n.6, p.615–622, 2007 Campina Grande, PB, UAEAg/UFCG – <http://www.agriambi.com.br> Protocolo 124.06 – 03/10/2006 • Aprovado em 22/06/2007
Estudo do comportamento hidrológico do Rio São Francisco e seus principais afluentes

Pfenninger, M; Posada, D. Phylogeographic, History Of Land Snail *Candidula Unifasciata* (Helicellinae, Atylommato-phora): Fragmentation, Corridor Migration, And Secondary Contact. *Evolution* 56 (9) p. 1776-1788, 2002.

Petts G. E. (1989). Perspectives for ecological management of regulated rivers. IN: A. Gore; G. E. Petts (ed) *Alternatives in regulated river management*. CRC Press, Boca Raton, 3-24p.

Poke F. S. et al., (2005). Genomic research in *Eucalyptus*. *Genetica* 125:79-101.

Pompeu P.S., Santos H.A., Alves C.B.M. (2008). Primeiro simpósio de passagens da América do Sul. *Ação Ambiental (UFV)*, 39: 7-9

Revaldaves E, Renesto E, Machado MFPS (1997) Genetic variability of *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae) in the upper Paraná river. Brazilian Journal of Genetics, 20 (3): 381-388.

Reid T.M., Ingala D.A., Kraemer C.M., Dage W.M., Dieckhoner C., Fortman J., Hodge D.M., Johnson K.L., Oatman C., Schlotman H., Schuh C., Baird M.L. (2003). Distribution of HUMACTBP2 (SE33) alleles in three North American populations. J Forensic Sci., 48(6):1422-3.

Reid S.M., Wilson C.C., Mandrak N.E., Carl L.M. (2008). Population structure and genetic diversity of black redhorse (*Moxostoma duquesnei*) in a highly fragmented watershed. Conservation Genetics 9:531-546.

Rosa, A. J. de M.; Sonoda, K. C. Aplicação de DNA Barcoding no levantamento de espécies de insetos. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2010. Disponível em: <<http://www.cpac.embrapa.br/noticias/artigosmidia/publicados/217/>> Acesso em: 01 de Ago de 2016

Rokas, A.; Ladoukakis, E.; Zouros, E. (2003) Animal mitochondrial DNA recombination revisited. Trends in Ecology and Evolution, v. 18, p.411-417.

Ryman, N.; Utter, F. Population Genetics and Fishery Management. Seattle: Univ. Washington Press, 1987.

Sato Y et al. (1996). Hypophysation parameters of the fish *Prochilodus marggravii* obtained in routine hatchery station conditions. Revista Brasileira de Biologia 56 (1): 59-64.

Sato Y, Cardoso EL & Amorim JCC (1987) Peixes das lagoas marginais do Rio São Francisco a montante da represa de Três Marias (Minas Gerais). Brasília: CODEVASF, 42p.

Sato Y, Cardoso EL, Godinho AL, Godinho HP (1996) Hypophysation parameters of the fish *Prochilodus marggravii* obtained in routine hatchery station conditions. Revista Brasileira de Biologia, 56: 59–64.

Sato Y & Godinho HP (2003) Migratory fishes of the São Francisco river. In: Carolsfeld J, Harvey B, Ross C & Baer A. Migratory fishes of South America: biology, fisheries and ecological status. Victoria, Canadian: IDRC, p. 195-232.

Sabino, CVS., Abreu, JF., Lobato, W., Sabino, GS., Knup, EAN., Revista de Biologia e Ciências da Terra ISSN 1519-5228 Volume 8 - Número 2 - 2º Semestre 2008 Análise de alguns aspectos da qualidade da água da Bacia do Rio Paraopeba utilizando estatística multivariada

Schlötterer, C. (2000). Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. *Chromosoma* 109(6): 365-371.

Schlötterer C. (2004). The evolution of molecular markers – just a matter of fashion? *Nat Rev Gen* 5: 63-69.

Schwartzman A.S., Nascimento N.O., Sperling M.V. (2002). Outorga e cobrança pelo uso de recursos hídricos: aplicação à bacia do Rio Paraopeba, MG. *Revista Brasileira de Recursos Hídricos* 7: 103-122.

Smith, P.J. Genetic resources and fisheries: policy aspects. In: Pullin, R.S.V.; Bartley, D.M.; Kooiman, J. (eds.). *Towards Policies for Conservation and Sustainable Use of Aquatic Genetic Resources*, ICLARM Conf. Proc. 59, 1999. p. 43-62.

Smith, P.J.; Jamieson, A.; Birley, A.J. Electrophoretic studies and stock concept in Marine Teleosts. *Journal du Conseil Permanent International Pour L Exploration de la Mer*, v. 47, p. 231-245, 1990.

Solé-Cava, A.M. Biodiversidade molecular e genética da conservação. In: Matioli, S.R. (ed.). *Biologia Molecular e Evolução*, Ribeirão Preto: Holos Editora, 2001. p.172-192.

Thorpe, J. P., Sole-Cava, A. M., Watts, P. C. Exploited marine invertebrates: genetics and fisheries. *Hydrobiologia* 420:165-184. 2000.

Urquhart A., Kimpton C.P., Gill P. (1993). Sequence variability of the tetranucleotide repeat of the human beta-actin related pseudogene H-beta-Ac-psi-2 (ACTBP2) *locus*. Human Genetics, 92 (6):637-638.

Vari RP (1983) Phylogenetic relationships of the families Curimatidae, Prochilodontidae, Anostomidae and Chilodontidae (Pisces, Characiformes). Smithsonian Contributions to Zoology, 378: 1-60.

Vazzoler A. E. A. M.; Lizama M. A. P.; Inada P. (1997). Influências ambientais sobre a sazonalidade reprodutiva. IN: A. E. A. M. Vazzoler; A. A. Agostinho; N. S Hahn, E. N. S. (ed). A planície de inundação do alto rio Paraná: aspectos físicos, biológicos e socioeconômicos. EDUEM, Maringá, 267-280p

Vrijenhoek R. C., (1998). Conservation genetics of freshwater fish. Journal of Fish Biology 53 (Supplement A): 394 - 412.

Wasko AP & Galetti PM (2002) RAPD analysis in the Neotropical fish *Brycon lundii*: genetic diversity and its implications for the conservation of the species. Hydrobiologia, 474: 131-137.

Ward, R.D.; Hanner. R.; Hebert, P.D.N. Dna Barcoding Australia's Fish Species. Philosophical Transactions Of Royal Society B: Biological Science 360, p.1847–1857. 2005

Ward, R. D. DNA barcode divergence among species and genera of birds and fishes. Molecular Ecology Resources, v.9, p.1077-1085, 2009.

Welcomme R.L. (1979). Fisheries ecology of floodplain rivers. Logman Group Limited, London, 316 p.

Wolstenholme, D. R. 1992. Animal mitochondrial DNA: structure and evolution. International Review of Cytology, v. 141, p. 173-216.

Zane L., Barceloni L., Patarnello T., (2002). Strategies for microsatellite isolation: a review. Molecular ecology 11: 1-16.

Anexo 1: Publicação em Primeira Autoria

Complete mitochondrial genome sequence of *Hypostomus francisci* (Siluriformes: Loricariidae)

Adriana Heloísa Pereira, Susanne Facchin, Anderson Oliveira do Carmo, Daniela Núñez Rodriguez, Leonardo Cardoso Resende, Yan Kalapothakis,

Anexo 1: Publicação em Primeira Autoria



Mitochondrial DNA Part B *Resources*



ISSN: (Print) 2380-2359 (Online) Journal homepage: <https://www.tandfonline.com/loi/tmdn2> 0

Complete mitochondrial genome sequence of *Hypostomus francisci* (Siluriformes: Loricariidae)

Adriana Heloísa Pereira, Susanne Facchin, Anderson Oliveira do Carmo, Daniela Núñez Rodriguez, Leonardo Cardoso Resende, Yan Kalapothakis, Pedro Brandão Dias Ferreira Pinto, Carlos Bernardo Mascarenhas Alves, Cláudio Henrique Zawadzki & Evanguedes Kalapothakis

To cite this article: Adriana Heloísa Pereira, Susanne Facchin, Anderson Oliveira do Carmo, Daniela Núñez Rodriguez, Leonardo Cardoso Resende, Yan Kalapothakis, Pedro Brandão Dias Ferreira Pinto, Carlos Bernardo Mascarenhas Alves, Cláudio Henrique Zawadzki & Evanguedes Kalapothakis (2019) Complete mitochondrial genome sequence of *Hypostomus francisci* (Siluriformes: Loricariidae), *Mitochondrial DNA Part B*, 4:1, 155-157, DOI: [10.1080/23802359.2018.1544860](https://doi.org/10.1080/23802359.2018.1544860)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/23802359.2018.1544860>



© 2019 The Author(s). Published by Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group.



Published online: 27 Dec 2018.



[Submit your article to this journal](#)



Article views: 438



[View related articles](#)



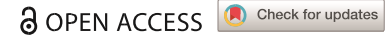
[View Crossmark data](#)













Citing articles: 3 [View citing articles](#)

Full Terms & Conditions of access and use can be found at
<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=tmdn20>

MITOGENOME ANNOUNCEMENT



Complete mitochondrial genome sequence of *Hypostomus francisci* (Siluriformes: Loricariidae)

Adriana Heloisa Pereira^a , Susanne Facchin^a , Anderson Oliveira do Carmo^a ,
 Daniela Nunez Rodriguez^a , Leonardo Cardoso Resende^a , Yan Kalapothakis^a ,
 Pedro Brandão Dias Ferreira Pinto^a , Carlos Bernardo Mascarenhas Alves^b ,
 Claudio Henrique Zawadzki^c  and Evanguedes Kalapothakis^a 

^aDepartment of General Biology, Laboratory of Biotechnology and Molecular Markers, Institute of Biological Sciences, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil; ^bNuvelhas, Manuelzão Project, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil; ^cCenter for Research in Limnology, Ichthyology, and Aquaculture – Museum of Nupelia, State University of Maringá, Parana, Brazil

ABSTRACT

Hypostomus francisci, commonly known as “cascudo”, is a fish of ecological importance found in the upper São Francisco River, Minas Gerais, Brazil. Here we present the complete mitogenome (mtDNA) of *H. francisci*. The whole molecule is 16,541 bp long and contains 13 protein-coding genes (PCGs), two rRNA genes, 22 tRNA genes, and one control region (D-loop). All the PCGs in the *H. francisci* mtDNA use the standard ATG start codon, except for *Cox1*, which utilizes GTG. Seven of the 13 PCGs contain TAA stop codons, three contain a TAG, and three contain the incomplete stop codons TA or T.

ARTICLE HISTORY

Received 10 October 2018

Accepted 20 October 2018

KEYWORDS

Complete mtDNA; cascudo; next-generation sequencing; *Hypostomus francisci*; presented two rRNA, 22


Material, results, and discussion

Hypostominae is the richest subfamily within Loricariidae, with 477 valid species (Eschmeyer et al. 2017). *Hypostomus* (Lacepede, 1803) is the most diverse genus, currently comprising about 135 species (Isbrucker 2001; Armbruster 2004; Dias and Zawadzki 2018). *H. francisci* is the most common *Hypostomus* species in the basin São Francisco (Lutken 1874; Alves and Pompeu 2010). The taxonomy of *Hypostomus* from the São Francisco River is still poorly understood (Ramos et al. 2017).

DNA was extracted from the muscle tissue of one *H. francisci* specimen collected in the Abaete River, a tributary of the São Francisco River, Minas Gerais, Brazil (UTM 23K 0450882 7997412). The voucher (NUP 20522) was deposited in the collection of the Museum of Nupelia, State University of Maringá, Parana, Brazil. The genomic library was constructed and sequenced using a paired-end 150 bp strategy in a MiSeq platform (Illumina Vx). The assembly was generated using the software Mira 4.0 (Chevreux et al. 1999) and Geneious R7.1.3 (Drummond et al. 2009).

The full mtDNA was 16,541 bp long, resolved with 20 of coverage (GenBank accession number MK026008). The GC content was 41.28%, and individual base frequencies were as follow: 31.42% of A, 27.30% of T, 26.37% of C, and 14.91% of G. Annotation was performed in the MitoFish webserver (Iwasaki et al. 2013), and the MitoS Web Server (Bernt et al. 2013) was used for verification of the start and stop codons. The mitogenome

tRNA, 13 protein-coding genes (PCGs), and one control region. Genes arrangement was similar to that of a typical vertebrate mitogenome. The gene *Cox1* contained a GTG start codon, while all the other PCGs displayed the usual ATG start codon. Seven (ND1, COI, ATP8, ATP6, ND4L, ND5, and CytB) of the 13 PCGs contained a TAA stop codon, three (ND2, ND3, and ND6) contained TAG stop codons, and the others terminated in T or TA and were likely completed as TAA by post-transcriptional polyadenylation (Ojala et al. 1981). An 899 bp control region, or displacement loop (D-loop), was located between the tRNA^{Pro} and tRNA^{Phe} loci. Eight of the 22 tRNAs (tRNA^{Gln}, tRNA^{Ala}, tRNA^{Asn}, tRNA^{Cys}, tRNA^{Tyr}, tRNA^{Ser2}, tRNA^{Glu}, tRNA^{Pro}) and one PCG (ND6) were encoded on the light strand. The remaining genes were encoded on the heavy strand. All tRNAs ranged from 67 to 75 bp in length, and each folded into a typical secondary structure. Two of them (tRNA^{Met} and tRNA^{Trp}) overlapped on a single nucleotide. Sequences were clustered (Figure 1) with the MEGA software version 7.0.14 (Kumar et al. 2016) for analysis of similarity of the mitogenomes. Together they formed a sister group of *H. incognitum*, thus maintaining the grouping of the Family Loricariidae and the Order Siluriformes. Therefore, taxonomic and molecular investigations are crucial for its conservation. Characterization of the mtDNA genome of *Hypostomus* species can significantly contribute to elucidate the taxonomy of the group since only one species of the genus – *H. plecostomus* (Liu et al., 2014) have its mtDNA genome sequenced to date.

CONTACT Evanguedes Kalapothakis  kalapothakis@gmail.com Department of General Biology, Laboratory de Biotechnology and Molecular Markers, Institute of Biological Sciences, Federal University of Minas Gerais, Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha, CEP 31270-901, Belo Horizonte, Brazil

2019 The Author(s). Published by Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

156 A. H. PEREIRA ET AL.

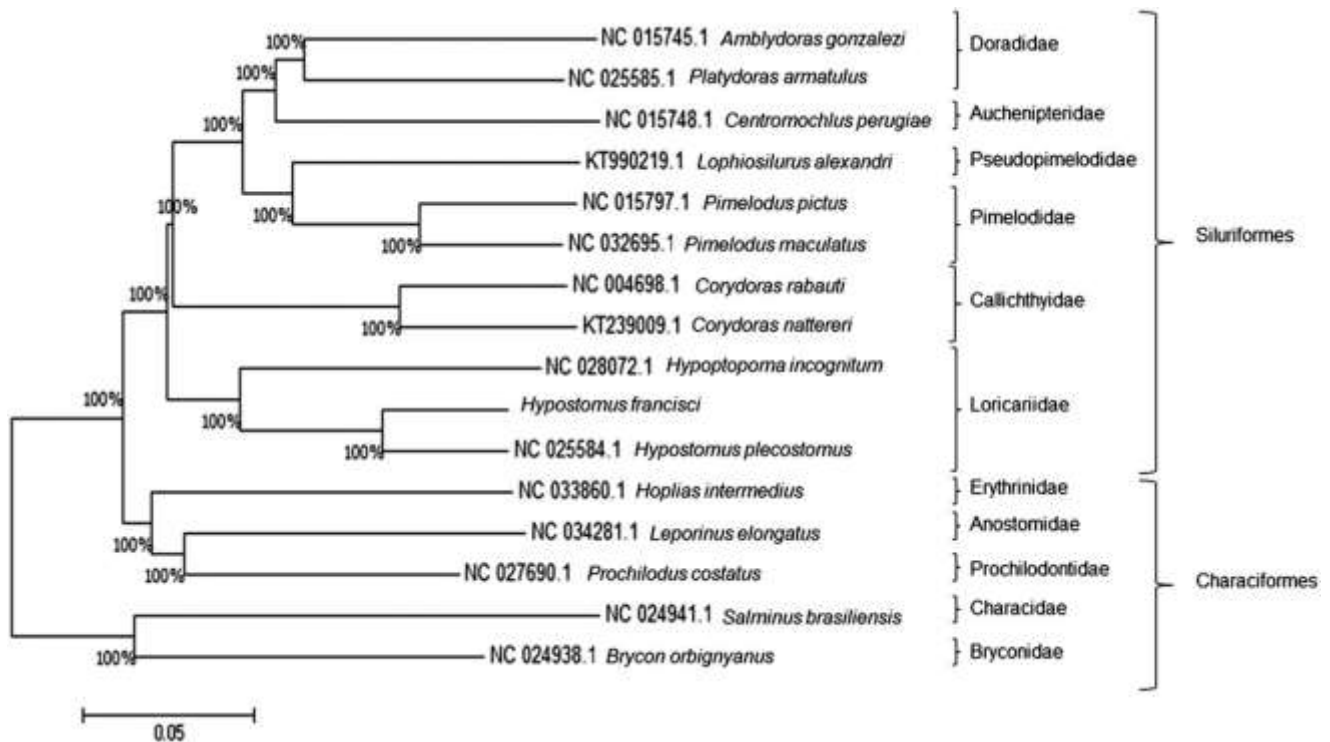


Figure 1. Tree of similarity of mitochondrial DNA (mtDNA) sequences. Comparison of the mitogenomes of ten species of the Order Siluriformes: *Hypostomus Plecostomus* (NC_025584.1), *Hypoptopoma incognitum* (NC_028072.1), *Amblydoras gonzalezi* (NC_015745.1), *Platydoras armatulus* (NC_025585.1), *Centromochlus perugiae* (NC_015748.1), *Corydoras rabauti* (NC_004698.1), *Corydoras nattereri* (KT239009.1), *Pimelodus pictus* (NC_015797.1), *Pimelodus maculatus* (NC_032695.1), and *Lophiosilurus alexandri* (KT990219.1); and five species of the Order Characiformes: *Hoplias intermedius* (NC_033860.1), *Salminus brasiliensis* (NC_024941.1), *Leporinus elongatus* (NC_034281.1), *Brycon orbignyanus* (NC_024938.1), and *Prochilodus costatus* (NC_027690.1). Characiform species were used as the outgroup. The consensus tree was constructed using the Kimura-2 parameter model (Kimura 1980) and 1000 bootstrap. The D-loop region was excluded from this analysis due to its high variability (Gonder et al. 2007). *Hypostomus francisci* grouped with *H. plecostomus*, and together they formed a sister group of *H. incognitum*, thus maintaining the Family Loricariidae as a single clade. Percentage support values for each group are indicated on the branches.

Acknowledgment

Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) for the support during the project execution

Disclosure statement

The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of this article.

Funding

This work was funded by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) (Edital Ciências Forenses no. 25/2014, Process 23038.006839/2014-33).

ORCID

Adriana Heloisa Pereira  <https://orcid.org/0000-0003-1805-1028>
 Susanne Facchin  <https://orcid.org/0000-0003-2145-0396>
 Anderson Oliveira do Carmo  <https://orcid.org/0000-0003-4646-513X>
 Daniela Nunez Rodriguez  <https://orcid.org/0000-0002-3638-1752>
 Leonardo Cardoso Resende  <http://orcid.org/0000-0003-1419-0493>
 Yan Kalapothakis  <https://orcid.org/0000-0001-8914-0023>
 Pedro Brandão Dias Ferreira Pinto  <https://orcid.org/0000-0001-8583-0617>
 Carlos Bernardo Mascarenhas Alves  <https://orcid.org/0000-00021731-6541>
 Claudio Henrique Zawadzki  <https://orcid.org/0000-0002-5642-4908>
 Evanguedes Kalapothakis  <https://orcid.org/0000-0002-8326-249X>

References

- Alves CBM, Pompeu PS. 2010. Peixes do Rio das Velhas: passado e presente. Belo Horizonte, Brazil: SEGRAC.
- Armbruster JW. 2004. Phylogenetic relationships of the suckermouth armoured catfishes (Loricariidae) with emphasis on the Hypostominae and the Ancistrinae. *Zool J Linn Soc.* 141:1–80.
- Bernt M, Donath A, Juhling F, Externbrink F, Florentz C, Fritzsch G, P€utz J, Middendorf M, Stadler PF. 2013. MITOS: improved de novo metazoan mitochondrial genome annotation. *Mol Phylogenet Evol.* 69(2):313–319.
- Chevreur B, Wetter T, Suhai S. 1999. Genome sequence assembly using trace signals and additional sequence information. *Comp Sci Biol.* 99:45–56.
- Dias AC, Zawadzki CH. 2018. Identification key and pictures of the *Hypostomus Lacepede, 1803* (Siluriformes, Loricariidae) from the rio Ivaí, upper rio Parana basin. *CheckList.* 14:393–414.
- Drummond AJB, Ashton M, Cheung J, Heled M, Kearse R, Moir S, StonesHavas, et al. 2009. Geneious version R7.1.3 for Windows. Computer program and documentation distributed by the author. Website <http://www.geneious.com> [accessed 2018 Aug 29].
- Eschmeyer WN, Fricke R, van der Laan R, Fong J. 2017. Catalog of fishes: genera, species, references [Internet]. San Francisco: California Academy of Science. <https://www.calacademy.org/> [accessed 2018 Sep 13].
- Gonder MK, Mortensen HM, Reed FA, Sousa A, Tishkoff SA. 2007. WholemtDNA genome sequence analysis of ancient African lineages. *Mol Biol Evol.* 24:757–768.
- Isbrucker IJH. 2001. Nomenklator der Gattungen und Arten der Harnischwelse, Familie Loricariidae Rafinesque, 1815 (Teleostei, Ostariophysi). *Die Aquarienzeitschrift (DATZ SonderheftHarnischwelse).* 2:25–32.
- Iwasaki W, Fukunaga T, Isagozawa R, Yamada K, Maeda Y, Satoh T, Sado T, et al. 2013. MitoFish and MitoAnnotator: A mitochondrial genome database of fish with an accurate and automatic annotation pipeline. *Mol Biol Evol.* 11:2531–2540.
- Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J Mol Evol.* 16:111–120.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol Biol Evol.* 33: 1870–1874.

- Liu S, Zhang J, Yao J, Liu Z. 2014. The complete mitochondrial genome of the armored catfish, *Hypostomus plecostomus* (Siluriformes: Loricariidae). *Mitochondrial DNA*. 27:1–2. 10.3109/19401736.2014.971281.
- Lutkené CF. 1874. *Siluridae novae Brasiliae centralis a clarissimo J. Reinhardt in provincia Minas-gerais circa oppidulum Lagoa Santa, praecipue in flumine Rio das Velhas et affluentibus collectae, secundum caracteres essentielles, breviter descriptae*. *Overs Danske Vidensk Selsk Forhandl Kjobenhavn*. 29–36.
- Ojala D, Montoya J, Attardi G. 1981. tRNA punctuation model of RNA processing in human mitochondria. *Nature*. 290:470–474.
- Ramos TPA, Zawadzki CH, Ramos RTC, Britski HA. 2017. Redescription of *Hypostomus johnii*, a senior synonym of *Hypostomus eptingi* (Siluriformes: Loricariidae), Northeastern Brazil. *Neotrop Ichthyol*. 15:e160064.