

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

INTERUNIDADES ASSIS-BAURU

FACULDADE DE CIÊNCIAS

Laboratório de Genômica e Conservação de Peixes

Dissertação de Mestrado

**DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Astyanax lacustris* COMO INDICADOR DA EFICIÊNCIA DA
CONECTIVIDADE DAS ESCADAS DE PEIXE EM PEQUENAS CENTRAIS HIDRELÉTRICAS NO RIO
SAPUCAÍ (SP)**

Camila Yuki Sano-Santos

**Bauru, SP
2025**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

INTERUNIDADES ASSIS-BAURU

FACULDADE DE CIÊNCIAS

**DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Astyanax lacustris* COMO INDICADOR DA EFICIÊNCIA DA
CONECTIVIDADE DAS ESCADAS DE PEIXE EM PEQUENAS CENTRAIS HIDRELÉTRICAS NO RIO
SAPUCAÍ (SP)**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências, Bauru, para a Defesa de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Biociências (Área de Conhecimento: Caracterização e Aplicação da Diversidade Biológica).

Orientador(a): Prof. Assoc. Fabio Porto-Foresti

Bolsista: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento: 001.

Sano-Santos, Camila Yuki.

Diversidade genética de *Astyanax lacustris* como indicador da eficiência da conectividade das escadas de peixe em Pequenas Centrais Hidrelétricas no rio Sapucaí (SP) / Camila Yuki Sano-Santos. - Bauru, 2025
59 f.

Dissertação (Mestrado)-Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências, Bauru
Orientador: Fabio Porto-Foresti

1. Barragens. 2. Genética populacional. 3. Microssatélites. 4. *Astyanax lacustris*. I. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências. II. Diversidade genética de *Astyanax lacustris* como indicador da eficiência da conectividade das escadas de peixe em Pequenas Centrais Hidrelétricas no rio Sapucaí (SP).

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE CAMILA YUKI SANO SANTOS, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCIÊNCIAS, DA FACULDADE DE CIÊNCIAS - CÂMPUS DE BAURU.

Aos 30 dias do mês de maio do ano de 2025, às 9h, no(a) na sala da Pós-graduação no Departamento de Ciências Biológicas/FC , realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de CAMILA YUKI SANO SANTOS, intitulada **Diversidade genética de *Astyanax lacustris* como indicador da eficiência da conectividade das escadas de peixe em Pequenas Centrais Hidrelétricas no rio Sapucaí (SP)** . A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. FABIO PORTO FORESTI (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Departamento de Ciências Biológicas / Faculdade de Ciências - Unesp/Câmpus de Bauru, Prof. Dr. MARIO LUIS ORSI (Participação Presencial) do(a) Departamento de Biologia Animal e Vegetal / Universidade Estadual de Londrina - UEL, Dr. VITO ANTONIO MASTROCHIRICO FILHO (Participação Presencial) do(a) Unesp . Após a exposição pela mestrande e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: _____aprovado_____ . Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.



Documento assinado digitalmente

FABIO PORTO FORESTI

Data: 12/06/2025 16:16-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. FABIO PORTO FORESTI

Agradecimentos

Aos meus familiares e à minha irmã, Clara, por todo o apoio e incentivo. Aos meus pais, Sayuri e Henrique, por me encorajarem, acreditarem nos meus sonhos e por me ensinarem, com dedicação e carinho, a importância do conhecimento. Se hoje chego até aqui, é graças ao esforço e ao cuidado que sempre dedicaram a mim.

Ao Pedro, pelo amor e apoio constantes, e principalmente pelos conselhos que me fortaleceram nos momentos difíceis. Obrigada por estar sempre ao meu lado, fazendo tudo parecer mais leve. Te amo!

À Ana e Stéphanie, amigas de infância, de alma e de vida. Que, mesmo com a distância, nunca deixaram de estar por perto. Obrigada por cada ligação interminável e por estarem sempre presentes.

À minha dupla acadêmica, Verônica, que vem compartilhando comigo todas as alegrias e dificuldades desde a graduação. Agradeço pela amizade, pela companhia, pelo teto que me acolheu nos últimos meses de mestrado e por sempre estar ao meu lado. Foram anos de parceria — em aulas, trabalhos, projetos de extensão e laboratório — que guardarei com muito carinho!

À Beatriz e à Mel, pela amizade e pelos momentos de descontração que fizeram o mestrado ser mais leve e cheio de alegria. O apoio de vocês foi importante para seguir firme nessa etapa. À Carol Magalhães, por ser uma amiga tão especial e um exemplo de dedicação. Obrigada por me acolher e ajudar sempre que precisei, tanto na vida quanto na biologia molecular.

Aos meus colegas do Laboratório de Genômica e Conservação de Peixes (LAGENPE), em especial à Verônica, Mel, Beatriz, Ana Luiza, Tadaka, Giovana, Vitor, Amanda e Natália, pelos momentos que compartilhamos dentro e fora do laboratório, nas saídas gastronômicas e nas boas conversas que ficaram além da rotina científica.

À Carol (Flower) e à Luz, minhas amigadas científicas, pela ajuda, companhia e por sempre tirarem minhas dúvidas com tanto cuidado. À Letícia Moraes, pelo auxílio com as análises do banco de dados de microsatélite.

Ao Dr. Diogo Teruo Hashimoto, por me receber em Jaboticabal e ceder seu laboratório (LAGeAC).

Aos técnicos do CAUNESP-Jaboticabal, por realizarem a coleta dos lambaris utilizados nesse estudo.

À CTG-Brasil, por permitir a entrada nas Pequenas Centrais Hidrelétricas de Retiro e Palmeiras.

Ao Dr. Caio Augusto Perazza e ao Dr. Eduardo Meneguzzi Brambilla, por comporem a banca examinadora da minha qualificação e pelas valiosas contribuições feitas ao longo do processo.

Aos membros da banca examinadora da minha defesa, Prof. Dr. Mário Luís Orsi e Vito Antonio Mastrochirico Filho, por aceitarem a tarefa de avaliar e contribuir para o aprimoramento do meu trabalho e para minha formação como pesquisadora.

Ao Prof. Dr. Ricardo Utsunomia, por ser um excelente professor e por ter sido meu supervisor durante o PAADES e as atividades de docência.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Fabio Porto Foresti, pelo acolhimento e apoio durante esses três anos no laboratório. Sou imensamente grata por ter me permitido realizar o estágio de Iniciação Científica e pela confiança em desenvolver meu mestrado, sempre com liberdade para crescer e aprender. Fico feliz por você fazer parte dessa etapa tão importante. Obrigada pela dedicação, parceria e incentivos constantes, que fizeram toda a diferença na minha formação e na execução deste trabalho.

À CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pelo financiamento do meu projeto de pesquisa.

Ao Programa de Pós-graduação em Biociências e à Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” pela formação concedida.

Agradeço a todos que de alguma forma me ajudaram no desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

O rio Sapucaí-Mirim é um importante tributário da bacia do rio Grande (São Paulo) e tem sido impactado pela instalação de Pequenas Centrais Hidrelétricas (PCHs), que contribuem para a crescente fragmentação do rio. Essa interrupção do leito compromete a conectividade aquática, afetando populações de peixes migradores. Nesse contexto, *Astyanax lacustris*, espécie nativa de pequeno porte e com comportamento migratório oportunista, foi utilizada como modelo para avaliar a diversidade genética e a estrutura populacional em trechos influenciados pelas PCHs Retiro e Palmeiras. Foram analisados 109 indivíduos provenientes de quatro estoques, localizados a montante e a jusante das PCHs, utilizando seis *loci* de marcadores moleculares do tipo microssatélites. Os resultados indicaram elevada diversidade genética e baixa diferenciação entre os estoques, com valores de F_{ST} entre 0,010 e 0,023, indicando manutenção da conectividade genética entre os trechos avaliados. Entretanto, as análises de agrupamento identificaram maior evidência de estruturação genética na PCH Palmeiras Montante, enquanto a PCH Retiro Montante apresentou menor diversidade genética e características que justificam atenção em futuros monitoramentos. Conclui-se que os marcadores microssatélites foram eficientes para caracterizar a diversidade e a estrutura genética de *A. lacustris*, evidenciando a manutenção da conectividade entre os estoques, mas também sinais iniciais de diferenciação que devem ser acompanhados. Considerando o curto intervalo entre gerações da espécie, não foi possível distinguir a contribuição das escadas de peixes daquela decorrente do *supportive breeding*. Assim, a continuidade do monitoramento genético é importante para acompanhar possíveis mudanças na conectividade e subsidiar estratégias de manejo e conservação da espécie.

Palavras-chave: barragens; genética populacional; marcadores microssatélites; *Astyanax lacustris*.

ABSTRACT

The Sapucaí-Mirim River is an important tributary of the Grande River basin (São Paulo, Brazil) and has been impacted by the installation of Small Hydroelectric Power Plants (SHPs), which contribute to the increasing fragmentation of the river. This interruption of the river channel compromises aquatic connectivity, affecting migratory fish populations. In this context, *Astyanax lacustris*, a small native species with opportunistic migratory behavior, was used as a model to assess genetic diversity and population structure in river stretches influenced by the Retiro and Palmeiras SHPs. A total of 109 individuals from four stocks, located upstream and downstream of the SHPs, were analyzed using six microsatellite loci. The results indicated high genetic diversity and low differentiation among stocks, with F_{ST} values ranging from 0.010 to 0.023, indicating the maintenance of genetic connectivity among the evaluated stretches. However, clustering analyses identified stronger evidence of genetic substructure in the Palmeiras upstream stock, while the Retiro upstream stock showed lower genetic diversity and characteristics that warrant attention in future monitoring efforts. It is concluded that microsatellite markers were effective in characterizing the genetic diversity and structure of *A. lacustris*, indicating the maintenance of connectivity among stocks, but also revealing early signs of differentiation that should be monitored. Considering the species' short generation interval, it was not possible to distinguish the contribution of fish passageways from that resulting from supportive breeding. Therefore, continued genetic monitoring is important to track potential changes in connectivity and support management and conservation strategies for the species.

Keywords: dams; population genetics; microsatellite markers; *Astyanax lacustris*

SUMÁRIO

RESUMO	6
1 INTRODUÇÃO	12
1.1 Geração de energia elétrica brasileira: fontes hídricas	12
1.2 Os impactos ambientais das Pequenas Centrais Hidrelétricas	14
1.3 Métodos de mitigação de impacto: as escadas para peixes e o repovoamento.....	15
1.4 A bacia do Alto rio Paraná e o rio Sapucaí-mirim	18
1.5 A espécie <i>Astyanax lacustris</i> (Lütken, 1875)	19
1.6 A genética como ferramenta de conservação: marcadores moleculares	22
2 OBJETIVO	23
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1 Área de coleta	24
3.2 Amostragem	25
3.3 Extração de DNA.....	26
3.4 Microssatélites	27
3.4.1 Amplificação por PCR.....	27
3.4.2 Genotipagem e análise de fragmentos	29
3.4.3 Controle de qualidade do banco de dados	29
3.4.4 Análises de diversidade	31
4 RESULTADOS	33
4.1 Microssatélites	33
4.1.1 Diversidade genética e estrutura de dados de microssatélite em <i>A. lacustris</i>	33
5 DISCUSSÃO	43
5.1 Variabilidade genética	43
5.2 Estrutura populacional e análise de agrupamentos multivariados	45
6 CONCLUSÃO	48
7 REFERÊNCIAS.....	50

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Passagem de escada convencional (seção longitudinal e estrutura os tanques) - projetada principalmente para salmonídeos (Adaptado: FAO/DVWK, 2002).	16
Figura 2. Espécime de <i>A. lacustris</i> (Iambari-do-rabo-amarelo) – Fonte: Carlos Bernardo Mascarenhas Alves.	21
Figura 3. Mapa do Brasil destacando o Estado de São Paulo e as Pequenas Centrais Hidrelétricas (PCH) Palmeiras, Anhanguera, e Retiro no rio Sapucaí-Mirim (20°26'12.5"S 47°53'18.59"W). Mapa adaptado de (Brambilla, 2020).	24
Figura 4. Localização das áreas de estudo no rio Sapucaí-Mirim destacando os quatro pontos amostrais nas PCHs Retiro e Palmeiras (Fonte: Google Earth, 2025).	25
Figura 5. Porcentagem de dados perdidos, por população e por loci, do banco de dados filtrado, totalizando 11.01% de dados perdidos.	30
Figura 6. Gráfico da relação entre o número de loci analisados e o número de MLGs.	33
Figura 7. Determinação de grupos genéticos. (a) Determinação do valor ótimo de K, Delta-K =2 pelo método de Evanno (Evanno et al., 2005); (b) Gráfico barplot inferindo as proporções de ancestralidade por indivíduo para os grupos genéticos, utilizando K=2 do programa STRUCTURE; PCH Retiro Jusante (RJ); PCH Retiro Montante (RM); PCH Palmeiras Jusante (PJ), PCH Palmeiras Montante (PM).	40
Figura 8. Gráfico de dispersão da DAPC dos genótipos de <i>A. lacustris</i> das PCHs Retiro e Palmeiras por microssatélites, com retenção de 6 componentes principais: os clusters são representados por cores e elipses de inércia, e os indivíduos são mostrados como formas geométricas, n.da =2.	41
Figura 9. Estrutura barplot de probabilidade de atribuição dos agrupamentos genéticos nos 109 indivíduos de <i>A. lacustris</i> , baseado na DAPC; PCH Retiro Jusante (RJ) – 30 indivíduos; PCH	

Retiro Montante (RM) – 28 indivíduos; PCH Palmeiras Jusante (PJ) – 25 indivíduos, PCH
Palmeiras Montante (PM) – 26 indivíduos..... 42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Descrição dos pontos amostrais a montante e a jusante das PCHs Retiro e Palmeiras e número de indivíduos utilizados para os marcadores microssatélites. Rio Sapucaí-Mirim, Sudeste, Brasil.....	26
Tabela 2. Loci polimórficos específicos descritos para <i>Astyanax lacustris</i>	28
Tabela 3. Programa ajustado no termociclador para a amplificação dos loci microssatélite.	29
Tabela 4. Média e variância dos estimadores pontuais de parentesco.....	30
Tabela 5. Correlação entre os estimadores pontuais de parentesco.....	30
Tabela 6. Estatística descritiva das PCH Retiro e PCH Palmeiras (N – número de indivíduos; A – número de alelos; Ne – número de alelos efetivos; Ar – riqueza alélica; H _O – heterozigosidade observada; H _e – heterozigosidade esperada; PIC – Índice de Informação Polimórfica; F – coeficiente de endogamia e HWE – desvio do Equilíbrio de Hardy-Weinberg, em negrito valores significativos ($p \leq 0,05$).....	35
Tabela 7. Estatística descritiva média de cada população e média geral de cada PCH (A – alelos por locus; Ar – riqueza alélica; H _O – heterozigosidade observada; H _E - heterozigosidade esperada e F _{IS} – coeficiente de endogamia (Weir & Cockerham)	37
Tabela 8. Identificação dos alelos privados de cada população por locus, nas colunas de cada loci o alelo e entre parêntese o número de vezes que apareceram.	38
Tabela 9. Valores do índice F _{ST} (Weir & Cockerham, 1984), calculado par a par estão localizados na diagonal inferior. Níveis de classificação (diagonal superior): abaixo de 0.05 – baixo; entre 0.05 e 0.15 – moderado; acima de 0.15 – alto.	39

1 INTRODUÇÃO

1.1 Geração de energia elétrica brasileira: fontes hídricas

Historicamente, a hidreletricidade está presente no Brasil desde o final do século XIX, com a construção de pequenas usinas de operação local e isolada. A partir da década de 50, a expansão dessa tecnologia ocorreu de maneira mais significativa, quando o governo tomou a decisão de explorar o potencial hídrico do país (MME/EPE, 2007). Contudo, com as crises do petróleo na década de 70, a preocupação com a eficiência energética surgiu com maior vigor e a expansão do uso de fontes hidráulicas ocorreu a taxas elevadas, evoluindo o parque hidrelétrico brasileiro (ANEEL, 2016; Tolmasquim, 2016).

Desde então, o barramento de rios para a construção de estruturas capazes de gerar eletricidade, tem sido a principal fonte de geração do sistema elétrico brasileiro. O interesse por essa tecnologia ocorreu devido abundância deste recurso natural a nível nacional, a confiabilidade e alta competitividade econômica, a grande capacidade de armazenamento de energia, e por ser considerada uma alternativa mais sustentável para a produção de energia, visto que esse modelo é classificado como uma fonte renovável, e no cenário atual, há uma maior preocupação com as emissões de gases de efeito estufa geradas pela queima de combustíveis fósseis (EPE, 2024; Tolmasquim, 2016).

Ocupando uma posição favorável na geração de hidreletricidade, o Brasil é o segundo na posição de país mais produtivo, ficando atrás apenas da China. Com 60,2% da energia nacional sendo gerada por fontes hidráulicas, no período de 2022 e 2023, o país alocou 226 MW de capacidade instalada, 9,4% a mais que o ano anterior. Destes, 48,6% correspondem a capacidade instalada pelas usinas, sendo elas Usinas Hidrelétricas (UHE), Pequenas Centrais Hidrelétricas (PCH) e as Centrais de Geração Hidráulica (CGH) (EPE, 2024a).

Atualmente, o país dispõe de 1.423 usinas em fase de operação, construção e outorga. As PCHs representam 36,4% dessas usinas, com 518 empreendimentos (ANEEL, 2024). Até 2000, o crescimento desse setor ocorreu moderadamente, porém o crescimento

populacional e o rápido processo de urbanização observado nas últimas décadas, fez com que, o Brasil adotasse estratégias para investir em fontes alternativas e renováveis (MME/EPE, 2007).

Nesse cenário as PCH fazem parte de planos estratégicos para investimento e são tidas como uma das tecnologias de prioridade nacional (MME/EPE, 2007), já que são adequadas para cursos d'água de pequeno e médio porte, que acessam áreas rurais remotas e com baixa demanda de energia (UNIDO, 2022), e quando comparadas as UHEs apresentam menor custo de implementação, tornando-se atraente para investidores (Sharma et al., 2013).

De acordo, com a Resolução Normativa ANEEL nº 1.070, de 29 de agosto de 2023, aproveitamentos hidrelétricos com potência instalada superior a 5.000 kW e igual ou inferior a 30.000 kW, e com reservatório cuja área seja de até 13 Km², excluindo a calha do leito regular do rio, serão enquadrados como PCH.

Apesar de apresentar inúmeras vantagens em termos socioambientais e econômicos, quando comparadas com projetos hidrelétricos de grande porte, as PCHs também oferecem dificuldades na sua implementação e expansão (Tolmasquim, 2016). Essas usinas são menores em escala, mas geram impactos, incluindo aqueles associados à construção da barragem e à inundação do solo, às alterações nos regimes de fluxo após a instalação, bem como aos efeitos cumulativos decorrentes da operação de múltiplas instalações (Couto & Olden, 2018).

Esses atributos, no entanto, por muitas vezes são negligenciados, pois se pressupõem que por possuir uma menor capacidade de geração de energia há um baixo impacto ambiental (Couto et al., 2021). Contudo, a falta de regulamentação e de controle adequado sobre o desenvolvimento pode resultar em significativos impactos ecológicos nos rios, como desidratação de corpos d'água, mudanças na ecologia e a redução da conectividade (UNIDO, 2022).

1.2 Os impactos ambientais das Pequenas Centrais Hidrelétricas

A construção de barragens em rios é uma das principais fontes de alterações ambientais, tanto no Brasil quanto em outras regiões do mundo, devido à crescente demanda por eletricidade. Grande parte dos rios já possuem barramentos, convertendo-os em uma sequência de represamentos (Couto et al., 2021). Esse fenômeno, especialmente no Brasil, é acentuado pela proliferação de Pequenas Centrais Hidrelétricas (PCHs).

Desde a fase inicial de construção até a fase operacional, que podem durar muitas décadas, os projetos hidrelétricos oferecem riscos significativos ao ambiente e à sociedade. A instalação desses empreendimentos frequentemente requer desmatamento de áreas marginais ao rio para viabilizar o espaço de inundação do reservatório (Cada & Zadroga, 1982), e, em alguns casos, até a realocação da população local (Alla et al., 2021). Além disso, ameaçam a biodiversidade e compromete as funções dos ecossistemas terrestres adjacentes (Benchimol & Peres, 2015).

Os impactos não se restringem apenas ao ambiente terrestre, mudanças drásticas ocorrem também no ambiente aquático. Com a interrupção do curso natural das águas, o rio passa de um ecossistema lótico, de água corrente, para um ambiente lântico ou semi-lântico devido à formação do reservatório a montante da barragem (Agostinho et al., 2007; Baxter, 1977; Castro & Arcifa, 1987). Esse novo ambiente inicia um processo de sucessão ecológica (Agostinho et al., 2008), alterando radicalmente as dinâmicas e as funções do ecossistema original e ocasionando perdas e/ou mudança nos habitats (Kibler & Tullos, 2013).

Além das transformações físicas, químicas e geomorfológicas, a redistribuição do fluxo de água, montante a jusante da barragem, impacta diretamente a oxigenação, o transporte de sedimentos, de nutrientes e de matéria orgânica, além de afetar a distribuição de organismos no ecossistema (Pelicice et al., 2015; Poff et al., 1997). Como consequência, as comunidades aquáticas estabelecidas nas áreas impactadas diferem significativamente daquelas encontradas nos trechos lóticos originais (Agostinho et al., 2016; Ruocco et al., 2018; De Souza et al., 2019).

Essas mudanças na hidrodinâmica afetam os serviços ambientais prestados pelos ecossistemas aquáticos, alterando os padrões históricos de produção biológica, a distribuição da biodiversidade no tempo e no espaço, e interferindo nas funções do ecossistema (Nilsson et al., 2005; Corà & Mišech, 2021).

Além disso, a interrupção do transporte de sedimentos e das rotas migratórias das espécies, como os peixes reófilos, limita o acesso a habitats essenciais para reprodução, criação e alimentação, levando ao declínio populacional e, em alguns casos, à extinção local ou regional de espécie (Pelicice & Agostinho, 2008; Radinger & Wolter, 2014; Winemiller et al., 2016; Zambaldi & Pompeu, 2020).

Estudos apontam que as barragens constituem um dos maiores fatores de alteração nas assembleias de peixes devido às modificações nos regimes de fluxo natural dos rios (Pelicice et al., 2015; Poff & Zimmerman, 2010; Winemiller et al., 2016), como consequência essas barreiras ocasionam a redução da diversidade genética, com a redução do potencial adaptativo às mudanças nas condições ambientais e amplia do risco de extinção local de espécies (Lange et al., 2018). Essas mudanças demonstram como os barramentos transformam radicalmente a ecologia fluvial, com efeitos profundos e de longo alcance para a biodiversidade e sociedade.

1.3 Métodos de mitigação de impacto: as escadas para peixes e o repovoamento

Uma das principais estratégias utilizadas para a mitigação o impacto das barragens sobre as espécies migradoras é a implantação de sistemas de transposição para peixes (Clay, 1995). As passagens são estruturas que facilitam a migração a montante ou a jusante de organismos aquáticos, elas podem ser do tipo: elevador, eclusas, canais seminaturais e escadas para peixes (FAO/DVWK, 2002).

De acordo com a literatura, a definição de passagens para peixes é uma passagem de água ao redor ou através de uma obstrução, que dissipa a energia da água de maneira que os peixes subam sem causar estresse (Clay, 1995). No Brasil, a primeira escada para peixes é

datada em 1911, no rio Pardo, desde então muitos outros empreendimentos adotaram como sistema de transposição esse modelo de passagem (Agostinho & Gomes, 2018).

O princípio de uma passagem do tipo escada cria um canal que conecta o rio, instalando uma estrutura com paredes transversais que formam uma sucessão de piscinas. A água geralmente passa por orifícios alternados e a energia potencial da água é dissipada (Figura 1). Dessa maneira, os peixes migram de uma piscina para outra através dos orifícios que estão situadas na parte inferior e superior (FAO/DVWK, 2002).

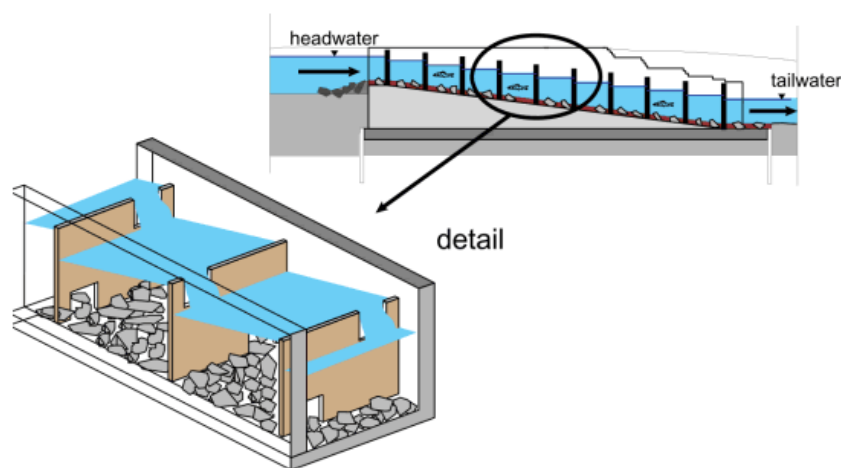


Figura 1. Passagem de escada convencional (seção longitudinal e estrutura os tanques) - projetada principalmente para salmonídeos (Adaptado: FAO/DVWK, 2002).

Através de sua estrutura a escada para peixe permite a migração a montante, sendo considerada uma estratégia positiva para diminuir a densidade de peixes a jusante (Baumgartner, 2007; Schilt, 2007). Para as espécies de peixes migradores as escadas oferecem condições adequadas para a migração e as piscinas abrigo e descanso, pela redução fluxo d'água (FAO/DVWK, 2002).

Segundo Agostinho et al. (2004), um importante aspecto ao construir uma passagem de peixes é retorno de migrantes e o recrutamento de juvenis para o segmento a jusante. Dessa forma, a ascensão possibilita a busca por áreas propícias para reprodução (Da Silva et

al., 2015), e a descida o retorno dos produtos da desova a jusante, o que consequentemente viabiliza o fluxo genético (Ferreira et al., 2017).

Contudo, poucos estudos acerca da eficiência das escadas para peixes são realizados para analisar os seus reais efeitos na ictiofauna (Agostinho & Gomes, 2018), especialmente na região Neotropical (Lira et al., 2017). Alguns estudos constataam o movimento ascendente e descendente da ictiofauna (Celestino et al., 2019; Makrakis et al., 2007), mas a maior parte da literatura indica que as escadas de peixes são rotas ascendentes (Agostinho et al., 2007).

Além disso, o ambiente lântico formado pelo reservatório representa uma barreira insuperável para ovos e larvas durante a dispersão para os trechos a jusante, limitando o retorno dos migrantes que sobem o rio até as áreas de desova localizadas a montante (Agostinho et al., 2007).

Adicionalmente, outro método empregado é o repovoamento. No Alto rio Paraná, a soltura de indivíduos de espécies nativas e não nativas é realizada desde a década de 70 (Vieira & Pompeu, 2001). Recorrendo as estratégias de *captive breeding* e *supportive breeding*, os programas de repovoamento têm o intuito de aumentar, criar, manter e reestabelecer populações (Schreier et al., 2015).

No Brasil, o *captive breeding*, que consiste na produção de juvenis em ambiente de cultivo a partir de reprodutores mantidos em cativeiro, com o objetivo de reestabelecer ou manter populações naturais por meio da soltura nos ambientes de origem (Schreier et al., 2015), é uma das técnicas mais antigas e amplamente utilizadas. Espécies de peixes com potencial para a piscicultura começaram a ser produzidas em cativeiro e utilizadas nesses programas (Vieira e Pompeu, 2001).

O *supportive breeding* compartilha do mesmo objetivo do *captive breeding*, ao produzir juvenis em piscicultura, mas utiliza reprodutores oriundos de populações selvagens (Schreier et al., 2015). Essa estratégia mantém uma abundância de indivíduos e favorece a autonomia das populações naturais por meio de programas de estocagem anuais que utiliza reprodutores selvagens (Heggenes et al., 2006).

Nesse contexto, os programas de repovoamento visam mitigar os impactos ambientais promovendo a reposição dos estoques naturais (Reynalte-Tataje et al., 2013; Sirol & Brito, 2006). No entanto, um obstáculo é o monitoramento genético dos juvenis e dos reprodutores utilizados, uma vez que a variabilidade genética é essencial para a sobrevivência e adaptação ao ambiente natural (Lopera-Barreto et al., 2010; Povh et al., 2008).

No entanto, como destaca Mendonça (2018), ainda são escassos os estudos que realizam o monitoramento pós-soltura, etapa essencial para avaliar os impactos reais da estratégia sobre a manutenção da diversidade genética das populações naturais. Nesse contexto, o sucesso dos programas de repovoamento está diretamente ligado ao controle rigoroso das características genéticas da progênie produzida em cativeiro (antes da soltura) e do banco de reprodutores utilizado (Schreier et al., 2015)

1.4 A bacia do Alto rio Paraná e o rio Sapucaí-mirim

Localizada na região Sudeste do Brasil, a bacia do Alto rio Paraná pertencente à Região Hidrográfica do Paraná que ocupa uma área de aproximadamente 879.873 km² (10% do território nacional). Presente em sete Estados brasileiros: São Paulo, Paraná, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Goiás, Santa Catarina e Distrito Federal (ANA, 2014). Essa bacia está em uma região altamente urbanizada (IBGE, 2023), e, portanto, com uma elevada demanda hídrica. Os principais usos da água são para irrigação do setor agropecuário (311,4 m³/s), indústria (202 m³/s) e para a demanda urbana (177,2 m³/s) (Agostinho et al., 2007).

Dividida em 11 bacias sub-bacias hidrográficas, esta é uma das maiores bacias hidrográficas do Brasil e tem como principais tributários os rios: Paranaíba, Grande, Tietê e Paranapanema (Bonetto et al., 1986; Britski & Langeani, 1988). De acordo com a ANEEL (2018), a região possui cerca de 67% de todas as Pequenas Centrais Hidrelétricas e de Usinas Hidrelétricas do país. Tornando-a a bacia mais explorada para a geração de energia elétrica.

A bacia hidrográfica do Sapucaí-Mirim/Grande integra a Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos 08 (UGRHI 08), conforme estabelecido pela Lei nº 9.034, de 27 de

dezembro de 1994, que instituiu o Plano Estadual de Recursos Hídricos. Pertencente à bacia do Alto Rio Paraná e localizada integralmente no Estado de São Paulo, o rio Sapucaí-Mirim possui 290 km de extensão e é um importante tributário da bacia do rio Grande. A bacia abrange ainda os rios Canoas, do Carmo e diversos outros cursos d'água de menor porte, totalizando uma área de 9.175,42 km² (Souza, 2014).

A nascente do rio Sapucaí localiza-se nas encostas interiores da Serra da Laje (Nordeste do Estado de São Paulo) (Souza, 2014), entre os municípios de Cajuru e Cássia dos Coqueiros, além de dois outros rios tributários próximos a nascente, Esmeril e Santa Bárbara (originados no Estado de Minas Gerais). Seus principais afluentes são os rios Santa Bárbara, Bagres, Salgado, Pontal e Sete Lagoas, e sua desembocadura ocorre na margem esquerda do reservatório da Usina Hidrelétrica Porto Colômbia, médio rio Grande (Paiva, 1982; Zago, 2016).

Caracterizado como um rio de planalto o rio Sapucaí-mirim tem como atributos limnológicos a presença de fortes corredeiras e pequenas quedas d'água na sua porção superior. Conforme aproxima-se da área de desembocadura, porção inferior, torna-se cada vez menos veloz e turbulento. Além disso, apresenta mesohabitats de knickzones, ambientes “pedrais” que são plataformas de leito rochoso (basálticas) (Brambilla et al., 2019; Ruocco et al., 2019).

1.5 A espécie *Astyanax lacustris* (Lütken, 1875)

O gênero *Astyanax* Baird & Girard, 1854, da ordem Characiformes inclui peixes popularmente conhecidos como piabas ou lambaris e é um dos gêneros dominantes na América do Sul (Géry, 1977). Com ocorrência desde o sul da Argentina até a América do Norte (Garutti & Britski, 2000; Ornelas-Garcia et al., 2008), esse táxon compreende atualmente cerca de 272 espécies válidas (Eschmeyer, 2025).

Dentre as espécies, temos a espécie *A. lacustris* Lütken, 1875, conhecida anteriormente como *Astyanax altiparanae* Garutti & Britski, 2000 (Lucena & Soares, 2016). Popularmente conhecida como lambari-do-rabo-amarelo ou tambiú, essa espécie é um peixe

de pequeno porte nativo da América do Sul e amplamente distribuído na bacia do Alto rio Paraná (Figura 2; Dagosta et al., 2024; Langeani et al., 2007).

Embora seja considerada uma espécie de pequeno porte, geralmente atinge até 15 cm de comprimento e pesa cerca de 60 g (Stevanato & Ostrensky, 2018), registros superiores já foram constatados. Orsi et al. (2003), relataram a ocorrência de espécimes com aproximadamente 19 cm e 80 g, sendo estes os maiores parâmetros biométricos já encontrados. O padrão de coloração da espécie inclui uma faixa oval preta com duas barras verticais marrons na região umeral e uma mancha preta no pedúnculo caudal que se estende até a extremidade dos raios caudais medianos, além de nadadeiras pélvicas, anal e caudal, amareladas (Garutti & Britski, 2000).

Com ciclo de vida curto, é uma espécie-chave na base da cadeia trófica, servindo de recurso alimentar para outras espécies de peixes (Prioli et al., 2002). A dieta é variada e composta de material vegetal, insetos aquáticos e terrestres, crustáceos, moluscos, detritos e sedimentos (Lima et al., 2018; Vidotto-Magnoni et al., 2021), caracterizando-o como um consumidor generalista e oportunista de itens de deriva (Bennemann et al., 2000; Lowe-McConnell, 1999; Maroneze et al., 2011; Porto-Foresti et al., 2001).

Além disso, é considerado um predador diurno com boa acuidade visual (Orsi et al., 2004) e é capaz de adaptar-se facilmente a mudanças ambientais, especialmente em rios recém-represados (Dias et al., 2005; Hahn & Fugl, 2008). Devido a essa adaptabilidade, a espécie é comumente utilizada como bioindicador em estudos de alterações ambientais (Gnocchi et al., 2023; Stevanato & Ostrensky, 2018).

O comportamento migratório é caracterizado por apresentar deslocamento restrito, sendo comumente considerada como uma espécie sedentária ou migradora de curtas distâncias (Graça & Pavanelli, 2007; Vari & Castro, 2007; Agostinho et al., 2003; Britski et al., 1988). Diferente de migradores de longas distâncias, os movimentos de *A. lacustris* se limitam à ocupação de habitats, incluindo ambientes lênticos, como lagoas marginais e locais estratégicos para a reprodução (Vazzoler et al., 1997). Essa estratégia favorece o rápido crescimento populacional e a dominância da espécie em reservatórios (Dias et al. 2005).

Dessa forma, a plasticidade fenotípica e genotípica associada a essa espécie permite que a reprodução ocorra durante todo o ano, tanto em ambientes de águas correntes (lótico) quanto em ambientes de águas paradas (lêntico) (Orsi et al., 2002). Além disso, essa característica garante uma alta taxa de sobrevivência, gerações curtas, prole numerosa e de fácil manejo, tornando-a uma excelente espécie para cultivo em aquicultura (Porto-Foresti et al., 2010).



Figura 2. Espécime de *A. lacustris* (lambari-do-rabo-amarelo) – Fonte: Carlos Bernardo Mascarenhas Alves.

Considerada uma espécie com grande importância econômica, é uma das espécies de lambari mais comercializadas no Brasil, para consumo, isca viva e aquarismo (Ferreira et al., 2014; Favaro, 2002; Porto-Foresti et al., 2001), o que tem incentivado a reprodução em cativeiro (Orsi et al., 2004).

Ademais, por ser uma espécie abundante com vantagens ecológicas e de fácil manejo em laboratório (Alonso et al., 2019; Suárez et al., 2017) o *A. lacustris* é um modelo valioso para estudos ecológicos, genéticos e evolutivos, fornecendo dados eficazes para pesquisas (Jeffery, 2001; Langecker et al., 1991; Porto-Foresti et al., 2001).

Entretanto, ainda há poucos estudos que abordam a genética populacional da espécie, conhecimento essencial para o desenvolvimento de projetos de conservação e manejo de populações naturais (Avisé, 2000; Mendonça, 2018).

1.6 A genética como ferramenta de conservação: marcadores moleculares

A genética tem se consolidado como uma ferramenta fundamental na biologia da conservação (Kardos, 2021). Nesse contexto, o estudo da diversidade genética vem sendo amplamente empregado como métrica complementar aos critérios convencionais para diagnósticos sobre o estado de conservação das espécies (Hoban et al., 2023) e o uso de marcadores moleculares representa uma abordagem poderosa para identificar e quantificar a variabilidade genética em populações (Avice, 1994).

Entre os principais tipos de marcadores utilizados em estudos genéticos, destacam-se os microssatélites e os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), ambos amplamente aplicados por sua capacidade de revelar padrões de diversidade e estrutura genética (Allendorf et al., 2010; Selkoe & Toonen, 2006).

Os microssatélites, também conhecidos como repetições de sequências simples (SSRs), representaram uma inovação importante nos estudos de conservação (Allendorf, 2017). Compostos por sequências curtas repetidas em tandem (Tautz, 1989), esses marcadores são considerados ferramentas eficazes (Selkoe & Toonen, 2006), apresentando ampla distribuição genômica, alta diversidade alélica, codominância, tamanho compacto, herança mendeliana e elevada reprodutibilidade (Chistiakov, 2006), o que os torna valiosos para estudos genéticos e ecológicos.

No entanto, uma das principais dificuldades associadas ao uso de microssatélites está relacionada à necessidade de desenvolver primers específicos para cada espécie ou grupo. Por isso, a escolha desse tipo de marcador pode demandar tempo e recursos, exigindo testes e ajustes para garantir a amplificação eficiente dos *loci* desejados (Selkoe & Toonen, 2006).

Por outro lado, uma vez desenvolvidos, os primers podem apresentar amplificação cruzada ou transferabilidade entre espécies filogeneticamente próximas, o que permite sua aplicação em diferentes espécies relacionadas, proporcionando economia de tempo e de custos (Piorski et al., 2008).

2 OBJETIVO

Considerando os aspectos ecológicos, genéticos e evolutivos da espécie *A. lacustris* e os possíveis impactos causados no ambiente natural pela construção de barragens, é de grande importância realizar estudos que avaliam a diversidade genética em ambientes fragmentados por PCHs no rio Sapucaí-mirim (SP). Os objetivos específicos são:

- Descrever a diversidade genética dos estoques selvagens de *A. lacustris* a jusante e a montante das PCH Retiro e PCH Palmeiras, a partir de marcadores moleculares do tipo microssatélite.
- Avaliar a diversidade interpopulacional entre os estoques, buscando estimar os efeitos da escada de peixes e propor soluções adequadas de manejo.
- Avaliar a estrutura genética nas populações estudadas de *A. lacustris*.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de coleta

No canal principal do rio Sapucaí-Mirim, a aproximadamente 168 km da nascente, há três Pequenas Centrais Hidrelétricas (Figura 3) em operação dispostas em sistema de cascada: a PCH Palmeiras, a PCH Anhanguera e a PCH Retiro (Brambilla et al., 2022). Instaladas em 2012 e em 2014, respectivamente, a PCH Palmeiras, juntamente com a PCH Retiro, pertence a empresa CTG Brasil. Ambas as usinas integram o Sistema Interligado Nacional que atende à demanda nacional de energia (CTG Brasil, 2023).

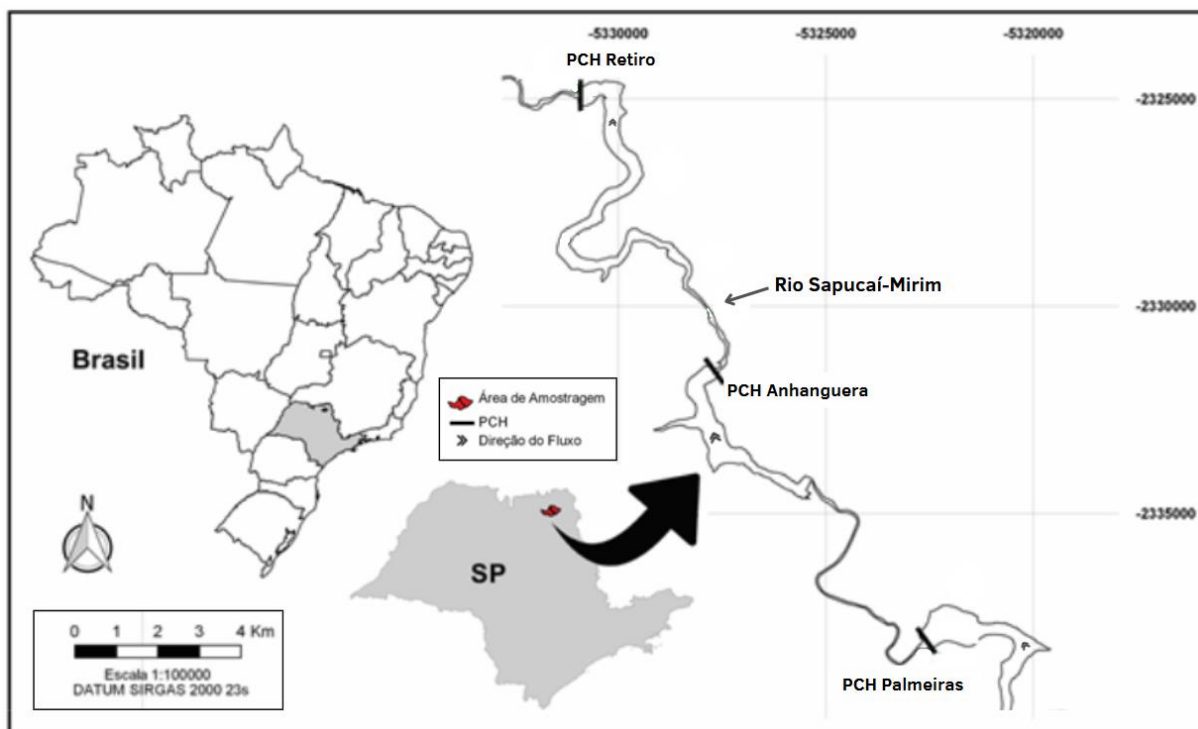


Figura 3. Mapa do Brasil destacando o Estado de São Paulo e as Pequenas Centrais Hidrelétricas (PCH) Palmeiras, Anhanguera, e Retiro no rio Sapucaí-Mirim (20°26'12.5"S 47°53'18.59"W). Mapa adaptado de (Brambilla, 2020).

As PCH utilizadas nesse estudo, estão localizadas nos municípios paulistas de Guará (PCH Retiro) e São Joaquim da Barra (PCH Palmeiras), ambas as usinas possuem reservatórios com área próxima de 3 km² e poucos dias de retenção de água (aproximadamente 3 dias) (Brambilla et al., 2022). Entre cada uma das PCHs do rio Sapucaí-mirim (PCH Palmeiras, PCH Anhanguera e PCH Retiro) há uma distância de 12 km. Sendo que, a PCH Palmeiras está a 168 km da nascente e a PCH Retiro fica a 118 km da foz. Não há afluentes ou lagos marginais entre elas (Brambilla, 2020).

3.2 Amostragem

Foram coletadas 193 amostras de nadadeira da espécie *A. lacustris*. A coleta foi realizada em janeiro de 2023 por pesquisadores e técnicos associados ao Centro de Aquicultura da Unesp (CAUNESP), Jaboticabal (SP). Os pontos amostrais do rio Sapucaí-Mirim (Figura 4) incluíram: a montante da PCH Retiro, a jusante (escada) da PCH Retiro, a montante da PCH Palmeiras e a jusante (escada) da PCH Palmeiras (Tabela 1).



Figura 4. Localização das áreas de estudo no rio Sapucaí-Mirim destacando os quatro pontos amostrais nas PCHs Retiro e Palmeiras (Fonte: Google Earth, 2025).

Tabela 1. Descrição dos pontos amostrais a montante e a jusante das PCHs Retiro e Palmeiras e número de indivíduos utilizados para os marcadores microssatélites. Rio Sapucaí-Mirim, Sudeste, Brasil.

	Local	Microssatélites
PCH	Montante	30
Retiro	Jusante (Escada)	30
PCH	Montante	30
Palmeiras	Jusante (Escada)	30

Foram coletados pedaços de nadadeira caudal e o material biológico foi individualizado e fixado em álcool absoluto e encaminhado, ao Laboratório de Genômica e Conservação de Peixes (LAGENPE), em Bauru (SP), para o armazenamento no banco de tecidos e a realização dos experimentos de biologia molecular.

3.3 Extração de DNA

O DNA genômico da nadadeira de cada indivíduo foi extraído com o *kit* comercial Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega), seguindo o protocolo do fabricante. Para verificar a qualidade e a integridade da extração foi utilizada a eletroforese em gel de agarose 1,0% e o marcador de peso molecular Low DNA Mass Ladder (Invitrogen), cada amostra e o marcador foi corado com corante fluorescente GelRed™ 1X (Uniscience) e BlueJuice 10X (Invitrogen), possibilitando a visualização através do fotodocumentador L-PIX Sti posicionado sobre o transluminador de luz ultravioleta (Loccus Biotecnologia). A concentração de cada amostra foi mensurada por fluorometria no equipamento Qubit 2.0 (Invitrogen) utilizando o *kit* Qubit™ dsDNA BR Assay Kit (Life Technologies).

3.4 Microssatélites

3.4.1 Amplificação por PCR

Para a amplificação foram selecionados *primers* Asty, já descritos em literatura por Zaganini et al. (2012), e A.alti (Garcia *in prep*). Destes, foram selecionados 9 *loci* de microssatélites polimórficos (Tabela 2), seis *loci* Asty (Asty4, Asty12, Asty15, Asty23, Asty26 e Asty27) e três *loci* A.alti (A.alti15, A.alti17 e A.alti26), a extremidade 5' dos primers forward (F) foram marcadas com o conjunto de fluoróforos G5: 6-FAMTM, VICTM, PETTM e NEDTM (Applied Biosystems) e combinados em sistemas de genotipagem (SET ABI), de maneira que um *locus* com o mesmo tamanho de par de base não compartilhasse o mesmo fluoróforo.

Tabela 2. *Loci* polimórficos específicos descritos para *Astyanax lacustris*.

Locus	Sequência do primer (5'-3')	Motif	Pb
Asty04	GGTCACTGGAGGACAGATGTT* GGCATGTGCTTGAATGGA	(AC) ₁₇	200
Asty15	CAACTTTTACTTAAAACCTGC* ATGGGTCTTTACTGCTGAATGTAT	(AC) ₁₇ -(CT) ₆	212
Asty23	TCAATGGAACCTATGGACAAC* GTGGGAAGTAGCCTAATAAATA	(CA) ₁₂	160
Asty12	AGACACAATCAGCCGCCGAAATG* ATCCCCCTCTCCACAACCCAACACA	(GT) ₈	163
Asty26	CCCATTGATCCTGCCTCTAA* CAGTCCTGACACAGAGAT	(GT) ₈	190
Asty27	GACTTGTTTCAGGTTGGGTCT* AAACGTGGTGAGAGGGAGTG	(GT) ₈	150
Aalti15	GACCTTATTAGACTCCTGAAAAGAAAGC* AAAATGGGTAGATACAGAAATGTGACC	(AG) ₁₀	260-300
Aalti17	CAGATTGAGTGACAACAAAGAGC* AGGTGTAAACAGCGGCTACG	(AC) ₁₆	260-300
Aalti26	CACAGTCATTCTTTGTCTTTTCAGC* TTACCACCAGGGAGAAAGTGG	(AC) ₁₀	130-160

A amplificação por meio da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) foi conduzida em duas reações, para os *loci* Asty foi realizada uma reação com o volume de 15µL, contendo 1,8X PCR *buffer*, 5mM de MgCl₂, 0,1µM de dNTP, 0,3µM de *primers* e 0,1U/µL de Platinum Taq DNA Polymerase, e para os *loci* A.alti foi realizada uma reação com o volume de 11,6µL, com 1X Tampão Taq com KCl, 1,6mM de MgCl₂, 0,03µM de dNTP, 0,2µM de *primers* e 0,1U/µL de Platus Taq DNA Polymerase, em ambas reações foram adicionados 30ng de DNA genômico. Todos os *loci* foram amplificados por um programa ajustado (Tabela 3) no termociclador Veriti® 96-Well Thermal Cycler (Applied Biosystems).

Tabela 3. Programa ajustado no termociclador para a amplificação dos *loci* microsatélite.

Estágio	Temperatura	Ciclos	Tempo
Desnaturação inicial	95°C		5:00
Desnaturação	95°C		0:30
Anelamento	54-60°C	X35	0:30
Extensão	72°C		0:05
Extensão final	72°C		5:00

Para verificar a qualidade da amplificação, os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose na concentração de 2,0% utilizando o marcador de peso molecular MassRuler™ Low Range DNA Ladder (Thermo Scientific).

3.4.2 Genotipagem e análise de fragmentos

Os produtos da PCR foram agrupados em SET ABI e genotipados por eletroforese em capilar no sequenciador ABI 3500xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems), utilizando polímero POP-7 e conjunto de capilares de 50 cm, no Instituto de Biotecnologia da Unesp (IBTEC) em Botucatu-SP. Os *amplicons* foram obtidos em comparação com o marcador GeneScan™ 500 LIZ™ na matriz de análise do conjunto de fluoróforos G5 (6-FAM™, VIC™, PET™, NED™ e LIZ®), e, após a genotipagem os resultados foram visualizados através da extensão MICROSATELLITE ANALYSIS 1.4.7 no programa GENEIOUS 7.1.3, os *amplicons* foram computados manualmente de acordo com seu tamanho de par de base pela identificação dos alelos nos picos do eletroferograma.

3.4.3 Controle de qualidade do banco de dados

Antes de prosseguir com as análises, foram realizados filtros para minimizar os erros da genotipagem. A porcentagem de dados perdidos foi calculada pelo pacote poppr v.2.8.1 do programa R (Kamvar et al., 2014) e *loci* com mais de 50% de *missing data* foram retirados das

análises (Figura 5). A presença de alelos nulos foi investigada por meio dos programas ML-NullFreq (Kalinowski & Taper, 2006) e Micro-Checker 2.2 (Van Oosterhout et al., 2004).

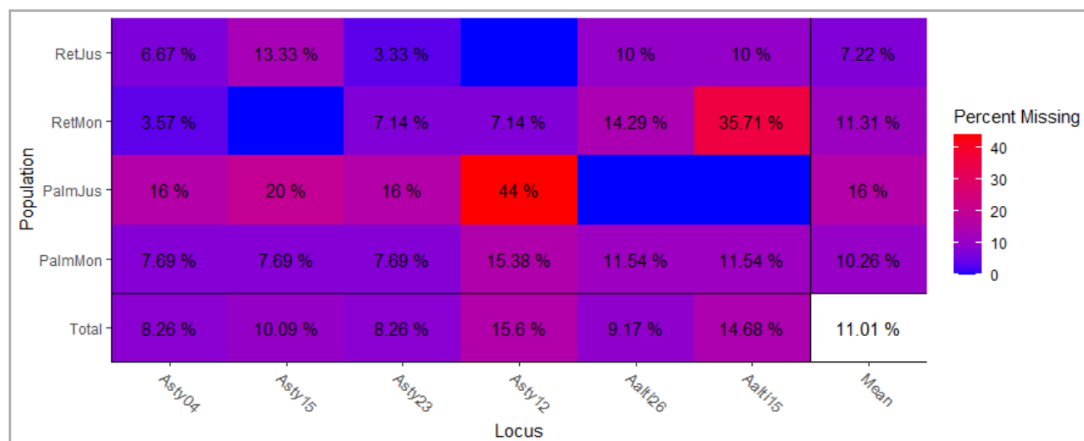


Figura 5. Porcentagem de dados perdidos, por população e por *loci*, do banco de dados filtrado, totalizando 11.01% de dados perdidos.

Além disso, realizou-se a estimativa dos coeficientes de parentesco (Tabela 4; Tabela 5) pelo Coancestry 1.0 (Wang, 2011) para garantir uma maior confiabilidade do banco de dado de microssatélite, dado que as PCHs integram programas de repovoamento de espécies de peixes da região (Mendonça, 2018), e pode ter indivíduos aparentados.

Tabela 4. Média e variância dos estimadores pontuais de parentesco.

n=5858	Wang	LynchLi	QuellerGt
Média	-0.01163	-0.01063	-0.00821
Variância	0.05650	0.02055	0.04156

Tabela 5. Correlação entre os estimadores pontuais de parentesco

Correlação	Wang	LynchLi	QuellerGt
Wang	100.000		
LynchLi	0.92538	100.000	

QuellerGt	0.84361	0.91848	100.000
-----------	---------	---------	---------

A média dos coeficientes de parentesco estimados foi próxima de zero para todos os métodos avaliados (Wang, LynchLi e QuellerGt), com valores variando de -0,01163 a -0,00821 (Tabela 4), o que indica ausência de parentesco entre a maioria dos pares de indivíduos. A menor variância foi observada no estimador de Lynch & Li (0,02055), sugerindo maior precisão nas estimativas. As correlações entre os diferentes estimadores foram altas (acima de 0,84), reforçando a consistência entre os métodos (Tabela 5).

Considerando esses resultados, não foi necessária a remoção de indivíduos amostragem, uma vez que não foram detectados pares com alto grau de parentesco. Visto que a porcentagem de indivíduos não aparentados foi de 89,4%, 9% de indivíduos meio irmãos e 1,6% de irmãos-completos.

Desse modo, dos 9 *loci* microssatélites amplificados 6 foram selecionados (Asty04, Asty12, Asty 15, Asty23, Aalti15 e Aalti26) e no total foram considerados 109 indivíduos, 58 indivíduos da PCH Retiro (28 montante e 30 jusante) e 51 indivíduos da PCH Palmeiras (26 montante e 25 jusante).

3.4.4 Análises de diversidade

Para conferir se relação entre o número de *loci* utilizados e o número de *multilocus genotype* (MLG) foi informativo, o MLG foi calculado pelo pacote poppr do programa R (Kamvar et al., 2014).

Para os 6 *loci* utilizados, foram estimados valores de número de indivíduos analisados (N), número de alelos por *locus* (A), número de alelos efetivos (N_e), heterozigosidade observada (H_o) e heterozigosidade esperada (H_e), por dois programas: pacote diveRsity do programa R (Keenan et al., 2013) e GenAlEx 6.5 (Peakall & Smouse, 2012), ambos

apresentaram resultados similares. Ainda no GenAlEx 6.5, foi calculado o coeficiente de endogamia (F).

A riqueza alélica (A_r) foi calculada no FSTAT 2.9.4 (Goudet, 1995, 2002) e os cálculos de desvio do Equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) foram analisados usando a versão online do GENEPOP 4.7 (Raymond & Rousset, 1995; Rousset, 2008). O número de alelos privados foi encontrado pelo GenAlEx 6.5.

No GenAlEx 6.5 foram estimados o índice de diferenciação populacional $Dest$ (Jost, 2008). Os padrões de estrutura populacional foram investigados utilizando o programa STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard et al., 2000) e a Análise de Discriminante de Componentes Principais (DAPC) através do pacote adegenet 2.0.0 (Jombart, 2008; Jombart et al., 2010) do programa R.

No STRUCTURE 2.3.4 foi utilizado uma duração do período de *burnin* de 100.000 interações e número de cadeia de Markov Monte Carlo (MCMC) após *burnin* de 1000.000 interações. O modelo *admixture model* foi empregado para verificar o valor de K (número de *clusters* ou unidades genéticas), o valor de K assumido foi de um a 10, com 10 repetições para cada K . O real valor de K foi determinado de acordo com Evanno et al. (2005), utilizando os programas disponíveis *online* STRUCTURESELECTOR (Li & Liu, 2018) e CLUMPAK: Cluster Markov Packager Across K (Kopelman et al., 2015) através da compactação dos arquivos gerados pelo STRUCTURE 2.3.4.

Na DAPC, o banco de dados foi submetido à análise para identificar o número ideal de *clusters* de acordo com o critério de informação bayesiano (BIC), com o k variando de 1 a 10 *clusters*. Posteriormente, a realizou-se à análise de componentes principais (PCA), com o objetivo de reduzir a dimensionalidade e eliminar colinearidade entre as variáveis. Para a seleção do número ótimo de componentes principais ($n.pca$), foi utilizada a função *a.score* para escolher o número ideal de componentes principais e o *cross-validation*.

4 RESULTADOS

4.1 Microssatélites

4.1.1 Diversidade genética e estrutura de dados de microssatélite em *A. lacustris*

De acordo com a Figura 6, o número de MLGs aumenta à medida que mais *loci* são incluídos na análise. Dessa forma, para esse conjunto de dados observou-se maior variação no número de MLGs quando foram considerados apenas 1 ou 2 *loci*. A partir da inclusão de 3 ou mais *loci*, o número de MLGs apresentou estabilização

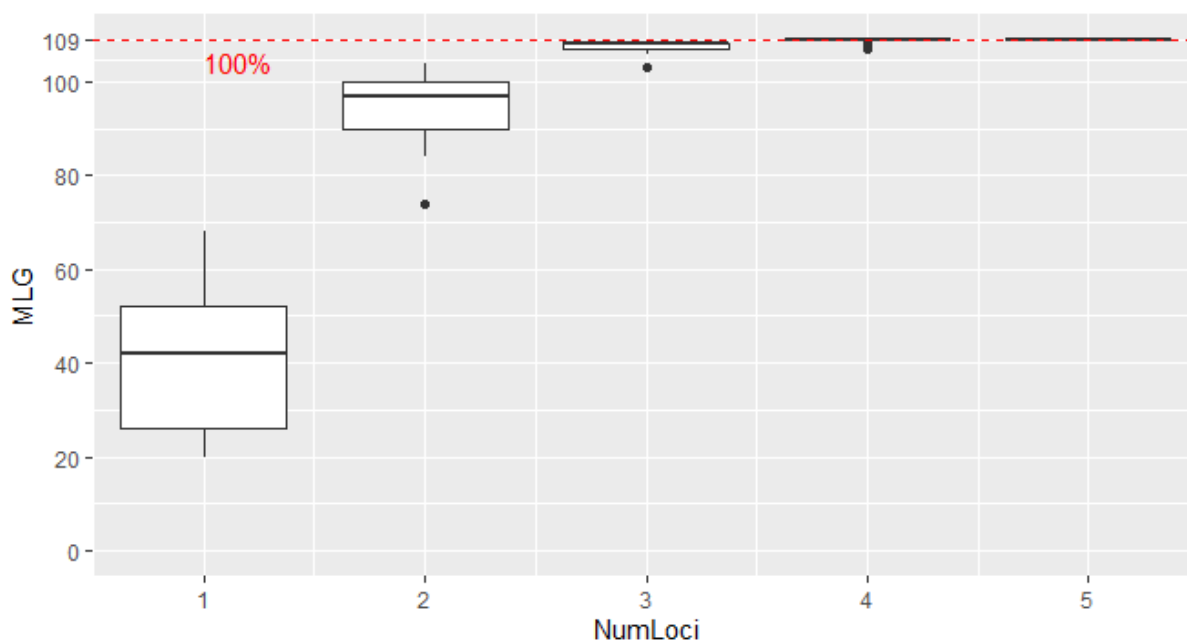


Figura 6. Gráfico da relação entre o número de *loci* analisados e o número de MLGs.

Os 6 *locus* polimórficos selecionados para esse estudo amplificaram um total de 134 alelos em toda a amostra, 109 indivíduos, cuja variação entre os *loci* foi de 5 a 19 alelos,

média de 10.354 alelos por *locus*, riqueza alélica média de 8.590, H_O média de 0.694 e H_E média de 0.791.

Ainda, de acordo com a Tabela 6 os *loci* com menor número de alelos foram os: Asty 12, com o número de alelos variando de 5 a 8 alelos nos estoques, e o Aalti 26, com valores variando de 6 a 10 alelos. O Asty 23 apresentou 8 alelos em todos os estoques e o Asty15 foi o *locus* com o maior número de alelos, com 19 alelos no estoque da PCH Palmeiras Jusante.

Na PCH Retiro (Tabela 6), estoque a jusante, a heterozigosidade observada variou de 0.607 (Asty04) a 0.852 (Aalti26) e a heterozigosidade esperada de 0.636 (Asty12) a 0.913 (Asty15). O estoque a montante variou a heterozigosidade observada de 0.556 (Aalti15) a 0.667 (Asty04 e Aalti26) e a heterozigosidade esperada de 0.604 (Asty12) a 0.893 (Asty15). O coeficiente de endogamia, F , para cada *locus* na PCH Retiro Jusante obteve valores que variaram de um valor negativo -0.093 (Aalti26) a 0.314 (Asty04). No estoque a montante, houve a variação de -0.082 (Asty12) a 0.318 (Aaslti15).

O estoque a montante da PCH Palmeiras (Tabela 6) obteve uma variação de heterozigosidade observada de 0.435 (Aalti15) a 1.000 (Asty04) e a heterozigosidade esperada variando de 0.715 (Asty12) a 0.907 (Asty04). À jusante, a heterozigosidade observada variou de 0.600 (Asty 15) a 0.952 (Asty04). Na PCH Palmeiras, o F do estoque montante apresentou valores negativos em quatro *loci* (Asty04, Asty23, Asty12 e Aalti26), variando de -0.015 (Asty23) a 0.456 (Aalti 15), enquanto na jusante três *loci* apresentaram valores negativos (Asty04, Asty23, Asty12), e valores que variaram de -0.036 (Asty23) a 0.351 (Asty15).

Em todos os estoques houve *loci* em desvio significativo do Equilíbrio de Hardy-Weinberg (Tabela 6). A população PCH Retiro Jusante apresentou três *loci*, Asty04, Asty 15 e Asty23; a PCH Retiro Montante, dois *loci*, Asty4 e Asty15; a PCH Palmeiras Jusante, um *loci*, Asty15; e PCH Palmeiras Montante, dois *loci*, Asty 15 e Aalti15. Nas análises também foram identificados *loci* com valores mais elevados de heterozigotos, como é o caso dos *loci* Asty15 (Retiro Jusante), Asty04 (Palmeiras Jusante e Montante), sendo o maior valor encontrado na PCH Palmeiras Jusante (Asty04, H_O = 1.000; H_E = 0.907).

Tabela 6. Estatística descritiva das PCH Retiro e PCH Palmeiras (*N* – número de indivíduos; *A* – número de alelos; *Ne* – número de alelos efetivos; *Ar* – riqueza alélica; *H_O* – heterozigosidade observada; *H_e* – heterozigosidade esperada; *PIC* – Índice de Informação Polimórfica; *F* – coeficiente de endogamia e *HWE* – desvio do Equilíbrio de Hardy-Weinberg, em negrito valores significativos ($p \leq 0,05$).

		<i>Loci</i>					
		Asty04	Asty15	Asty23	Asty12	Aalti26	Aalti15
PCH Retiro Jusante	<i>N</i>	28	26	29	30	27	27
	<i>A</i>	16	18	8	8	7	10
	<i>Ne</i>	8,711	11,556	3,633	2,744	4,528	5,400
	<i>Ar</i>	12,507	13,941	6,525	6,089	6,520	8,180
	<i>H_O</i>	0,607	0,654	0,655	0,633	0,852	0,704
	<i>H_E</i>	0,885	0,913	0,725	0,636	0,779	0,815
	<i>PIC</i>	0,876	0,907	0,688	0,606	0,751	0,793
	<i>HWE</i>	0,008	0,044	0,023	0,128	0,100	0,325
	<i>F</i>	0,314	0,284	0,096	0,003	-0,093	0,136
PCH Retiro Montante	<i>N</i>	27	28	26	26	24	18
	<i>A</i>	9	15	8	7	6	9
	<i>Ne</i>	5,951	9,389	4,989	2,527	3,669	5,400
	<i>Ar</i>	7,798	11,678	6,960	5,621	5,516	8,102
	<i>H_O</i>	0,667	0,643	0,654	0,654	0,667	0,556
	<i>H_E</i>	0,832	0,893	0,800	0,604	0,727	0,815
	<i>PIC</i>	0,811	0,884	0,772	0,561	0,692	0,790
	<i>HWE</i>	0,027	0,000	0,142	0,902	0,221	0,509
	<i>F</i>	0,199	0,281	0,182	-0,082	0,084	0,318
PCH Palmeiras Jusante	<i>N</i>	21	20	21	14	25	25
	<i>A</i>	14	19	8	5	7	11
	<i>Ne</i>	6,891	13,333	5,803	3,087	3,582	6,614
	<i>Ar</i>	13,238	13,116	7,361	7,004	8,161	9,025
	<i>H_O</i>	0,952	0,600	0,857	0,857	0,680	0,800
	<i>H_E</i>	0,855	0,925	0,828	0,676	0,721	0,849
	<i>PIC</i>	0,839	0,920	0,806	0,636	0,684	0,833
	<i>HWE</i>	0,328	0,000	0,873	0,896	0,052	0,420
	<i>F</i>	-0,114	0,351	-0,036	-0,268	0,057	0,057

	<i>N</i>	24	24	24	22	23	23
	<i>A</i>	16	17	8	8	10	11
	<i>Ne</i>	10,766	7,245	5,592	3,507	3,904	4,991
PCH	<i>Ar</i>	11,025	15,165	7,309	6,447	6,801	9,374
Palmeiras	<i>H_O</i>	1,000	0,833	0,833	0,818	0,826	0,435
Montante	<i>H_E</i>	0,907	0,862	0,821	0,715	0,744	0,800
	<i>PIC</i>	0,900	0,853	0,798	0,687	0,716	0,776
	<i>HWE</i>	0,351	0,038	0,436	0,734	0,998	0,001
	<i>F</i>	-0,102	0,033	-0,015	-0,145	-0,111	0,456

De acordo com a Tabela 7, a PCH Palmeiras possui maiores valores médios de diversidade alélica que a PCH Retiro, com uma média de $A=11.167$ e $Ar=9.502$ na PCH Palmeiras e $A=10.084$ e $Ar=8.286$ na PCH Retiro. Contudo, ambas possuem bons valores para os índices de alelos por locus e de riqueza alélica encontrada nas PCHs. Ao observar os valores de H_O e H_E , a PCH Retiro apresentou valores de H_O significativamente menores do que H_E ($H_O=0.662$; $H_E=0.786$), indicando um déficit de heterozigotos em relação ao que se era esperado. Na PCH Palmeiras, os valores de heterozigosidade foram mais próximos entre si ($H_O=0.791$; $H_E=0.809$), o que indica uma aproximação do HWE.

Os valores médios de F_{IS} entre todos os *loci* da PCH Retiro foram de 0.164 a montante e 0.123 a jusante, na PCH Palmeiras os valores foram 0.020 a montante e 0.008 a jusante (Tabela 7). Desse modo, ao observar os valores obtidos é possível notar que a PCH Retiro possui F_{IS} médio mais elevado (0.151) em comparação com a PCH Palmeiras 0.027.

Ao comparar a diversidade genética média estimada, os valores obtidos na PCH Retiro indicam uma maior diversidade genética na jusante em relação à montante. Com 54 alelos, a média de alelos por *locus* na montante foi de 9.000, enquanto na jusante, foram encontrados 67 alelos com uma média de 11,167 alelos por *locus*. A heterozigosidade observada média, também obteve valores similares na montante (0.640) e na jusante (0.684).

Na PCH Palmeiras (Tabela 7), a diversidade genética média estimada indicou uma maior diversidade alélica a montante em comparação à jusante, com um total de 70 e 64 alelos,

respectivamente. A média de alelos por *locus* a montante foi de 11.667 e na jusante foi de 10.667, e os valores de heterozigosidade observada média o mesmo, 0.791. Em resumo, os valores de diversidade genética média geral estimada em cada PCH indicam uma maior diversidade genética na PCH Palmeiras em relação à PCH Retiro.

Tabela 7. Estatística descritiva média de cada população e média geral de cada PCH (A – alelos por *locus*; Ar – riqueza alélica; H_O – heterozigosidade observada; H_E - heterozigosidade esperada e F_{IS} – coeficiente de endogamia (Weir & Cockerham) .

PCH Retiro					
	A	Ar	H _O	H _E	F _{IS}
Montante	9,000	7,613	0,640	0,779	0,164
Jusante	11,167	8,960	0,684	0,792	0,123
Média	10,084	8,286	0,662	0,786	0,151
PCH Palmeiras					
	A	Ar	H _O	H _E	F _{IS}
Montante	11,667	9,354	0,791	0,808	0,020
Jusante	10,667	9,651	0,791	0,809	0,008
Média	11,167	9,502	0,791	0,809	0,027

Com relação aos alelos privados de cada estoque (Tabela 8), o estoque PCH Palmeiras Montante foi o que apresentou o maior número, nele todos os *loci* apresentaram pelo menos um alelo privado, totalizando 10 alelos privados. O segundo maior número de alelos, foi sete, encontrado a jusante da PCH Palmeiras. Nos estoques a montante e a jusante da PCH Retiro, foram encontrados três e seis alelos, respectivamente.

O *locus* com maior número de alelos privados foi o Asty 15, com pelo menos um alelo em todos os estoques. O *locus* Asty04, Asty 23, Aalti26 e Aalti15, apresentaram alelos privados apenas na PCH Palmeiras. O *locus* Asty 12 encontrou alelos privados na PCH Retiro Jusante e PCH Palmeiras Montante.

Tabela 8. Identificação dos alelos privados de cada população por *locus*, nas colunas de cada *loci* o alelo e entre parêntese o número de vezes que apareceram.

	Asty04	Asty15	Asty23	Asty12	Aalti26	Aalti15
PCH Retiro Montante	188(1)					
	240(8)					
	244(3)					
PCH Retiro Jusante	194(1)			180(2)		
	198(2)					
	228(1)					
	232(2)					
	250(1)					
PCH Palmeiras Montante	198(3)	236(2)	146(1)	160(1)	156(1)	268(1)
	216(1)				160(3)	
	220(1)					
	228(1)					
PCH Palmeiras Jusante	218(1)	180(1)				234(4)
	224(1)	186(1)				
		234(1)				
		254(2)				

A diferenciação genética entre os estoques de *A. lacustris* estimada pelo índice F_{ST} foi baixa (De acordo com os critérios de classificação adotados (Weir & Cockerham, 1984), todos os valores permaneceram abaixo de 0.05.

A significância estatística ($p < 0.05$) foi observada apenas nas comparações entre a PCH Retiro Montante e PCH Palmeiras Jusante ($p = 0.001$) e entre a PCH Retiro Jusante e PCH Palmeiras Jusante ($p = 0.010$), e, apesar da significância estatística, os valores de F_{ST} permaneceram baixos. Não foi detectada a diferenciação significativa entre os outros pares, incluindo as análises entre os trechos de montante e jusante da mesma barragem.

Tabela 9) entre todas as localidades, tendo uma variação de 0.010 a 0.023. O menor valor foi encontrado entre a PCH Retiro Jusante e PCH Palmeiras Montante, e o maior valor entre PCH

Retiro Montante e PCH Palmeiras Jusante. De acordo com os critérios de classificação adotados (Weir & Cockerham, 1984), todos os valores permaneceram abaixo de 0.05.

A significância estatística ($p < 0.05$) foi observada apenas nas comparações entre a PCH Retiro Montante e PCH Palmeiras Jusante ($p = 0.001$) e entre a PCH Retiro Jusante e PCH Palmeiras Jusante ($p = 0.010$), e, apesar da significância estatística, os valores de F_{ST} permaneceram baixos. Não foi detectada a diferenciação significativa entre os outros pares, incluindo as análises entre os trechos de montante e jusante da mesma barragem.

Tabela 9. Valores do índice F_{ST} (Weir & Cockerham, 1984), calculado par a par estão localizados na diagonal inferior. Níveis de classificação (diagonal superior): abaixo de 0.05 – baixo; entre 0.05 e 0.15 – moderado; acima de 0.15 – alto.

		PCH Retiro		PCH Palmeiras	
		Montante	Jusante	Montante	Jusante
PCH Retiro	Montante	***	0.207	0.120	<u>0.001</u>
	Jusante	0.014	***	0.779	<u>0.010</u>
PCH Palmeiras	Montante	0.015	0.010	***	0.094
	Jusante	0.023	0.021	0.016	***
(p-valor estatisticamente significativo)					

A análise bayesiana realizada no STRUCTURE, que avalia a estruturação genética e o *admixture* das populações, indicou $K = 2$ como o número mais provável de agrupamentos genéticos, com base no maior valor de ΔK observado (Figura 7a). Para esse valor de K , foram identificados dois *clusters* genéticos, representados pelas cores verde (*cluster* 1) e vermelho (*cluster* 2) (Figura 7b). Ambos foram observados nas quatro populações amostradas, porém cada agrupamento apresentou proporções distintas entre os indivíduos.

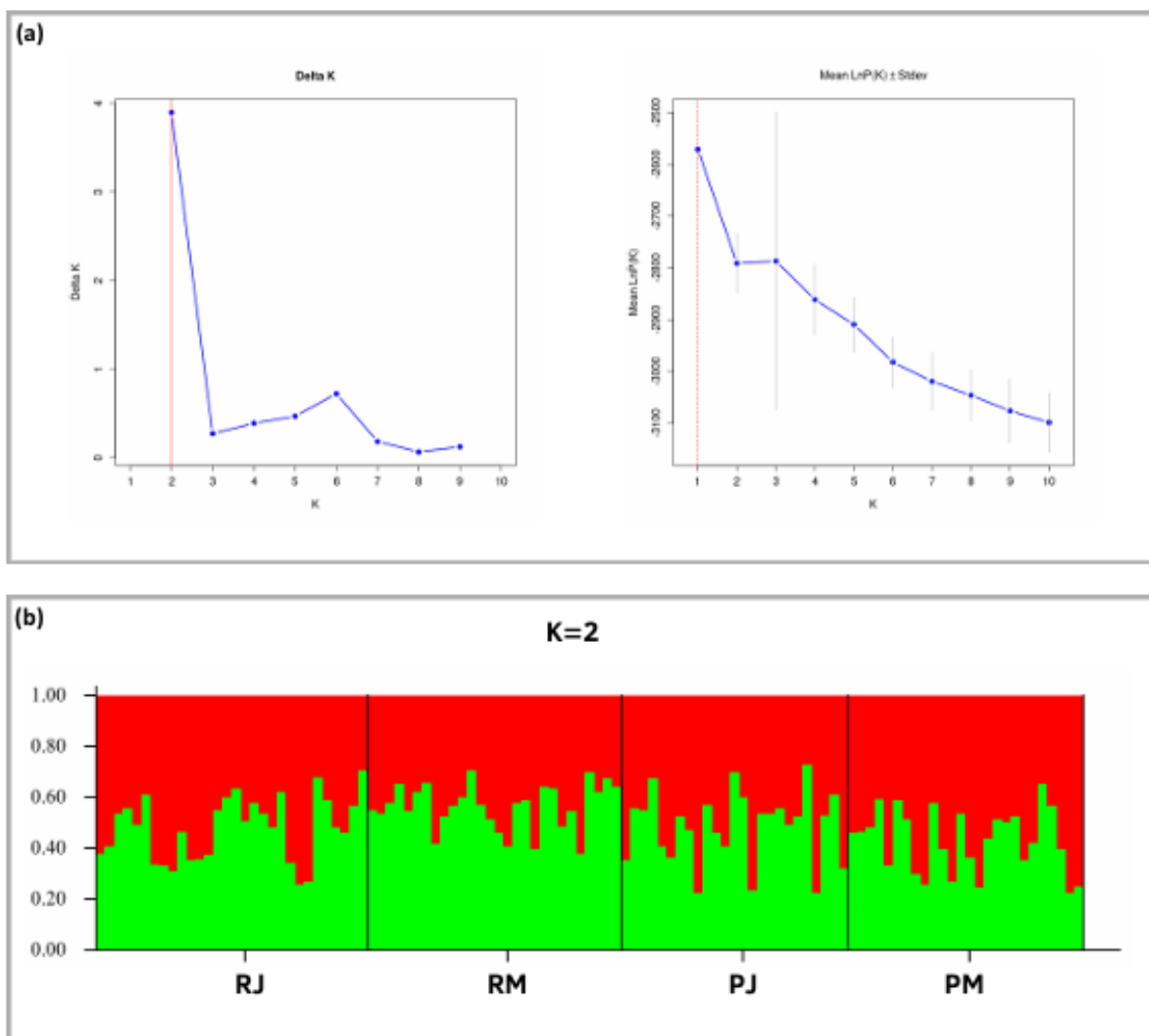


Figura 7. Determinação de grupos genéticos. (a) Determinação do valor ótimo de K, Delta-K =2 pelo método de Evanno (Evanno et al., 2005); (b) Gráfico barplot inferindo as proporções de ancestralidade por indivíduo para os grupos genéticos, utilizando K=2 do programa STRUCTURE; PCH Retiro Jusante (RJ); PCH Retiro Montante (RM); PCH Palmeiras Jusante (PJ), PCH Palmeiras Montante (PM).

O método de análise multivariado da DAPC revelou um padrão de estruturação genética diferente da análise do STRUCTURE. Com base no BIC (Critério de Informação Bayesiana), a DAPC indicou o valor de K=3 como o mais provável número de agrupamentos, sugerindo a presença de três agrupamentos genéticos na amostragem.

No gráfico de dispersão (Figura 8), observa-se uma sobreposição das elipses e dos indivíduos de cada população, indicando que há um baixo grau de diferenciação genética.

Porém, é possível identificar que os indivíduos da PCH Palmeiras Montante, apresenta uma distribuição mais centralizada na porção negativa do primeiro eixo discriminante, enquanto que os da PCH Retiro Jusante concentram-se predominantemente na porção positiva do eixo, e as PCHs Retiro Montante e Palmeiras Jusante apresentaram distribuição intermediária, com elevada sobreposição em relação às demais populações.

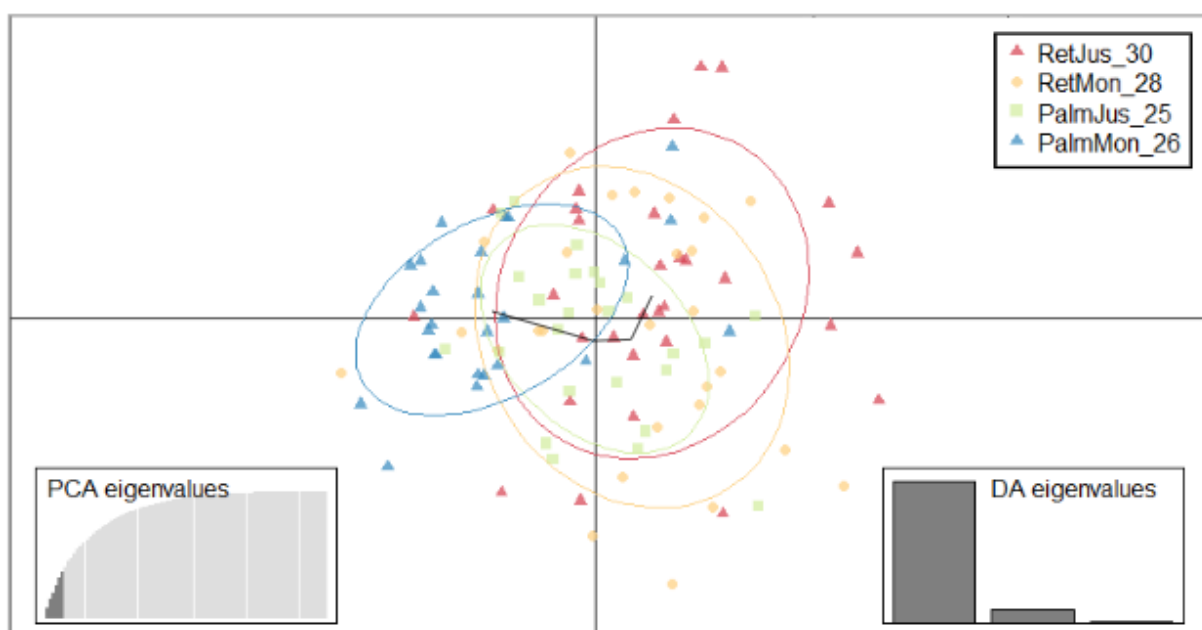


Figura 8. Gráfico de dispersão da DAPC dos genótipos de *A. lacustris* das PCHs Retiro e Palmeiras por microssatélites, com retenção de 6 componentes principais: os *clusters* são representados por cores e elipses de inércia, e os indivíduos são mostrados como formas geométricas, $n.da = 2$.

De acordo com o *barplot* de atribuição dos agrupamentos genéticos da DAPC (Figura 9), observou-se a probabilidade de pertencimento entre os indivíduos dos quatro estoques analisados aos estoques pré-estabelecidos. Os estoques PCH Retiro Jusante, PCH Retiro Montante e PCH Palmeiras Jusante apresentaram padrões de composição semelhantes, caracterizados pela contribuição das diferentes componentes genéticas nos indivíduos. Em contraste, embora os quatro componentes também tenham sido observados no estoque PCH

Palmeiras Montante, este apresentou maior proporção do componente representado pela cor azul e menor contribuição relativa do componente vermelho em parte dos indivíduos.

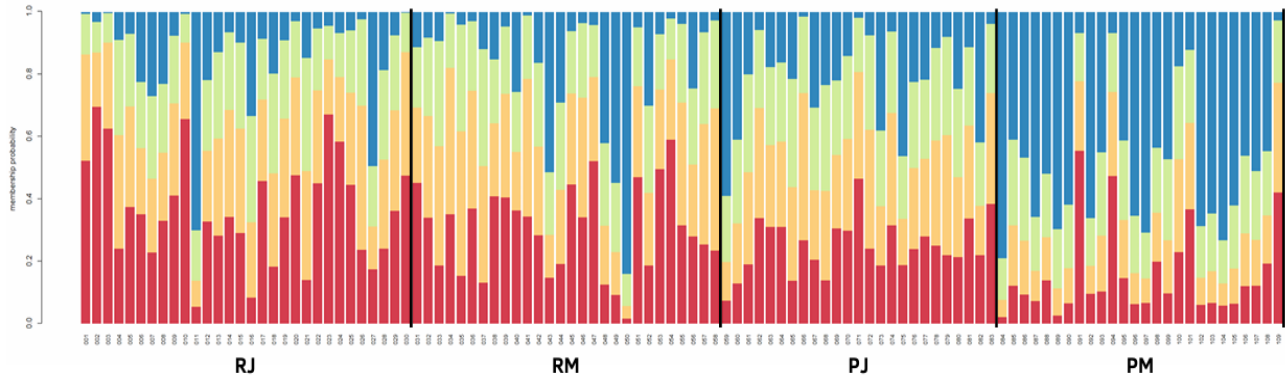


Figura 9. Estrutura barplot de probabilidade de atribuição dos agrupamentos genéticos nos 109 indivíduos de *A. lacustris*, baseado na DAPC; PCH Retiro Jusante (RJ) – 30 indivíduos; PCH Retiro Montante (RM) – 28 indivíduos; PCH Palmeiras Jusante (PJ) – 25 indivíduos, PCH Palmeiras Montante (PM) – 26 indivíduos.

5 DISCUSSÃO

5.1 Variabilidade genética

A análise MLG indicou que a inclusão de três *loci* são suficientes para estabilizar o número de genótipos multilocus, uma vez que a inclusão de marcadores adicionais não resultou na identificação de novas MLGs. Sendo assim, para os indivíduos analisados o conjunto de marcadores utilizado apresentou capacidade adequada de discriminação dos genótipos para as análises de diversidade e estruturação genética.

Nos *loci* de microssatélites Asty04 e Asty15, foi detectada a presença de alelos nulos, o que pode explicar parte dos desvios do HWE observados na Tabela 7. Alelos nulos são alelos que não são amplificados durante a PCR, seja porque as condições não foram ideais, seja porque a região de ancoragem dos *primers* contém mutações que inibem a ligação (Selkoe & Toonen, 2006), podendo resultar na classificação incorreta de indivíduos heterozigotos como homozigotos, e subestimando a H_0 . Em estudos anteriores, a presença de alelos nulos só havia sido registrada nos *loci* Asty 16 e Asty 21, que não foram utilizados nesse estudo (Zaganini, 2012).

De acordo com Paetkau e Strobeck (1995), a presença de alelos nulos pode influenciar as estimativas de diferenciação populacional, uma vez que tendem a reduzir a diversidade genética dentro das populações, podendo levar ao aumento dos valores do índice F_{ST} e das distâncias genéticas (Slatkin, 1995; Paetkau et al., 1997). Assim, destaca-se a importância de realizar testes de detecção de alelos nulos sempre que o conjunto de marcadores for utilizado. Apesar disso, os valores de diversidade genética encontrados para os quatro grupos de *A. lacustris*, com base em seis *loci* microssatélites, indicam alta diversidade genética nos estoques das PCHs Retiro e Palmeiras ($A = 10,625$; $A_r = 8,894$; $H_0 = 0,727$; $H_E = 0,797$).

A elevada diversidade genética observada pode relacionar-se com as características biológicas de *A. lacustris*, que apresenta ampla distribuição geográfica, elevada abundância populacional e comportamento migratório, e a manutenção ocasionada pela persistência da conectividade entre os estoques, que favorece a troca de alelos e realizam a manutenção da variabilidade genética. Ademais, esses valores estão de acordo com estudos semelhantes

realizados com peixes dessa espécie (de Freitas, 2022; Silva, 2020; Mendonça, 2018; Zaganini, 2013), e, portanto, sugerem que apesar da detecção de alelos nulos, não foram observadas alterações evidentes que interferiram significativamente na interpretação das análises.

Os valores de F_{IS} foram positivos, indicando um déficit de heterozigotos nas populações (Tabela 7). Embora esses valores possam estar associados ao cruzamento entre indivíduos aparentados, considerar apenas eles não permite confirmar a ocorrência de endogamia, uma vez que o déficit de heterozigotos também pode estar relacionado a fatores como estrutura populacional, efeito Wahlund, que é a presença de subpopulações dentro da população amostrada, e a presença de alelos nulos.

Observou-se uma queda dos valores do F_{IS} da PCH Palmeiras aos valores relatados por Silva (2020) para os anos de 2018 e 2019, sugerindo uma redução no déficit de heterozigotos e uma possível mudança no fluxo genético do estoque ao longo dos anos. Para a PCH Retiro, o F_{IS} encontrado nesse estudo se aproximou do valor para o ano de 2019 (0.171), indicando que na PCH existe um problema persistente que favorece o déficit de heterozigotos, mesmo com as ações de manejo realizadas na região, como é o caso do monitoramento genético e a soltura de peixes provenientes do *supportive breeding*. Além disso, associados aos valores de F_{IS} nota-se que para alguns *loci* o desvio de HWE associa-se com o déficit de heterozigotos nas populações. Indicando uma aproximação aos valores esperados sob HWE, que sugere mudanças na dinâmica genética dessas populações.

A robustez dos valores encontrados nesse trabalho associa-se ao conjunto de *loci* utilizado, já que o presente estudo combinou *loci* Asty e Aalti (Tabela 2) e estudos anteriores utilizaram apenas *loci* Asty, o que pode ter influenciado as estimativas do coeficiente de endogamia. Ainda, a utilização de diferentes conjuntos de marcadores influencia nas estimativas de diversidade e de diferenciação genética, uma vez que os *loci* podem apresentar diferentes níveis de polimorfismo, taxas de mutação e frequências alélicas.

5.2 Estrutura populacional e análise de agrupamentos multivariados

A caracterização das frequências alélicas é essencial para observar como a estruturação genética entre as populações estudadas (Vanhaecke et al., 2012; Yi et al., 2015). Logo, a identificação de agrupamentos genéticos e a inferência de estrutura populacional são etapas fundamentais em estudos de genética da conservação (Frankham et al., 2008).

Foram identificados alelos privados em todas as populações analisadas, indicando a características genéticas exclusivas. A população PCH Palmeiras Montante apresentou o maior número de alelos privados ($n = 10$), distribuídos em seis loci, sugerindo maior singularidade genética em relação às demais populações. A população PCH Palmeiras Jusante apresentou sete alelos privados, enquanto PCH Retiro Jusante apresentou seis, predominantemente em baixas frequências. Em PCH Retiro Montante foram observados apenas três alelos privados; entretanto, um deles (alelo 240 do loco Asty15) ocorreu em oito cópias, indicando que esse alelo exclusivo apresenta frequência relativamente elevada nessa população.

A presença de alelos privados no *locus* Asty15, conforme observado na Tabela 8, também merece destaque, tendo em vista que concentra o maior número entre os marcadores. De acordo com Dąbrowski et al. (2015), um número elevado de alelos em um *locus* tende a resultar em menos cópias por alelo e, portanto, menor frequência de homozigotos, o que contribui para o aumento da heterozigosidade observada (H_0). Contudo, apesar da ocorrência de alelos privados, as análises de estrutura populacional indicam que a maior parte da variabilidade genética ainda é compartilhada entre os estoques, e que embora os alelos privados tenham em sua maioria ocorrência em baixas frequências, a presença deles em todas as populações sugere a existência de processos locais de diferenciação genética.

Os baixos valores de F_{ST} observados indicam reduzida diferenciação genética entre os grupos amostrados, sugerindo que a maior parte da variabilidade genética encontra-se distribuída dentro das populações e não entre elas. Esse padrão condiz com a elevada diversidade genética observada e sugere a que há a manutenção de conectividade entre os

estoques avaliados. Dessa forma, essa análise não encontrou evidências de isolamento genético entre os estoques separados pelas barragens da PCH.

Apesar da baixa diferenciação genética dos valores de F_{ST} , as análises de agrupamento revelaram evidências de uma estruturação genética sutil. A análise bayesiana realizada no STRUCTURE identificou dois *clusters* ($K = 2$), enquanto a DAPC indicou três *clusters* ($K = 3$). Apesar dos *clusters* identificados serem amplamente compartilhados entre os estoques, observou-se que a população PCH Palmeiras Montante apresenta uma composição genética relativamente diferente das demais, identificado pela DAPC. A presença desse *cluster* em maior proporção na população indica que processos de diferenciação local já podem estar atuando nesse trecho da PCH Palmeiras no rio Sapucaí-mirim.

A disparidade de resultados de F_{ST} e das análises de *clusters* pode ser explicada devido às diferenças metodológicas entre as abordagens. Enquanto o F_{ST} estima a diferenciação genética média entre populações, métodos multivariados e bayesianos, como DAPC e STRUCTURE, possuem maior sensibilidade para detectar padrões iniciais de subdivisão populacional. Assim, embora a diferenciação genética do F_{ST} permaneça baixa, os resultados sugerem que processos de estruturação genética começaram a acontecer em escala local na população PCH Palmeiras Montante.

Considerando que as PCHs foram implantadas há aproximadamente dez anos, é possível que o tempo transcorrido desde a construção dos barramentos ainda não tenha sido suficiente para gerar níveis elevados de diferenciação genética, detectáveis pelo F_{ST} . Por outro lado, a manutenção do fluxo gênico entre os trechos amostrados pode estar contribuindo para a preservação da conectividade genética observada.

Além disso, ressalta-se que a população da PCH Retiro Montante merece atenção em futuros programas de monitoramento genético. Apesar de não ter apresentado sinais de estruturação genética, esse estoque exibiu menor riqueza alélica e menor número de alelos privados em comparação às demais populações, além de valores positivos de F_{IS} , indicando tendência a déficit de heterozigotos, e possível endogamia. Se os processos de isolamento da conectividade promovidos pelos barramentos persistirem ao longo das gerações, essa

população poderá apresentar redução progressiva da variabilidade genética e maior suscetibilidade aos efeitos da deriva genética.

Do ponto de vista da conservação genética, os resultados indicam que os estoques de *A. lacustris* ainda mantêm elevados níveis de diversidade genética e de conectividade. Entretanto, a estruturação observada na PCH Palmeiras Montante e os padrões de diversidade genética observados na PCH Retiro Montante reforçam a importância da continuidade do monitoramento populacional. Sendo necessário realizar a reavaliação periódica desses estoques, o que permitirá verificar se os padrões observados neste estudo são condições temporárias ou se correspondem a mudanças que persistem nas populações.

Nesse contexto, os marcadores microssatélites permanecem eficientes para detectar padrões de diversidade e de estruturação genética, constituindo ferramentas relevantes, sobretudo em contextos de monitoramento populacional de baixo custo, a reavaliação de estoques genéticos e triagens iniciais de diversidade (Wenne, 2023a), além de permitirem o acompanhamento de alterações na diversidade e na estrutura genética ao longo do tempo. Dessa forma, seu uso em programas de monitoramento pode contribuir para identificar mudanças genéticas em populações submetidas à influência de empreendimentos hidrelétricos.

6 CONCLUSÃO

Dando continuidade às atividades de monitoramento da diversidade genética e da estrutura populacional de estoques de *A. lacustris* no rio Sapucaí-Mirim, este estudo demonstrou que os marcadores microssatélites são capazes de caracterizar a variabilidade genética e identificar padrões de diferenciação entre os estoques avaliados. De maneira geral, a manutenção da elevada diversidade genética e a baixa diferenciação entre os estoques indicam a persistência da conectividade genética entre os trechos do rio separados pelas PCHs. Entretanto, a estruturação genética observada na PCH Palmeiras Montante constitui o principal sinal de diferenciação identificado neste estudo e deve ser considerada como um ponto de atenção para o acompanhamento das populações.

A PCH Retiro também merece atenção em futuros programas de monitoramento, especialmente o estoque Retiro Montante, em razão dos padrões de diversidade genética observados e do déficit de heterozigotos identificado. Embora esses resultados não indiquem, isoladamente, um processo de isolamento ou perda de variabilidade genética, seu acompanhamento ao longo das gerações poderá indicar se essas características permanecem estáveis ou se representam o início de alterações na dinâmica genética da população.

Considerando o intervalo entre gerações de *A. lacustris* e o período decorrido desde a implementação das PCHs conclui-se que não foi possível determinar os efeitos a longo prazo dos barramentos sobre a estrutura genética das populações do lambari. Sendo que, pelo método utilizado neste estudo, não foi possível distinguir o que é resultado da conectividade ocasionada pelas escadas de peixes, e o que é decorrente do repovoamento por *supportive breeding*, dessa maneira, não foi possível identificar precisamente indivíduos selvagens daqueles com possível contribuição genética de peixes provenientes da piscicultura.

Diante disso, a continuidade do monitoramento genético é fundamental para acompanhar a evolução desses padrões, principalmente na PCH Palmeiras Montante e na PCH Retiro Montante, permitindo avaliar se a diferenciação observada se mantém, diminui ou se intensifica ao longo das gerações. A manutenção da variabilidade genética de *A.*

lacustris, espécie nativa e amplamente distribuída na bacia do Alto rio Paraná, é importante para a capacidade de resposta das populações às alterações ambientais associadas às PCHs. Nesse contexto, recomenda-se a continuidade das medidas de mitigação atualmente empregadas, incluindo as escadas de peixes e o *supportive breeding*, associada ao monitoramento periódico, de forma a avaliar sua contribuição para a manutenção da conectividade e subsidiar o aprimoramento das estratégias de manejo e conservação da espécie.

7 REFERÊNCIAS

- Agostinho, A. A., & Gomes, L. C. (2018). As escadas de peixes no contexto da conservação de Recursos Naturais.
- Agostinho, A. A., Gomes, L. C., Santos, N. C., Ortega, J. C., & Pelicice, F. M. (2016). Fish assemblages in neotropical reservoirs: Colonization patterns, impacts and management. *Fisheries Research*, 173, 26–36.
- Agostinho, A. A., Marques, E. E., Agostinho, C. S., Almeida, D. A. de, Oliveira, R. J. de, & Melo, J. R. B. de. (2007). Fish ladder of Lajeado Dam: Migrations on one-way routes? *Neotropical Ichthyology*, 5, 121–130.
- Agostinho, A. A., Pelicice, F. E., & Gomes, L. C. (2008). Dams and the fish fauna of the neotropical region: Impacts and management related to diversity and fisheries. *Brazilian Journal of Biology*, 68(4 suppl), 1119–1132.
- Alonso, M. B., De Carvalho, D. R., Alves, C. B. M., Moreira, M. Z., & Pompeu, P. S. (2019). Changes in trophic characteristics of two fish species of *Astyanax* (Teleostei: Characidae) in response to aquatic pollution. *Zoologia*, 36, 1–12.
- ANA - Agência Nacional De Águas E Saneamento Básico. (2014). Conjuntura dos recursos hídricos no Brasil: Regiões hidrográficas brasileiras - Edição Especial.
- ANEEL. (2016). BIG - Banco de Informações de Geração. Disponível em www.aneel.gov.br.
- ANEEL. (2024). Sistema de Informações de Geração da ANEEL (SIGA).
- Awise, J. C. (1994). *Molecular markers, natural history and evolution* (1st ed.). Chapman & Hall.
- Awise, J. C. (2000). *Phylogeography: The history and formation of species*. Harvard university press.
- Baumgartner, L. J. (2007). Diet and feeding habits of predatory fishes upstream and downstream of a low-level weir. *Journal of Fish Biology*, 70(3), 879–894.
- Baxter, R. M. (1977). Environmental Effects of Dams and Impoundments. 8, 255–283.
- Benchimol, M., & Peres, C. A. (2015). Predicting local extinctions of Amazonian vertebrates in forest islands created by a mega dam. *Biological Conservation*, 187, 61–72.
- Bennemann, S., Shibatta, O., & Garavello, J. (2000). *Peixes do rio Tibagi. Uma abordagem ecológica*. Londrina: Editora da UEL, 62p.

- Brambilla, E. M., Silva, L. G. M., Baumgartner, L. J., Bialecki, A., & Nogueira, M. G. (2022). Dispersal of fish eggs and larvae in a cascade of small hydropower plants with fish ladders. *Hydrobiologia*, 849(2), 339–356.
- Brambilla, E. M. (2020). Efeito dos barramentos de Pequenas Centrais Hidrelétricas sobre a distribuição do ictioplâncton em um tributário do rio Grande (SP/MG) [Tese de doutorado]. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.
- Brambilla, E. M., Uieda, V. S., & Nogueira, M. G. (2019). Does seasonality and pool connectivity influence fish trophic ecology in knickzone habitats? *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 54(1), 22–30.
- Cada, G. F., & Zadroga, F. (1982). Small-scale Hydroelectric Power for Developing Countries: Methodology of Site-selection Based on Environmental Issues. *Environmental Conservation*, 9(4), 329–338.
- Capeleti, A. R., & Petrere Jr., M. (2006). Migration of the curimatá *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) (Pisces, Prochilodontidae) at the waterfall “Cachoeira de Emas” of the Mogi-Guaçu river—São Paulo, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 66(2b), 651–659.
- Castro, R. M. C., & Arcifa, M. S. (1987). Comunidades de peixes de reservatórios no sul do Brasil. 47(4), 493–500.
- Celestino, L. F., Sanz-Ronda, F. J., Miranda, L. E., Makrakis, M. C., Dias, J. H. P., & Makrakis, S. (2019). Bidirectional connectivity via fish ladders in a large neotropical river: Maintaining connectivity via fish ladders. *River Research and Applications*, 35(3), 236–246.
- Clay, C. H. (1995). *Design of Fishways and Other Fish Facilities*. 2.
- Corà, E., & Mišech, A. (2021). *Hydropower Technologies: The state-of-the-art*. 5.0, 85.
- Coghill, L. M., Darrin Hulsey, C., Chaves-Campos, J., García De Leon, F. J., & Johnson, S. G. (2014). Next generation phylogeography of cave and surface *Astyanax mexicanus*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 79, 368–374. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.06.029>
- Couto, T. B., & Olden, J. D. (2018). Global proliferation of small hydropower plants – science and policy. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 16(2), 91–100. <https://doi.org/10.1002/fee.1746>
- Couto, T. B. A., Messenger, M. L., & Olden, J. D. (2021). Safeguarding migratory fish via strategic planning of future small hydropower in Brazil. *Nature Sustainability*, 4(5), 409–416.
- CTG Brasil. (2023). *Relatório de Sustentabilidade 2023*.
- Dagosta, F. C. P., Monção, M. S., Nagamatsu, B. A., Pavanelli, C. S., Carvalho, F. R., Lima, F. C. T., Langeani, F., Dutra, G. M., Ota, R. R., Seren, T. J., Tagliacollo, V., Menezes, N. A., Britski,

- H. A., & Pinna, M. D. (2024). Fishes of the upper rio Paraná basin: Diversity, biogeography and conservation. *Neotropical Ichthyology*, 22(1), e230066.
- De Freitas, G. I. (2022). Análise da diversidade genética de *Astyanax lacustris* do rio Sapucaí-Mirim: Ações efetivas como forma mitigadora na implantação das PCH's [Trabalho de Conclusão de Curso].
- Dias, R. M., Bailly, D., Antônio, R. R., Suzuki, H. I., & Agostinho, A. A. (2005). Colonization of the Corumbá Reservoir (Corumbá River, Paraná River Basin, Goiás State, Brazil) by the "lambari" *Astyanax altiparanae* (Tetragonopterinae; Characidae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48(3), 467–476.
- EPE. (2024a). Balanço Energético Nacional 2024: Ano base 2023 (p. 274).
- EPE. (2024b). Balanço Energético Nacional 2024: Ano base 2023/Empresa de Pesquisa Energética.
- Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study. *Molecular Ecology*, 14(8), 2611–2620.
- FAO/DVWK. (2002). Fish passes: Design, dimensions and monitoring. Food and Agriculture Organization of the United Nations: Deutscher Verband für Wasserwirtschaft und Kulturbau.
- Favaro, T. (2002). Lambari ganha mercado, na pesca e na mesa: De isca viva a petisco, peixe deixa de ser praga em tanques para se tornar fonte de renda. São Paulo: Suplemento Agrícola do Estadão, 15.
- Figueiredo, P. I. C. C., Hashimoto, D. T., Ariede, R. B., Zani, A. L. S., Varal, M., Malabarba, L. R., & Fagundes, N. J. R. (2025). Population genomics of *Gymnogeophagus labiatus* and *G. lacustris* reinforces the role of hydrographic isolation between evolutionary lineages (Cichlidae: Geophagini). *Neotropical Ichthyology*, 23(1), e240051. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2024-0051>
- Frichot, E., & François, O. (2015). LEA: An R package for landscape and ecological association studies. *Methods in Ecology and Evolution*, 6(8), 925–929. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12382>
- Frankham, R., Ballou, J. D., & Briscoe, D. A. (2008). Fundamentos de Genética da Conservação (1–280). SBG.
- Garcia, Y. (2022). Identificação de SNPs e genética populacional de cardumes migradores e residentes de *Prochilodus lineatus* (Characiformes: Prochilodontidae). [Dissertação de mestrado].
- Garutti, V., & Britski, H. A. (2000). Descrição de uma espécie nova de *Astyanax* (Teleostei: Characidae) da bacia do alto rio Paraná e considerações sobre as demais espécies do gênero na bacia. *Comn. Mus. Cienc. Tecnol.*, 13, 65–88.

- Gnocchi, K. G., Boldrini-França, J., Passos, L. S., Gomes, A. S., Coppo, G. C., Pereira, T. M., & Chippari-Gomes, A. R. (2023). Multiple biomarkers response of *Astyanax lacustris* (Teleostei: Characidae) exposed to manganese and temperature increase. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 100, 104124.
- Google Earth. (2025). Google Earth (versão 9.180.0.1). Google LLC.
- Goudet, J. (1995). FSTAT (Version 1.2): A Computer Program to Calculate F-Statistics. *Journal of Heredity*, 86(6), 485–486.
- Goudet, J. (2002). FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9. 3.2).
- Graça, W. J., & Pavanelli, C. S. (2007). Peixes da planície de inundação do alto rio Paraná e áreas adjacentes.
- Hahn, N., & Fugi, R. (2008). Environmental Changes, Habitat Modifications and Feeding Ecology of Freshwater Fish. Em B. Kapoor (Org.), *Feeding and Digestive Functions in Fishes* (p. 35–65). Science Publishers.
- Hogg, C. J., Ottewell, K., Latch, P., Rossetto, M., Biggs, J., Gilbert, A., Richmond, S., & Belov, K. (2022). Threatened Species Initiative: Empowering conservation action using genomic resources. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 119(4), e2115643118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2115643118>
- Jeffery, W. R. (2001). Cavefish as a model system in evolutionary developmental biology. *Developmental biology*, 231(1), 1–12.
- Jost, L. (2008). Gst and its relatives do not measure differentiation. *Molecular Ecology*, 17(18), 4015–4026.
- Kalinowski, S. T., & Taper, M. L. (2006). Maximum likelihood estimation of the frequency of null alleles at microsatellite loci. *Conservation Genetics*, 7(6), 991–995. <https://doi.org/10.1007/s10592-006-9134-9>
- Kamvar, Z. N., Tabima, J. F., & Grünwald, N. J. (2014). Poppr: An R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. *PeerJ*, 2, e281.
- Keenan, K., McGinnity, P., Cross, T. F., Crozier, W. W., & Prodöhl, P. A. (2013). diveRsity: An R package for the estimation and exploration of population genetics parameters and their associated errors. *Methods in Ecology and Evolution*, 4(8), 782–788.
- Kibler, K. M., & Tullos, D. D. (2013). Cumulative biophysical impact of small and large hydropower development in Nu River, China: Biophysical Impact of Small and Large Hydropower. *Water Resources Research*, 49(6), 3104–3118. <https://doi.org/10.1002/wrcr.20243>

- Kopelman, N. M., Mayzel, J., Jakobsson, M., Rosenberg, N. A., & Mayrose, I. (2015). CLUMPAK: A program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. *Molecular Ecology Resources*, 15(5), 1179–1191.
- Kritzer, J. P., & Sale, P. F. (2004). Metapopulation ecology in the sea: From Levins' model to marine ecology and fisheries science. *Fish and Fisheries*, 5(2), 131–140.
- Lange, K., Meier, P., Trautwein, C., Schmid, M., Robinson, C. T., Weber, C., & Brodersen, J. (2018). Basin-scale effects of small hydropower on biodiversity dynamics. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 16(7), 397–404. <https://doi.org/10.1002/fee.1823>
- Langeani, F., Castro, R. M. C., Oyakawa, O. T., Shibatta, O. A., Pavanelli, C. S., & Casatti, L. (2007). Diversidade da ictiofauna do Alto Rio Paraná: Composição atual e perspectivas futuras. *Biota Neotropica*, 7, 181–197.
- Langecker, T., Wilkens, H., & Junge, P. (1991). Introgressive hybridization in the Pachon Cave population of *Astyanax fasciatus* (Teleostei: Characidae). *Ichthyological exploration of freshwaters. Munchen*, 2(3), 209–212.
- Li, Y., & Liu, J. (2018). StructureSelector: A web-based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods. *Molecular Ecology Resources*, 18(1), 176–177.
- Lima, F. P. de, Nobile, A. B., Freitas-Souza, D., Carvalho, E. D., & Vidotto-Magnoni, A. P. (2018). Can dams affect the trophic structure of ichthyofauna? A long-term effect in the neotropical region. *Iheringia. Série Zoologia*, 108.
- Lima, F. C. T., Malabarba, L. R., Buckup, P. A., Silva, J. F. P. da, Vari, R. P., Benine, R., Oyakawa, O. T., Pavanelli, C. S., Menezes, N. A., Lucena, C. A. S., Reis, R. E., Langeani, F., Cassati, L., Bertaco, V. A., Moreira, C., & Lucinda, P. H. F. (2003). Check list of the freshwater fishes of South and Central America. EDIPUCRS.
- Lira, N. A., Pompeu, P. S., Agostinho, C. S., Agostinho, A. A., Arcifa, M. S., & Pelicice, F. M. (2017). Fish passages in South America: An overview of studied facilities and research effort. *Neotropical Ichthyology*, 15(2). <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20160139>
- Lowe-McConnell, R. H. (1999). Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais. Em *Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais* (p. 534–534).
- Lucena, C., & Soares, H. G. (2016). Review of species of the *Astyanax bimaculatus* "caudal peduncle spot" subgroup sensu Garutti & Langeani (Characiformes, Characidae) from the rio La Plata and rio São Francisco drainages and coastal systems of southern Brazil and Uruguay. *Zootaxa*, 4072(1), 101–125.
- Magalhães, C. de O. (2023). Genômica populacional no estudo da diversidade genética do gênero *Rhamdia*, com foco no complexo *Rhamdia quelen* de populações de cultivo e selvagens [Tese de doutorado]. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

- Magoulick, D. D., & Kobza, R. M. (2003). The role of refugia for fishes during drought: A review and synthesis. *Freshwater Biology*, 48(7), 1186–1198.
- Makrakis, S., Gomes, L. C., Makrakis, M. C., Fernandez, D. R., & Pavanelli, C. S. (2007). The Canal da Piracema at Itaipu Dam as a fish pass system. *Neotropical Ichthyology*, 5(2), 185–195.
- Maroneze, D. M., Tupinambás, T. H., Alves, C. B., Vieira, F., Pompeu, P. S., & Callisto, M. (2011). Fish as ecological tools to complement biodiversity inventories of benthic macroinvertebrates. *Hydrobiologia*, 673, 29–40.
- Martínez, J. G., Machado, V. N., Caballero-Gaitán, S. J., Santos, M. D. C. F., Alencar, R. M., Escobar L., M. D., Hrbek, T., & Farias, I. P. (2017). SNPs markers for the heavily overfished tambaqui *Colossoma macropomum*, a Neotropical fish, using next-generation sequencing-based de novo genotyping. *Conservation Genetics Resources*, 9(1), 29–33. <https://doi.org/10.1007/s12686-016-0610-3>
- Mastrochirico-Filho, V. A., Hata, M. E., Sato, L. S., Jorge, P. H., Foresti, F., Rodriguez, M. V., Martínez, P., Porto-Foresti, F., & Hashimoto, D. T. (2016). SNP discovery from liver transcriptome in the fish *Piaractus mesopotamicus*. *Conservation Genetics Resources*, 8(2), 109–114. <https://doi.org/10.1007/s12686-016-0521-3>
- Mastrochirico-Filho, V. A., Freitas, M. V., Ariede, R. B., Lira, L. V., Mendes, N. J., & Hashimoto, D. T. (2018). Genetic applications in the conservation of neotropical freshwater fish. *Biological resources of water*. London: Intechopen, 249–284.
- Mendonça, B. B. (2018). Análise genética da reposição de estoques de peixes na bacia do rio Sapucaí-Mirim (SP): Implicações na conservação [Tese de doutorado]. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.
- MME/EPE. (2007). Plano Nacional de Energia 2030.
- Nilsson, C., Reidy, C. A., Dynesius, M., & Revenga, C. (2005). Large River Systems Fragmentation and Flow Regulation of the World's. 308, 405–409.
- Orsi, M. L., Carvalho, E. D., & Foresti, F. (2004). Biologia populacional de *Astyanax altiparanae* Garutti & Britski (Teleostei, Characidae) do médio Rio Paranapanema, Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 21(2), 207–218.
- Orsi, M. L., Shibatta, O. A., & Silva-Souza, A. (2002). Caracterização biológica de populações de peixes do rio Tibagi, localidade de Sertanópolis. A bacia do rio Tibagi. Londrina: UEL, 425–432.
- Paiva, M. P. (1982). Grandes represas do Brasil. Editerra.
- Peakall, R., & Smouse, P. E. (2012). GenAlEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics*, 28(19), 2537–2539.

- Pellicice, F. M., & Agostinho, A. A. (2008). Fish-Passage Facilities as Ecological Traps in Large Neotropical Rivers: Fish Passages as Ecological Traps. *Conservation Biology*, 22(1), 180–188. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2007.00849.x>
- Radinger, J., & Wolter, C. (2014). Patterns and predictors of fish dispersal in rivers. *Fish and fisheries*, 15(3), 456–473.
- Ramirez, J. L., Machado, C. B., De Mello Affonso, P. R. A., & Galetti, P. M. (2023). Speciation in Coastal Basins Driven by Staggered Headwater Captures: Dispersal of a Species Complex, *Leporinus bahiensis*, as Revealed by Genome-wide SNP Data. *Systematic Biology*, 72(5), 973–983. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syad034>
- Sharma, N. K., Tiwari, P. K., & Sood, Y. R. (2013). A comprehensive analysis of strategies, policies and development of hydropower in India: Special emphasis on small hydro power. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 18, 460–470. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.10.017>
- Pellicice, F. M., & Agostinho, C. S. ([s.d.]). Deficient downstream passage through fish ladders: The case of Peixe Angical Dam, Tocantins River, Brazil.
- Pellicice, F. M., Pompeu, P. S., & Agostinho, A. A. (2015). Large reservoirs as ecological barriers to downstream movements of Neotropical migratory fish. *Fish and Fisheries*, 16(4), 697–715.
- Poff, N. L., Allan, J. D., Bain, M. B., Karr, J. R., Prestegard, K. L., Richter, B. D., Sparks, R. E., & Stromberg, J. C. (1997). The Natural Flow Regime. *BioScience*, 47(11), 769–784.
- Poff, N. L., & Zimmerman, J. K. H. (2010). Ecological responses to altered flow regimes: A literature review to inform the science and management of environmental flows. *Freshwater Biology*, 55(1), 194–205.
- Porto-Foresti, F., Hashimoto, D., Senhorini, J., & Foresti, F. (2010). Híbridação em piscicultura: Monitoramento e perspectivas. *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*, 2, 589–606.
- Porto-Foresti, F., Oliveira, C., Foresti, F., & Castilho-Almeida, R. (2001). Cultivo do Lambari: Uma espécie de pequeno porte e grandes possibilidades. *Panorama da Aquicultura*, 11(67), 15–19.
- Prioli, S. M. A. P., Prioli, A. J., Júlio Jr., H. F., Pavanelli, C. S., Oliveira, A. V. D., Carrer, H., Carraro, D. M., & Prioli, L. M. (2002). Identification of *Astyanax altiparanae* (Teleostei, Characidae) in the Iguaçu River, Brazil, based on mitochondrial DNA and RAPD markers. *Genetics and Molecular Biology*, 25(4), 421–430.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945–959.
- Radinger, J., & Wolter, C. (2014). Patterns and predictors of fish dispersal in rivers. *Fish and fisheries*, 15(3), 456–473.

- Raymond, M., & Rousset, F. (1995). GENEPOP (Version 1.2): Population Genetics Software for Exact Tests and Ecumenicism. *Journal of Heredity*, 86(3), 248–249.
- Rousset, F. (2008). genepop'007: A complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Molecular ecology resources*, 8(1), 103–106.
- Ruocco, A. M. C., Portinho, J. L., & Nogueira, M. G. (2019). Potential impact of small hydroelectric power plants on river biota: A case study on macroinvertebrates associated to basaltic knickzones. *Brazilian Journal of Biology*, 79(4), 722–734.
- Ruocco, A., Portinho, J., & Nogueira, M. (2018). Potential impact of small hydroelectric power plants on river biota: A case study on macroinvertebrates associated to basaltic knickzones. *Brazilian Journal of Biology*, 79, 722–734.
- Schilt, C. R. (2007). Developing fish passage and protection at hydropower dams. *Applied Animal Behaviour Science*, 104(3–4), 295–325.
- Silva, C. F. da. (2020). Pequenas centrais hidrelétricas no rio Sapucaí-Mirim (sp): Diversidade e estrutura genética de *Astyanax lacustris* [Dissertação de mestrado]. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.
- Souza, D. F. (2014). Interferência das construções sucessivas de Pequenas Centrais Hidroelétricas (PCH), sobre a ictiofauna do rio Sapucaí-Mirim-SP, Brasil [Dissertação de mestrado]. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.
- Souza, C. A. de, Vieira, L. C. G., Legendre, P., Carvalho, P. de, Velho, L. F. M., & Beisner, B. E. (2019). Damming interacts with the flood pulse to alter zooplankton communities in an Amazonian river. *Freshwater Biology*, 64(5), 1040–1053.
- Stevanato, D. J., & Ostrensky, A. (2018). Ontogenetic development of tetra *Astyanax lacustris* (Characiformes: Characidae). *Neotropical Ichthyology*, 16.
- Súarez, Y. R., Silva, E. A., & Viana, L. F. (2017). Reproductive biology of *Astyanax lacustris* (Characiformes: Characidae) in the southern Pantanal floodplain, upper Paraguay River basin, Brazil. *Environmental Biology of Fishes*, 100(7), 775–783.
- Templeton, A. R. (2001). Using phylogeographic analyses of gene trees to test species status and processes. 10(3), 779–771.
- Tolmasquim, M. T. (2016). Energia renovável: Hidráulica, biomassa, eólica, solar, oceânica.
- UNIDO. (2022). World Small Hydropower Development Report 2022. United Nations Industrial Development Organization, Vienna, Austria; International Center on Small Hydro Power, Hangzhou, China.
- Van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P. M., & Shipley, P. (2004). micro - checker: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data.

Molecular Ecology Notes, 4(3), 535–538. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x>

Vanhaecke, D., Garcia De Leaniz, C., Gajardo, G., Young, K., Sanzana, J., Orellana, G., Fowler, D., Howes, P., Monzon-Arguello, C., & Consuegra, S. (2012). DNA Barcoding and Microsatellites Help Species Delimitation and Hybrid Identification in Endangered Galaxiid Fishes. *PLoS ONE*, 7(3), e32939. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032939>

Vari, R. P., & Castro, R. M. (2007). New species of *Astyanax* (Ostariophysi: Characiformes: Characidae) from the upper rio Parana system, Brazil. *Copeia*, 2007(1), 150–162.

Vazzoler, A.E.A.M.; Suzuki, H.I.; Marques, E.E. & Lizama, M.P.M. 1997. Primeira maturação gonadal, períodos e áreas de reprodução. In: A planície de inundação do alto rio Paraná: aspectos físicos, biológicos e socioeconômicos

Vidotto-Magnoni, A. P., Kurchevski, G., De Lima, F. P., Nobile, A. B., Garcia, D. A., Casimiro, A. C., Pereira, A. D., & Orsi, M. L. (2021). Population biology of *Astyanax lacustris* (Pisces, Characiformes) in a Neotropical reservoir and its tributaries. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 93.

Visser, C., Lashmar, S. F., Van Marle-Köster, E., Poli, M. A., & Allain, D. (2016). Genetic Diversity and Population Structure in South African, French and Argentinian Angora Goats from Genome-Wide SNP Data. *PLOS ONE*, 11(5), e0154353.

Wang, J. (2011). COANCESTRY: A program for simulating, estimating and analysing relatedness and inbreeding coefficients. *Molecular Ecology Resources*, 11(1), 141–145. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02885.x>

Wenne, R. (2023a). Microsatellites as Molecular Markers with Applications in Exploitation and Conservation of Aquatic Animal Populations. *Genes*, 14(4), 808. <https://doi.org/10.3390/genes14040808>

Wenne, R. (2023b). Single Nucleotide Polymorphism Markers with Applications in Conservation and Exploitation of Aquatic Natural Populations. *Animals*, 13(6), 1089. <https://doi.org/10.3390/ani13061089>

Wright, J. M., & Bentzen, P. (1994). Microsatellites: Genetic markers for the future. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 4(3), 384–388. <https://doi.org/10.1007/BF00042912>

Weir, B. S., & Cockerham, C. C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *evolution*, 1358–1370.

Willi, Y., Kristensen, T. N., Sgrò, C. M., Weeks, A. R., Ørsted, M., & Hoffmann, A. A. (2022). Conservation genetics as a management tool: The five best-supported paradigms to assist the management of threatened species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 119(1), e2105076119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2105076119>

- Winemiller, K. O., McIntyre, P. B., Castello, L., Fluet-Chouinard, E., Giarrizzo, T., Nam, S., Baird, I. G., Darwall, W., Lujan, N. K., & Harrison, I. (2016). Balancing hydropower and biodiversity in the Amazon, Congo, and Mekong. *Science*, 351(6269), 128–129.
- Yasui, G. S., Pereira-Santos, M., Coelho, G. C. Z., Visintin, J. A., Porto-Foresti, F., Nakaghi, L. S. O., Vianna, N. C., Carvalho, G. B., Monzani, P. S., López, L. S., & Senhorini, J. A. (2022). Establishing a model fish for the Neotropical region: The case of the yellowtail tetra *Astyanax altiparanae* in advanced biotechnology. *Frontiers in Genetics*.
- Yi, T. L., Guo, W. J., Liang, X. F., Yang, M., Lv, L. Y., Tian, C. X., Song, Y., Zhao, C., & Sun, J. (2015). Microsatellite analysis of genetic diversity and genetic structure in five consecutive breeding generations of mandarin fish *Siniperca chuatsi* (Basilewsky). *Genetics and Molecular Research*, 14(1), 2600–2607. <https://doi.org/10.4238/2015.March.30.19>
- Zaganini, R. L. (2013). Análise da estrutura genética de *Astyanax altiparanae* (Pisces: Characidae) na bacia do Alto rio Paraná [Tese de doutorado]. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.
- Zago, A. C. (2016). Biodiversidade dos parasitas de peixes provenientes do rio Sapucaí-Mirim, Estado de São Paulo, Brasil [Tese de doutorado]. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.
- Zambaldi, L., & Pompeu, P. S. (2020). Evaluation of River Fragmentation and Implications for the Conservation of Migratory Fish in Southeastern Brazil. *Environmental Management*, 65(5), 702–709.