



**LÍDIA WOUTERS**

**DINÂMICA ESPAÇO - TEMPORAL DO  
ICTIOPLÂNCTON NO ALTO RIO SÃO FRANCISCO**

**LAVRAS - MG**

**2021**

**LÍDIA WOUTERS**

**DINÂMICA ESPAÇO-TEMPORAL DO ICTIOPLÂNCTON NO ALTO RIO  
SÃO FRANCISCO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada, área de concentração Ecologia e Conservação de Recursos em Paisagens Fragmentadas e Agrossistemas, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Paulo dos Santos Pompeu

Orientador

Dr. Fábio Mineo Suzuki

Coorientador

**LAVRAS - MG**

**2021**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Wouters, Lídia.

Dinâmica espaço-temporal do ictioplâncton no Alto Rio São  
Francisco / Lídia Wouters. - 2021.

35 p. : il.

Orientador: Paulo dos Santos Pompeu.

Coorientador: Fábio Mineo Suzuki.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Ovos e larvas de peixes neotropicais. 2. Migração. 3. DNA  
metabarcoding. I. Pompeu, Paulo dos Santos. II. Suzuki, Fábio  
Mineo. III. Título.

**LÍDIA WOUTERS**

**DINÂMICA ESPAÇO-TEMPORAL DO ICTIOPLÂNCTON NO ALTO RIO  
SÃO FRANCISCO**

**SPACE-TIME DYNAMICS OF ICHTHYOPLANKTON IN THE UPPER SÃO  
FRANCISCO RIVER**

APROVADA em 31 de agosto de 2021.

Dr. Marcelo Passamani – UFLA

Dr. Daniel Cardoso de Carvalho – PUC MINAS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada, área de concentração Ecologia e Conservação de Recursos em Paisagens Fragmentadas e Agrossistemas, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Paulo dos Santos Pompeu

Orientador

Dr. Fábio Mineo Suzuki

Coorientador

**LAVRAS - MG**

**2021**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela vida, pelas oportunidades que me concedeu e pelas pessoas que colocou na minha trajetória.

Ao Paulo, pela orientação, pela motivação, pela paciência e por sempre incentivar a união entre todo mundo do laboratório. Ao Fábio, pela coorientação, apoio, identificação morfológica das larvas e por todas as contribuições.

Ao pessoal do Laboratório de Ecologia de Peixes da UFLA, pela boa convivência, ajuda, troca de ideias e pela amizade, que vai muito além do trabalho. Gostaria de agradecer especialmente ao Ivo, ao Fábio e ao Peressin, pela parceria em campo. E à Aline e à Carina pela ajuda numa parte da triagem dos ovos e larvas.

Aos meus pais, Angélica e Flademir, por todo apoio, carinho e amor. Aos meus irmãos Daniel, Pedro e João, pela convivência diária (que na maioria das vezes é boa), pelas ajudas na triagem (em especial ao João, que foi meu ‘funcionário do mês’ muitas vezes). E aos familiares que, mesmo à distância, estão sempre presentes, rezando e torcendo por mim.

A todos os meus amigos: os mais antigos, os que ganhei durante a graduação, os que ganhei durante o mestrado na Ecologia... saudades da vida presencial, com cafezinhos e boas conversas nos intervalos, e dos rolês. Todos vocês são especiais, mas vou citar aqui a Flávia e a Michele, que estão sendo companhias essenciais durante a pandemia.

À UFLA e ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada, pela infraestrutura, oportunidade e suporte. Aos professores do Programa pelas contribuições na minha formação. À Ellen, pelas ajudas na parte burocrática.

Ao Eduardo Van den Berg e à Thaís Pellegrini, pelas contribuições na qualificação, e ao Marcelo Passamani e ao Daniel Carvalho, pelas contribuições na defesa.

Ao Laboratório de Genética da Conservação da PUC Minas, pelas análises genéticas.

A todos os cientistas e a quem financia e apoia a ciência no nosso país.

Agradecemos ainda ao programa de P&D CEMIG/ANEEL pelo financiamento, através do projeto GT612.

## RESUMO

As estratégias reprodutivas são moldadas por um conjunto de condições fisiológicas e ecológicas, que variam de acordo com a espécie e com o ambiente. Através das técnicas de amostragem de ovos e larvas e análises moleculares, este trabalho tem como objetivo investigar e ampliar as informações sobre a dinâmica reprodutiva de peixes no alto Rio São Francisco. Foram selecionados seis locais para amostragem de ictioplâncton e coleta de variáveis abióticas: um ponto no Rio Samburá (SAM), três pontos no Rio São Francisco (antes da confluência com o Rio Samburá - SFM; um ponto intermediário em Iguatama - SFI; e um ponto antes da confluência com o Rio Pará - SFC), um ponto no Rio Bambuí (BAM) e um no Rio Pará (PARAC). Foram identificadas 24 espécies de peixes, a partir de ovos e larvas. A transparência da água foi a variável abiótica que mais influenciou a densidade do ictioplâncton e no maior número de locais. O ponto de coleta no Rio Pará foi o que mais se diferenciou com relação à composição do ictioplâncton, muito provavelmente pelo fato de possuir quatro barragens para geração hidrelétrica em seu canal principal. O estudo confirma a importância do Alto São Francisco para a desova de peixes e evidencia que a identificação das espécies é essencial para entender padrões de temporalidade e espacialidade dos eventos reprodutivos.

**Palavras-chave:** Ovos. Larvas. Peixes neotropicais. Migração. DNA *metabarcoding*.

## ABSTRACT

Reproductive strategies are shaped by a set of physiological and ecological conditions, which vary according to species and environment. Through the techniques of sampling eggs and larvae and molecular analysis, this study aims to investigate and expand the information on the reproductive dynamics of fishes in the Upper São Francisco River. Six points were selected for ichthyoplankton and abiotic variables sampling: one point on the Samburá River (SAM), three points on the São Francisco River (before the confluence with the Samburá River - SFM; an intermediate point in Iguatama - SFI; and one point before the confluence with the Pará River - SFC), a point on the Bambuí River (BAM) and one on the Pará River (PARAC). Twenty four species of fish were identified, from eggs and larvae. Water transparency was the abiotic variable that most influenced ichthyoplankton densities, and in the largest number of locations. The point on the Pará River was the most different in ichthyoplankton composition, most likely due to the fact that it has four dams for hydroelectric generation in its main channel. The study confirms the importance of the Upper São Francisco for fish spawning and shows that species identification is essential to understand patterns of temporality and spatiality of fish reproductive events.

**Keywords:** Egg. Larvae. Neotropical fish. Migration. DNA *metabarcoding*.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>8</b>
<b>2 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>10</b>
<b>2.1 Área de estudo.....</b>	<b>10</b>
<b>2.2 Coleta de dados.....</b>	<b>11</b>
<b>2.3 Identificação do ictioplâncton.....</b>	<b>12</b>
<b>2.4 Análise dos dados.....</b>	<b>15</b>
<b>3 RESULTADOS.....</b>	<b>16</b>
<b>4 DISCUSSÃO.....</b>	<b>29</b>
<b>5 CONCLUSÃO.....</b>	<b>32</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>33</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As estratégias reprodutivas são moldadas por um conjunto de condições fisiológicas e ecológicas, que variam de acordo com a espécie e com o ambiente (VAZZOLER, 1996). De forma geral, as espécies de peixes de rios neotropicais se reproduzem na estação chuvosa, geralmente de novembro a fevereiro, quando ocorrem temperaturas mais elevadas e maiores vazões (REYNALTE-TATAJE et al., 2012; ROSA et al., 2018). É nesse período que os peixes migradores adultos deslocam-se aos trechos mais altos do leito principal ou tributários para reprodução (GODINHO et al., 2010). Os ovos e larvas dos peixes (ictioplâncton) são transportados passivamente pela correnteza em direção às áreas propícias para o seu desenvolvimento que, em geral, são as planícies de inundação e suas lagoas marginais (PELICICE; POMPEU; AGOSTINHO, 2015). Após a desova, o retorno dos peixes adultos aos locais de alimentação garante a reposição de reserva energética para o próximo ciclo reprodutivo. Estudos recentes indicam que o retorno dos adultos apresenta alta fidelidade com os sítios de alimentação, com os indivíduos retornando para o mesmo local após a reprodução (LOPES et al., 2019). Porém, devido à grande diversidade de peixes nas bacias hidrográficas sul-americanas esse padrão geral de migração tende a apresentar variações (CAROLSFELD et al., 2003).

Devido ao seu tamanho corporal e abundância, os peixes migradores têm grande relevância ecológica e econômica, sendo os mais importantes para as pescas comercial e esportiva (WINEMILLER, 1989). Diversas atividades antrópicas impactam severamente essas populações de peixes, com nítidos reflexos socioeconômicos. A principal delas é a fragmentação dos rios através da construção de barragens, as quais bloqueiam os processos migratórios. Os barramentos também regulam o fluxo de água, diminuindo os picos de cheias sazonais, e retém sedimentos, aumentando a transparência da água a jusante levando, conseqüentemente, a maior predação de ovos e larvas de peixes (SUZUKI; POMPEU, 2016).

Diante desse cenário, no qual a maioria das bacias neotropicais está sob influência de barramentos, é fundamental que os rios ou trechos de rios sejam preservados, para possibilitar o recrutamento das espécies de peixes (CASARIM et al., 2018). A definição desses trechos prioritários para preservação deve considerar as áreas que ainda mantêm as condições ecológicas necessárias para reprodução, recrutamento e desenvolvimento de organismos aquáticos nativos da região (NAKATANI et al., 2001). Os peixes migradores neotropicais são parte importante desse conjunto, já que podem compor até mais da metade da biomassa da

ictiofauna de um rio, em especial as espécies detritívoras (FLECKER, 1996). Para que se mantenha esse equilíbrio normalmente são necessários grandes trechos de rio livre, a fim de que os peixes consigam completar seu ciclo de vida e manter populações sustentáveis (AGOSTINHO et al., 2004). No alto rio São Francisco, a montante do reservatório de Três Marias, estudo recente indica o uso de aproximadamente 350 km de rio durante o ciclo reprodutivo de *Prochilodus costatus* (curimatã-pioa), o que evidencia a importância da manutenção de trechos de rios livres para o recrutamento dos peixes migradores (LOPES et al., 2019).

Neste contexto, o estudo do ictioplâncton é essencial para a definição de áreas a serem preservadas (POMPEU et al., 2011). A partir dele podem ser identificados os locais mais importantes para a desova de peixes, em especial os migradores, já que estas apresentam ovos livres, ou seja, não adesivos, se distribuindo ao longo da coluna d'água enquanto são carregados. Uma vez definidas essas áreas, podem ser definidos trechos de rios prioritários para preservação, nos quais não são permitidas construção de barragens e atividades de mineração. Porém, a identificação taxonômica desses organismos é complexa, já que possuem poucas características morfológicas suficientes para a sua classificação nos estágios iniciais de desenvolvimento. Assim, as análises moleculares, por DNA *metabarcoding* e *barcoding*, são ferramentas valiosas e, quando aliadas aos estudos de ictioplâncton, possibilitam a identificação assertiva a níveis taxonômicos mais baixos, como gênero ou espécie (BECKER et al., 2015; NOBILE et al., 2019).

Assim, através das técnicas de amostragem de ovos e larvas e análises moleculares, este trabalho teve como objetivo investigar e ampliar as informações sobre a dinâmica reprodutiva de peixes no Alto Rio São Francisco. De forma específica, este estudo procurou responder às seguintes perguntas: onde localizam-se os principais sítios de desova de peixes no Alto Rio São Francisco? Quais espécies de peixes (migradores e não migradores) estão se reproduzindo no leito do rio principal e afluentes? Quais variáveis abióticas mais influenciam a distribuição espacial e temporal das comunidades de ovos e larvas de peixes? Os picos de desova de peixes migradores estão ocorrendo no mesmo período em todos os tributários e estes eventos coincidem com a época de maior vazão?

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

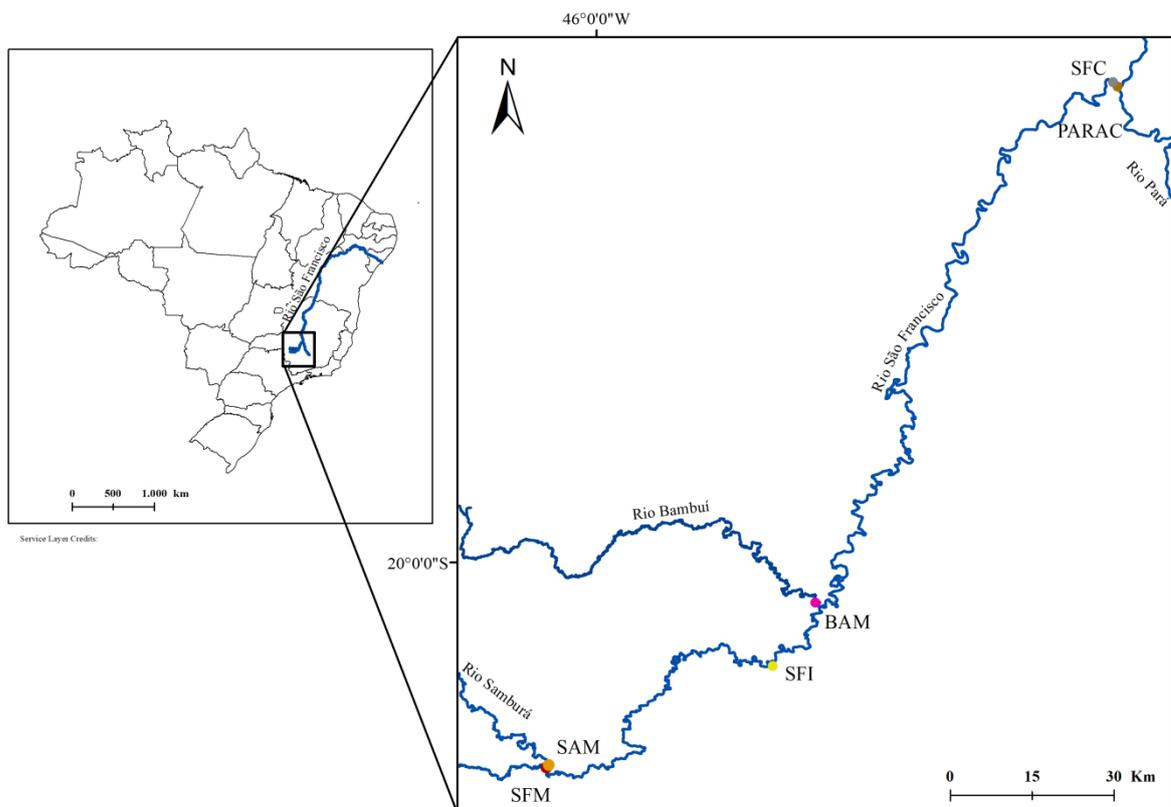
### 2.1 Área de estudo

O estudo foi realizado na Bacia do Alto Rio São Francisco, no segmento a montante do reservatório de Três Marias. Esta é a primeira grande barragem no canal principal do rio, localizada em Minas Gerais, Brasil. Nesta região, o Rio São Francisco possui um segmento lótico de aproximadamente 400 km, drena uma área de 14.203 km<sup>2</sup> e apresenta vários afluentes (CBHSF, 2016). Um dos principais é o rio Samburá, localizado próximo à cabeceira, considerado a nascente geográfica do São Francisco. Porém, o maior afluente a montante da represa de Três Marias é o rio Pará, que deságua no rio São Francisco entre os municípios de Pompéu e Martinho Campos, e drena uma área de 12.233 km<sup>2</sup>. Este rio possui quatro barragens de geração hidrelétrica ao longo de seu canal principal, que regulam o fluxo do rio (CBH-PARÁ, 2008). No alto São Francisco, na proximidade das cidades de Iguatama e Lagoa da Prata, e em alguns afluentes, como o rio Bambuí, são encontradas inúmeras várzeas, que são inundadas pelo transbordamento lateral dos rios durante a estação chuvosa, e que são reconhecidamente importantes como sítio de desenvolvimento inicial para as espécies migradoras encontradas na região (SATO et al., 1988).

A precipitação média anual da Bacia do São Francisco é de 1.036 mm e o clima da região de estudo é Cwa, de acordo com a classificação de Köppen, caracterizado por uma estação chuvosa de outubro a março e uma estação seca de abril a setembro (CBHSF, 2016).

Foram selecionados seis locais para amostragem de ictioplâncton: um ponto no Rio Samburá (SAM), três pontos no Rio São Francisco (antes da confluência com o Rio Samburá - SFM; um ponto intermediário em Iguatama - SFI; e um ponto antes da confluência com o Rio Pará - SFC), um ponto no Rio Bambuí (BAM) e um no Rio Pará (PARAC) (Figura 1).

Figura 1. Mapa da área de estudo, com a localização dos pontos amostrais no Alto Rio São Francisco, Minas Gerais, Brasil.



Fonte: Do autor (2021).

## 2.2 Coleta de dados

As coletas foram realizadas por moradores da região treinados pela equipe de pesquisa; nos meses de piracema, de novembro de 2019 a fevereiro de 2020, a cada três dias, ao final da tarde, em todos os seis pontos, resultando em 41 coletas por ponto (246 amostras ao todo). A transparência e a temperatura da água foram mensuradas com uso de disco de Secchi e termômetro, respectivamente. Para a coleta de ovos e larvas de peixes foi utilizada rede de ictioplâncton cônica, com malha de 500 micrômetros. A rede foi posicionada no local de maior fluxo de água por 10 minutos, com um fluxômetro acoplado à rede para medir o volume de água filtrado. O material coletado foi acondicionado em potes plásticos (capacidade de 600ml) com álcool etílico absoluto e levado ao laboratório para triagem. Esta foi realizada com auxílio de placa de Bogorov e estereomicroscópio. Dados de pluviosidade e vazão foram obtidos no site da Rede Hidrometeorológica Nacional

(<http://www.snirh.gov.br/hidroweb>), a partir de estações pluviométricas e fluviométricas próximas a cada ponto de coleta.

### 2.3 Identificação dos ovos e larvas

As larvas de peixes foram identificadas com base na morfologia até o menor nível taxonômico possível (NAKATANI et al., 2001). Para consolidar a identificação morfológica e a título de “confirmação” foram enviadas 41 larvas de diferentes amostras para identificação molecular por DNA *barcoding* (análise de cada indivíduo). Fundamentados nos picos de abundância de ictioplâncton foram selecionadas 33 amostras para identificação molecular por DNA *metabarcoding* (análise da amostra inteira, pool de indivíduos).

#### 2.3.1 DNA *barcoding*

As 41 larvas de peixe selecionadas foram fixadas individualmente em etanol absoluto, armazenadas em eppendorfs e encaminhadas para identificação molecular por DNA *barcoding*. A identificação foi realizada com utilização de uma sequência de DNA do gene COI, com 650 pares de base. O sequenciamento para o gene COI ou *Barcode* é utilizado para a identificação molecular de peixes, sendo que espécies distintas apresentam divergências genéticas superiores a 2%, enquanto indivíduos da mesma espécie apresentam divergências intraespecíficas inferiores a 2% (WARD et al., 2009). Assim, sequências de DNA que apresentaram similaridade acima de 98% com sequências referência do banco de dados do NCBI foram identificadas ao nível de espécie. As sequências de DNA obtidas com similaridades de 90% a 98% foram classificadas ao nível de gênero.

A extração do DNA das amostras foi feita pelo aquecimento com solução de proteinase K e resina CHELEX 100® (Sigma).

As reações em cadeia da polimerase (PCR) do gene Citocromo oxidase subunidade I (COI) foram realizadas utilizando os *primers* Fish F1 (TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC) e Fish R1 (TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA) (WARD et al., 2005), em um termociclador

(Veriti®, Well Thermal Cycler, Applied Biosystems®) com um volume final de 15 µl composto por 11,0 µl de água ultrapura (Promega®), 1,5 µl de tampão 10X contendo 0,45 µl de MgCl<sub>2</sub>, 1,0 µl de DNA molde, 0,3 µl de dNTP (10mM) (Invitrogen®), 0,3 µl de cada primer (10 µM) e 0,15 µl de polimerase de DNA Taq (5U /µl).

O ciclo térmico consistiu em uma etapa inicial de desnaturação a 95°C por 2 minutos, seguida de 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 30s, anelamento dos primers a 54°C por 30s e extensão a 72°C por 1 min; com extensão final de 72°C por 5 min. Os fragmentos amplificados foram visualizados em gel de agarose a 1% em TAE 1X (Tris-Acetato EDTA) com uso de SaferDye® (Kasvi) sob transiluminador de luz ultravioleta. A reação de sequenciamento e a leitura dos fragmentos de DNA sequenciados foram realizadas pela empresa ACTGene Análises Moleculares Ltda.

As sequências foram analisadas e editadas no programa Geneious v.4.8.5 (DRUMMOND et al., 2009) (<http://www.geneious.com/>). As sequências mitocondriais do COI foram comparadas com pesquisa de busca no GenBank para sequências similares disponíveis no site (<http://www.ncbi.nih.gov/BLAST>).

### **2.3.2 DNA metabarcoding**

As 33 amostras de ictioplâncton (selecionadas de acordo com os picos de abundância), contendo um *pool* de indivíduos, foram analisadas pelo método de DNA *metabarcoding*. Esse método permite a análise de diversos organismos combinados em uma mesma amostra através do sequenciamento de DNA de alta performance (Illumina).

O DNA foi extraído utilizando o método adaptado de Salting-out (ALJANABI; MARTINEZ, 1997). O DNA foi quantificado em espectrofotômetro NanoDrop 2000→ (Thermo Scientific) e, em seguida, as amostras foram normalizadas a 100 ng/µl.

Um fragmento de 655pb da extremidade 5' do gene mitocondrial COI foi amplificado via PCR por meio de uma combinação de diferentes *primers* (Fish F1 e FishR1), modificados a partir de sequências já publicadas na literatura. As sequências originais receberam uma cauda (pré-adaptador Illumina) complementar ao adaptador utilizado em uma segunda PCR subsequente. Essa reação foi realizada com uma amostra de água para monitorar possível contaminação (controle negativo), além de um controle positivo. A seguir, os produtos da

PCR foram purificados com esferas magnéticas (Agencourt AMPure XP® – Beckman Coulter).

Após a purificação, foi realizada uma PCR com os adaptadores do Nextera Index kit® (Illumina) para a amplificação do conjunto de amplicons do passo anterior. Nessa reação, os adaptadores compatíveis com o sistema Illumina de sequenciamento de nova geração (P5 e P7) foram utilizados como primers. Uma combinação de index único (sequências específicas associadas ao adaptador Illumina) foi utilizada para posterior identificação de cada amostra, uma vez que todos os pontos formarão um único conjunto de sequenciamento. O produto da amplificação foi avaliado em gel de agarose 1,5 %.

As amostras foram amplificadas com sucesso na PCR, pois apresentaram o padrão de banda esperado para o fragmento COI (655pb COI + 60pb adaptador + 64pb index = 780pb). Não foi observada amplificação para o controle negativo, indicando ausência de contaminação nas reações. Os produtos da PCR foram então, novamente purificados com esferas magnéticas (Agencourt AMPure XP® – Beckman Coulter), quantificados em Nanodrop e normalizadas para 20 ng/μl.

Todas as amostras foram unidas em um único pool e este foi purificado com o kit Zymoclean™ Large Fragment DNA Recovery (Zymo Research) para a retirada de fragmentos espúrios ao fragmento de tamanho desejado (655pb COI + 60pb adaptador + 64pb index = 780pb). Por meio de uma PCR em tempo real, realizada com o reagente KAPA Biosystems Quantification Kit (Illumina), o pool foi quantificado, diluído a uma concentração de 2nM e novamente quantificado para confirmação da concentração final. A solução final foi desnaturada e carregada no equipamento MiSeq® (Illumina), utilizando o kit de sequenciamento Miseq v3 300ciclos (2x150pb) com uma concentração final de 16 pM.

O processamento dos dados foi realizado utilizando um *script* customizado em R, utilizando os pacotes *DADA2* (CALLAHAN et al., 2016) e *Phyloseq* (MCMURDIE; HOLMES, 2013), bem como o programa *cutadapt* (MARTIN, 2011). As *reads* obtidas no sequenciamento foram automaticamente demultiplexadas pela plataforma *Basespace* (Illumina). Inicialmente foi realizada a remoção de bases indeterminadas (Ns), e a detecção e remoção das sequências correspondentes aos *primers*. Em seguida foi realizada a remoção de *reads* com qualidade inferior a PHRED 20 (1 erro a cada 100 bp). Foi realizada a classificação com sequências disponíveis no BOLD (<https://www.boldsystems.org/>), contendo 114.425 de vertebrados, utilizando um classificador Bayesiano integrado no pacote *DADA2*.

Adicionalmente, as sequências de DNA (*reads*) foram submetidas à busca por similaridade no banco de dados NCBI nr, utilizando a ferramenta BLASTn (ALTSCHUL et al., 1990), com limiares de cobertura de sequência > 85% e de identidade de sequência > 80%. A curadoria das identificações foi realizada individualmente para cada amostra.

## 2.4 Análise estatística dos dados

A densidade do ictioplâncton de cada amostra foi calculada padronizando a abundância por 10 m<sup>3</sup> de água filtrada (NAKATANI et al., 2001). A densidade foi comparada separadamente entre pontos para ovos e para larvas através de gráficos boxplot, contendo a mediana da densidade das coletas de cada ponto, e teste de Kruskal-Wallis.

A estrutura da comunidade de larvas (de acordo com a análise morfológica), de cada ponto, foi agrupada por mês e foi avaliada através de nMDS (escalonamento multidimensional não-métrico), usando o índice de similaridade de Bray-Curtis e as diferenças entre eles foram testadas através de ANOSIM (análise de similaridade).

A proporção das cinco principais espécies identificadas por DNA *Metabarcoding* em cada local e época foi apresentada em gráficos de pizza do Excel.

A relação entre a densidade de ovos e larvas de cada ponto de coleta com as variáveis abióticas foi testada através de GLM (modelos lineares generalizados), com distribuição QuasiPoisson. Foi realizado um GLM para ovos e um GLM para larvas, para cada ponto de coleta, tendo como variáveis explicativas a temperatura, transparência, vazão e a pluviosidade. A análise foi realizada no Software Statistica.

A caracterização dos pontos de coleta em função das variáveis abióticas (pluviosidade, temperatura da água, vazão e transparência da água) foi realizada através da Análise de Componentes Principais (PCA), no Software R, utilizando o pacote ‘vegan’.

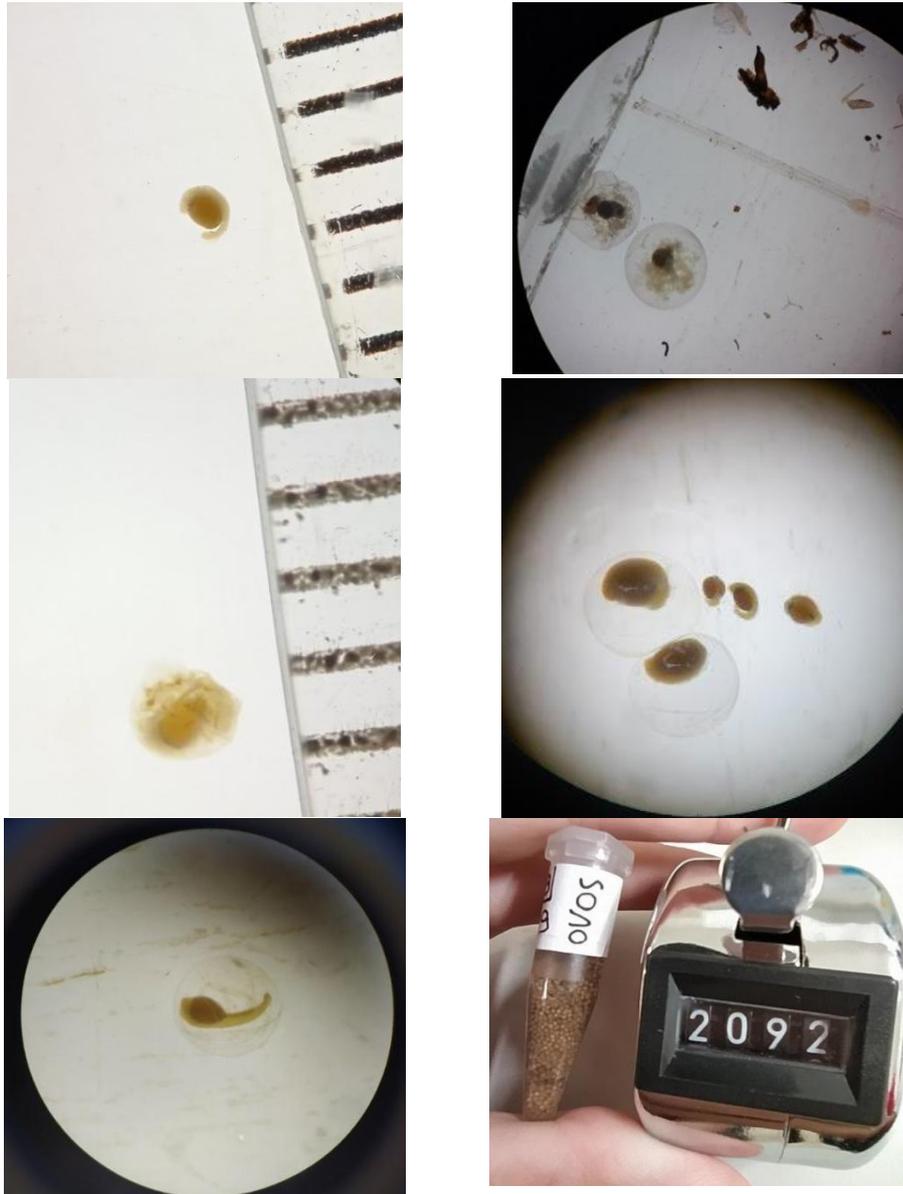
### 3 RESULTADOS

Foram capturados 48.474 ovos e 7.893 larvas (Figuras 2 e 3). A coleta com maior número de ovos ocorreu no dia 31/12/2019 no ponto SFI (São Francisco Intermediário), com a captura de 8.926 indivíduos e a coleta com maior número de larvas foi no dia 16/12/2019, no ponto SFC (São Francisco Confluência), com 1.138. O ponto SFI foi o que apresentou o maior número de ovos e larvas coletados ao longo de todo o período (Figura 4).

Foram observadas diferenças significativas nas densidades de ovos ( $KW = 137,42$ ;  $p < 0,001$ ) e larvas ( $KW = 113,74$ ;  $p < 0,001$ ) entre os pontos de coleta (Figuras 5 e 6). Os rios São Francisco - na sua porção intermediária (SFI) - e Bambuí (BAM) foram os que apresentaram as maiores densidades de ovos, seguidos dos rios Samburá (SAM) e São Francisco montante (SFM). Ovos foram bastante raros no rio Pará (PARAC) e no São Francisco próximo à confluência com este rio (SFC).

Larvas também tiveram maior densidade nos rios São Francisco na sua porção intermediária (SFI) e Bambuí (BAM), mas foram seguidos do ponto do São Francisco mais a jusante (SFC). Densidades de larvas foram sempre muito baixas nos rios Samburá (SAM), no São Francisco montante (SFM) e no rio Pará (PARAC).

Figura 2. Ovos de peixes coletados no Alto Rio São Francisco.



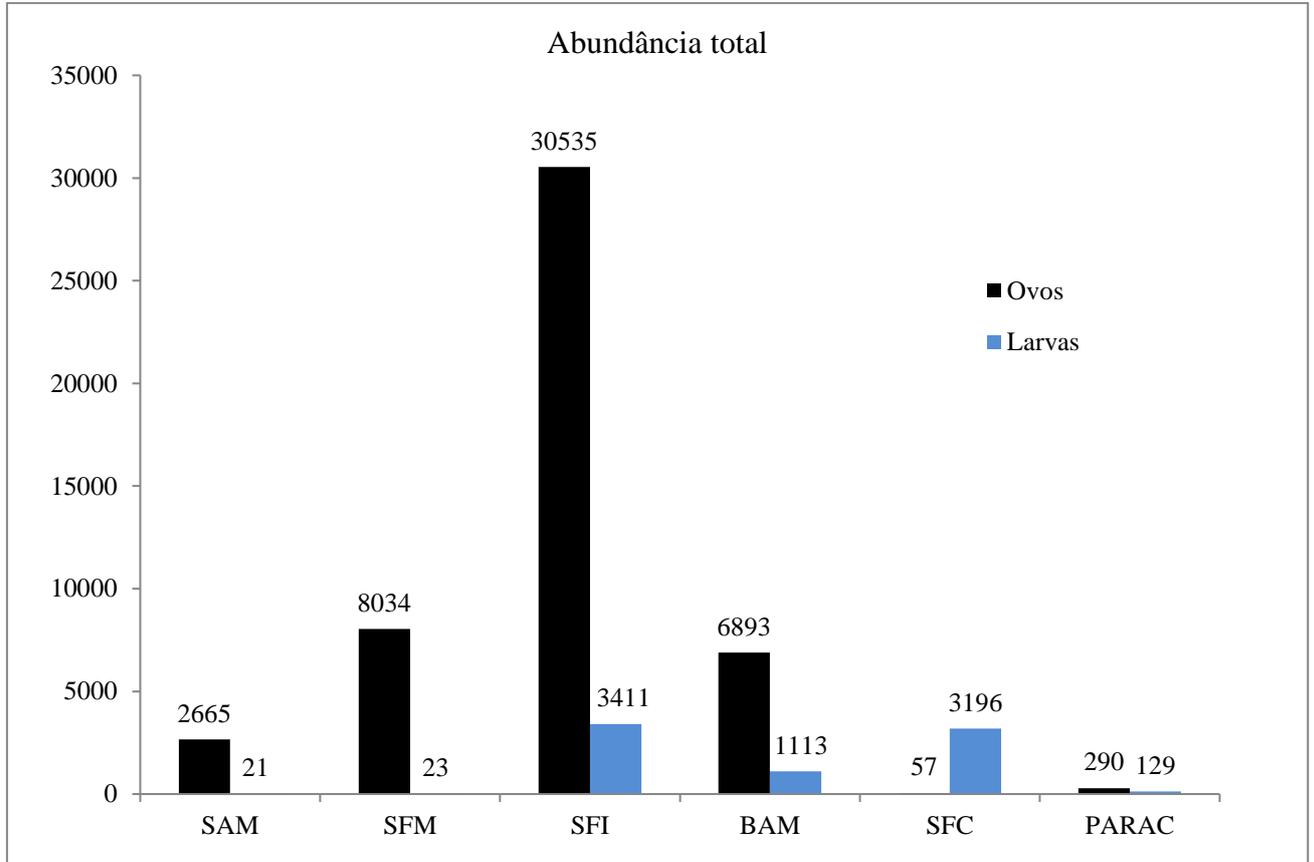
Fonte: Do autor (2021).

Figura 3. Larvas de peixes coletadas no Alto Rio São Francisco.



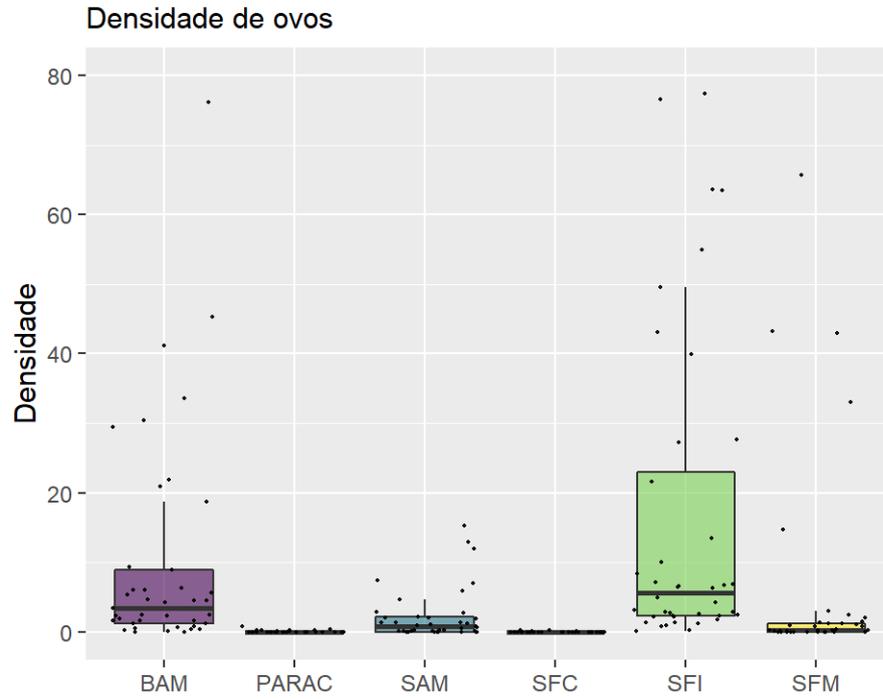
Fonte: Do autor (2021).

Figura 4. Abundância total de ovos e larvas coletados em cada ponto de 01/11/2019 a 29/02/2020.



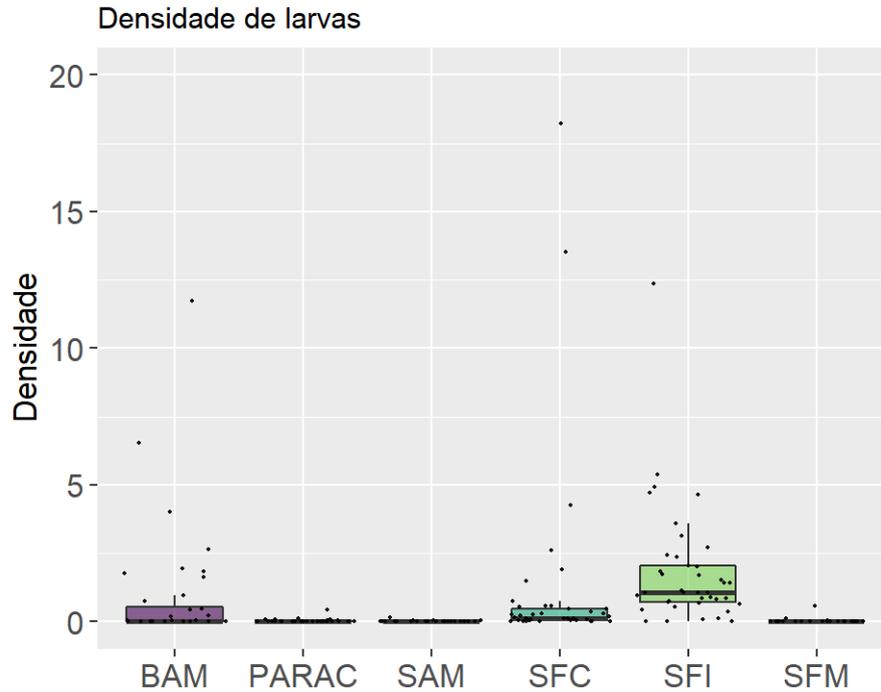
Fonte: Do autor (2021).

Figura 5. Boxplot da mediana da densidade de ovos de peixes coletada em cada local (sem um outlier do SFI). Cada ponto no gráfico representa uma coleta (foram realizadas 41 por local). A linha central em cada boxplot corresponde à mediana das densidades de ovos.



Fonte: Do autor (2021).

Figura 6. Boxplot da mediana da densidade de larvas de peixes coletada em cada local (sem um outlier do BAM). Cada ponto no gráfico representa uma coleta (foram realizadas 41 por local). A linha central em cada boxplot corresponde à mediana das densidades de larvas.



Fonte: Do autor (2021).

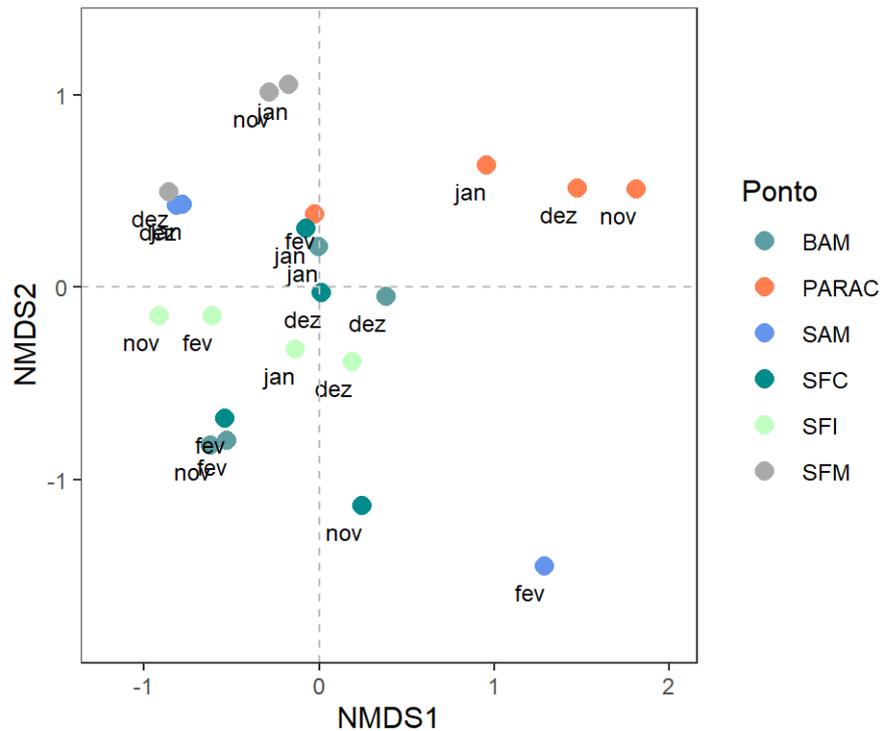
Com a identificação morfológica de todas as larvas e identificação com DNA barcoding das 41 larvas selecionadas, foi possível identificar 14 táxons de peixes (Tabela 1), sendo indivíduos da família Pimelodidae e do gênero *Pimelodus* os de maior abundância e presentes em mais locais. Foi observada grande variação mensal na estrutura das comunidades de larvas em cada ponto de coleta (Figura 7). Ainda assim, os pontos diferiram significativamente (ANOSIM  $R = 0,41$ ;  $p < 0,001$ ).

Tabela 1. Táxons das larvas de peixes identificadas morfologicamente e com DNA barcoding, coletadas no Alto São Francisco no período de novembro de 2019 a fevereiro de 2020.

CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA	PONTOS DE COLETA					
	SAM	SFM	SFI	BAM	PARAC	SFC
<b>Ordem Characiformes</b>						
Família Anostomidae			X	X	X	X
Família Characidae						
<i>Astyanax sp / Psalidodon sp</i>	X		X	X	X	X
<i>Piabarcus stramineus</i>			X			
Família Crenuchidae						
<i>Characidium sp.</i>			X			X
Família Prochilodontidae						
<i>Prochilodus sp.</i>		X	X	X	X	X
Família Serrasalmidae						
<i>Myleus micans</i>			X			
Família Triportheidae						
<i>Triportheus guentheri</i>					X	
<b>Ordem Siluriformes</b>						
Família Loricariidae			X			
Família Pimelodidae	X	X	X	X	X	X
<i>Bergiaria westermanni</i>				X	X	X
<i>Pimelodus sp.</i>	X	X	X	X	X	X
Família Heptapteridae						
<i>Imparfinis sp.</i>			X			
<i>Pimelodella vittata</i>			X	X		
<b>Ordem Gymnotiformes</b>						
			X			

Legenda: SAM= Rio Samburá; SFM= Rio São Francisco montante; SFI= Rio São Francisco intermediário; BAM= Rio Bambuí; PARAC= Rio Pará; SFC= São Francisco confluência. Fonte: Do autor (2021).

Figura 7. Escalonamento multidimensional não métrico da composição mensal dos táxons de larvas identificados morfologicamente, por ponto amostral.



Fonte: Do autor (2021).

As análises de metagenômica realizadas em 33 das amostras coletadas foram capazes de identificar 21 espécies de peixes (Tabela 2), e revelaram que os ovos e larvas coletados nos maiores picos de abundância pertenciam a pelo menos 11 espécies: *Pimelodus pohli*, *Pimelodus maculatus*, *Prochilodus argenteus*, *Prochilodus costatus*, *Megaleporinus obtusidens*, *Megaleporinus reinhardti*, *Bergiaria westermanni*, *Schizodon knerii*, *Pimelodus fur*, *Pachyurus* sp. e *Leporinus taeniatus*. A proporção da abundância das cinco principais espécies está representada nas Figuras 8 e 9. A maior parte do ictioplâncton amostrado nestas ocasiões pertence a duas espécies do gênero *Pimelodus* (*P. pohli* e *P. maculatus*), que parecem utilizar a maior parte da região para atividade reprodutiva, e por um longo período.

As espécies *P. costatus*, *P. argenteus* e *M. obtusidens* são consideradas migradoras de longa distância. Ovos das espécies do gênero *Prochilodus* (*P. costatus* e *P. argenteus*) foram detectados nos locais SAM, SFM e SFI. Chama a atenção a sua ocorrência em maior quantidade e de maneira sincrônica nos pontos altos da bacia (SAM e SFM), no dia 24/01/2020. Já as larvas destas espécies foram detectadas no Rio Bambuí (BAM) e nos trechos baixos da bacia (SFC e PARAC). No PARAC apenas larvas de *P. argenteus* foram

detectadas, e no SFC apenas larvas de *P. costatus*. Ovos de *M. obtusidens* foram encontrados nos pontos SAM, SFM e SFI, sendo que a desova foi sincrônica nos dois primeiros pontos no dia 07/11/2019. Larvas de *M. obtusidens* foram capturadas no ponto SFC.

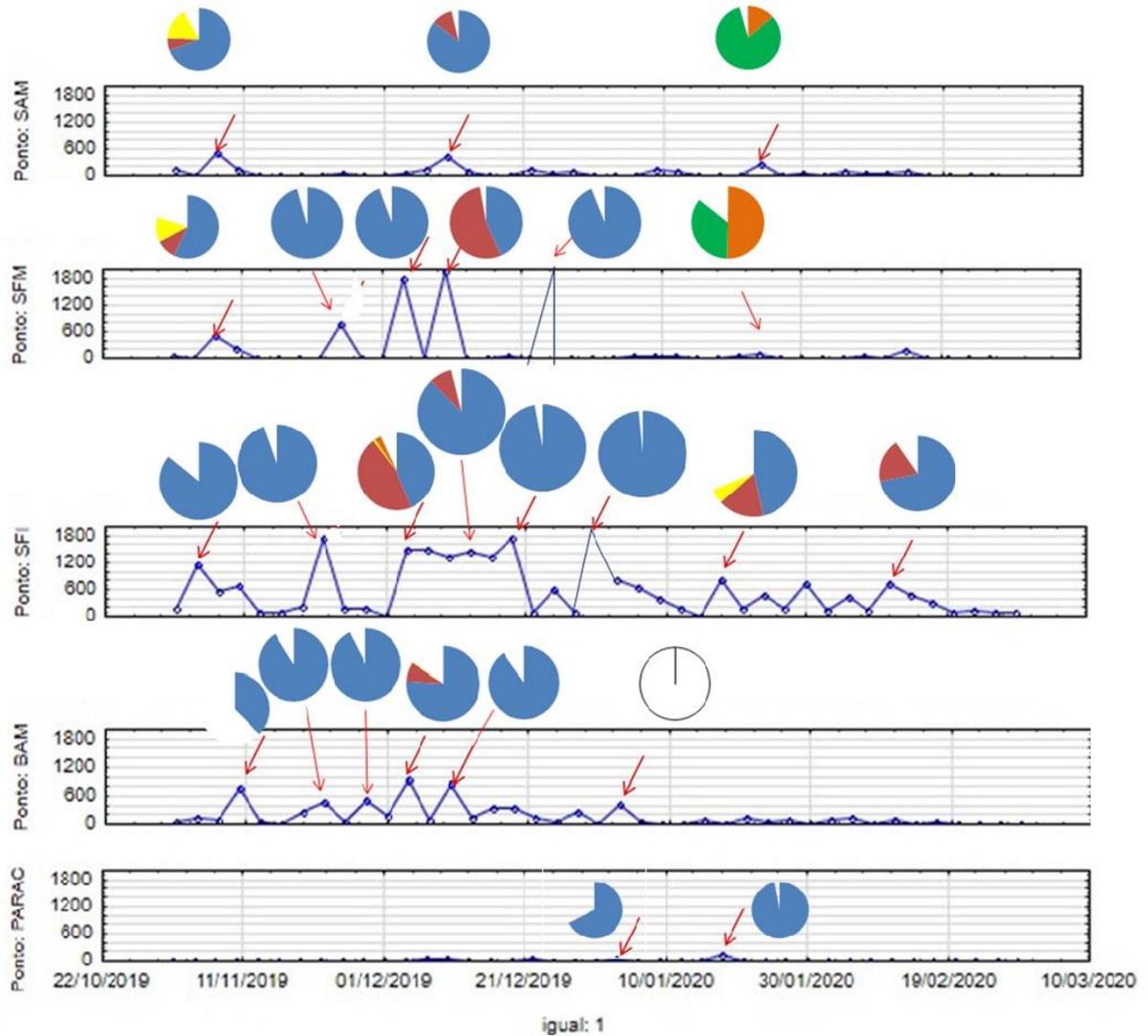
Com a junção das identificações morfológicas e moleculares foram identificados 26 táxons de peixes, a partir de ovos e larvas (Tabelas 1 e 2).

Tabela 2. Ovos e larvas de peixes identificados por DNA *Metabarcoding* no Alto São Francisco no período de novembro de 2019 a fevereiro de 2020.

CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA	PONTOS DE COLETA					
	SAM	SFM	SFI	BAM	PARAC	SFC
<b>Ordem Characiformes</b>						
Família Anostomidae						
<i>Leporinus taeniatus</i>			O			
<i>Leporinus piau</i>				L		
<i>Leporellus vittatus</i>	O	O				
<i>Megaleporinus obtusidens</i>	O	O	O	O		L
<i>Megaleporinus reinhardti</i>	O	O	OL	L		L
<i>Schizodon knerii</i>			OL	OL	O	
Família Characidae						
<i>Astyanax</i> sp			O			
<i>Piabarcus stramineus</i>	O	O	O			
<i>Psalidodon rutilus</i>	O	O		L		
<i>Pygocentrus nattereri</i>			L			
Família Crenuchidae						
<i>Characidium fasciatum</i>	O					
<i>Characidium zebra</i>	O	O				
Família Parodontidae						
<i>Parodon hilarii</i>	O	O				
Família Prochilodontidae						
<i>Prochilodus costatus</i>	O	O	OL	L		L
<i>Prochilodus argenteus</i>	O	O		L	L	
Família Serrasalmididae						
<i>Myleus micans</i>			L			
<b>Ordem Siluriformes</b>						
Família Pimelodidae						
<i>Bergiaria westermanni</i>		O	O	OL		L
<i>Pimelodus pohli</i>	O	O	OL	OL	OL	L
<i>Pimelodus maculatus</i>	O	O	OL	OL	OL	L
<i>Pimelodus fur</i>	O	O	O	O		L
<b>Ordem Perciformes</b>						
Família Sciaenidae						
<i>Pachyurus</i> sp.		O	O	O	O	L

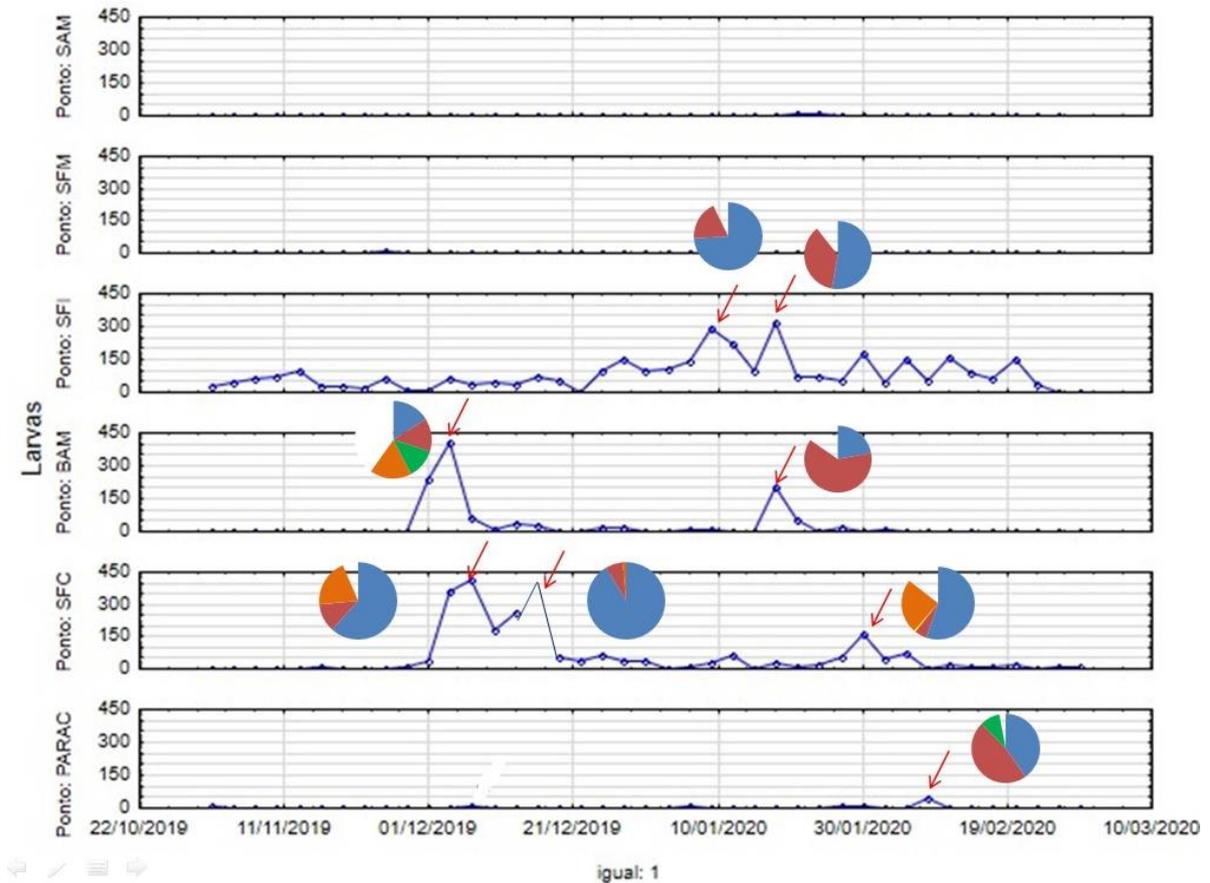
Legenda: SAM= Rio Samburá; SFM= Rio São Francisco montante; SFI= Rio São Francisco intermediário; BAM= Rio Bambuí; PARAC= Rio Pará; SFC= São Francisco confluência; O= ovos; L= larvas. Fonte: Do autor (2021).

Figura 8. Número de ovos amostrado ao longo do período de coletas. Amostras com picos de abundância de ovos, identificadas pelo método de DNA *Metabarcoding*, estão sinalizadas pelas setas. Cada gráfico de pizza corresponde à composição taxonômica encontrada (Azul – *Pimelodus pohli*; vermelho – *Pimelodus maculatus*; amarelo – *Megaleporinus obtusidens*; laranja – *Prochilodus costatus*; verde – *Prochilodus argenteus*; branco – outras espécies e sequências não identificadas).



Fonte: Do autor (2021).

Figura 9. Número de larvas amostradas ao longo do período de coletas. Amostras com picos de abundância de larvas, identificadas pelo método de DNA *Metabarcoding*, estão sinalizadas pelas setas. Cada gráfico de pizza corresponde a composição taxonômica encontrada (Azul – *Pimelodus pohli*; vermelho – *Pimelodus maculatus*; amarelo – *Megaleporinus obtusidens*; laranja – *Prochilodus costatus*; verde – *Prochilodus argenteus*; branco – outras espécies e sequências não identificadas).



Fonte: Do autor (2021).

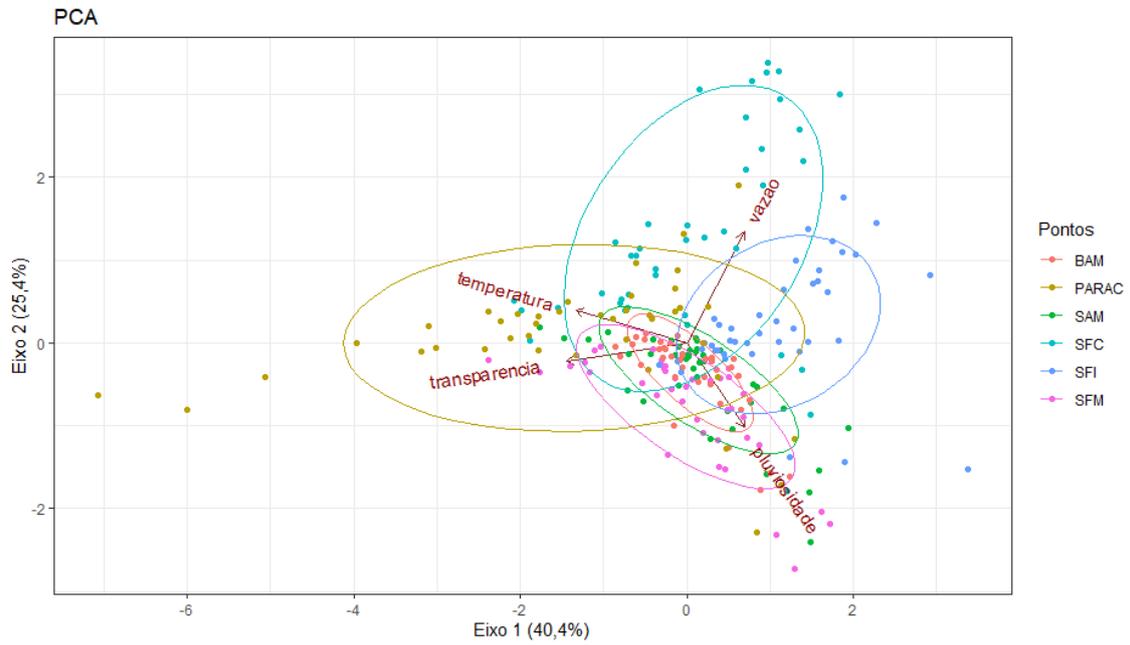
A variável abiótica que mais influenciou a densidade de ictioplâncton foi a transparência. Já nos pontos SFM e PARAC nenhuma das quatro variáveis influenciou significativamente as densidades de ovos ou larvas (Tabela 3). Através da análise de PCA foi observado que a transparência no PARAC é a variável de maior dissimilaridade em relação aos outros locais (Figura 10).

Tabela 3. Parâmetros dos modelos lineares generalizados, construídos para cada um dos pontos de coleta (em negrito as variáveis que foram significativas,  $p \leq 0,01$ ).

Local	Variáveis	Ovos			Larvas		
		Estimate	T value	p	Estimate	T value	p
<b>BAM</b>							
	Vazão	-0,028	-2,60	<b>0,01</b>	-0,03	-1,53	0,13
	Temperatura	-0,003	-0,03	0,97	-0,23	-1,10	0,28
	Transparência	-0,047	-1,55	0,13	-0,41	-3,31	<b>&lt;0,01</b>
	Pluviosidade	-0,003	-0,46	0,65	-0,02	-1,01	0,32
<b>SAM</b>							
	Vazão	-0,01	0,03	0,98	0,02	1,27	0,21
	Temperatura	0,04	0,47	0,64	-0,18	-0,74	0,46
	Transparência	-0,11	-3,41	<b>&lt;0,01</b>	-0,03	-0,39	0,70
	Pluviosidade	0,01	1,13	0,27	-0,04	-1,06	0,29
<b>SFM</b>							
	Vazão	-0,03	-0,76	0,45	-0,14	-1,24	0,22
	Temperatura	-0,19	-1,10	0,28	-0,41	-1,41	0,17
	Transparência	0,01	0,06	0,95	-0,01	-0,17	0,87
	Pluviosidade	0,01	0,07	0,95	-0,05	-0,94	0,35
<b>SFI</b>							
	Vazão	-0,01	-2,65	<b>0,01</b>	-0,01	-1,03	0,31
	Temperatura	-0,17	-1,39	0,17	0,14	1,08	0,29
	Transparência	-0,01	-0,03	0,98	-0,03	-1,18	0,25
	Pluviosidade	-0,01	0,76	0,45	0,01	0,99	0,33
<b>SFC</b>							
	Vazão	-0,01	-1,75	0,09	-0,01	-1,59	0,12
	Temperatura	-0,22	-0,82	0,42	-0,33	-1,54	0,13
	Transparência	-0,29	-2,67	<b>0,01</b>	-0,19	-2,70	<b>0,01</b>
	Pluviosidade	-0,02	2,77	<b>&lt;0,01</b>	-0,01	0,37	0,71
<b>PARAC</b>							
	Vazão	0,01	0,53	0,59	0,01	0,64	0,52
	Temperatura	0,51	1,45	0,16	-0,04	-0,17	0,86
	Transparência	-0,03	-1,29	0,20	-0,03	-1,18	0,25
	Pluviosidade	0,03	1,90	0,07	-0,01	-0,21	0,83

Fonte: Do autor (2021).

Figura 10. Análise de componentes principais (PCA) das variáveis abióticas mensuradas no período de 01/11/2019 a 29/02/2020 no Alto Rio São Francisco.



Fonte: Do autor (2021).

## 4 DISCUSSÃO

As coletas realizadas permitiram confirmar que os rios Samburá, Bambuí e as cabeceiras do rio São Francisco constituem os principais sítios de desova de peixes no Alto Rio São Francisco. Pelo menos 24 espécies de peixes com ovos livres se reproduziram no período estudado ao longo do leito do rio São Francisco e de seus principais afluentes, destacando-se, entre as migradoras de longa distância, as do gênero *Prochilodus* e *Megaleporinus obtusidens*. A transparência e a vazão foram as variáveis abióticas com maior influência sobre as densidades de ovos das espécies migradoras.

Os dados de abundância de ovos evidenciaram que, na região do alto São Francisco, a montante da represa de Três Marias, os trechos superiores e afluentes são os locais mais importantes para desova. Tal padrão já havia sido apontado por estudos com ovos e larvas concomitantes com avaliação de padrões migratórios de *Prochilodus costatus* através de rádio telemetria (LOPES et al., 2019). Porém, a avaliação de parte dos ovos através da metagenômica permitiu comprovar, pela primeira vez, que pelo menos alguns destes ovos são desta espécie, justamente nos afluentes para onde os peixes migradores se destinam, durante a época reprodutiva.

A ocorrência de maior densidade de ovos, especialmente de espécies migradoras, nas porções superiores da bacia era esperada. Estas regiões estão localizadas, frequentemente, a montante de regiões ricas em lagoas marginais, e em distância suficiente para que cheguem a estes ambientes já no estágio de larvas (BAUMGARTNER et al., 2004). Isto explica a presença de larvas nas regiões inferiores do trecho estudado, que é também a mais rica em planícies de inundação. No alto São Francisco, lagoas marginais são mais abundantes no seu trecho médio e no baixo curso do rio Bambuí (SATO; CARDOSO; AMORIM, 1988; LOPES et al., 2019). Devido a esse padrão, também é explicável por que os locais mais abundantes em ovos, na maioria das vezes, não são os mesmos locais mais abundantes em larvas, já que, em geral, a eclosão leva de 12 a 20 horas para acontecer (NAKATANI et al., 2001; GODINHO et al., 2003).

A utilização da ferramenta de metagenômica foi capaz de elucidar padrões temporais e espaciais para diferentes espécies. Padrões que certamente não apareceriam em estudos convencionais de ovos e larvas. Com a análise molecular foram identificadas 24 espécies de peixe, sendo três de migradoras de longa distância. Algumas questões não são possíveis de

avaliar apenas com contagem do número de ovos, por exemplo, a sincronia das duas espécies de *Prochilodus* (*P. costatus* e *P. argenteus*), que desovaram juntas nos mesmos locais e datas. Tal sincronia e fidelidade temporal corroboram os estudos de telemetria, que têm mostrado que o mesmo indivíduo sobe e desce o rio na mesma época e se direciona para os mesmos locais em diferentes anos (LOPES et al., 2019). Esse resultado mostra que o ciclo de vida é muito mais complexo de ser preservado com mecanismos de transposição (POMPEU; AGOSTINHO; PELICICE, 2012), uma vez que esses eventos parecem ter momento e local certos para acontecer. Os peixes migradores são menos ‘plásticos’ do que se acreditava.

Embora os grandes picos de desova tenham sido nesses locais, observou-se que muito mais espécies estão desovando. Espécies cujo caráter migrador é pouco conhecido estão desovando na maior parte da bacia, e em um grande número de ocasiões, como as do gênero *Pimelodus*. O caráter migrador de *Pimelodus maculatus* vem sendo questionado (CAROLSFELD et al., 2003). É considerado migrador em algumas bacias, mas aparentemente só realiza movimentos de curta distância no São Francisco durante o período reprodutivo (CAROLSFELD et al., 2003). A espécie desova de novembro a janeiro, com múltiplos eventos de desova durante este período: uma característica incomum para espécies migradoras, que normalmente apresentam desova total (CAROLSFELD et al., 2003). A associação de identificação morfológica e molecular confirmou que as larvas dessas espécies estão nos trechos médios e baixos da bacia.

Assim, somente com a aplicação da ferramenta molecular nos grandes picos de ovos e larvas foi possível revelar padrões que ficariam “ocultos”. Estudos como o de Nobile et al. (2019), que identificou 28 táxons de larvas de peixes no Rio Mogi Guaçu (um afluente do Rio Grande), também mostraram que a identificação por Metabarcoding é uma ferramenta que confere confiabilidade aos dados. Porém, o presente trabalho é pioneiro em utilizar tal ferramenta para avaliar padrões temporais e espaciais de desova.

De todos os locais amostrados, o que mais se diferenciou com relação à composição do icteoplâncton foi o Rio Pará, que também apresentou densidades reduzidas de ovos e larvas. O rio Pará é o maior afluente do trecho alto da bacia, onde se esperaria grande importância como local de desova. Porém, além de não possuir extensas planícies de inundação, ele é o único rio barrado entre os estudados, com vários aproveitamentos hidrelétricos, sendo os mais importantes: PCH Cajuru e PCH Gafanhoto (ROSA et al., 2018). Essas hidrelétricas, além de interromper a migração, são capazes de mudar as condições físico-químicas do rio, em especial, aumentando a transparência. Tais aspectos certamente se

refletiram nas baixas densidades de ovos e larvas observadas. Elevada transparência está relacionada à maior taxa de predação do ictioplâncton (SUZUKI; POMPEU, 2016), e tem sido apontada como um dos fatores que podem inibir a desova (VAZZOLER, 1996). De fato, essa variável foi responsável por influenciar significativamente as densidades de ictioplâncton em mais locais, como densidade de ovos no SAM e no SFC, e densidade de larvas no BAM e SFC. Além disso, a vazão foi responsável por influenciar a densidade de ovos no BAM e no SFI. Finalmente, a pluviosidade influenciou a densidade de ovos no SFC. Essas variáveis abióticas foram avaliadas em outros estudos como responsáveis por influenciar densidades de ovos e larvas. Suzuki e Pompeu (2016), por exemplo, concluíram que a transparência da água e a temperatura foram os principais fatores abióticos que influenciaram a variação temporal da ocorrência do ictioplâncton em trechos não barrados do Rio Grande. Já em outro estudo no Rio Ivinhema, a densidade de ovos e larvas foi positivamente correlacionada com aumentos na temperatura e vazão da água e negativamente correlacionada com a transparência da água (REYNALTE-TATAJE et al., 2011).

## 5 CONCLUSÃO

O presente estudo corrobora informações conhecidas acerca dos padrões migratórios de peixes no Alto Rio São Francisco, tanto com relação aos principais gatilhos para desova, quanto os principais locais de desova de *Prochilodus costatus*.

O uso de metagenômica aliada à identificação morfológica evidenciou a ocorrência de desova de várias outras espécies migradoras e não migradoras. A partir dos dados levantados, outros questionamentos surgiram, por exemplo: o que determina a desova de *Pimelodus*, observada ao longo de todo período de coleta?

A metagenômica foi uma ferramenta útil na identificação das espécies de ovos e larvas de peixes e estudo dos padrões reprodutivos. Pode ser valiosa também no estudo de espécies ameaçadas de extinção, em que é necessário saber exatamente onde ocorrem e quais os seus habitats críticos, como sítios de desova, para o planejamento de ações de preservação.

Definir o Rio São Francisco como Rio de Preservação Permanente, no trecho que vai da nascente até o reservatório de Três Marias, incluindo tributários como Rio Bambuí e Rio Samburá, pode ser uma medida eficaz para proteção da ictiofauna nativa, pois esta região é importante local de desova para várias espécies de peixes desta bacia hidrográfica.

## REFERÊNCIAS

- ALJANABI, S. M.; MARTINEZ, I. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. **Nucleic Acids Research**, v. 25, n. 22, p. 4692-4693, 1997.
- ALTSCHUL, S. F. et al. Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology**, v. 215, n. 3, p. 403-410, 1990.
- BECKER, R. A.; SALES, N. G.; SANTOS, G. M.; SANTOS, G. B.; CARVALHO, D. C. DNA barcoding and morphological identification of neotropical ichthyoplankton from the Upper Paraná and São Francisco. **Journal of Fish Biology**, v. 87, n. 1, p. 159-168, 2015.
- BAUMGARTNER, G. et al. Identification of spawning sites and natural nurseries of fishes in the upper Paraná River, Brazil. **Environmental Biology of Fishes**, v. 71, n. 2, p. 115-125, 2004.
- CALEGARI, B. B.; VARI, R. P.; REIS, R. E. Phylogenetic systematics of the driftwood catfishes (Siluriformes: Auchenipteridae): a combined morphological and molecular analysis. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 187, n. 3, p. 661-773, 2019.
- CALLAHAN, B. J. et al. DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data. **Nature Methods**, v. 13, n. 7, p. 581-583, 2016.
- CAROLSFELD, J. et al. **Migratory fishes of South America: biology, fisheries and conservation status**. Idrc, 2003.
- CASARIM, R.; PRADO, I. G.; LOURES, R. C.; POMPEU, P. S. Fish movement patterns in a Neotropical free-flowing tributary located downstream from a large dam. **Marine and Freshwater Research**, v. 69, n. 10, p. 1626-1634, 2018.
- COMITÊ DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO PARÁ. Plano de Recursos Hídricos da Bacia Hidrográfica do Rio Pará.
- COMITÊ DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO SÃO FRANCISCO. Plano de Recursos Hídricos da Bacia Hidrográfica do Rio São Francisco 2016-2025.
- FLECKER, A. S. Ecosystem engineering by a dominant detritivore in a diverse tropical stream. **Ecology**, v. 77, n. 6, p. 1845-1854, 1996.
- GODINHO, H. P.; SANTOS, J. E.; SATO, Y. Ontogênese larval de cinco espécies de peixes do São Francisco. **Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais**, p. 133-148, 2003.
- GODINHO, A. L.; LAMAS, I. R.; GODINHO, H. P. Reproductive ecology of Brazilian freshwater fishes. **Environmental Biology of Fishes**, v. 87, n. 2, p. 143-162, 2010.
- LOPES, J. M. et al. Influence of rainfall, hydrological fluctuations, and lunar phase on spawning migration timing of the Neotropical fish *Prochilodus costatus*. **Hydrobiologia**, v. 818, n. 1, p. 145-161, 2018.

- LOPES, J. M. et al. The critical importance of an undammed river segment to the reproductive cycle of a migratory Neotropical fish. **Ecology of Freshwater Fish**, v. 28, n. 2, p. 302-316, 2019.
- MARTIN, M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. **EMBnet. Journal**, v. 17, n. 1, p. 10-12, 2011.
- McMURDIE, P. J.; HOLMES, S. Phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. **PLoS One**, v. 8, n. 4, p. e61217, 2013.
- NAKATANI, K. et al. **Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação**. Eletrobrás; UEM, 2001. il., 2001.
- NOBILE, A. B.; FREITAS-SOUZA, D.; et al. DNA metabarcoding of neotropical ichthyoplankton: Enabling high accuracy with lower cost. **Metabarcoding and Metagenomics**, v. 3, p. e35060, 2019.
- PELICICE, F. M.; POMPEU, P. S.; AGOSTINHO, A. A. Large reservoirs as ecological barriers to downstream movements of neotropical migratory fish. **Fish and Fisheries**, v. 16, n. 4, p. 697-715, 2015.
- POMPEU, P. S. et al. Downstream passage of fish larvae and eggs through a small-sized reservoir, Mucuri River, Brazil. **Zoologia (Curitiba)**, v. 28, n. 6, p. 739-746, 2011.
- POMPEU, P. S.; AGOSTINHO, A. A.; PELICICE, F. M. Existing and future challenges: the concept of successful fish passage in South America. **River Research and Applications**, v. 28, n. 4, p. 504-512, 2012.
- REYNALTE-TATAJE, D. A. et al. Spatial and temporal variation of the ichthyoplankton in a subtropical river in Brazil. **Environmental Biology of Fishes**, v. 94, n. 2, p. 403-419, 2012.
- REYNALTE-TATAJE, D. A. et al. Temporal distribution of ichthyoplankton in the Ivinhema River (Mato Grosso do Sul State/Brazil): influence of environmental variables. **Neotropical Ichthyology**, v. 9, p. 427-436, 2011.
- ROSA, G. R. et al. Spatial and temporal distribution of ichthyoplankton during an unusual period of low flow in a tributary of the São Francisco River, Brazil. **River Research And Applications**, v. 34, n. 1, p. 69-82, 2018.
- SATO, Y.; CARDOSO, E. L.; AMORIM, J. C. C. **Peixes das lagoas marginais do rio São Francisco, a montante da represa de Três Marias (Minas Gerais)**. Brasília: CODEVASF, 1988.
- SUZUKI, F. M.; POMPEU, P. S. Influence of abiotic factors on ichthyoplankton occurrence in stretches with and without dams in the upper Grande River basin, south-eastern Brazil. **Fisheries Management and Ecology**, v. 23, n. 2, p. 99-108, 2016.
- VAZZOLER, A. E. A. M. et al. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá: EDUEM, v. 196, 1996.

WARD, R. D. DNA barcode divergence among species and genera of birds and fishes. **Molecular Ecology Resources**, v. 9, n. 4, p. 1077-1085, 2009.

WINEMILLER, K. O. Patterns of variation in life history among South American fishes in seasonal environments. **Oecologia**, v. 81, n. 2, p. 225-241, 1989.