



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE E  
BIOLÓGICAS**

Joyce Milena Barbosa Teixeira Melo

**Estudo molecular *In silico* sobre *Astyanax bimaculatus*  
(Linnaeus, 1758) (Ostariophysi: Characiformes:  
Characidae) na bacia do alto Rio São Francisco**

Petrolina

2017

**JOYCE MILENA BARBOSA TEIXEIRA MELO**

**Estudo molecular *In silico* sobre *Astyanax bimaculatus*  
(Linnaeus, 1758) (Ostariophysi: Characiformes:  
Characidae) na bacia do alto Rio São Francisco**

Trabalho apresentado à Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF, Campus Petrolina, como requisito da obtenção do título de mestre.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Patrícia Avello Nicola

Co-Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cheila Nataly Galindo Bedor

Petrolina

2017

Melo, Joyce Barbosa Teixeira  
M528e      Estudo molecular In silico sobre *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758) (Ostariophysi: Characiformes: Characidae) na bacia do alto Rio São Francisco / Joyce Barbosa Teixeira Melo. -- Petrolina, 2017. ix, 52 f.: il.; 29 cm.

Trabalho de Conclusão de Curso (Mestrado em Ciências da Saúde e Biológicas) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus, Petrolina, Petrolina – PE, 2017.

Orientadora: Profa. Dra. Patrícia Avello Nicola Pereira.  
Referências  
1. Genética animal. 2. Peixe - São Francisco, Rio. 3. Lambari (Peixe) - Variedade genética. I. Título. II. Universidade Federal do Vale do São Francisco.

CDD 597

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas da UNIVASF.

Bibliotecária: Luciana Souza Oliveira CRB5/1731

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço,

Aos meus pais, irmã e esposo, pelo apoio e compreensão à mim ofertados durante a confecção do presente estudo.

Aos meus amigos de curso, amigos do trabalho e amigos da vida pela parceria;

Ao Cemafauna Caatinga pelo incentivo à conclusão do trabalho;

À todos do laboratório de microbiologia e imunologia do Campus de Ciências Agrárias da UNIVASF, pela boa vontade e pelo tempo disponibilizado para ajudar durante a concretização deste trabalho;

À Jéssica Viviane pela fundamental participação;

À minha orientadora Patrícia Avello Nicola pela confiança e paciência durante toda a trajetória do mestrado;

À minha co-orientadora Cheila Galindo Bedor pela disponibilidade em auxiliar durante a elaboração da dissertação;

À todos que participaram direta ou indiretamente do processo de criação desta dissertação, os meus sinceros agradecimentos.

## RESUMO

O gene Citocromo C Oxidase I (COX), presente no genoma mitocondrial de eucariotos tem sido utilizado em estudos de variabilidade genética, estrutura populacional e filogenia de diversos grupos animais, inclusive em peixes do gênero *Astyanax*. Espécie pertencente à família Characidae, *Astyanax bimaculatus* distribui-se por toda a região neotropical, estando presente nos mais variados ambientes de água doce. Estudos moleculares têm ajudado a compreender melhor o padrão de distribuição, as semelhanças e diferenças entre as populações. Porém esses estudos são escassos com *Astyanax* aff. *bimaculatus* na bacia do Rio São Francisco. O presente estudo avaliou a estrutura e a diversidade genética em populações de *A. aff. bimaculatus* da bacia do Alto São Francisco usando 29 sequências do gene COX depositadas no NCBI. As análises revelaram que a composição nucleotídica média foi de 30,1% timina, 26,3% citosina, 25,8% adenina e 17,8% guanina. Os resultados de distância genética evidenciaram que a maior distância ocorreu entre os indivíduos do Rio Curimataí e Lagoa da Olaria (0.99). O teste de Mantel indicou correlação positiva entre as distâncias genética e geográfica. O teste de neutralidade de Tajima indicou que algumas populações encontram-se em expansão. Foram identificados 127 sítios polimórficos e nove haplótipos distintos sendo Hap\_2 o mais frequente. O índice de diversidade nucleotídica foi 40.05 e a heterozigosidade observada foi 0.39. A árvore filogenética proposta demonstrou que os indivíduos analisados estão agrupados em cinco grupos distintos. Tais resultados demonstram que a localização geográfica e a natureza do corpo d'água podem ter contribuído para a construção dos padrões gênicos identificados no presente estudo

**Palavras-chave:** Variabilidade genética. Filogenia. mtDNA. Citocromo oxidase I.

## ABSTRACT

The Cytochrome C Oxidase I (COX) gene, present in the mitochondrial genome of eukaryotes has been used in studies of genetic variability, population structure and phylogeny of several animal groups, including fish of the genus *Astyanax*. *Astyanax* aff. *bimaculatus* (Characidae) is distributed throughout the neotropical region, being present in the most varied freshwater environments. Molecular studies have helped in understanding of pattern of distribution, similarities and differences between populations. However, these studies are still scarce with *Astyanax* aff. *bimaculatus* in the São Francisco river basin. The present study evaluated the structure and genetic diversity in populations of *A. aff. bimaculatus* from the Upper São Francisco basin using 29 COX gene sequences deposited in NCBI. Analyzes revealed that the mean nucleotide composition was 30.1% thymine, 26.3% cytosine, 25.8% adenine and 17.8% guanine. The results of genetic distance showed that the greatest distance occurred between the individuals of the Curimataí River and Lagoa da Olaria (0.99). The Mantel test indicated a positive correlation between genetic and geographic distances. Tajima's neutrality test indicated that some populations are expanding. Was identified 127 polymorphic sites and nine distinct haplotypes with Hap\_2 being the most frequent. The nucleotide diversity index was 40.05 and the observed heterozygosity was 0.39. The phylogenetic tree demonstrated that the individuals analyzed are grouped into five distinct groups. These results demonstrate that the geographic location and nature of the water body may have contributed to the construction of the gene patterns identified in the present study

**Keywords:** Genetic variability. Phylogeny. mtDNA. Cytochrome oxidase I.

## Sumário

<b>1</b>	<b>Introdução.....</b>	<b>9</b>
<b>2</b>	<b>Revisão Bibliográfica.....</b>	<b>11</b>
2.1	Bacia do Rio São Francisco.....	11
2.1.1	Alto Rio São Francisco.....	11
2.2	O gênero <i>Astyanax</i> .....	12
2.3	<i>Astyanax</i> aff. <i>bimaculatus</i> .....	13
2.4	Variabilidade genética e Bioinformática.....	14
2.5	<i>Astyanax</i> aff. <i>bimaculatus</i> e o DNA mitocondrial.....	15
<b>3</b>	<b>Objetivos.....</b>	<b>17</b>
3.1	Objetivo Geral.....	17
3.2	Objetivos Específicos.....	17
<b>4</b>	<b>Materiais e Métodos.....</b>	<b>18</b>
4.1	Banco de dados seleção e obtenção das sequências.....	18
4.2	Análise das sequências relacionadas ao gene COX.....	19
4.2.1	Composição Nucleotídica.....	19
4.2.2	Diversidade Genética e Distância Geográfica.....	19
4.2.3	Teste de Neutralidade.....	19
4.2.4	Estimativas de variabilidade e diferenciação genética.....	20
4.2.5	Análise Filogenética e Filogeográfica.....	21
<b>5</b>	<b>Resultados.....</b>	<b>21</b>
5.1	Composição Nucleotídica.....	23
5.2	Distância genética e Distância geográfica.....	23
5.3	Testes de Neutralidade.....	24
5.4	Estimativas de variabilidade e diferenciação genética.....	24
5.5	Análise Filogeográfica.....	27

<b>6 Discussão .....</b>	<b>30</b>
<b>Referências Bibliográficas .....</b>	<b>35</b>

## 1 Introdução

Pertencente à família Characidae, a maior e mais complexa da ordem Characiformes, o gênero *Astyanax*, de caráter polifilético também alberga uma infinidade de espécies crípticas, muitas delas foram incluídas no gênero sob a condição *incertae sedis* (LIMA *et al.*, 2003). Amplamente distribuído desde o sul dos Estados Unidos chegando até o norte da Argentina, este gênero ocupa os mais variados corpos d'água na região neotropical, desde ambientes lênticos a áreas de córrego e correnteza. Sua alta versatilidade ecológica confere a este gênero proporcional complexidade gênica, estando seu número de espécies ainda subestimado (BERTACO; GARUTTI, 2007).

Esta grande complexidade gênica é comprovada por estudos citogenéticos que demonstram *Astyanax fasciatus* apresentando  $2N=46$  (OLIVEIRA *et al.*, 2007), *A. bimaculatus*, *A. altiparanae*, *A. argyrimarginatus*, *A. elachylepis* e *A. xavante* com  $2N=50$  e *Astyanax* sp. com  $2N=52$ , diferenças considerada grande entre indivíduos do mesmo gênero (FERNADES *et al.*, 2004; TENÓRIO *et al.*, 2013).

Na Bacia do Rio São Francisco, os estudos sobre a estrutura genética de *Astyanax* estão concentrados na região do Alto São Francisco, demonstrando portanto a escassez de produção acadêmica ao logo das demais regiões da bacia (CARVALHO *et al.*, 2011)

Em genética molecular vários trabalhos utilizando genes mitocondriais, são desenvolvidos no intuito de melhor compreender parâmetros como, a distribuição (ORNELAS-GARCIA *et al.*, 2008), as relações filogenéticas (PIE *et al.*, 2009), e taxonomia de peixes, em particular abordando o gênero *Astyanax* (STRECKER *et al.*, 2004).

O gene COX, presente no genoma mitocondrial de eucariotos e alguns procariotos é responsável pela codificação da primeira subunidade da Citocromo c oxidase (COX), complexo catalítico, composto basicamente por três subunidades e por outras dez subunidades codificadas por genes nucleares (CAPALDI, 1990; KHALIMONCHUK; RODEL, 2005; LITTLE *et al.*, 2010).

Com a crescente demanda para análise de dados moleculares, a bioinformática, ciência interdisciplinar tem se fortalecido pela necessidade de plataformas computacionais eficientes, capazes interpretar com rapidez grandes volumes de dados. Neste mesmo cenário, surgiram os bancos de dados para armazenamento e gerenciamento de sequências gênicas disponíveis ao público para os mais variados fins, desde estudos *in silico* à comparações filogenéticas e filogeográficas (PROSDOCIMI *et al.*, 2002).

Nesse contexto, o presente estudo justifica-se pela importante contribuição aos estudos ictiológicos na Bacia do Rio São Francisco, bem como pelo exercício da interdisciplinaridade que permite analisar e compreender informações depositadas em bancos de dados refletindo a dinâmica ecológica à qual estão submetidas as populações que compõem o complexo de espécies de *Astyanax bimaculatus*.

## **2 Revisão Bibliográfica**

### **2.1 Bacia do Rio São Francisco**

Em 1501 a foz Rio São Francisco foi descoberta por Américo Vespúcio e batizada em homenagem ao santo protetor dos animais, São Francisco de Assis (KÖHLER, 2003). Sua nascente é situada no Parque Nacional da Serra da Canastra, no estado de Minas Gerais e sua bacia drena uma área total de 638.324 Km<sup>2</sup> área equivalente a aproximadamente 8% do território brasileiro. Além do estado de Minas Gerais que abrange 36,8% da área de drenagem da bacia, a bacia está distribuída entre os estados da Bahia (48,2%), Distrito Federal (0,2%), Goiás (0,5%) Pernambuco (10,9%), Alagoas (2,3%) e Sergipe (1,1%) além de estar inserida em três biomas, Cerrado, Caatinga e Mata Atlântica. (GODINHO; GODINHO, 2003; ÁGUAS, 2016).

A maior contribuição à sua vazão vem dos afluentes Paraopeba, das Velhas, Paracatu, Urucuia, Corrente e Grande (GODINHO; GODINHO, 2003). Na calha principal do Rio São Francisco estão instaladas as principais usinas hidroelétricas do país, seja em área alagada ou em de geração de energia, são elas: Três Marias (no alto São Francisco), Sobradinho, Itaparica, Moxotó (no submédio), Paulo Afonso e Xingó (no baixo São Francisco) (GODINHO; GODINHO, 2003).

#### **2.1.1 Alto Rio São Francisco**

A bacia do Rio São Francisco é dividida em quatro segmentos: alto, médio, submédio e baixo. No alto São Francisco está situada a sua nascente, de onde se estende este segmento por aproximadamente 630 km até os limites geográficos de Pirapora-MG (PAIVA, 1982). Caracterizado por águas rápidas, frias e oxigenadas; e por abranger mais de um terço da bacia o alto curso é o maior responsável pela caudaliosidade do Rio São Francisco (SATO; GODINHO, 1999). Dentre os afluentes da margem direita, destacam-se o rio Paraopeba e o rio das Velhas, por estarem inseridos em regiões de maior desenvolvimento econômico, como a Grande Belo Horizonte sendo, portanto, os mais poluídos, sobretudo o Paraopeba que recebe diariamente esgotos

domésticos e efluentes advindos de diversas mineradoras do Quadrilátero Ferrífero (ALVES; POMPEU, 2001).

Os afluentes contribuintes da margem esquerda ainda possuem qualidade ambiental para o estabelecimento pleno das funções ecológicas da ictiofauna, pois encontram-se em áreas menos povoadas, porém, a ação antrópica vem crescendo com o desenvolvimento da agricultura nas áreas de cerrado. Em paralelo, está alocada nesta região uma das áreas de cerrado mais bem preservadas do estado de Minas Gerais, ela abrange toda bacia do rio Urucuia e foi indicada como área prioritária para a conservação da biodiversidade do Estado (COSTA *et al.*, 1998).

## **2.2 O gênero *Astyanax***

Pertencente à ordem Characiformes, família Characidae o gênero *Astyanax* é o mais representativo da subfamília Tetragonopterinae, incluindo mais 130 espécies e subespécies nominais (GARUTTI; BRITSKI, 2000; FREITAS, 2011), não havendo na literatura exatidão quanto a este número. Tal incerteza pode ser resultado da semelhança morfológica entre os espécimes, o que dificulta a identificação taxonômica (LOWE-MACCONNELL, 1999) Suas espécies estão distribuídas por quase toda a região neotropical, habitando os mais variados corpos d'água desde trechos lóticos às lagunas e nascentes. Distribuem-se também igualmente em diferentes altitudes (KAVALCO, 2008).

Em estudos ecotoxicológicos as espécies pertencentes ao gênero *Astyanax* são muito utilizadas, uma vez que demonstram sensibilidade (especialmente em nível celular) às alterações em seu ambiente natural (SAMPAIO; ALMEIDA, 2009).

Após alcançar a maturidade sexual, diferenças morfológicas são evidenciadas entre fêmeas e machos, onde as fêmeas são maiores e possuem o corpo mais arredondado que os machos, no entanto, os machos apresentam espículas na nadadeira anal, tornando-se áspera ao toque, característica facilitadora para diferenciação sexual do espécime (PORTO-FORESTI *et al.*, 2005; SATO *et al.*, 2006).

### 2.3 *Astyanax aff. bimaculatus*

Conhecidos popularmente como piabas ou lambaris, são peixes de pequeno porte e crescimento rápido, alcançando a maturidade sexual próximo aos quatro meses de idade. Atingem no máximo 20 cm de comprimento e 60 gramas de massa quando adultos (PORTO-FORESTI *et al.*, 2001; LIMA *et al.*, 2003) e distribuem-se desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina (LIMA *et al.*, 2003).

*Astyanax aff. bimaculatus* é morfologicamente caracterizado pela presença de duas séries de dentes no pré-maxilar (série interna com 5 dentes) uma mancha umeral (parte ântero-mediana do flanco, logo atrás do opérculo) preta horizontalmente ovalada, uma mancha preta no pedúnculo caudal, duas barras verticais castanho-escuras na região umeral linha lateral completa e nadadeira caudal nua, coberta de escamas apenas na base (Figura 1), (GARUTTI, 1998).

**Figura 1-** Exemplo de *Astyanax bimaculatus*. Fonte: (GALVÃO, 2011).



No tocante à complexidade taxonômica do grupo, após a publicação de revisões sistemáticas e filogenéticas realizadas no gênero *Astyanax*, foi possível afirmar que *Astyanax bimaculatus* não correspondia à uma espécie somente, mas sim a um complexo de várias espécies (GARUTTI, 1995; ESCHMEYER, 2014).

## 2.4 Variabilidade genética e Bioinformática

É comum que dentro da mesma espécie, indivíduos apresentem pequenas variações na composição do seu DNA, estas sequências variantes são denominadas haplótipos. Tais polimorfismos podem ser gerados de três formas distintas: por meio de mutações, reprodução sexuada ou por recombinação gênica (HOY, 2003; RIEGER *et al.*, 2006).

Sobre as mutações, elas podem ocorrer de forma silenciosa, não surtindo efeito significativo no fenótipo do indivíduo ou modificar a capacidade de sobrevivência do indivíduo (RIEGER *et al.*, 2006).

Já a segunda e terceira fonte de variabilidade genética estão intimamente relacionadas. Na reprodução sexuada, há união de genomas distintos (fonte parental masculina e feminina) e combinação aleatória das características presentes nos dois genomas, gerando uma prole com características fenotipicamente distintas das características presentes na geração doadora do genoma. Além deste fato, durante a meiose, ocorre a recombinação gênica, ou seja, a permuta de fragmentos entre cromossomos homólogos gerando cromossomos distintos daqueles doados pela geração parental (RIEGER *et al.*, 2006; BARBOSA, 2013).

Análises de polimorfismos realizadas entre as décadas de 1960 (após a descoberta da estrutura do DNA) e 1990 eram realizadas por separação de diferentes alelos mediante a técnica da eletroforese, um marco para os estudos sobre genética e evolução. Em 1977 um novo marco foi alcançado através do desenvolvimento da técnica de sequenciamento de nucleotídeos que em meados de 1990, aliado à PCR (Polimerase Chain Reaction) tornou-se um processo automatizado, possibilitando analisar um volume de dados gigantesco (PROSDOCIMI *et al.*, 2002).

Com a explosão de dados genômicos e a necessidade de ampliação da capacidade de armazenamento destes dados surgiu para a ciência uma nova área de pesquisa, a bioinformática, que tem como principal característica a interdisciplinaridade por envolver técnicas, ferramentas e profissionais da engenharia de softwares, da matemática, da estatística, da ciência da computação e da biologia molecular (PROSDOCIMI *et al.*, 2002; BIKANDI *et al.*, 2004; RIEGER *et al.*, 2006).

Com o desenvolvimento dos projetos Genoma, Transcriptoma e Proteoma e em consequência da grande quantidade de informações geradas, cresceu também o uso dos bancos de dados em bioinformática. Os bancos de dados reúnem um conjunto de dados, os estrutura e organiza com a finalidade de facilitar a busca pelos usuários. Em função do volume de dados produzido e armazenado nos bancos de dados, faz-se necessário, portanto que haja um Sistema de Gerenciamento de Banco de Dados (SGBD), cuja função é intermediar a manipulação e administração dos dados armazenados. (PROSDOCIMI *et al.*, 2002)

Em 1992 o National Center for Biotechnology Information (NCBI) tornou-se responsável pelo gerenciamento dos dados de sequências do GenBank (Banco de dados americano de sequências de DNA e proteínas), o qual é alimentado por laboratórios individuais de todo o mundo. Além das sequências do GenBank, o NCBI armazena e distribui uma grande variedade de dados acerca de modelagem molecular de estruturas de proteínas em 3 dimensões, mapa genético do genoma humano, dados sobre taxonomia que podem inclusive ser usados em projetos *in silico* (executando simulações computacionais que modelam situações reais), projeto sobre o genoma do câncer, dentre outros (NCBI, 2016).

As sequências gênicas armazenadas nos bancos de dados podem ser acessadas e utilizadas para as mais diversas finalidades, inclusive análises *in silico* para verificação da variabilidade genética em populações, construção de inferências filogenéticas, estudos taxonômicos, estudos sobre expressão gênica, entre outros objetivos (BOBE *et al.*, 2008; ANDRADE; BOAS, 2012; SAITO, 2015).

## **2.5 *Astyanax aff. bimaculatus* e o DNA mitocondrial**

De acordo com (POZZOBON, 2012), acredita-se no monofiletismo do gênero *Astyanax*, porém não existem evidências concretas que corroborem essa teoria, além disso, o gênero apresenta diversos prováveis complexos de espécies (BERTACO; GARUTTI, 2007). Dessa forma, trabalhos que relacionem caracteres morfológicos à resultados moleculares envolvendo o

projeto DNA Barcode podem contribuir fortemente para a melhor compreensão do gênero.

Com a finalidade de criar um sistema de identificação universal de qualquer indivíduo pertencente ao reino animal pela utilização de fragmentos de DNA, surgiu o DNA Barcode, onde um único gene seria capaz de diferenciar espécies animais (HEBERT *et al.*, 2003), usando o COX, entre outros marcadores esse método pode ser uma estratégia viável para iniciar revisões taxonômicas (BELLAFRONTI *et al.*, 2013).

Diversos são os estudos envolvendo genes mitocondriais com peixes de água doce, inclusive para *Astyanax* como 16SrRNA (ESPINOSA *et al.*, 2014), ATPase (KALVACO *et al.*, 2011; POZZOBON, 2012; PAZZA *et al.*, 2017) e CitB (POZZOBON, 2012; ORNELAS-GARCIA, *et al.*, 2008; OLIVEIRA C. *et al.*, 2011) realizados sobre a família Characidae.

Esse sistema “bioidentificador” baseado no gene mitocondrial e na diversidade de parte da sua sequência, também está presente na subunidade I da Citocromo Oxidase (COX) (BARBOSA, 2013). Assim, a região da COX, tem sido utilizada em estudos de variabilidade genética, estrutura populacional, filogenia e identificação de insetos, aves e mamíferos (SMITH-CALDAS *et al.*, 2001; MARQUES, 2011; VELONÀ *et al.*, 2011; MARIGUELA *et al.*, 2011; ANDRADE, 2014) e peixes (DEPRÁ *et al.*, 2014; COGHILL *et al.*, 2014; PAZZA, *et al.*, 2017)

Existem diversas vantagens na utilização do DNA mitocondrial, como o fato dele estar presente em grande quantidade nas células e de ser mais facilmente purificado e amplificado se comparado ao DNA nuclear. Além disso, a região da COX possui reduzida presença de mecanismos de reparo, favorecendo o acúmulo de mutações (LOXDALE; LUSHAI, 1998; COPELAND; LONGLEY, 2003).

### 3 Objetivos

#### 3.1 Objetivo Geral

Por meio dos conhecimentos da bioinformática, objetiva-se avaliar a estrutura e os níveis de diversidade genética em populações naturais de *Astyanax aff. bimaculatus*, usando sequências do gene Citocromo Oxidase subunidade I (COX) previamente depositadas no NCBI, um banco de dados moleculares.

#### 3.2 Objetivos Específicos

- a) Selecionar as sequências do gene mitocondrial Citocromo Oxidase subunidade I (COX) disponíveis para *Astyanax aff. bimaculatus* distribuídos na bacia do Alto rio São Francisco nas bases de dados do NCBI;
- b) Determinar a composição nucleotídica média intra e interpopulacional;
- c) Avaliar a distância genética intra e interpopulacional, além de verificar se existe correlação entre a distância genética e a distância geográfica;
- d) Calcular a expansão demográfica pelos testes de neutralidade de Tajima e Fu para cada população;
- e) Estimar o número de loci polimórficos, a heterozigosidade média, a riqueza alélica (número de alelos), os índices de diversidade haplotípica e genotípica para cada população;
- f) Avaliar a diferenciação genética par a par entre as populações;
- g) Avaliar as relações filogeográficas existentes entre os grupos taxonômicos utilizados no presente estudo.

## 4 Materiais e Métodos

### 4.1 Banco de dados seleção e obtenção das sequências

O presente trabalho foi desenvolvido com enfoque na identificação e caracterização molecular de populações de *Astyanax aff. bimaculatus* na bacia do Alto Rio São Francisco. Para tanto, foram analisados fragmentos do gene Cytocromo Oxidase subunidade I (COX) obtidos no banco de dados do National Center for Biotechnology Information (NCBI).

Para a seleção dos fragmentos do gene COX no NCBI foram utilizados descritores de busca que obedeceram alguns critérios de filtragem:

1. Somente sequências de *Astyanax bimaculatus*, *Astyanax aff. bimaculatus* e *Astyanax sp.*

- 1.1. Somente estudos utilizando o gene COX

- 1.1.1. Somente estudos realizados na bacia do Rio São Francisco

Foram escolhidas 33 sequências disponíveis nos dados públicos da base de dados NCBI. As 33 sequências disponíveis correspondiam a indivíduos amostrados no Alto Rio São Francisco, não havendo, portanto, qualquer sequência disponível para *Astyanax aff. bimaculatus* nas demais porções da bacia do Rio São Francisco. Das sequências selecionadas, quatro não possuíam informações completas de distribuição, portanto foram excluídas da pesquisa, tendo ao final da seleção um total de 29 sequências (Apendice I), que foram então analisadas utilizando ferramentas de bioinformática disponíveis gratuitamente na *web*.

Para a construção da árvore filogenética adotou-se uma sequencias de *Astyanax mexicanus* para enraizar a árvore na condição de *outgroup*, esta espécie é ideal para tal finalidade por ter taxonomia bem definida, sendo mais simples que o complexo *A. bimaculatus*, mesmo estando presente no mesmo gênero.

## **4.2 Análise das sequências relacionadas ao gene COX**

### **4.2.1 Composição Nucleotídica**

Após a seleção das sequências, as mesmas foram exportadas em formato FASTA e alinhadas através do software Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 – MEGA 7 - (KUMAR *et al.*, 2016), utilizando a ferramenta *Muscle*.

A composição nucleotídica média das sequências foi calculada usando o software MEGA 7 (KUMAR *et al.*, 2016)

### **4.2.2 Diversidade Genética e Distância Geográfica**

A matriz das distâncias genéticas baseada na diversidade de Nei (1972) foi obtida usando o programa MEGA7. As informações sobre as distâncias geográficas e a construção do mapa ilustrando as localidades de onde se originaram as sequências utilizadas no presente estudo foram obtidas pela utilização do software QuantumGis (TEAM, 2009), as distâncias geográficas aproximadas entre os pontos de amostragem foram obtidas através do software de sensoriamento remoto GOOGLE EARTH (versão 7.1.8.3036) onde, usando imagens de satélite, uma trilha foi traçada seguindo o curso dos corpos d'água em questão.

O isolamento genético foi medido segundo a metodologia estatística desenvolvida por (MANTEL, 1967). Este teste correlaciona as distâncias genética e geográfica, com nível de significância de 5% onde o valor de p foi calculado utilizando a distribuição de  $r(AB)$  estimada em 10.000 permutações. O teste de Mantel foi realizado com auxílio do software XLSTAT (ADDINSOFT, 2007).

### **4.2.3 Teste de Neutralidade**

As análises de expansão demográfica histórica foram determinadas pelos testes de neutralidade de Tajima (D) (TAJIMA, 1989) e Fu (Fs) (FU, 1997) e calculadas usando o software Arlequin V 3.1 (EXCOFFIER;

SCHNEIDER, 2005). Estes testes permitem detectar se os dados observados são significativamente diferentes daqueles esperados.

O índice D de Tajima é calculado com base na distribuição de sítios segregantes e na diversidade nucleotídica, onde valores superiores a zero sugerem que a população tenha sido submetida à seleção balanceadora ou a um gargalo populacional recente. Valores inferiores a zero indicam expansão populacional ou seleção purificadora (CARVALHO, 2011).

O índice de Fu ( $F_s$ ) é obtido a partir da distribuição haplotípica e é indicado para identificar o crescimento populacional (RAMOS-ONSINS e ROZAS, 2002). Valores positivos obtidos para FU são resultados de poucos alelos, sugerindo retratação populacional provenientes de gargalos evolutivos ou de seleção por sobredominância enquanto que, os valores negativos de FU expressam um excesso de alelos esperados em casos de expansão populacional recente ou efeito carona.

#### **4.2.4 Estimativas de variabilidade e diferenciação genética**

Utilizando o software DnaSP (LIBRADO; ROZAS, 2009) realizou-se a separação das sequências em subgrupos com base na sua localização geográfica, além da obtenção do total de haplótipos encontrados e compartilhados. A partir destas informações, foi possível delinear uma rede haplotípica evidenciando os haplótipos compartilhados entre as populações usando a ferramenta de análise Median-Joining (BANDELT *et al.*, 1999) através do software Network 5.0.0.1 (POLZIN; DANESHMAND, 2004-2017).

O número de loci polimórficos (S), a heterozigosidade observada ( $H_o$ ) dentro das populações segundo (NEI, 1987), a riqueza de alelos (número de alelos), e o índice de diversidade molecular foram estimados utilizando o Software Arlequin V 3.1 (EXCOFFIER; SCHNEIDER, 2005), estes testes tiveram seu suporte estatístico baseado em 10.000 permutações.

A diversidade haplotípica ( $h$ ) foi adotada como um descritor de haplótipos diferentes existentes, sendo calculada para todas as sequências de *A. aff. bimaculatus* e para cada uma das localidades amostradas. Qualquer diferença obtida em um ou mais nucleotídeos representará um novo haplótipo.

Foi também calculada a diversidade nucleotídica ( $\pi$ ) (NEI, 1987), que se baseia na divergência média entre as sequências.

Foi construída uma matriz de diferenciação genética par a par entre as localidades amostradas utilizando o software ARLEQUIN V 3.1. Os valores nela contidos devem indicar a relação média entre a diferença cromossômica dos indivíduos e a média cromossômica da população.

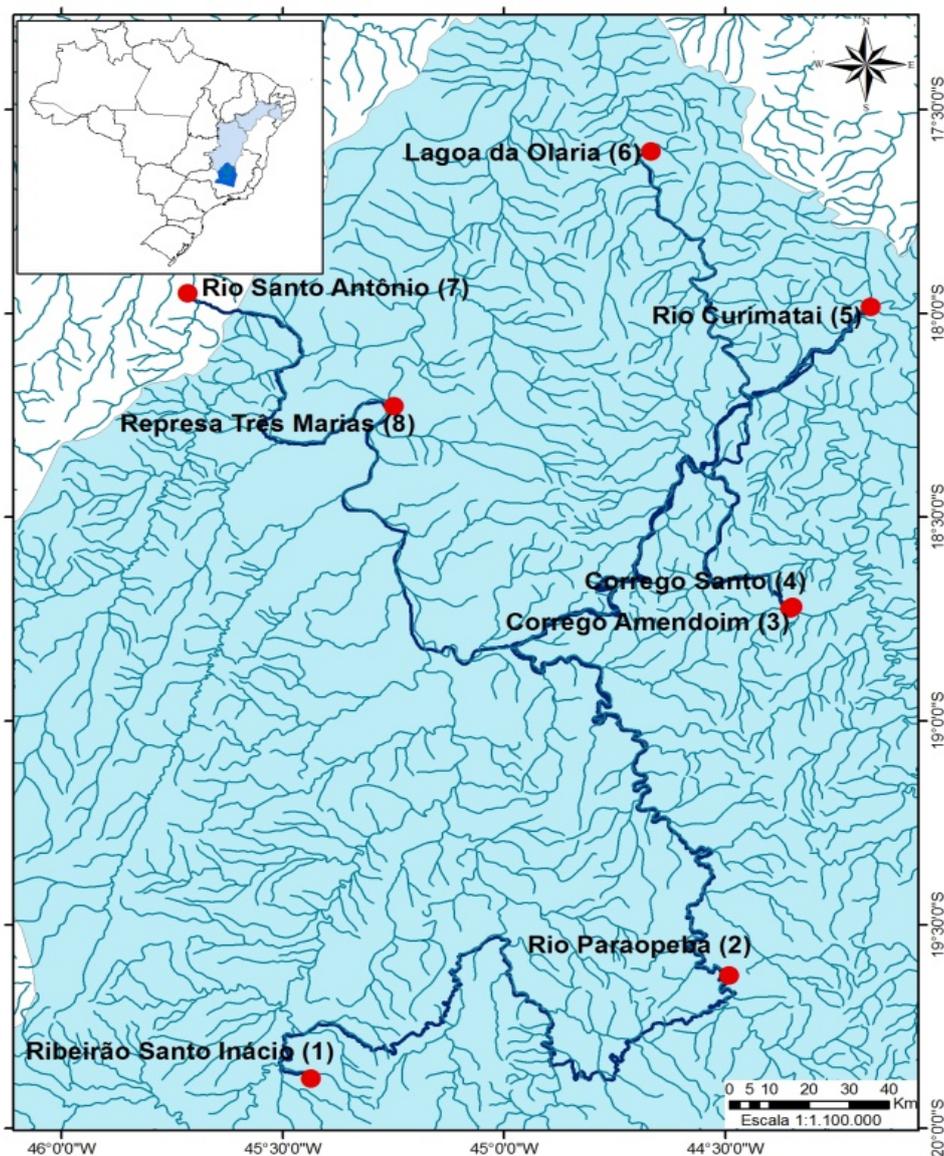
#### 4.2.5 Análise Filogenética e Filogeográfica

A análise filogenética foi calculada pelo método de distância genética de *Neighbor-Joining* (NJ) utilizando o software MEGA7, com 10.000 reamostragens pelo método de *Bootstrap*. Foi utilizado o modelo evolutivo *Kimura 2-parametros* (K2P) (KIMURA, 1980).

## 5 Resultados

Foram obtidas 29 sequências (Apêndice A) atendendo aos requisitos do filtro imposto. Estas amostras são oriundas da bacia hidrográfica do alto São Francisco, no estado de Minas Gerais (Figura 2). As sequências estão dispostas entre oito distintos pontos de coleta conforme exposto no quadro 1. O alinhamento múltiplo das sequências obtidas foi realizado para viabilizar as demais análises genéticas.

**Figura 2** - Mapa demonstrando os locais de coleta de *Astyanax* aff. *bimaculatus* na bacia do Alto rio São Francisco e que contribuíram com o depósito das sequências do Citocromo Oxidase (COX).



**Quadro 1:** Disposição geográfica das sequências utilizadas.

<b>Corpo d'água</b>	<b>Referência geográfica</b>	<b>Município-UF</b>
1 Ribeirão Santo Inácio	19.878 S 45.435 W	Moema-MG
2 Rio Paraopeba	19.626 S 44.489 W	Fortuna de Minas-MG
3 Córrego Amendoim	18.721 S 44.347 W	Curvelo-MG
4 Córrego Santo Antônio	18.725 S 44.352 W	Curvelo-MG
5 Rio Curimataí	17.984 S 44.169 W	Buenópolis-MG
6 Lagoa da Olaria	17.602 S 44.667 W	Várzea da Palma-MG
7 Rio Santo Antônio	17.96 S 45.704 W	Luizlandia-MG
8 Represa Três Marias	18.228 S 45.248 W	Três Marias-MG

## 5.1 Composição Nucleotídica

Todas as amostras analisadas possuíam sequências com tamanho variando de 491pb a 654pb para o gene COX. A composição nucleotídica média obtida para o fragmento do gene COX analisada nos 29 indivíduos de *Astyanax aff. bimaculatus* foi de 30,1% de timina, 26,3% de citosina, 25,8% de adenina e 17,8% de guanina (a composição nucleotídica de cada indivíduo está descrita no Apêndice B). Os nucleotídeos T, C e A correspondem a cerca de 82% da composição, enquanto que G corresponde a cerca de 18%.

## 5.2 Distância genética e Distância geográfica

A distância genética entre as populações nas localidades estudadas demonstrou grande amplitude, variando de 0 para as amostras oriundas do Córrego Santo e Córrego Amendoim e provenientes do Ribeirão Santo Inácio e Rio Curimataí, até 0.994 entre Rio Curimataí e Lagoa da Olaria (Tabela 1).

O teste de Mantel mostrou existir uma relação entre as distâncias geográficas e as distâncias genéticas estimadas ( $r=0,376$ ,  $p= 0,005$ ), indicando que quanto maior a distância entre as populações, maior a divergência genética encontrada.

**Tabela 1:** Correlação entre a distância genética (diagonal inferior) e a distância geográfica em Km (diagonal superior). Legenda: 1 Ribeirão Santo Inácio; 2 Rio Paraopeba; 3 Córrego Amendoim; 4 Córrego Santo; 5 Rio Curimataí; 6 Lagoa da Olaria; 7 Rio Santo Antonio; 8 Represa Três Marias. • menor distância genética; † maior distância genética; ♦ menor distância geográfica; \* maior distância geográfica; n/c = não calculado.

	1	2	3	4	5	6	7	8
1	-----	104	167.6	168.4	249.5	<b>265.4*</b>	212.2	183
2	0.747	-----	98.7	99.3	184.1	222.4	213.3	174.7
3	0.742	0.571	-----	<b>0.65♦</b>	84.2	126.9	150.2	109.9
4	0.755	0.846	<b>0.000•</b>	-----	82.2	125.4	151.5	108.5
5	<b>0.000•</b>	0.993	0.992	<b>1.000†</b>	-----	67.9	142.1	115.6
6	0.745	0.621	n/c	0.500	0.994	-----	100.8	95.6
7	0.412	0.132	0.054	0.109	0.740	0.059	-----	43
8	0.740	0.145	0.133	0.667	0.990	0.154	0.071	-----

### 5.3 Testes de Neutralidade

Os testes de Neutralidade (Tabela 2) em sua totalidade não apresentaram valores significativamente diferentes de zero para a maior parte das localidades analisadas, indicando que a hipótese nula de neutralidade das populações não pode ser rejeitada. Apenas para Ribeirão Santo Inácio ( $D=-1.260$ ;  $P=0.000$ ) e Rio Santo Antônio ( $D=-1.134$ ;  $P=0.043$ ) o teste de Tajima foi significativo. As amostras do Rio Curimataí e Córrego Santo possuem apenas um alelo e, portanto o teste de neutralidade não pode ser calculado, uma vez que este baseia suas estimativas no espectro de frequências alélicas (CLARK; HARTL, 2010).

**Tabela 2:** Valores dos testes de neutralidade de Tajima (D) e Fu (Fs) para as amostras de *A. aff. bimaculatus*. n/c = teste não computado por haver apenas um alelo na amostra.

Localidade	Tajima (D)	Fu (Fs)
1 Ribeirão Santo Inácio	-1.260*; p=0.000	9.866; p=1.000
2 Rio Paraopeba	-0.973 ; p=0.180	1.040; p=0.628
3 Córrego Amendoim	0.000 ; p=1.000	0.000; p=0.242
4 Córrego Santo	n/c	n/c
5 Rio Curimataí	n/c	n/c
6 Lagoa da Olaria	0.000 ; p=0.988	0.201; p=0.420
7 Rio Santo Antônio	-1.134*; p=0.043	3.183; p=0.871
8 Represa Três Marias	0.592 ; p=0.811	-0.658; p=0.171

\* = valores estatisticamente significativos.

### 5.4 Estimativas de variabilidade e diferenciação genética

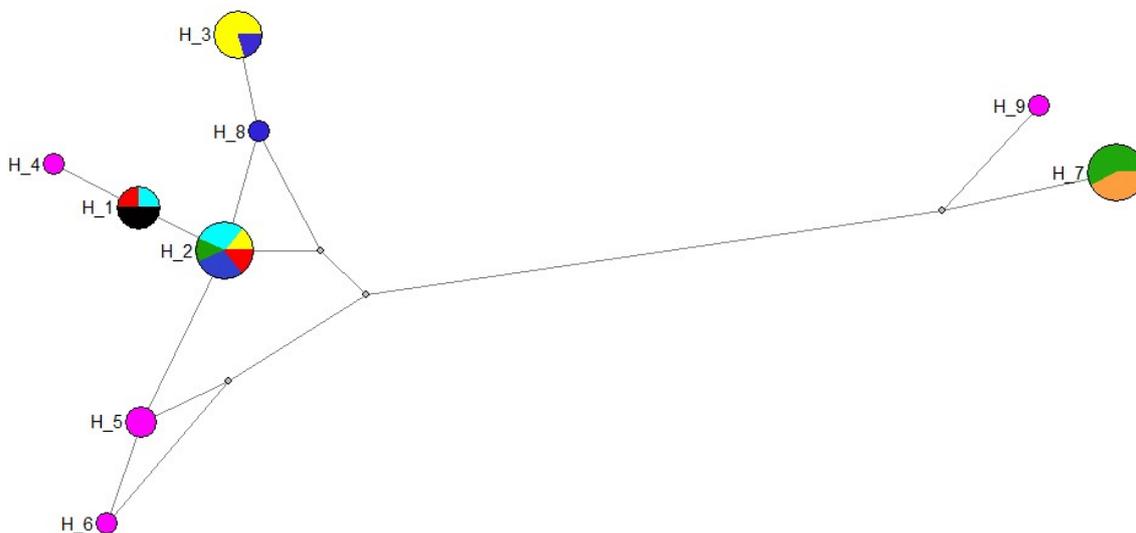
*Astyanax aff. bimaculatus* apresentou 127 sítios polimórficos (S) e nove haplótipos diferentes (Tabela 3) para os 29 indivíduos de oito populações. Os haplótipos Hap\_2 e Hap\_7 foram os mais frequentes, entretanto o Hap\_2 apareceu em um número maior de populações (n=5). Rio Santo Antônio foi o corpo d'água que apresentou a maior diversidade em número de haplótipos (n=4) enquanto que o Córrego Santo e o Rio Curimataí apresentaram a menor diversidade em número de haplótipos (n=1). Estão presentes também cinco haplótipos únicos (Hap\_4, Hap\_5, Hap\_6 e Hap\_9) no Ribeirão Santo Antônio e na Represa Três Marias o Hap\_8.

**Tabela 3:** Distribuição dos haplótipos de *A. aff. bimaculatus* por localidade. 1. Ribeirão Santo Inácio; 2. Rio Paraopeba; 3. Córrego Amendoim; 4. Córrego Santo; 5. Rio Curumataí; 6. Lagoa da Olaria; 7. Rio Santo Antônio; 8. Represa Três Marias.

	1	2	3	4	5	6	7	8	Total de Indivíduos	Total de Populações
Hap_1	-	-	1	2	-	1	-	-	4	3
Hap_2	1	1	1	-	-	2	-	2	7	5
Hap_3	-	4	-	-	-	-	-	1	5	2
Hap_4	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1
Hap_5	-	-	-	-	-	-	2	-	2	1
Hap_6	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1
Hap_7	4	-	-	-	3	-	-	-	7	2
Hap_8	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1
Hap_9	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1
Total de indivíduos	5	5	2	2	3	3	5	4		
Total de Haplótipos	2	2	2	1	1	2	4	3		

A rede de haplótipos criada a partir dos dados das sequências parciais do Citocromo Oxidase (COX) evidenciou a distribuição dos nove haplótipos encontrados nos oito locais amostrais do Alto Rio São Francisco. Observa-se o compartilhamento do Hap\_3 entre as populações do rio Paraopeba e Represa Três Marias e do Hap\_7 entre as populações do ribeirão Santo Inácio e rio Curumataí. Há o compartilhamento do Hap\_1 entre as populações de Córrego Amendoim, Córrego Santo e Lagoa da Olaria e o compartilhamento do Hap\_2 entre Ribeirão Santo Inácio, Rio Paraopeba, Córrego Amendoim, Lagoa da Olaria e Represa Três Marias. A distância que separam os haplótipos encontrados é diretamente proporcional à quantidade de mutações acumuladas no genoma, nesse sentido, Hap\_9 e Hap\_7 acumularam historicamente mais mutações que os separam dos demais haplótipos encontrados (Figura 3).

**Figura 3:** Rede de haplótipos evidenciando os haplótipos compartilhados. (**Verde:** Ribeirão Santo Inácio, **Amarelo:** Rio Paraopeba, **Preto:** Córrego Santo, **Vermelho:** Córrego Amendoim, **Laranja:** Rio Curimataí, **Azul claro:** Lagoa da Olaria, **Rosa:** Rio Santo Antônio, **Azul marinho:** Represa três Marias).



Sobre a análise da diversidade, foram encontrados 127 sítios polimórficos, onde os níveis de variação genética intraespecíficos foram estimados com base nos parâmetros genéticos de polimorfismo do DNA. Após o agrupamento das populações, o índice de diversidade nucleotídica geral foi de 0,058. Já analisando isoladamente as populações por ponto amostral, a diversidade nucleotídica apresentou uma variação de 0 no Córrego Santo e Rio Curimataí à 25.30 no Rio Santo Antônio, enquanto que a diversidade gênica variou de 0 no Córrego Santo e Rio Curimataí à 1 no Córrego Amendoim (Tabela 4). A heteroziguidade média observada foi de 0.39.

**Tabela 4:** Diversidade genética intrapopulacional em *A. aff. bimaculatus*. Legenda: n = número de sequências; H = número de haplótipos, HU = número de haplótipos únicos; S = número de sítios polimórficos; ETA = número de mutações; D = Diversidade gênica,  $\pi$  = diversidade nucleotídica; K = média das diferenças nucleotídicas par a par. n/c= não calculado, pois só há um alelo na amostra.

Localidade	n	H	Hu	S	ETA	D	$\pi$	K
1 Ribeirão S. Inácio	5	2	0	2	59	0.40	0.36	23.60
2 Rio Paraopeba	5	2	0	1	2	0.40	0.01	0.80
3 Córrego Amendoim	2	2	0	1	1	1.00	0.01	1.00
4 Córrego Santo*	2	1	1	0	0	0.00	0.00	0.00
5 Rio Curimataí*	3	1	1	0	0	0.00	0.00	0.00
6 Lagoa da Olaria	3	2	1	2	1	0.66	0.01	0.66
7 Rio Santo Antônio	5	4	0	1	63	0.90	0.38	25.30
8 Rep. Três Marias	4	3	1	0	2	0.83	0.01	1.16

\* Ausência de polimorfismos

A análise interpopulacional de diferenciação gênica entre os pares na população de *Astyanax aff. bimaculatus* estimada pelo índice Fst (Tabela 5) foi em sua maioria de moderada a alta. Os valores indicativos de baixo nível de diferenciação predominaram entre as amostras oriundas do Ribeirão Santo Inácio e os demais corpos d'água, excetuando-se a Lagoa da Olaria e o Rio Santo Antônio.

**Tabela 5-** Matriz do coeficiente de diferenciação genética, Fst par a par nas localidades estudadas. 1. Ribeirão Santo Inácio; 2. Rio Paraopeba; 3. Córrego Amendoim; 4. Córrego Santo; 5. Rio Curimataí; 6. Lagoa da Olaria; 7. Rio Santo Antônio; 8. Represa Três Marias.

	1	2	3	4	5	6	7	8
1	-----							
2	0.153	-----						
3	0.018	0.171	-----					
4	0.027	0.135	0.027	-----				
5	0.018	0.117	0.009	0.990	-----			
6	0.351	0.990	0.216	0.090	0.009	-----		
7	0.189	0.990	0.549	0.162	0.117	0.990	-----	
8	0.036	0.270	0.108	0.063	0.090	0.135	0.990	-----

## 5.5 Análise Filogeográfica

A árvore gerada pelo método *Neighbor-Joining* mostrou que os exemplares de *Astyanax aff. bimaculatus* estão agrupados em cinco grupos distintos (Figura 4). O grupo A é composto por *A. aff. bimaculatus* da Lagoa da Olaria, Córrego Amendoim, Córrego Santo e Rio Santo Antônio.

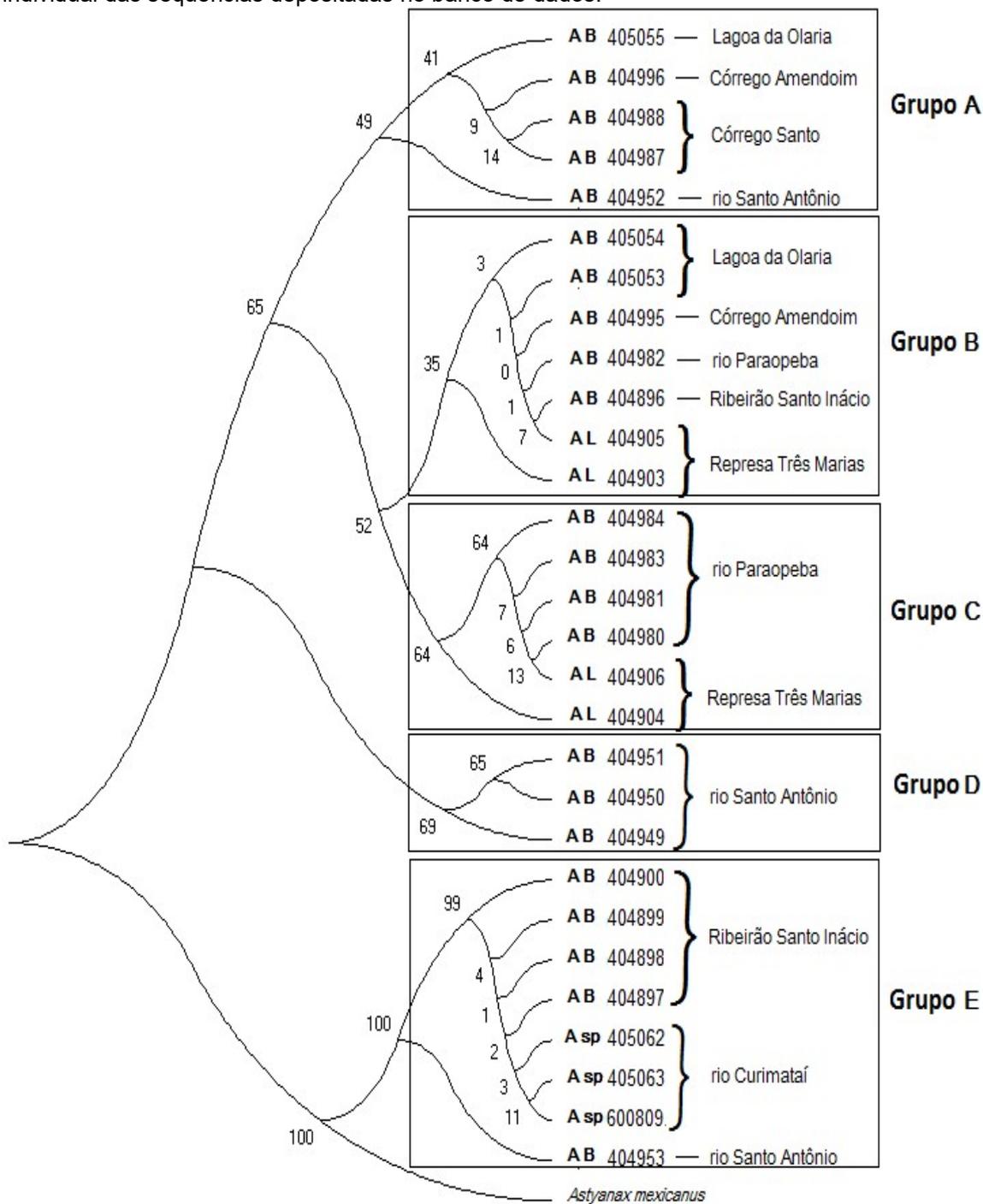
O grupo B é composto por exemplares da Lagoa da Olaria, Córrego Amendoim, Rio Paraopeba, Ribeirão Santo Inácio e Represa Três Marias. No grupo C houve o agrupamento de indivíduos do Rio Paraopeba e da Represa Três Marias.

O grupo D é formado exclusivamente por amostras provenientes do Rio Santo Antônio. No grupo E houve o agrupamento de todos os indivíduos provenientes do Rio Curimataí e de indivíduos oriundos do Ribeirão Santo Inácio e do Rio Santo Antônio.

É possível perceber portando a existência de no mínimo três populações de *A. aff. bimaculatus* distintas e distantes entre si no Rio Santo Antônio (Grupo A, D e E), duas populações no grupo oriundo da Lagoa da Olaria (grupos A e B), duas populações compõem o número amostral do Córrego Amendoim (Grupo A e B). O mesmo ocorre para o Rio Paraopeba, com duas populações (grupos B e C), Rio Santo Inácio que também está representado por duas populações (Grupos B e E), além dos indivíduos da Represa Três Marias que também estão separados em duas populações (grupos B e C).

Já no Córrego Santo e no Rio Curimataí, os indivíduos são aparentemente pertencentes a uma só população, evidenciada pelos agrupamentos nos grupos A e E respectivamente.

**Figura 4:** Árvore consenso gerada pelo método de Neighbor-Joining para as amostras de *Astyanax* aff. *bimaculatus* com base nas sequências do gene COX. Os valores dos ramos representam os valores de *bootstrap* (10.000 réplicas), que servem de suporte para os grupos. Legenda: AB= *Astyanax* aff. *bimaculatus*, AL= *Astyanax lacustris bimaculatus* e Asp= *Astyanax* sp. A numeração após o indicativo da espécie representa a identificação individual das sequências depositadas no banco de dados.



## 6 Discussão

Após a aplicação dos filtros de pesquisa para a obtenção das sequências gênicas utilizadas neste estudo, foi possível perceber a carência de estudos ictiológicos objetivando o conhecimento genético populacional nas demais regiões da bacia do rio São Francisco (médio, submédio e baixo São Francisco). A maioria das publicações sobre a ictiofauna do São Francisco está distribuída entre os corpos d'água que compõem o Alto São Francisco, tal fato provavelmente se deva à formação de uma rede de cooperação entre a Universidade Federal de Minas Gerais, juntamente ao Instituto Estadual de Florestas, a Universidade Federal de Lavras, a Universidade Estadual Paulista e a Universidade de Guelph no Canadá que visa desenvolver um banco de dados de sequências COX para identificação dos peixes da bacia do Rio São Francisco, cujas sequências são depositadas no DNA Barcode of Life Database (BOLD) e estão disponíveis para consulta no NCBI (CARVALHO *et al.*, 2011)

A composição nucleotídica média dos indivíduos de *Astyanax aff. bimaculatus* do Alto São Francisco evidenciou a Timina como a base nucleotídica mais frequente, seguida das bases Citosina e Adenina. Embora Meyer (1993), Ferreira (2007), Silva, Fraga e Barros (2008) e Cheida (2016), argumentem que as bases nucleotídicas mais abundantes no DNA mitocondrial de indivíduos ectotérmicos são a Timina e Adenina, a diferença observada entre a porcentagem de Citosina e Adenina para *A. aff. bimaculatus* foi muito pequena. Este resultado reforça o padrão habitualmente observado em genes mitocondriais, onde o percentual de guanina é razoavelmente inferior ao percentual das demais bases nitrogenadas (KOTLIK; BERREBI, 2002; DALIA, 2011). A maior proporção de A, T e C observada no presente estudo se assemelha aos resultados obtidos por Marreta *et al.* (2011) e Pozzobon (2009) os quais possuíam como objeto de estudo espécies do gênero *Astyanax*.

Os resultados obtidos para *Astyanax aff. bimaculatus* mostraram que a distância genética observada entre os indivíduos das diferentes localidades está correlacionada com a localização geográfica dos espécimes, indicando portanto, que a variação genética encontrada entre as localidades pode ser explicada pela distribuição geográfica das amostras. Resultados semelhantes

foram observados para *Astyanax altiparanae* provenientes da Represa Capivara no Rio Paranapanema (LEUZZI *et al.*, 2004) e para *Neoplecostomus yapo* provenientes de rios pertencentes a bacia do Rio Paranapanema (PHILIPPSEN *et al.*, 2009). Aliado à distribuição geográfica, as diferenças entre os padrões genéticos observados neste estudo podem estar relacionadas à presença da Represa Três Marias que pode estar funcionando como barreira ao fluxo gênico, uma vez que é possível observar alta diferenciação entre os indivíduos da Lagoa da Olaria, localizada a jusante da represa e os indivíduos do Ribeirão Santo Inácio, que está a montante da represa. O mesmo padrão ocorre entre os índices de diferenciação dos indivíduos do Ribeirão Santo Inácio, a montante da represa e do Rio Santo Antônio, a jusante da represa.

Além disso, é possível que as semelhanças geneticamente exibidas por indivíduos geograficamente tão distantes estejam ligadas a eventos históricos de inundações naturais, geodispersão ou outros eventos vicariantes, tendo em vista que os ambientes aquiducícolas na região neotropical exibem grande dinâmica espacial e temporal.

Os valores para o teste de neutralidade foram significativos para o D do teste de Tajima, com nível de significância de 5%. As localidades Ribeirão Santo Inácio, Rio Paraopeba e Rio Santo Antônio apresentaram valores negativos de D, porém, não significativos. Esses resultados são semelhantes aos encontrados para duas populações de *Piaractus mesopotamicus* da bacia do rio Paraguai (IERVOLINO *et al.*, 2010), para indivíduos de *Prochilodus lineatus* provenientes de corpos d'água da região de Conceição das Alagoas – Minas Gerais (GARCEZ *et al.*, 2011). O índice de Fu é calculado pela distribuição dos haplótipos, identificando precisamente a existência de crescimento populacional (RAMOS-ONSINS e ROZAS, 2002), conforme essa informação, apenas o índice da Represa Três Marias apresentou  $F_s$  negativo.

*Astyanax* aff. *bimaculatus* exibe alta plasticidade ecológica, colonizando diferentes corpos d'água doce, incluindo ambientes lóticos, lênticos e com diferentes níveis de degradação, tal versatilidade ecológica também é exibida por *A. altiparanae* (PRIOLI *et al.*, 2002; LEUZZI *et al.*, 2004; FERREIRA *et al.*, 2016). Esses autores associaram os altos níveis de diversidade genética em *A.*

*altiparane* a esta versatilidade ecológica, resultado que se assemelha ao padrão de diversidade gênica exibido neste trabalho para *A. aff. bimaculatus*.

Os resultados obtidos para *A. aff. bimaculatus* no alto Rio São Francisco indicam ainda a ocorrência de mutações pontuais no DNA mitocondrial ao longo da história evolutiva, estas mutações são evidenciadas pelos nove haplótipos distintos encontrados. O compartilhamento destes haplótipos (H\_1, H\_2 e H\_7) por diferentes populações localizadas em pontos geograficamente distintos pode ser resultado de uma separação recente entre estas populações (MOYSÉS; ALMEIDA-TOLEDO, 2002). Além disso, é conhecido que as espécies do gênero *Astyanax* são capazes de realizar pequenas migrações, que aliadas ao fluxo gênico via *stepping-stone* (KIMURA, 1980) explicaria o compartilhamento de haplótipos entre corpos d'água mais próximos, como por exemplo, o compartilhamento do Hap\_1 entre o Córrego Santo Antônio, o Córrego Amendoim e a Lagoa da Olaria. Esses resultados ajudam a ilustrar a história evolutiva da bacia hidrográfica do São Francisco e seu processo de colonização pela fauna.

Em 1997, Cecílio e colaboradores evidenciaram a alta capacidade de colonização demonstrada por *Astyanax aff. bimaculatus*, em ambientes de represa. Eles realizaram o monitoramento antes e após a construção da represa de Itaipu e o índice de abundância desta espécie após o represamento foi igual ou superior ao índice obtido anteriormente à construção da represa. O presente demonstra que parte dos haplótipos existentes nas populações de *A. lacustris* da Represa Três Marias encontram-se no Grupo B (Figura 4), muito próximo dos indivíduos identificados como *A. aff. bimaculatus*. O grupo B, mais heterogêneo em relação à distribuição dos indivíduos, é o grupo que reúne provavelmente os haplótipos ancestrais aos demais espécimes. Em seu estudo sobre biogeografia histórica do Lambari, Cunha, 2014 relatou a similaridade entre *Astyanax aff. bimaculatus* coletados na bacia do Rio Doce e outros da mesma espécie oriundos da bacia do São Francisco a partir da formação de um haplogrupo entre estes indivíduos, propondo que tal resultado seja fruto de geodispersão.

O índice  $F_{st}$  de diferenciação genética interpopulacional indica que valores de  $F_{st}$  entre 0,05 e 0,15 demonstram moderada estruturação gênica e

acima de 0,15, alta estruturação gênica (WRIGHT, 1978). O  $F_{st}$  mostrou que a maior parte das localidades apresenta diferenciação genética de moderada a alta. Esse resultado que difere de outros realizados com *Astyanax altiparanae* e *Astyanax mexicanus* onde a análise par a par demonstrou baixa diferenciação. (BRADIC *et al.*, 2012; ZAGANINI, 2013). A divergência observada entre esse estudo e os realizados com outras espécies de *Astyanax* reflete o grau de isolamento entre as populações, podendo estar diretamente relacionado à distância geográfica e a presença de barreiras geográficas, mas também, ao tempo de isolamento que influencia no índice de fixação destas características. De acordo com Sofia *et al.* (2006), quanto maior a proximidade entre as unidades amostrais, menor será a diversidade gênica.

A análise filogenética foi realizada utilizando 22 sequências de *Astyanax* aff. *bimaculatus*, quatro sequências de *Astyanax lacustris bimaculatus*, três sequências de *Astyanax* sp. (pela possibilidade de pertencer ao “grupo *bimaculatus*”) e uma sequência de *Astyanax mexicanus* como grupo externo por ser considerada uma unidade taxonomicamente simples se comparada ao provável complexo de espécies *A. aff. bimaculatus* (STRECKER *et al.*, 2004).

Tal análise confirmou a complexidade existente no grupo, pois dentre os cinco grupos gerados, apenas o Grupo D mostrou-se homogêneo, revelando a presença de uma população de *Astyanax* aff. *bimaculatus* no Rio Santo Antônio com características nucleotídicas absolutamente distintas dos outros dois espécimes amostrados na mesma unidade geográfica porém rearranjados nos grupos A e E.

A maior heterogeneidade exibida pelas populações pode ser verificada no grupo B (figura 4), composto por sete indivíduos que estão distribuídos entre cinco unidades amostrais distintas, o grupo B indica portanto a existência de um haplogrupo de ampla distribuição na região do Alto São Francisco. É importante destacar que apesar de agrupados pela semelhança genética, geograficamente alguns destes espécimes localizam-se em unidades amostrais opostas, como ocorre entre a Lagoa da Olaria e o Ribeirão Santo Inácio distantes 265,4 Km entre si. Este resultado disforme pode ser explicado pela complexidade molecular do gênero *Astyanax*, (PIE *et al.*, 2009; PAMPONET *et al.* 2008).

## 7 Considerações Finais

Conhecer os efeitos da variabilidade genética em peixes é indispensável para compreender os padrões de distribuição da biodiversidade entre as populações.

As populações indicadas neste trabalho podem ainda ser subdivididas em mais populações, caso se amplie o número amostral para que represente de forma real a comunidade de peixes. Existe também a possibilidade de aplicação de técnicas mais modernas para estudos populacionais pelo uso de marcadores moleculares que atestem com maior acurácia os polimorfismos, a exemplo dos microssatélites.

Este estudo reforça o quanto a interdisciplinaridade pode ser uma ferramenta eficaz para a ciência. A bioinformática através do uso de ferramentas computacionais para estudos moleculares torna possível a realização de inferências evolutivas e análises populacionais *In silico*. Inferências ecológicas e questionamentos biogeográficos podem ser discutidos sobre a luz da interdisciplinaridade usando meios computacionais.

O presente estudo demonstra ainda, por meio da metodologia adotada, a carência de publicações envolvendo as demais áreas da bacia do Rio São Francisco, não havendo trabalhos executados com *Astyanax* aff. *bimaculatus* nas regiões do Médio, Submédio e Baixo São Francisco. Esta carência é reproduzida para várias outras espécies da ictiofauna.

No tocante à *Astyanax* aff. *bimaculatus*, fica evidente a plasticidade comportamental característica da espécie, evidenciada pelas variações na distribuição geográfica de haplótipos tão semelhantes configurada pelos indivíduos que compuseram este trabalho.

## Referências Bibliográficas

ADDINSOFT. XLSTAT 2007, Data analysis and statistics with Microsoft Excel, Paris, Franc, Paris, France, 2007.

ÁGUAS, P. B. D. Projeto Brasil das águas - Revelando o azul do verde e amarelo. **Projeto Brasil da águas**, 2016. Disponível em: <<http://brasildasaguas.com.br/educacional/regioes-hidrograficas/regiao-hidrografica-do-sao-francisco/>>. Acesso em: 25 dezembro 2016.

ALVES, C. B. M.; POMPEU, P. S. **Peixes do rio das Velhas: passado e presente**. Belo Horizonte: Segrac, 2001.

ANDRADE, D. L. D.; BOAS, D. S. V. Análise *in silico* de similaridade entre tubarões da Ordem Carcharhiniformes utilizando DNA mitocondrial. **Revista Ceciliana**, v. 4, n. 1, p. 68-71, junho 2012.

ANDRADE, I. S. D. Caracterização citogenética molecular e estudo da variabilidade genética por marcadores ISSR e COX na espécie *Lonchorhina aurita* (Chiroptera: Phyllostomidae). **Dissertação de Mestrado em Genética**, Universidade Federal de Pernambuco Recife, p. 51, 2014.

BANDELT, H. J.; FORSTER, P.; RÖHL, A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. **Mol Biol Evol** , v. 16, p. 37-48, 1999.

BARBOSA, N. C. C. P. Estudos de variabilidade genética em populações de *Chrysoperla externa* HAGEN, 1861 (Neuroptera: Chrysopidae) do estado de São Paulo, Brasil. **Dissertação de Mestrado em Agronomia**, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, p. 75f, 2013.

BELLAFRONTE, E., MARIGUELA, T. C., PEREIRA, L. H. G., OLIVEIRA, C., & MOREIRA-FILHO, O. DNA barcode of Parodontidae species from the La Plata river basin – applying new data to clarify taxonomic problems. **Neotropical Ichthyology**, 11, 497–506, 2013.

BERTACO, V.; GARUTTI, V. New *Astyanax* from the upper rio Tapajós drainage, Central Brazil (Characiformes: Characidae). **Neotropical Ichthyology**, v. 5, n. 1, p. 25-30, 2007.

BIKANDI, J. *et al.* In silico analysis of complete bacterial genomes: PCR, AFLP–PCR and endonuclease restriction. **Bioinformatics**, v. 20, n. 5, p. 798–799, 2004.

BOBE, J. *et al.* In silico identification and molecular characterization of genes predominantly expressed in the fish oocyte. **BMC Genomics**, p. 16, outubro 2008.

BRADIC, M; BEERLI, P; LEÓN-DE-GARCÍA, F. J; ESQUIVEL,-BOBADILHA, S. BOROWSKI, R. L. Gene flow and population structure in the Mexican blind cavefish complex (*Astyanax mexicanus*). **BMC Evolutionary Biology**, v. 12, n. 9, p. 17, January 2012. ISSN 1471-2199.

CARVALHO, D. C. D. *et al.* Aplicações da técnica de identificação genética - DNA Barcode - nos peixes da bacia do rio São Francisco. **Sociedade Brasileira de Ictiologia - Comunicação do Associados**, São Paulo, v. 104, p. 9, Setembro 2011. ISSN 1808-1436.

CARVALHO, P. H. Análise filogenéticas e filogeográficas do complexo de espécies *Hypostomus ancistroides* (Siluriformes: Loricariidae). **Tese. Doutorado em Ciências. Universidade de São Paulo**, São Paulo, p. 129, 2011.

CECILIO, E. B; AGOSTINHO, A. A; JÚLIO Jr., H. F; PAVANELLI, C. S. Colonização ictiofaunística do reservatório de Itaipú e áreas adjacentes. **Revista Brasileira de Zoologia**. v. 14, n. 1, p. 1-14. 1997

CHEIDA, I. M. Caracterização genética de populações de *Lutjanus jocu* (Block & Shneider, 1908) por meio de marcador mitocondrial (mtDNA). **Dissertação de Mestrado em Biodiversidade Tropical**, Universidade Federal do Espírito Santo, São Matheus. 2016.

CLARK, A. G.; HARTL, D. L. **Princípios de Genética de Populações**. 4. ed. [S.I.]: ARTMED, 2010.

COPELAND, W. C.; LONGLEY, M. J. DNA polymerase gamma in mitochondrial DNA replication and repair. **The Scientific World JOURNAL**, v. 3, p. 34-44, 2003.

COSTA, M. R. C; HERMANN, G; MARTINS, C. M; LINS, L. V. E LAMAS, I. R. Biodiversidade em Minas Gerais: um atlas para sua conservação. **Fundação Biodiversitas**, Belo Horizonte, p. 94, 1998.

CUNHA, M. S. Biogeografia histórica do Lambari de ampla distribuição *Astyanax aff bimaculatus* (Teleostei: Characidae) no sudeste brasileiro, com base em padrões de variação citogenéticos e moleculares. **Dissertação do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento**. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2014

DE CARVALHO D. C., OLIVEIRA D. A. A., POMPEU P. S., LEAL C. G., OLIVEIRA C., HANNER R. Deep barcode divergence in Brazilian freshwater

fishes: the case of the São Francisco River basin. **Mitochondrial DNA**. 2011;22(1):80–86. 2011

LYNDON M. COGHILL, L. M; HULSEY, C. D; CHAVES-CAMPOS, J; GARCÍA DE LEON, F. J; JOHNSON, S. G. Geração filogeografia próxima da caverna e da superfície de *Astyanax mexicanus*. **Filogenética Molecular e Evolução**, Volume 79 , p 368-374, 2014.

DALIA, R. L. Variabilidade genética e filogeografia de populações de *Prochilodus lineatus* (Pisces: Prochilodontidae) das bacias dos Rios Paraguai-Paraná e da bacia amazônica: bases para programas de conservação e piscicultura. **Trabalho de Conclusão de Curso em Ciências Biológicas** , Rio Claro, 2011.

DEPRÁ, I. C.; GOMES, V. N.; DERPA, G. C.; OLIVEIRA, I. J.; PRIOLI, S. M. A. P.; PRIOLI, A. J. Molecular study of *Astyanax altiparanae* (Osteichthyes, Characidae) as a probable species complex. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n. 3, p. 6015-6026, 2014.

DURET, L.; ABDEDDAIM, S. Bioinformatics, Sequence, Structure and Databanks, chapter Multiple alignment for structural, functional or phylogenetic analyses of homologous sequences., 2000.

ESCHMEYER, W.N. Catalog of fishes. Updated internet version of 03 January 2014. Catalog databases of CAS cited in FishBase (website), 2014.

ESPINASA, L.; BARTOLO, N. D.; NEWKIRK, C. E. DNA sequences of troglobitic nicoletiid insect support Sierra de El Abra and the Sierra de Guatemala as a single biogeographical area: Implications for *Astyanax*. **Subterranean Biology**, n. 13, p. 35-44, 2014.

EXCOFFIER, L. G.; SCHNEIDER, S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. **Evolutionary Bioinformatics Online**, v. 1, p. 47-50, 2005.

FERNADES, C. A.; MARTINS-SANTOS, I. C. Cytogenetic studies in two populations of *Astyanax altiparanae* (Pisces, Characiformes). **Hereditas** , v. 141, p. 328-332, 2004.

FERREIRA, D. G; LIMA, S. C; FRANTINE-SILVA, W; SILVA, J. F; APOLINÁRIO-SILVA, C; SOFIA, S. H; CARVALHO, S; GALINDO, B. A. Fine-scale genetic structure patterns in two freshwaterfish species, *Geophagus brasiliensis* (Osteichthyes, Cichlidae) and *Astyanax altiparanae* (Osteichthyes, Characidae) throughout a Neotropical stream. **Genetics and Molecular Research**, v. 15, n. 4, p. 1-15, Outubro 2016.

FERREIRA, S. R. B. Variabilidade genética da Dourada (*Brachyplatystoma rousseauxii*- Siluriformes:Pimelodidae), na bacia do rio Branco, Roraima, Amazônia brasileira. **Dissertação do Programa de Pós-graduação em recursos Naturais**, Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, 2007.

FREITAS, M. R. M. D. Revisão taxonômica das espécies de *Astyanax* subgrupo goyacensis nas porções media e superior da drenagem do rio Tocantins. **Dissertação do Programa de Pós-graduação em Ecologia de Ecótonos**, Universidade Federal do Tocantins, Porto Nacional, 2011.

FU, Y. . Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. **Genetics**, v. 147, p. 915–925, 1997.

GALVÃO, G. A. Comparação morfométrica de machos e fêmeas de *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758) capturados em dois açudes da Bacia do Rio Moxotó (PE) sob a influência do Projeto São Francisco. **Trabalho de Conclusão do Curso em Medicina Veterinária**, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, p. 64, 2011.

GARCEZ, R.; CALCAGNOTTO, D.; ALMEIDA-TOLEDO, L. F. D. Population structure of the migratory fish *Prochilodus lineatus* (Characiformes) from rio Grande basin (Brazil), an area fragmented by dams. **Aquatic Conservation: marine and Freshwater Ecosystems**, 2011. 268-275.

GARUTTI, V. Revisão taxonômica dos *Astyanax* (Pisces, Characidae), com mancha umeral ovalada e mancha no pedúnculo caudal, estendendo-se a extremidade dos raios caudais medianos, das bacias do Paraná, São Francisco e Amazônica. **Tese de Livre-docência, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, IBILCE**, São José do Rio Preto, 1995.

GARUTTI, V. Descrição de uma espécie nova de *Astyanax* (Teleostei, Characidae) da bacia do Tocantins, Brasil. **Iheringia Ser Zool**, n. 85, p. 115-122, 1998.

GARUTTI, V.; BRITSKI, H. A. Descrição de uma nova espécie de *Astyanax* (Teleostei: Characidae) da bacia do alto rio Paraná e considerações sobre as demais espécies do gênero na bacia. **Comum. Mus. Ciênc. Tecnol. PUCRS. Série Zoologia**, Porto Alegre, v. 13, p. 65-88, 2000.

GODINHO, A. L.; GODINHO, H. P. Breve visão do São Francisco. In: GODINHO, H. P.; GODINHO, A. L. **Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais**. Belo Horizonte: PUC Minas, 2003. Cap. Introdução, p. 15-24.

HEBERT, P. D. N; CYWINSKA, A; BALL, S. L; DEWARD. J. R. Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society of London**, London, v. 270, p. 313–322, 2003.

HOY, M. A. DNA, gene structure, and DNA replication. In: HOY, M. A. **Insect molecular genetics: an introduction to principles and applications**. San Diego: Academic Press, 2003. Cap. 1, p. 3-27.

IERVOLINO, F.; RESENDE, E. K. D.; HILSDORF, A. W. S. The lack of genetic differentiation of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) populations in the Upper-Paraguay Basin revealed by the mitochondrial DNA D-loop region: Implications for fishery management. **Fisheries research**, 2010. 27-31.

KAVALCO, K. F. Estudos evolutivos no gênero *Astyanax* (Pices, Characidae). **Tese de Doutorado em Ciências**, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

KALVACO, K. F.; PAZZA, R.; BRANDÃO, K. O., GARCIA, C.; ALMEIDA-TOLEDO, L. F. Comparative cytogenetics and molecular phylogeography in the group *Astyanax altiparanae* - *Astyanax* aff. *bimaculatus* (Teleostei, Characidae). **Cytogenetic and Genome Research**, . 134, p. 108-119, 2011.

KIMURA, M. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **Journal of Molecular Evolution**, v. 16, p. 111-120, 1980.

KIMURA, M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. In: KIMURA, M. **Populations genetics, molecular evolution, and the neutral theory: Select papers**. Mishima: [s.n.], v. 16, 1980. Cap. 42, p. 502-511.

KOHLER, H. C. Aspectos geoecológicos da bacia hidrográfica do São Francisco (primeira aproximação nescala 1:1 000 000). In: GODINHO, H. P.; GODINHO, A. L. **Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais**. Belo Horizonte: PUC Minas, 2003. Cap. 1, p. 25-35.

KOTLIK, P.; BERREBI, P. Genetic subdivision and biogeography of the Danubian rheophilic barb *Barbus petenyi* inferred from phylogenetic analysis of mitochondrial DNA variation. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, Detroit, v. 24, p. 10-18, 2002.

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: Molecular Evolucionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. **Molecular Biology and Evolution**, v. 33, p. 1870-1874, 2016.

LEUZZI, M. S. P; DE ALMEIDA, F. S; ORSI, M. L. Analysis by RAPD of the genetics structure of *Astyanax altiparanae* River, Brasil. **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, n. 3, p. 355-362, 2004.

LIBRADO, P.; ROZAS, J. DnaSP V5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. **Bioinformatics**, v. 25, p. 1451-1452, 2009.

LIMA, F. C. T.; MALABARBA, L. R.; BUCKUP, P. A.; LUCINDA, P. H. F. Genera Incertae Sedis in Characidae. **Checklist of the Freshwater Fishes of South and Central America.**, Porto Alegre, p. 106-169, 2003.

LOWE-MACCONNELL, R. H. **Estudos ecológicos de comunidades de peixe tropicais.** São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1999.

LOXDALE, H. D.; LUSHAI, G. Molecular markers in entomology. **Bulletin of Entomological Research**, v. 88, p. 577-600, 1998.

M. S. P. LEUZZI; F. S. DE ALMEIDA; M. L. ORSI. Analysis by RAPD of the genetic structure of *Astyanax altiparanae* (Pisces, Characiformes) in reservoirs on the Paranapanema River, Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, n. 3, p. 355-362, 2004.

MANTEL, N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. **Cancer research**, v. 27, p. 209-220, 1967.

MARIGUELA, T. C.; PAIVA, L. R. S.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. 5S rDNA chromosomal mapping and COX sequence analysis reveal differentiation among distinct populations of a characid fish *Serrapinnus notomelas*. **Rev Fish Biol Fisheries**, p. 779–788, 2011.

MARQUES, A. R. O. Caracterização da estrutura genética populacional das araras vermelhas *Ara chloropterus* e *Ara macao* (Piscitaciformes, Aves). **Tese**, Instituto de Biociências, São Paulo, 2011.

MARRETA, M. E. *et al.* Evidências moleculares dos padrões evolutivos e filogeográficos de populações de *Astyanax paranae* (Pisces: Characidae) com base em caracteres do DNA mitocondrial. **Dissertação de Mestrado em Ciências Biológicas**, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2011.

MEYER, A. DNA technology and phylogeny of fish: molecular phylogenetics studies of fish. **Genetic and evolution of aquatic organisms**, London, 1993.

MOYSÉS, C. B.; ALMEIDA-TOLEDO, L. F. D. Restriction fragment length polymorphism of mitochondrial DNA among five freshwater fish species of the genus *Astyanax* (pisces, Characidae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 25, n. 4, p. 401-407, 2002.

NCBI. NCBI National Center for Biotechnology Information. **NCBI**, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/home/about/programs.shtml>>. Acesso em: 25 Dezembro 2016.

NEI, M. Molecular evolutionary genetics.. **Columbia university press**, 1987.

OLIVEIRA C., A. G. S; AVELINO, G. S; ABE, K. T; MARIGUELA, T. C; BEWNINE, R. C; ORTÍ, G; VARI, R. P; CORRÊA E CASTRO, R. M. Phylogenetic relationship within the speciose family Characidae (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes) based on multilocus analysis and extensive ingroup sampling. **BMC Evolutionary Biology**, v. 11, p. 275, 2011.

OLIVEIRA, C.; ALMEIDA-TOLEDO, L. F.; FORESTI, F. Karyotypic evolution in Neotropical fishes. In: PISANO, E.; OZOUF-COSTAZ, C.; FORESTI, F. **Fish cytogenetics**. Enfield: Science Publishers, 2007.

ORNELAS-GARCIA, C. P.; DOMINGUEZ-DOMINGUEZ, O.; DOADRIO, I. Evolutionary history of the fish genus *Astyanax* Baird & Girard(1854) (Actinopterygii, Characidae) in Mesoamerica reveals multiple morphological homoplasies. **BMC Evolutionary Biology**, v. 8, p. 340, 2008.

PAIVA, M. P. **Grandes represas do Brasil**. Brasília: Editerra, 1982.

PAMPONET, V. C. C; CARNEIRO, P. L. S; AFFONSO, P. R. A. DE M, MIRANDA, V. S; SILVA JÚNIOR, J. C; OLIVEIRA, C. G; GAIOTO, F. A. A multi-approach analysis of thr genetic diversity, in populations of *Astyanax aff bimaculatus* Linnaeus, 1758 (Teleostei: Characidae) from Northeastern Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v. 6, p. 621-630, 2008.

PAZZA, R.; CRUVINEL, L. A.; KALVACO, K. F. Parallel evolution evidenced by molecular data in the banded-tetra (*Astyanax fasciatus*). **Biochemical Systematics and Ecology**, n. 70, p. 141-146, 2017.

PESSENDA, G. Estudo da organização e mapeamento cromossômico do elemento transponível Rex1 em espécies do gênero *Astyanax* Baird & Girard, 1854 (CHARACIFORMES: CHARACIDAE) provenientes de diferentes bacias hidrográficas. **Trabalho de Conclusão de Curso em Ciências Biológicas**, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, p. 42, 2012.

PHILIPPSSEN, J. S; RENESTO, E; GEALH, A. M; ARTONI, R. F; SHIBATTA, O. A; ZAWADSKI, C. H. Genetic variability in four samples of *Neoplecostomus yapo* (Teleostei: Loacariidae) from the rio Paranapanema basin, Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v. 7, n. 1, p. 25-30, 2009.

PIE, M. R; BAGGIO, R. A; BOEGER, W. A; PATELLA, L. A; OSTRENSKY, A; VITULE, J. R. S; ABILHOA, V. Molecular data reveal a diverse *Astyanax* species complex in the upper Iguazu River. **Journal of Fish Biology**, v. 75, p. 2357-2362, 2009.

POLZIN, T.; DANESHMAND, S. V. Steined (MP). **Fluxus Technology Ltd**, 2004-2017.

PORTO-FORESTI, F.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F.; CASTILHO-ALMEIDA, R. B. Cultivo do Lambari: Uma espécie de pequeno porte e grandes possibilidades. **Panorama da Aqüicultura**, v. 11, n. 67, p. 15-19, 2001.

PORTO-FORESTI, F.; CASTILHO-ALMEIDA, R. B.; FORESTI, F. Biologia e criação do Lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). **Espécies nativas para a piscicultura no Brasil**, v. 2, p. 101-116, 2005.

POZZOBON, A. P. B. Filogeografia e estrutura populacional de *Astyanax paranae* (Pisces: Characiformes) na bacia do Rio Paranapanema. **Trabalho de Conclusão de Curso em Ciências Biológicas**, Universidade Estadual Paulista Rio Claro, 2009.

POZZOBON, A. P. B. Relações filogenéticas e história evolutiva do gênero *Astyanax* (teleostei: Characidae), com base em caracteres moleculares. **Dissertação de Mestrado em Ciências Biológicas**, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2012.

PRIOLI, S. M. A. P. *et al.* Identification of *Astyanax altiparanae* (Teleostei: Characiformes) in the Iguaçu River, Brazil, based on mitochondrial DNA and RAPD markers. **Genetics and Molecular Biology**, v. 25, n. 4, p. 421-430, 2002.

PROSDOCIMI, F. *et al.* Bioinformática: Manual do Usuário. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 29, p. 12-25, 2002.

RAMOS-ONSINS, E. S.; ROZAS, J. Statistical Properties of New Neutrality Tests Against Population Growth. **Molecular Biology and Evolution**, v. 19, n. 12, p. 2092-2100, July 2002.

RIEGER, T. T.; CAMPOS, S. R. D. C.; SANTOS, J. F. D. A biologia molecular como ferramenta no estudo da biodiversidade. **Floresta e Ambiente**, Recife, v. 13, n. 2, p. 11-24, 2006.

SAITO, S. Caracterização in silico de sequências polimórficas na população de *Sporisorium scitamineum* e análise da expressão de genes vizinhos aos polimorfismos. **Dissertação de Mestrado em Ciências**, Universidade de São Paulo, Piracicaba, p. 67, 2015.

SAMPAIO, W. M. S.; ALMEIDA, F. B. D. Lambari ("*Astyanax bimaculatus*"). **Bicho da vez**, Viçosa, v. 10, p. 3, Agosto 2009.

SATO, Y.; SAMPAIO, E. V.; FENERICH-VERANI, N.; VERANI, J. R. Biologia reprodutiva e reprodução induzida de duas espécies de Characidae (Osteichthyes, Characiformes) da bacia do São Francisco, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 23, n. 1, p. 267-273, 2006.

SATO, Y.; GODINHO, H. P. Peixes da bacia do rio São Francisco. In: LOWE-MCCONNELL, R. H. **Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais**. São Paulo: Edusp, 1999. p. 401-413.

SILVA, S. C. R.; FRAGA, E.; BARROS, M. C. **Sistemática molecular de peixes da ordem Gymnotiformes na bacia do rio Itapecuru/MA**. Resumos do 54º Congresso Brasileiro de Genética. Salvador: [s.n.]. 2008. p. 1.

SMITH-CALDAS, M. R. B; MCPHERON, A; SILVA, J. G; ZUCCHI, R. A. Phylogenetic Relationships Among Species of the *Fraterculus* Group (Anastrepha: Diptera: Tephritidae) Inferred from DNA Sequences of Mitochondrial Cytochrome Oxidase I. **Neotropical Entomology**, Ilhéus, v. 30, n. 4, p. 565-573, December 2001.

SOFIA, S. H; SILVA, C. R. M; GALINDO, B. A; ALMEIDA, F. S; SODRÉ, L. M. K; MARTINEZ, C. B. R. Population genetic structure of *Astyanax scabipinnis* (Teleostei, Characidae) from an urban stream. **Hydrobiologia**, v. 553, p. 245-254, 2006.

STRECKER, U.; FAÚNDEZ, V. H.; WILKENS, H. Phylogeography of surface and cave *Astyanax* (Teleostei) from Central and North America based on cytochrome b sequence data. **Molecular Phylogenetic Evolution**, n. 33, p. 469-481, 2004.

TAJIMA, F. Statistica method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. **Genetics**, v. 123, p. 585–595, 1989.

TEAM, Q. D. QGIS Geographic Information System, 2009. Disponível em: <<http://qgis.osgeo.org>>. Acesso em: 2016.

TENÓRIO, R. C. C. O.; VITORINO, C. A.; SOUZA, I. L.; OLIVEIRA, C. ; VENERE, P. C. Comparative cytogenetics in *Astyanax* (Characiformes: Characidae) with focus on the cytotaxonomy of the group. **Neotropical Ichthyology**, v. 11, n. 3, p. 553-564, 2013.

VELONÀ, A; LUCHETTI, A; GUESINI, S; MARINI, M; MANTOVANI, B. Mitochondrial and nuclear markers highlight the biodiversity of *Kaloterme flavicollis* (Fabricius, 1793) (Insecta, Isoptera, Kalotermitidae) in the Mediterranean area. **Bulletin of Entomological Research**, p. 353–364, January 2011.

WRIGHT, S. Evolution and genetics of populations. **University of Chicago Press**, Chicago, 1978.

YEH, F. C. Population genetics. In: YOUNG, A.; BOSHER, D.; BOYLE, T. **Forest conservation genetics: principles and practice**. Collingswood: CSIRO Publishing, 2000. p. 21-37.

ZAGANINI, R. L. Análise da estrutura genética de *Astyanax altiparane* (Pisces: Characidae) na bacia do Alto Paraná. **Tese de Doutorado em Ciências Biológicas**, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, p. 102, 2013.

## APÊNDICE –A

Tabela 5- Informações sobre as sequências analisadas. Fonte: De Carvalho *et al.*, 2011

Locus	Gereferência	Tam pb	Sequência
HM405055	17.602 S 44.667 W	652 bp	CTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGAGCCGGAATAGTTGGAAGTCTTTAAGCCTTTAATTCGGGCAGAGCTCGGTCAACCAGGATCCCTTTTAGGC GACGACCAGGTTTACAATGTTCTGGTAACCGCACATGCTTTCGTTATAATTTCTTTATAGTTATGCCAGTAATAATTGGAGGCTTTGGAAATTGACT CATCCCACCTCATGATTGGTGCTCCAGATATAGCCTTCCCTCGAATAAACAACATAAGTTTCTGACTCCTTCCACCATCCTTTCTCTCCTTCTAGCAT CCTCCGGAGTTGAAGCTGGAGCAGGAACAGGATGAACTGTATACCCCCCTTGCCGGAAACCTTGCACATGCAGGAGCCTCTGTAGACTTAACA ATCTTTTCACTTCACCTGGCTGGTGTTCCTCAATCTTAGGGGCAATTAACCTTTATTACAACAATTATTAATATAAAAACCCCCAGCTATTTACAATAT CAAACACCTTTATTTGTCTGAGCTGTTTTAGTAACAGCTGTGCTCCTTCTCTCACTTCTGTCTAGCAGCTGGTATTACAATACTTCTCACAGA TCGCAACCTTAATACTTCATTCTTTGACCCAGCAGGGGGCGGAGATCCTATTCTTTACCAACATCTC
HM405054	17.602 S 44.667 W	652 bp	CTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGAGCCGGAATAGTTGGAAGTCTTTAAGCCTTTAATTCGGGCAGAGCTCGGTCAACCAGGATCCCTTTTAGGC GACGACCAGGTTTACAATGTTCTGGTAACCGCACATGCTTTCGTTATAATTTCTTTATAGTCATGCCAGTAATAATTGGAGGCTTTGGAAATTGACT CATCCCACCTCATGATTGGTGCTCCAGATATAGCCTTCCCTCGAATAAACAACATAAGTTTCTGACTCCTTCCACCATCCTTTCTCTCCTTCTAGCAT CCTCCGGAGTTGAAGCTGGAGCAGGAACAGGATGAACTGTATACCCCCCTTGCCGGAAACCTTGCACATGCAGGAGCCTCTGTAGACTTAACA ATCTTTTCACTTCACCTGGCTGGTGTTCCTCAATCTTAGGGGCAATTAACCTTTATTACAACAATTATTAATATAAAAACCCCCAGCTATTTACAATAT CAAACACCTTTATTTGTCTGAGCTGTTTTAGTAACAGCTGTGCTCCTTCTCTCACTTCTGTCTAGCAGCTGGTATTACAATACTTCTCACAGA TCGCAACCTTAATACTTCATTCTTTGACCCAGCAGGGGGCGGAGATCCTATTCTTTACCAACATCTC
HM405053	17.602 S 44.667 W	652 bp	CTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGAGCCGGAATAGTTGGAAGTCTTTAAGCCTTTAATTCGGGCAGAGCTCGGTCAACCAGGATCCCTTTTAGGC GACGACCAGGTTTACAATGTTCTGGTAACCGCACATGCTTTCGTTATAATTTCTTTATAGTCATGCCAGTAATAATTGGAGGCTTTGGAAATTGACT CATCCCACCTCATGATTGGTGCTCCAGATATAGCCTTCCCTCGAATAAACAACATAAGTTTCTGACTCCTTCCACCATCCTTTCTCTCCTTCTAGCAT CCTCCGGAGTTGAAGCTGGAGCAGGAACAGGATGAACTGTATACCCCCCTTGCCGGAAACCTTGCACATGCAGGAGCCTCTGTAGACTTAACA ATCTTTTCACTTCACCTGGCTGGTGTTCCTCAATCTTAGGGGCAATTAACCTTTATTACAACAATTATTAATATAAAAACCCCCAGCTATTTACAATAT CAAACACCTTTATTTGTCTGAGCTGTTTTAGTAACAGCTGTGCTCCTTCTCTCACTTCTGTCTAGCAGCTGGTATTACAATACTTCTCACAGA TCGCAACCTTAATACTTCATTCTTTGACCCAGCAGGGGGCGGAGATCCTATTCTTTACCAACATCTC
HM404996	18.721 S 44.347 W	633 bp	GCCTGAGCCGGAATAGTTGGAAGTCTTTAAGCCTTTAATTCGGGCAGAGCTCGGTCAACCAGGATCCCTTTTAGGCGACGACCAGGTTTACAA TGTTCTGGTAACCGCACATGCTTTCGTTATAATTTCTTTATAGTTATGCCAGTAATAATTGGAGGCTTTGGAAATTGACTCATCCCACCTCATGATTG GTGCTCCAGATATAGCCTTCCCTCGAATAAACAACATAAGTTTCTGACTCCTTCCACCATCCTTTCTCTCCTTCTAGCATCCTCCGGAGTTGAAGC TGGAGCAGGAACAGGATGAACTGTATACCCCCCTTGCCGGAAACCTTGCACATGCAGGAGCCTCTGTAGACTTAACAATCTTTTCACTTCACCT GGCTGGTGTTCCTCAATCTTAGGGGCAATTAACCTTTATTACAACAATTATTAATATAAAAACCCCCAGCTATTTACAATATCAAACACCTTTATTTGT CTGAGCTGTTTTAGTAACAGCTGTGCTCCTTCTCTCACTTCTGTCTAGCAGCTGGTATTACAATACTTCTCACAGATCGCAACCTTAATACTT CATTCTTTGACCCAGCAGGGGGCGGAGATCCTATTCTTTACCAACATCTC

HM404995	18.721 S 44.347 W	652 bp	<p>CTTTATCTAGTATTTGGTGGCTGAGCCGGAATAGTTGGAAGTCTTTAAGCCTTTTAATTCGGGCAGAGCTCGGTCAACCAGGATCCCTTTTAGGC GACGACCAGGTTTACAATGTTCTGGTAACCGCACATGCTTTCGTTATAATTTTCTTTATAGTCATGCCAGTAATAATTGGAGGCTTTGGAAATTGACT CATCCCACCTCATGATTGGTGCTCCAGATATAGCCTTCCCTCGAATAAAACAACATAAAGTTTCTGACTCCTTCCACCATCCTTTCTTCTCCTTCTAGCAT CCTCCGGAGTTGAAGCTGGAGCAGGAACAGGATGAACTGTATACCCCCCCTTGCCGGAACCTTGACATGCAGGAGCCTCTGTAGACTTAACA ATCTTTTCACTTCACCTGGCTGGTGTTCCTCAATCTTAGGGGCAATTAACCTTTATTACAACAATTATTAATATAAAAACCCCCAGCTATTTTACAATAT CAAACACCTTTATTTGTCTGAGCTGTTTTAGTAACAGCTGTGCTCCTTCTTCTCACTTCTGTCTTAGCAGCTGGTATTACAATACTTCTCACAGA TCGCAACCTTAATACTTCATTCTTTGACCCAGCAGGGGGCGGAGATCCTATTCTTTACCAACATCTC</p>
HM404988	18.725 S 44.352 W	652 bp	<p>CTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGAGCCGGAATAGTTGGAAGTCTTTAAGCCTTTTAATTCGGGCAGAGCTCGGTCAACCAGGATCCCTTTTAGGC GACGACCAGGTTTACAATGTTCTGGTAACCGCACATGCTTTCGTTATAATTTTCTTTATAGTTATGCCAGTAATAATTGGAGGCTTTGGAAATTGACT CATCCCACCTCATGATTGGTGCTCCAGATATAGCCTTCCCTCGAATAAAACAACATAAAGTTTCTGACTCCTTCCACCATCCTTTCTTCTCCTTCTAGCAT CCTCCGGAGTTGAAGCTGGAGCAGGAACAGGATGAACTGTATACCCCCCCTTGCCGGAACCTTGACATGCAGGAGCCTCTGTAGACTTAACA ATCTTTTCACTTCACCTGGCTGGTGTTCCTCAATCTTAGGGGCAATTAACCTTTATTACAACAATTATTAATATAAAAACCCCCAGCTATTTTACAATAT CAAACACCTTTATTTGTCTGAGCTGTTTTAGTAACAGCTGTGCTCCTTCTTCTCACTTCTGTCTTAGCAGCTGGTATTACAATACTTCTCACAGA TCGCAACCTTAATACTTCATTCTTTGACCCAGCAGGGGGCGGAGATCCTATTCTTTACCAACATCTC</p>
HM404987	18.725 S 44.352 W	652 bp	<p>CTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGAGCCGGAATAGTTGGAAGTCTTTAAGCCTTTTAATTCGGGCAGAGCTCGGTCAACCAGGATCCCTTTTAGGC GACGACCAGGTTTACAATGTTCTGGTAACCGCACATGCTTTCGTTATAATTTTCTTTATAGTTATGCCAGTAATAATTGGAGGCTTTGGAAATTGACT CATCCCACCTCATGATTGGTGCTCCAGATATAGCCTTCCCTCGAATAAAACAACATAAAGTTTCTGACTCCTTCCACCATCCTTTCTTCTCCTTCTAGCAT CCTCCGGAGTTGAAGCTGGAGCAGGAACAGGATGAACTGTATACCCCCCCTTGCCGGAACCTTGACATGCAGGAGCCTCTGTAGACTTAACA ATCTTTTCACTTCACCTGGCTGGTGTTCCTCAATCTTAGGGGCAATTAACCTTTATTACAACAATTATTAATATAAAAACCCCCAGCTATTTTACAATAT CAAACACCTTTATTTGTCTGAGCTGTTTTAGTAACAGCTGTGCTCCTTCTTCTCACTTCTGTCTTAGCAGCTGGTATTACAATACTTCTCACAGA TCGCAACCTTAATACTTCATTCTTTGACCCAGCAGGGGGCGGAGATCCTATTCTTTACCAACATCTC</p>
HM404984	19.626 S 44.489 W	652 bp	<p>CTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGAGCCGGAATAGTTGGAAGTCTTTAAGCCTTTTAATTCGGGCAGAACTCGGTCAACCAGGATCCCTTTTAGGC GACGACCAGGTTTACAATGTTCTGGTAACCGCACATGCTTTCGTTATAATTTTCTTTATAGTCATGCCAGTAATAATTGGAGGCTTTGGAAATTGACT CATCCCACCTCATGATTGGTGCTCCAGATATAGCCTTCCCTCGAATAAAACAACATAAAGTTTCTGACTCCTTCCACCATCCTTTCTTCTCCTTCTAGCAT CTTCCGGAGTTGAAGCTGGAGCAGGAACAGGATGAACTGTATACCCCCCCTTGCCGGAACCTTGACATGCAGGAGCCTCTGTAGACTTAACA ATCTTTTCACTTCACCTGGCTGGTGTTCCTCAATCTTAGGGGCAATTAACCTTTATTACAACAATTATTAATATAAAAACCCCCAGCTATTTTACAATAT CAAACACCTTTATTTGTCTGAGCTGTTTTAGTAACAGCTGTGCTCCTTCTTCTCACTTCTGTCTTAGCAGCTGGTATTACAATACTTCTCACAGA TCGCAACCTTAATACTTCATTCTTTGACCCAGCAGGGGGCGGAGATCCTATTCTTTACCAACATCTC</p>
HM404983	19.626 S 44.489 W	652 bp	<p>CTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGAGCCGGAATAGTTGGAAGTCTTTAAGCCTTTTAATTCGGGCAGAACTCGGTCAACCAGGATCCCTTTTAGGC GACGACCAGGTTTACAATGTTCTGGTAACCGCACATGCTTTCGTTATAATTTTCTTTATAGTCATGCCAGTAATAATTGGAGGCTTTGGAAATTGACT CATCCCACCTCATGATTGGTGCTCCAGATATAGCCTTCCCTCGAATAAAACAACATAAAGTTTCTGACTCCTTCCACCATCCTTTCTTCTCCTTCTAGCAT CTTCCGGAGTTGAAGCTGGAGCAGGAACAGGATGAACTGTATACCCCCCCTTGCCGGAACCTTGACATGCAGGAGCCTCTGTAGACTTAACA ATCTTTTCACTTCACCTGGCTGGTGTTCCTCAATCTTAGGGGCAATTAACCTTTATTACAACAATTATTAATATAAAAACCCCCAGCTATTTTACAATAT CAAACACCTTTATTTGTCTGAGCTGTTTTAGTAACAGCTGTGCTCCTTCTTCTCACTTCTGTCTTAGCAGCTGGTATTACAATACTTCTCACAGA TCGCAACCTTAATACTTCATTCTTTGACCCAGCAGGGGGCGGAGATCCTATTCTTTACCAACATCTC</p>

HM404982	19.626 S 44.489 W	652 bp	<p>CTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGAGCCGGAATAGTTGGAAGTCTTTAAGCCTTTAATTCGGGCAGAGCTCGGTCAACCAGGATCCCTTTTAGGC GACGACCAGGTTTACAATGTTCTGGTAACCGCACATGCTTTCGTTATAATTTTCTTTATAGTCATGCCAGTAATAATTGGAGGCTTTGGAAATTGACT CATCCCACCTCATGATTGGTGCTCCAGATATAGCCTTCCCTCGAATAAACAACATAAGTTTCTGACTCCTTCCACCATCCTTTCTCTCCTTCTAGCAT CCTCCGGAGTTGAAGCTGGAGCAGGAACAGGATGAACTGTATACCCCCCTTGCCGGAACCTTGCACATGCAGGAGCCTCTGTAGACTTAACA ATCTTTTCACTTCACCTGGCTGGTGTTCCTCAATCTTAGGGGCAATTAACCTTTATTACAACAATTATTAATATAAAAACCCCAAGCTATTTTACAATAT CAAACACCTTTATTTGTCTGAGCTGTTTTAGTAACAGCTGTGCTCCTTCTTCTCACTTCCTGTCTTAGCAGCTGGTATTACAATACTTCTCACAGA TCGCAACCTTAATACTTCATTCTTTGACCCAGCAGGGGGCGGAGATCCTATTCTTTACCAACATCTC</p>
HM404981	19.626 S 44.489 W	652 bp	<p>CTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGAGCCGGAATAGTTGGAAGTCTTTAAGCCTTTAATTCGGGCAGAACTCGGTCAACCAGGATCCCTTTTAGGC GACGACCAGGTTTACAATGTTCTGGTAACCGCACATGCTTTCGTTATAATTTTCTTTATAGTCATGCCAGTAATAATTGGAGGCTTTGGAAATTGACT CATCCCACCTCATGATTGGTGCTCCAGATATAGCCTTCCCTCGAATAAACAACATAAGTTTCTGACTCCTTCCACCATCCTTTCTCTCCTTCTAGCAT CTTCCGGAGTTGAAGCTGGAGCAGGAACAGGATGAACTGTATACCCCCCTTGCCGGAACCTTGCACATGCAGGAGCCTCTGTAGACTTAACA ATCTTTTCACTTCACCTGGCTGGTGTTCCTCAATCTTAGGGGCAATTAACCTTTATTACAACAATTATTAATATAAAAACCCCAAGCTATTTTACAATAT CAAACACCTTTATTTGTCTGAGCTGTTTTAGTAACAGCTGTGCTCCTTCTTCTCACTTCCTGTCTTAGCAGCTGGTATTACAATACTTCTCACAGA TCGCAACCTTAATACTTCATTCTTTGACCCAGCAGGGGGCGGAGATCCTATTCTTTACCAACATCTC</p>
HM404980	19.626 S 44.489 W	652 bp	<p>CTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGAGCCGGAATAGTTGGAAGTCTTTAAGCCTTTAATTCGGGCAGAACTCGGTCAACCAGGATCCCTTTTAGGC GACGACCAGGTTTACAATGTTCTGGTAACCGCACATGCTTTCGTTATAATTTTCTTTATAGTCATGCCAGTAATAATTGGAGGCTTTGGAAATTGACT CATCCCACCTCATGATTGGTGCTCCAGATATAGCCTTCCCTCGAATAAACAACATAAGTTTCTGACTCCTTCCACCATCCTTTCTCTCCTTCTAGCAT CTTCCGGAGTTGAAGCTGGAGCAGGAACAGGATGAACTGTATACCCCCCTTGCCGGAACCTTGCACATGCAGGAGCCTCTGTAGACTTAACA ATCTTTTCACTTCACCTGGCTGGTGTTCCTCAATCTTAGGGGCAATTAACCTTTATTACAACAATTATTAATATAAAAACCCCAAGCTATTTTACAATAT CAAACACCTTTATTTGTCTGAGCTGTTTTAGTAACAGCTGTGCTCCTTCTTCTCACTTCCTGTCTTAGCAGCTGGTATTACAATACTTCTCACAGA TCGCAACCTTAATACTTCATTCTTTGACCCAGCAGGGGGCGGAGATCCTATTCTTTACCAACATCTC</p>
HM404953	17.96 S 45.704 W	607	<p>AGCCTATTAATTCGGGCAGAGCTTGGCCAGCCAGGATCCCTTCTAGGCGATGACCAGGTATATAATGTTCTGGTAACCGCACATGCTTTTGTAAATA ATCTTCTTTATAGTCATGCCTGTAATGATTGGGGCTTTGGAAATTGACTTGTACCACTAATAATTGGCGCCCCAGACATGGCCTTCCCTCGAATAA ATAACATAAGTTTCTGACTCCTTCCCCCGTCTTTCCTTCTCCTTCTAGCATCATCTGGGGTAGAAGCTGGGGCAGGAACAGGTTGAACTGTTTACC CCCCTCTTGCTGGGAACCTTGCACACGCAGGGGCCTCCGTGGACCTCACAATCTTCTCACTTCACCTAGCTGGTGTCTCTTCAATCTTAGGAGCA ATCAATTTCAATACAACCAATTATCAACATGAAACCCCAAGCCATCTCACAATACCAACACCTCTATTTGTCTGGGCCGTTCTGATTACAGCTGTCT CCTCCTTCTATCACTTCCTGTTTTAGCAGCTGGCATTACTATACTTCTTACAGACCGTAACCTTAACACTTCATTCTTTGACCCTGCAGGGGGTGG GACCCCATCTTTATCAACACCTATT</p>
HM404952	17.96 S 45.704 W	646 bp	<p>GTATTTGGTGGCTGAGCCGGAATAGTTGGAAGTCTTTAAGCCTTTAATTCGGGCAGAGCTCGGTCAACCAGGATCCCTTTTAGGTGACGACCA GGTTTACAATGTTCTGGTAACCGCACATGCTTTCGTTATAATTTTCTTTATAGTTATGCCAGTAATAATTGGAGGCTTTGGAAATTGACTCATCCCAC TCATGATTGGTGCTCCAGATATAGCCTTCCCTCGAATAAACAACATAAGTTTCTGACTCCTTCCACCATCCTTTCTTCTCCTTCTAGCATCCTCCGG AGTTGAAGCTGGAGCAGGAACAGGATGAACTGTATACCCCCCTTGCCGGAACCTTGCACATGCAGGAGCCTCTGTAGACTTAACAATCTTT CACTTCACCTGGCTGGTGTTCCTCAATCTTAGGGGCAATTAACCTTTATTACAACAATTATTAATATAAAAACCCCAAGCTATTTTACAATATCAAACA CCTTTATTTGTCTGAGCTGTTTTAGTAACAGCTGTGCTCCTTCTTCTCACTTCCTGTCTTAGCAGCTGGTATTACAATACTTCTCACAGATCGCAA CCTTAATACTTCATTCTTTGACCCAGCAGGGGGCGGAGATCCTATTCTTTACCAACATCTCTT</p>

HM404951	17.96 S 45.704 W	654 bp	<p>CTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGAGCCGGAATAGTTGGAAGTCTTTAAGCCTTTAATTCGGGCAGAGCTCGGTCAACCAGGATCCCTTTTAGGC GACGACCAGGTTTACAATGTTCTGGTAACCGCACATGCTTTCGTTATAATTTCTTTATAGTCATGCCAGTAATAATTGGAGGCTTTGGAAATTGACT CATCCCACCTCATGATTGGTGCTCCAGATATAGCCTTCCCTCGAATAAACAAACATAAGTTTCTGACTCCTTCCACCATCCTTTCTCTCCTTCTAGCAT CCTCCGGAGTTGAAGCTGGAGCAGGAACAGGATGAACTGTATACCCCCCTTGCCGGAACCTTGACATGCAGGAGCCTCTGTAGACTTAACA ATTTTTTCACTTCACCTGGCTGGTGTTCCTCAATCTTAGGGGCAATTAACCTTTATTACAACAATTATTAATAAAAACCCCCAGCTATTTACAATAC CAAACACCTTTATTTGTCTGAGCTGTTTTAGTAACAGCTGTGCTCCTTCTTCTCACTTCTGTCTAGCAGCTGGTATTACAATACTTCTCACAGA TCGCAACCTTAATACTTCATTCTTTGACCCAGCAGGGGGCGGAGATCCTATTCTTTACCAACATCTCTT</p>
HM404950	17.96 S 45.704 W	654 bp	<p>CTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGAGCCGGAATAGTTGGAAGTCTTTAAGCCTTTAATTCGGGCAGAGCTCGGTCAACCAGGATCCCTTTTAGGC GACGACCAGGTTTACAATGTTCTGGTAACCGCACATGCTTTCGTTATAATTTCTTTATAGTCATGCCAGTAATAATTGGAGGCTTTGGAAATTGACT CATCCCACCTCATGATTGGTGCTCCAGATATAGCCTTCCCTCGAATAAACAAACATAAGTTTCTGACTCCTTCCACCATCCTTTCTCTCCTTCTAGCAT CCTCCGGAGTTGAAGCTGGAGCAGGAACAGGATGAACTGTATACCCCCCTTGCCGGAACCTTGACATGCAGGAGCCTCTGTAGACTTAACA ATTTTTTCACTTCACCTGGCTGGTGTTCCTCAATCTTAGGGGCAATTAACCTTTATTACAACAATTATTAATAAAAACCCCCAGCTATTTACAATAC CAAACACCTTTATTTGTCTGAGCTGTTTTAGTAACAGCTGTGCTCCTTCTTCTCACTTCTGTCTAGCAGCTGGTATTACAATACTTCTCACAGA TCGCAACCTTAATACTTCATTCTTTGACCCAGCAGGGGGCGGAGATCCTATTCTTTACCAACATCTCTT</p>
HM404949	17.96 S 45.704 W	654 bp	<p>CTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGAGCCGGAATAGTTGGAAGTCTTTAAGCCTTTAATTCGGGCAGAGCTCGGTCAACCAGGATCCCTTTTAGGC GACGACCAGGTTTACAATGTTCTGGTAACCGCACATGCTTTCGTTATAATTTCTTTATAGTCATGCCAGTAATAATTGGAGGCTTTGGAAATTGACT CATCCCACCTCATGATTGGTGCTCCAGATATAGCCTTCCCTCGAATAAACAAACATAAGTTTCTGACTCCTTCCACCATCCTTTCTCTCCTTCTAGCAT CCTCCGGAGTTGAAGCTGGAGCAGGAACAGGATGAACTGTATACCCCCCTTGCCGGAACCTTGACATGCAGGAGCCTCTGTAGACTTAACA ATTTTTTCACTTCACCTGGCTGGTGTTCCTCAATCTTAGGGGCAATTAACCTTTATTACAACGATTATTAATAAAAACCCCCAGCTATTTACAATAC CAAACACCTTTATTTGTCTGAGCTGTTTTAGTAACAGCTGTGCTCCTTCTTCTCACTTCTGTCTAGCAGCTGGTATTACAATACTTCTCACAGA TCGCAACCTTAATACTTCATTCTTTGACCCAGCAGGGGGCGGAGATCCTATTCTTTACCAACATCTCTT</p>
HM404900	19.878 S 45.435 W	654 bp	<p>CTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGAGCTGGGATGGTTGGAAGTCTCTAAGCCTATTAATTCGGGCAGAGCTTGGCCAGCCAGGATCCCTTCTAGGC GATGACCAGGTATATAATGTTCTGGTAACCGCACATGCTTTTGAATAATCTTCTTTATAGTCATGCCTGTAATGATTGGGGGCTTTGGAAATTGACT TGACCGCTTATAAATTGGTGCCCCAGACATGGCCTTCCCTCGAATAAATAACATAAGTTTCTGACTCCTTCCCCCGTCTTTCCTTCTCCTTCTAGCA TCATCTGGGGTAGAAGCTGGGGCAGGGACAGGTTGAACTGTTTACCCCCCTTGTCTGGGAACCTTGACACGCAGGGGCTCCGTGGACCTCA CAATCTTCTCACTTCACCTAGCTGGTGTCTCTTCAATCTTAGGAGCAATCAATTTCAATTAACAACCATTATCAATATGAAACCCCCAGCCATCTCAAA TACCAACACCTCTATTTGTTGGGCCGTTCTGATTACAGCTGTCTCCTCCTTCTCTCACTTCTGTGTTTAGCAGCTGGCATTACTATACTTCTTAC AGACCGTAACCTTAACACTTCATTCTTTGACCCTGCAGGGGGTGGAGACCCCATCTTTATCAACACCTATT</p>
HM404899	19.878 S 45.435 W	654 bp	<p>CTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGAGCTGGGATGGTTGGAAGTCTCTAAGCCTATTAATTCGGGCAGAGCTTGGCCAGCCAGGATCCCTTCTAGGC GATGACCAGGTATATAATGTTCTGGTAACCGCACATGCTTTTGAATAATCTTCTTTATAGTCATGCCTGTAATGATTGGGGGCTTTGGAAATTGACT TGACCGCTTATAAATTGGTGCCCCAGACATGGCCTTCCCTCGAATAAATAACATAAGTTTCTGACTCCTTCCCCCGTCTTTCCTTCTCCTTCTAGCA TCATCTGGGGTAGAAGCTGGGGCAGGGACAGGTTGAACTGTTTACCCCCCTTGTCTGGGAACCTTGACACGCAGGGGCTCCGTGGACCTCA CAATCTTCTCACTTCACCTAGCTGGTGTCTCTTCAATCTTAGGAGCAATCAATTTCAATTAACAACCATTATCAATATGAAACCCCCAGCCATCTCAAA TACCAACACCTCTATTTGTTGGGCCGTTCTGATTACAGCTGTCTCCTCCTTCTCTCACTTCTGTGTTTAGCAGCTGGCATTACTATACTTCTTAC AGACCGTAACCTTAACACTTCATTCTTTGACCCTGCAGGGGGTGGAGACCCCATCTTTATCAACACCTATT</p>

HM404898	19.878 S 45.435 W	654 bp	<p>CTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGAGCTGGGATGGTTGGAAGCTGCTCTAAGCCTATTAATTCGGGCAGAGCTTGGCCAGCCAGGATCCCTTCTAGGC GATGACCAGGTATATAATGTTCTGGTAACCGCACATGCTTTTGAATAATCTTCTTTATAGTCATGCCTGTAATGATTGGGGGCTTTGGAAATTGACT TGTACCGCTTATAAATTGGTGCCCCAGACATGGCCTTCCCTCGAATAAATAACATAAGTTTCTGACTCCTTCCCCCGTCTTTCCTTCTCCTTCTAGCA TCATCTGGGGTAGAAGCTGGGGCAGGGACAGGTTGAACTGTTTACCCCTCTTCTGCTGGGAACCTTGACACGCAGGGGCTCCGTGGACCTCA CAATCTTCTCACTTCACCTAGCTGGTGTCTCTTCAATCTTAGGAGCAATCAATTTTCATTACAACCATTATCAATATGAAACCCCGCCATCTCACAA TACCAAACACCTCTATTTGTTTGGGCCGTTCTGATTACAGCTGTCTCCTCCTTCTCTCACTTCTGTTTTAGCAGCTGGCATTACTATACTTCTTAC AGACCGTAACCTTAACACTTCATTCTTTGACCCTGCAGGGGGGGAGACCCCATTCCTTATCAACACCTATT</p>
HM404897	19.878 S 45.435 W	654 bp	<p>CTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGAGCTGGGATGGTTGGAAGCTGCTCTAAGCCTATTAATTCGGGCAGAGCTTGGCCAGCCAGGATCCCTTCTAGGC GATGACCAGGTATATAATGTTCTGGTAACCGCACATGCTTTTGAATAATCTTCTTTATAGTCATGCCTGTAATGATTGGGGGCTTTGGAAATTGACT TGTACCGCTTATAAATTGGTGCCCCAGACATGGCCTTCCCTCGAATAAATAACATAAGTTTCTGACTCCTTCCCCCGTCTTTCCTTCTCCTTCTAGCA TCATCTGGGGTAGAAGCTGGGGCAGGGACAGGTTGAACTGTTTACCCCTCTTCTGCTGGGAACCTTGACACGCAGGGGCTCCGTGGACCTCA CAATCTTCTCACTTCACCTAGCTGGTGTCTCTTCAATCTTAGGAGCAATCAATTTTCATTACAACCATTATCAATATGAAACCCCGCCATCTCACAA TACCAAACACCTCTATTTGTTTGGGCCGTTCTGATTACAGCTGTCTCCTCCTTCTCTCACTTCTGTTTTAGCAGCTGGCATTACTATACTTCTTAC AGACCGTAACCTTAACACTTCATTCTTTGACCCTGCAGGGGGTGGAGACCCCATTCCTTATCAACACCTATT</p>
HM404896	19.878 S 45.435 W	654 bp	<p>CTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGAGCCGGAATAGTTGGAAGCTGCTTAAAGCCTTTAATTCGGGCAGAGCTCGGTCAACCAGGATCCCTTTTAGGC GACGACCAGGTTTACAATGTTCTGGTAACCGCACATGCTTTTCTGTTATAATTTCTTTTATAGTCATGCCAGTAATAATTGGAGGCTTTGGAAATTGACT CATCCCACTCATGATTGGTGTCCAGATATAGCCTTCCCTCGAATAAACAACATAAGTTTCTGACTCCTTCCACCATCCTTTCTTCTCCTTCTAGCAT CCTCCGGAGTTGAAGCTGGAGCAGGAACAGGATGAACTGTATACCCCTTCCCTGCGAAACCTTGACATGCAGGAGCCTCTGTAGACTTAACA ATCTTTTCACTTCACCTGGCTGGTGTCTTCAATCTTAGGGCAATTAACCTTTATTACAACAATTATTAATATAAAACCCCGCCATTTTACAAATAT CAAACACCTTTATTTGTCTGAGCTGTTTTAGTAACAGCTGTCTCCTTCTCTCACTTCTGCTCTAGCAGCTGGTATTACAATACTTCTCACAGA TCGCAACCTTAATACTTCATTCTTTGACCCAGCAGGGGGGGGAGATCCTATTCTTTACCAACATCTCTT</p>
HM405062	17.984 S 44.169 W	652	<p>CTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGAGCTGGGATGGTTGGAAGCTGCTCTAAGCCTATTAATTCGGGCAGAGCTTGGCCAGCCAGGATCCCTTCTAGGC GATGACCAGGTATATAATGTTCTGGTAACCGCACATGCTTTTGAATAATCTTCTTTATAGTCATGCCTGTAATGATTGGGGGCTTTGGAAATTGACT TGTACCGCTTATAAATTGGTGCCCCAGACATGGCCTTCCCTCGAATAAATAACATAAGTTTCTGACTCCTTCCCCCGTCTTTCCTTCTCCTTCTAGCA TCATCTGGGGTAGAAGCTGGGGCAGGGACAGGTTGAACTGTTTACCCCTCTTCTGCTGGGAACCTTGACACGCAGGGGCTCCGTGGACCTCA CAATCTTCTCACTTCACCTAGCTGGTGTCTCTTCAATCTTAGGAGCAATCAATTTTCATTACAACCATTATCAATATGAAACCCCGCCATCTCACAA TACCAAACACCTCTATTTGTTTGGGCCGTTCTGATTACAGCTGTCTCCTCCTTCTCTCACTTCTGTTTTAGCAGCTGGCATTACTATACTTCTTAC AGACCGTAACCTTAACACTTCATTCTTTGACCCTGCAGGGGGTGGAGACCCCATTCCTTATCAACACCTA</p>
HM405063	17.984 S 44.169 W	S 652	<p>CTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGAGCTGGGATGGTTGGAAGCTGCTCTAAGCCTATTAATTCGGGCAGAGCTTGGCCAGCCAGGATCCCTTCTAGGC GATGACCAGGTATATAATGTTCTGGTAACCGCACATGCTTTTGAATAATCTTCTTTATAGTCATGCCTGTAATGATTGGGGGCTTTGGAAATTGACT TGTACCGCTTATAAATTGGTGCCCCAGACATGGCCTTCCCTCGAATAAATAACATAAGTTTCTGACTCCTTCCCCCGTCTTTCCTTCTCCTTCTAGCA TCATCTGGGGTAGAAGCTGGGGCAGGGACAGGTTGAACTGTTTACCCCTCTTCTGCTGGGAACCTTGACACGCAGGGGCTCCGTGGACCTCA CAATCTTCTCACTTCACCTAGCTGGTGTCTCTTCAATCTTAGGAGCAATCAATTTTCATTACAACCATTATCAATATGAAACCCCGCCATCTCACAA TACCAAACACCTCTATTTGTTTGGGCCGTTCTGATTACAGCTGTCTCCTCCTTCTCTCACTTCTGTTTTAGCAGCTGGCATTACTATACTTCTTAC AGACCGTAACCTTAACACTTCATTCTTTGACCCTGCAGGGGGTGGAGACCCCATTCCTTATCAACACCTA</p>

HQ600809	17.984 S 44.169 W	491	<p>CTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGAGCTGGGATGGTTGGAAGTCTCTAAGCCTATTAATTCGGGCAGAGCTTGGCCAGCCAGGATCCCTTCTAGGC GATGACCAGGTATATAATGTTCTGGTAACCGCACATGCTTTTGTAAATAATCTTCTTTATAGTCATGCCTGTAAATGATTGGGGGCTTTGGAAATTGACT TGTACCGCTTATAAATTGGTGCCTGAGACATGGCCTTCCCTCGAATAAATAACATAAGTTTCTGACTCCTTCCCCCGTCTTTCTTCTCCTTCTAGCA TCATCTGGGGTAGAAGCTGGGGCAGGGACAGGTTGAACTGTTTACCCCCCTTTGCTGGGAACCTTGCACACGCAGGGGCCTCCGTGGACCTCA CAATCTTCTCACTTCACCTAGCTGGTGTCTCTTCAATCTTAGGAGCAATCAATTTCAATACAACCATTATCAATATGAAACCCCCAGCCATCTCACAA TACCAA</p>
HM404903	18.228 S 45.248 W	634	<p>GCTGAGCCGGAATAGTTGGAAGTCTTTAAGCCTTTTAAATTCGGGCAGAGCTCGGTCAACCAGGATCCCTTTAGGCGACGACCAGGTTTACAAT GTTCTGGTAACCGCACATGCTTTCGTTATAATTTTCTTTATAGTCATGCCAGTAATAATTGGAGGCTTTGGAAATTGACTCATCCCACTCATGATTGG TGCTCCAGATATAGCCTTCCCTCGAATAAACAACATAAGTTTCTGACTCCTTCCACCATCCTTTCTTCTCCTTCTAGCATCCTCCGGAGTTGAAGCT GGAGCAGGAACAGGATGAACTGTATACCCCCCTTCCCGGAAACCTTGCACATGCAGGAGCCTCTGTAGACTTAAACAATCTTTTCACTTCACCTG GCTGGTGTTCCTCAATCTTAGGGGCAATTAACCTTATTACAACAATTATTAATATAAAAACCCCCAGCTATTTTACAATATCAAACACCTTTATTGTC TGAGCTGTTTGTAGTAACAGCTGTGCTCCTTCTTCTCACTTCTGCTCCTAGCAGCTGGTATTACAATACTTCTCACAGATCGCAACCTTAATACTTC ATTCTTTGACCCAGCAGGGGGCGGAGATCCTATTCTTTACCAACATCTCTT</p>
HM404904	18.228 S 45.248 W	631	<p>GCCGGAATAGTTGGAAGTCTTTAAGCCTTTTAAATTCGGGCAGAGCTCGGTCAACCAGGATCCCTTTAGGCGACGACCAGGTTTACAATGTTCTG GTAACCGCACATGCTTTCGTTATAATTTTCTTTATAGTCATGCCAGTAATAATTGGAGGCTTTGGAAATTGACTCATCCCACTCATGATTGGTGTCTCC AGATATAGCCTTCCCTCGAATAAACAACATAAGTTTCTGACTCCTTCCACCATCCTTTCTTCTCCTTCTAGCATCTTCCGGAGTTGAAGCTGGAGCA GGAACAGGATGAACTGTATACCCCCCTTCCCGGAAACCTTGCACATGCAGGAGCCTCTGTAGACTTAAACAATCTTTTCACTTCACCTGGCTGGT GTTTCTCAATCTTAGGGGCAATTAACCTTATTACAACAATTATTAATATAAAAACCCCCAGCTATTTTACAATATCAAACACCTTTATTGCTGAGCT GTTTGTAGTAACAGCTGTGCTCCTTCTTCTCACTTCTGCTCCTAGCAGCTGGTATTACAATACTTCTCACAGATCGCAACCTTAATACTTCATTCTT TGACCCAGCAGGGGGCGGAGATCCTATTCTTTACCAACATCTCTT</p>
HM404905	18.228 S 45.248 W	646	<p>GTATTTGGTGCCTGAGCCGGAATAGTTGGAAGTCTTTAAGCCTTTTAAATTCGGGCAGAGCTCGGTCAACCAGGATCCCTTTTAGGCGACGACCA GGTTTACAATGTTCTGGTAACCGCACATGCTTTCGTTATAATTTTCTTTATAGTCATGCCAGTAATAATTGGAGGCTTTGGAAATTGACTCATCCAC TCATGATTGGTGCCTCAGATATAGCCTTCCCTCGAATAAACAACATAAGTTTCTGACTCCTTCCACCATCCTTTCTTCTCCTTCTAGCATCCTCCGG AGTTGAAGCTGGAGCAGGAACAGGATGAACTGTATACCCCCCTTCCCGGAAACCTTGCACATGCAGGAGCCTCTGTAGACTTAAACAATCTTTT CACTTCACCTGGCTGGTGTTCCTCAATCTTAGGGGCAATTAACCTTATTACAACAATTATTAATATAAAAACCCCCAGCTATTTTACAATATCAAACA CCTTTATTTGCTGAGCTGTTTGTAGTAACAGCTGTGCTCCTTCTTCTCACTTCTGCTCCTAGCAGCTGGTATTACAATACTTCTCACAGATCGCAA CCTTAATACTTCATTCTTTGACCCAGCAGGGGGCGGAGATCCTATTCTTTACCAACATCTCTT</p>
HM404906	18.228 S 45.248 W	654	<p>CTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGAGCCGGAATAGTTGGAAGTCTTTAAGCCTTTTAAATTCGGGCAGAACTCGGTCAACCAGGATCCCTTTTAGGC GACGACCAGGTTTACAATGTTCTGGTAACCGCACATGCTTTCGTTATAATTTTCTTTATAGTCATGCCAGTAATAATTGGAGGCTTTGGAAATTGACT CATCCCACTCATGATTGGTGTCTCAGATATAGCCTTCCCTCGAATAAACAACATAAGTTTCTGACTCCTTCCACCATCCTTTCTTCTCCTTCTAGCAT CTTCCGGAGTTGAAGCTGGAGCAGGAACAGGATGAACTGTATACCCCCCTTCCCGGAAACCTTGCACATGCAGGAGCCTCTGTAGACTTAAACA ATCTTTTCACTTCACCTGGCTGGTGTTCCTCAATCTTAGGGGCAATTAACCTTATTACAACAATTATTAATATAAAAACCCCCAGCTATTTTACAATAT CAAACACCTTTATTTGCTGAGCTGTTTGTAGTAACAGCTGTGCTCCTTCTTCTCACTTCTGCTCCTAGCAGCTGGTATTACAATACTTCTCACAGA TCGCAACCTTAATACTTCATTCTTTGACCCAGCAGGGGGCGGAGATCCTATTCTTTACCAACATCTCTT</p>

## APÊNDICE – B

**Quadro 2:** Distribuição da composição nucleotídica por indivíduo.

Cód. da sequência	T %	C %	A %	G %	Corpo d'água
AB_405055	30.5	25.8	26.5	17.2	Lagoa da Olaria
AB_404996	30.5	25.8	26.5	17.2	Córrego Amendoim
AB_404988	30.5	25.8	26.5	17.2	Córrego Santo
AB_404987	30.5	25.8	26.5	17.2	Córrego Santo
AB_404904	30.5	25.8	26.5	17.2	Represa Três Marias
AB_405054	30.3	26	26.5	17.2	Lagoa da Olaria
AB_405053	30.3	26	26.5	17.2	Lagoa da Olaria
AB_404995	30.3	26	26.5	17.2	Córrego Amendoim
AB_404982	30.3	26	26.5	17.2	Rio Paraopeba
AB_404951	30.3	26	26.5	17.2	Rio Santo Antônio
AB_404950	30.3	26	26.5	17.2	Rio Santo Antônio
AB_404949	30.3	26	26.2	17.4	Rio Santo Antônio
AB_404896	30.3	26	26.5	17.2	Ribeirão Santo Inácio
AL_404905	30.3	26	26.5	17.2	Represa Três Marias
AL_404903	30.3	26	26.5	17.2	Represa Três Marias
AB_404984	30.5	25.8	26.7	17	Rio Paraopeba
AB_404983	30.5	25.8	26.7	17	Rio Paraopeba
AB_404981	30.5	25.8	26.7	17	Rio Paraopeba
AB_404980	30.5	25.8	26.7	17	Rio Paraopeba
AL_404906	30.5	25.8	26.7	17	Represa Três Marias
AB_404953	28.5	27.6	24.7	19.2	Rio Santo Antônio
AB_404952	30.8	25.6	26.5	17.2	Rio Santo Antônio
AB_404900	29.2	27.1	24	19.7	Ribeirão Santo Inácio
AB_404899	29.2	27.1	24	19.7	Ribeirão Santo Inácio
AB_404898	29.2	27.1	24	19.7	Ribeirão Santo Inácio
AB_404897	29.2	27.1	24	19.7	Ribeirão Santo Inácio
Asp_405062	29.2	27.1	24	19.7	Rio Curimataí
Asp_405063	29.2	27.1	24	19.7	Rio Curimataí
Asp_600809	29.2	27.1	24	19.7	Rio Curimataí