

Metodologia Anexo 7 Dulcícola

SUMÁRIO

1	METODOLOGIA	3
1.1	ÁREA DE ESTUDOS	3
1.2	COLETA DE ICTIOFAUNA	7
1.3	COLETA DE MACROINVERTEBRADOS.....	8
1.4	ANÁLISE DE DADOS.....	9
1.4.1	Composição de estrutura da comunidade de ictiofauna.....	9
1.4.2	Estrutura e dinâmica das populações de ictiofauna.....	10
1.4.3	Ecologia Trófica	10
1.4.4	Biologia Reprodutiva.....	11
1.4.5	Avaliação Genética.....	12
1.4.6	Composição de estrutura da comunidade de macroinvertebrados	16
1.4.7	Avaliação de deformidades no aparelho bucal (mento) de larvas de Chironomidae....	19
2	REFERÊNCIAS	20

Lista de Figuras

Figura 1: Área de Estudo e localização dos pontos amostrados pelo Anexo 7 Ictiofauna Dulcícola e Macroinvertebrados. Consultar Tabela 1 para identificação dos locais de amostragem: Círculos vermelhos representa pontos de coleta na calha do Rio Doce, amarelos representam os córregos e azuis as lagoas. A identificação e localização dos pontos segue TR 4 para o PMBA/Fest-RRDM, Cláusula 165.....	4
Figura 2: Fotos dos pontos de amostragens da ictiofauna dulcícola e macroinvertebrados. Ver Tabela 1 para identificação dos pontos e localização dos mesmos.	5
Figura 3: Classificação de deformidades do mentum de larvas de insetos do gênero <i>Chironomus</i> . A - Sem dente lateral externo; B – Deformidade medial fraca e C – Deformidade medial severa ou qualquer combinação de fortes deformidades. Figura adaptada de Callisto et al. (2000).	20

Lista de tabelas

Tabela 1: Identificação dos pontos de amostragem de ictiofauna e macroinvertebrados durante Ano 1 e Ano 2 do PMBA. A identificação e localização dos pontos segue o TR 4 para o PMBA/Fest-RRDM. X e Y representam coordenadas UTM, zona 24 S, Sirgas 2000. Macroinvertebrados foram amostrados apenas no Ano 2. 3

1 METODOLOGIA

1.1 ÁREA DE ESTUDOS

Durante o Ano 1 do PMBA/Fest/RRDM (outubro de 2018 a setembro de 2019), foram realizadas amostragens mensais em cinco pontos na calha do Rio Doce na porção capixaba, nos lagos do Óleo e Limão e no córrego Palmas, que drena a lagoa Palminhas (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**), conforme indicados no Termo de Referência 4 para o Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática, Cláusula 165 (TR4). Durante o Ano 2 de monitoramento, as amostragens continuaram sendo mensais (tendo a concordância da CT-Bio e Fundação Renova conforme Nota Técnica nº 15/2020/CTBio/DIBIO/GABIN) e compreenderam o período entre novembro de 2019 e fevereiro de 2020, quando as atividades de campo foram suspensas devido a pandemia de SARS_COV-2. A malha de amostragens do Ano 2 sofreu algumas alterações, aprovadas pela Fundação Renova e CT-BIO. Essas alterações visaram uma caracterização melhor de habitats potencialmente diferentes aos da calha do Rio Doce. Foram adicionados dois pontos: P09 no córrego São Pedro Frio, com características de córregos de pequeno porte e não afetados pelo rejeito de minério e o P10 Lagoa das Palmas. Na calha, dois pontos foram realocados: P01 foi transferido para o reservatório de Mascarenhas (P01B) para compreender melhor o efeito do reservatório na assembleia de peixes e macroinvertebrados do Baixo Rio Doce; finalmente, o P08 da calha, foi transferido para um ponto próximo à sua montante, em razão de condições melhores de acesso (Tabela 1; Figura 1). Na Figura 2 são apresentados registros fotográficos de cada ponto amostrado. Banco de registros fotográficos das campanhas podem ser visualizados pelo link: [https://www.dropbox.com/work/07-ICTIOFAUNA_DULCICOLA/02-ECOLOGIA/FOTOS%20\(1\)](https://www.dropbox.com/work/07-ICTIOFAUNA_DULCICOLA/02-ECOLOGIA/FOTOS%20(1)).

Tabela 1: Identificação dos pontos de amostragem de ictiofauna e macroinvertebrados durante Ano 1 e Ano 2 do PMBA. A identificação e localização dos pontos segue o TR 4 para o PMBA/Fest-RRDM. X e Y representam coordenadas UTM, zona 24 S, Sirgas 2000. Macroinvertebrados foram amostrados apenas no Ano 2.

Ponto	Estado	Município	Localidade	X	Y
P01*	ES	Baixo Guandu	Rio Doce	306240	7841208
P02	ES	Marilândia	Rio Doce	348378	7839577
P03	ES	Linhares	Rio Doce	376384	7849263
P04	ES	Linhares	Rio Doce	402605	7849080
P05	ES	Colatina	Lagoa do Limão	355148	7837322
P06	ES	Marilândia	Lagoa do Óleo	348731	7839743
P07	ES	Linhares	Ribeirão Palmas	377545	7850618
P08*	ES	Colatina	Rio Doce	318993	7840030
P09**	ES	Colatina	Córrego São Pedro Frio	309975	7853420
P10**	ES	Linhares	Lagoa das Palmas	369855	7848788

P01B**	ES	Baixo Guandu	Rio Doce na barragem de Mascarenhas	289743	7841597
P08B**	ES	Colatina	Rio Doce	318993	7840030

* Coletas realizadas apenas no Ano 1

** Coletas realizadas apenas no Ano 2

Figura 1: Área de Estudo e localização dos pontos amostrados pelo Anexo 7 Ictiofauna Dulcícola e Macroinvertebrados. Consultar Tabela 1 para identificação dos locais de amostragem: Círculos vermelhos representa pontos de coleta na calha do Rio Doce, amarelos representam os córregos e azuis as lagoas. A identificação e localização dos pontos segue TR 4 para o PMBA/Fest-RRDM, Cláusula 165.

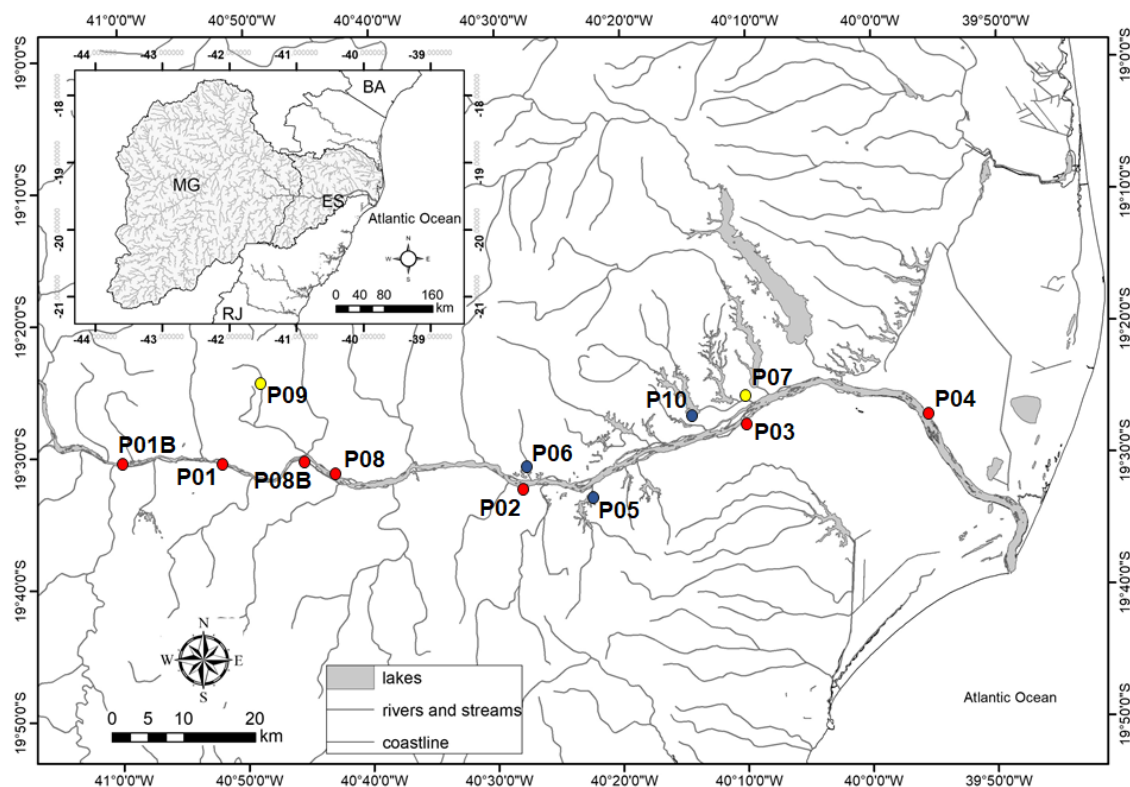


Figura 2: Fotos dos pontos de amostragens da ictiofauna dulcícola e macroinvertebrados. Ver Tabela 1 para identificação dos pontos e localização dos mesmos.

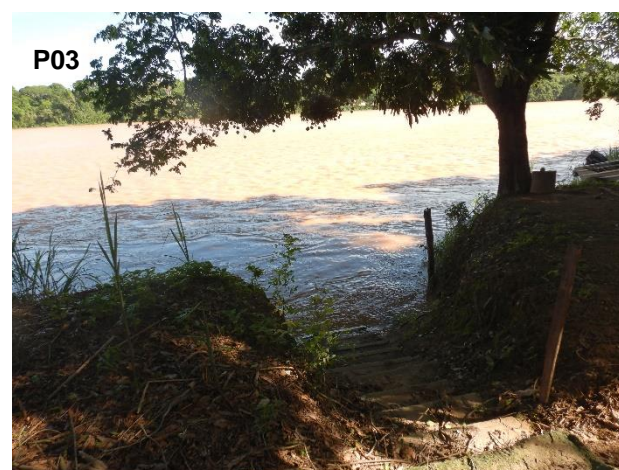
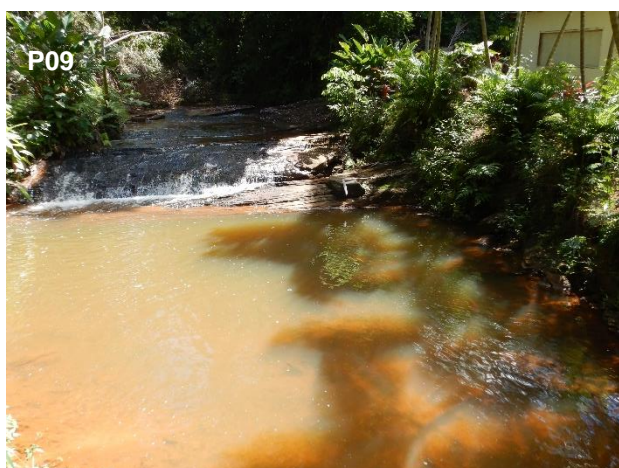
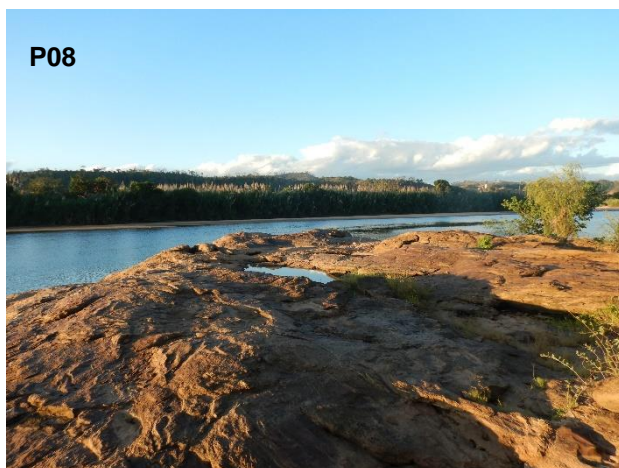


Figura 2: Continuação.



1.2 COLETA DE ICTIOFAUNA

A coleta da ictiofauna foi realizada utilizando-se o esforço amostral de nove redes de espera de diferentes malhas (3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, e 14 mm entre nós opostos) que foram colocadas às 16hs e retiradas às 20h (quatro horas de exposição). Adicionalmente, 10 passadas com rede de arrasto e 46 lances de tarrafa também foram realizados em cada ponto. Em todos os pontos foram aplicadas as mesmas metodologias e com o mesmo esforço amostral, sempre tentando maximizar as amostragens em todos os ambientes de cada ponto de coleta. Apenas no ponto 09, as coletas foram realizadas com pesca elétrica (Smith-Root backpack electrofisher - LR-24 Electrofisher) num trecho de 150 m e com um esforço de 1 hora. Conforme definido em reunião realizada em julho de 2018, com representantes do PMBA/Fest-RRDM, da Renova e do CT-BIO, a exposição das redes foi de aproximadamente 4 horas (16 às 20 horas), para garantir a qualidade e quantidade de peixes amostrados para análises genéticas e de conteúdo estomacal. Nos lagos e lagoas, a predação por piranhas aumenta com o tempo de exposição das redes. Cabe ressaltar que o menor tempo de exposição das redes garantiu a qualidade dos resultados genéticos, de dieta e de determinação do estágio de maturação gonadal, evitando também a mortandade de espécimes. Comparando a riqueza e abundância da ictiofauna das coletas da PMBA/Fest-RRDM e as coletas realizadas pela Econservation (com 12 h de exposição), observa-se que a RRDM teve uma maior riqueza e abundância de espécies. Por exemplo, o ponto 20-A20 da Econservation localizado na calha do Rio Doce em Linhares identificou uma riqueza de seis espécies de peixes e abundância total de oito indivíduos coletados em novembro de 2017, enquanto o ponto P04 da RRDM, também localizado na calha do Rio Doce em Linhares e no mesmo período de amostragem (novembro/2019), identificou oito espécies e 12 indivíduos. Comparando as riquezas e abundâncias para a lagoa do Limão essa tendência de maior captura pela RRDM se manteve, foram registradas quatro espécies e cinco indivíduos nas amostragens da Econservation (ponto 18-N18, novembro de 2017) e sete espécies e 23 indivíduos nas amostragens da RRDM (P05, novembro de 2019).

Após a coleta, ainda no campo, todos os peixes foram anestesiados com eugenol e fixados em solução de formalina 10% ou álcool etílico 100%. No laboratório os espécimes foram triados, identificados e submetidos a análises biométricas. O estômago e as gônadas dos espécimes foram retirados e armazenados em álcool etílico 70% para análises estomacais e de desenvolvimento gonadal. Todos os espécimes tiveram tecido muscular amostrado para estudos de cunho molecular e foram transferidos, em solução de álcool etílico 70%, para depósito na coleção ictiológica do Museu de Zoologia João Moojen, na Universidade Federal de Viçosa - UFV (Material Suplementar – A7DS1).

A caracterização da ictiofauna, apresentada neste relatório, compreende uma atualização do conteúdo apresentado no relatório Anual do Ano 1, e complementação com espécies que foram coletadas apenas no Ano 2 de monitoramento, assim como análises com tendências de ocorrência ou declínio consideradas como relevantes e uma relação provisória de espécies consideradas “tolerantes” e “intolerantes” às condições preponderantes na Área Ambiental I.

Junto com a coleta de ictiofauna foram obtidos parâmetros abióticos como temperatura, pH (pH e mVORP), turbidez, salinidade, oxigênio dissolvido (OD% e ppmDO) e condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$ e $\mu\text{S}/\text{cm}^2$), utilizando uma sonda multiparâmetro (Hanna - HI9829).

1.3 COLETA DE MACROINVERTEBRADOS

As coletas de macroinvertebrados estavam programadas para serem realizadas trimestralmente sendo iniciadas em dezembro de 2019. No entanto, em virtude da suspensão das atividades de campo devido à pandemia da Covid, apenas uma coleta foi realizada na campanha de dezembro de 2019. As amostragens de macroinvertebrados foram realizadas nos mesmos pontos da coleta de ictiofauna do Ano 2. Em cada ponto amostral foram coletadas no mínimo três amostras de sedimento sempre tentando abranger o maior número de habitats possíveis. Para a coleta foi utilizado um amostrador do tipo draga de Petersen (0,0682 m²) e Eckman (0,0225 m² de área). As amostras coletadas foram colocadas em sacos plásticos e foram fixadas em campo com solução de formalina a 4% e conduzidas ao laboratório. No laboratório, as amostras foram lavadas sobre peneiras de 0,250 a 0,500mm de malha, e triadas com auxílio de microscópio estereoscópico. Os macroinvertebrados bentônicos foram identificados ao menor nível taxonômico quando possível utilizando-se de manuais de identificação (MERRITT; CUMMINS, 1996; COSTA et al., 2006; MUGNAI et al., 2010; HAMADA et al., 2014). Com os dados da composição das comunidades foram calculados a riqueza, densidade, composição em grupos tróficos funcionais (GTF) e abundância relativa dos grupos mais representativos. Os exemplares foram identificados e etiquetados segundo as recomendações de França e Callisto (2007) e serão depositados em Coleção de Macroinvertebrados Bentônicos do Laboratório de Sistemática Molecular Beagle/UFV.

Junto com a coleta de macroinvertebrados, foi realizada uma classificação da integridade ambiental por meio de uma caracterização rápida de habitats dos ambientes lóticos. Para isso, foi aplicado o protocolo de caracterização habitats físicos de bacias hidrográficas proposto por Callisto et al. (2002). Este protocolo avalia um conjunto de parâmetros (22 parâmetros) em categorias descritas tais como: tipo de fundo, cobertura vegetal no leito dos rios e outros, em que são atribuídos valores (pontos) para diferentes condições destes parâmetros. O valor final do protocolo (que varia de 0 à 100 pontos) é obtido a partir do somatório dos valores atribuídos a cada parâmetro independentes e as pontuações finais refletem o nível de preservação das condições ecológicas dos pontos amostrados, onde de 0 a 40 pontos representam trechos impactados; 41 a 60 pontos representam trechos alterados; acima de 61 pontos, trechos minimamente alterados à natural (Quadro 1).

Além da caracterização dos habitats, variáveis físico-químicas de qualidade de água (pH, temperatura °C, condutividade elétrica $\mu\text{S}/\text{cm}$, oxigênio dissolvido e turbidez NTU) foram mensuradas na coluna d'água dos pontos amostrais de macroinvertebrados com auxílio de sonda multiparâmetro (Hanna - HI9829). Os valores obtidos foram comparados aos limites estabelecidos pela Resolução CONAMA

357/2005 para água de classe 2 que são águas que podem ser destinadas para: a) ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional; b) à proteção das comunidades aquáticas; c) recreação de contato primário; d) irrigação de hortaliças e outros com os quais o público possa ter contato direto; e e) à aquicultura e à atividade de pesca. Na ausência de valores de referência para os parâmetros de condutividade elétrica e temperatura na Resolução CONAMA 357/2005, foram considerados os valores de referência da CETESB/2016.

Para avaliar a qualidade das águas dos pontos de amostragem foi utilizado o índice multimétrico bentônico de Ferreira et al. (2011). Este índice avalia a qualidade dos ambientes de acordo com as pontuações atribuídas à métricas bióticas com base nas proporções de organismos sensíveis e tolerantes aos impactos. O índice é composto de seis métricas bióticas: Riqueza de famílias, % Oligochaeta, % Chironomidae + Oligochaeta (%CHOL), % Ephemeroptera, Plecoptera e Trichoptera (%EPT), % coletores-catadores e BMWP-CETEC - *Biological Monitoring Working Party*. Foram atribuídos escores (5, 3 e 1) a cada métrica para o estabelecimento dos limites das classes de qualidade de água (Quadro 1). Os limites foram calculados pela agregação dos escores de cada métrica e determinados pelos valores mínimos e máximos no intervalo de 6 a 30. O valor da agregação das métricas foi dividido para o estabelecimento das classes de qualidade de água: 6-12 condição de qualidade de água ruim; 13-18 qualidade regular; 19-24 qualidade boa e 25-30 qualidade muito boa.

Quadro 1: Intervalo dos escores das métricas do Índice Biótico Bentônico.

Métricas	Escores		
	5	3	1
Riqueza	≥ 9	8-6	$5 \leq$
% Oligochaeta	≤ 5	6-46	$\geq 47 \leq 97$
% CHOL	≤ 73	74-86	$\geq 87 \leq 100$
% EPT	≥ 6	5-3	≤ 2
%Coletores – catadores	≤ 64	65-83	$\geq 84 \leq 99$
BMWP-CETEC	≥ 36	35-18	≤ 17

1.4 ANÁLISE DE DADOS

1.4.1 Composição de estrutura da comunidade de ictiofauna.

Estimativas de riqueza total foram modeladas por meio de curva do coletor considerando os seguintes estimadores: Jackknife 1 e 2, Chao 1 e 2, ACE e ICE, e Bootstrap (COLWELL; CODDINGTON, 1994).

Já, para a descrição da comunidade foram apresentados os seguintes índices: abundância relativa das espécies, em número e peso (MAGURRAN, 1988); Índice de Diversidade de Shannon-Wiener, com intervalos de confiança obtidos por meio da aplicação de procedimento bootstrap (MANLY, 1997); equitabilidade (SMITH; WILSON, 1996); constância de ocorrência (C) das espécies, determinada com base no percentual e períodos em que cada espécie ocorre; coeficientes de similaridade/dissimilaridade, como os de Bray-Curtis, Sorensen, Morisita-Horn e Jaccard, para comparação entre localidades e ciclos de monitoramento (MAGURRAN, 1988); Índice de Dominância (MCNAUGHTON, 1968).

Para avaliar a influência das características ambientais sobre a distribuição das espécies foi realizada uma análise de correspondência canônica (CCA).

1.4.2 Estrutura e dinâmica das populações de ictiofauna

A análise dos resultados obtidos pelo PMBA/Fest-RRDM incluiu aspectos históricos desta região, considerando as informações de ocorrência das espécies, em estudos anteriores e posteriores ao rompimento da barragem de Fundão em 2015. Para tal, foram utilizados cinco bancos de dados: 1) Dados publicados sobre a UHE Mascarenhas (CTA, 2009); 2) Listagem das espécies do Baixo Rio Doce (VIEIRA, 2010); 3) Relatório Econservation- Renova; 4) Dados obtidos pelo Convênio UFV-Renova (2019) no Rio Doce e finalmente, 5) SpeciesLink (CRIA, 2020; <http://splink.cria.org.br/>).

A classificação taxonômica, a distribuição geográfica e informações de habitat seguiram Fricke et al. (2020). Além das espécies de água doce obrigatórias (*sensu* MYERS, 1938) foram incluídos dados de espécies estuarinas e marinhas, e espécies que ocorrem em lagoas e lagos.

1.4.3 Ecologia Trófica

Todas as espécies coletadas, exceto o espécime diminuto de *Microcambeva jucuensis*, tiveram seus conteúdos estomacais analisados, visando ter uma abordagem mais ampla possível sobre a estrutura trófica nos locais amostrados.

Os itens alimentares foram analisados até o menor nível taxonômico possível, utilizando diversas chaves de identificação (MERRITT; CUMMINS, 1996; COSTA et al., 2006; MUGNAI et al., 2010). A quantificação dos itens alimentares foi feita seguindo o método volumétrico (HELLAWELL; ABEL, 1971; HYSLOP, 1980) e após a quantificação, calculou-se a porcentagem de contribuição alimentar de cada item.

O Índice de Importância Alimentar (IAI - conforme consta no TR4) não foi utilizado como método de análise estomacal. A literatura aponta que o método volumétrico vem sendo bem empregado e que a conclusão geral utilizando volume (%V) é muito similar ao resultado obtido com o IAI (HAHN; DELARIVA, 2003; SILVEIRA et al., 2020). Além disso, o IAI era mais utilizado para situações em que

não havia o emprego de análises estatísticas, pois quando dessas análises o dado passa por outras transformações mais adequadas.

Para identificar se as espécies nativas e introduzidas que consumiram os mesmos itens alimentares em cada ambiente amostrado (calha do rio, lagoa e córrego) e em cada grupo trófico (apenas para espécies que ocorrem na calha do rio), foi realizado uma análise de Escalonamento Multidimensional Não Métrico (NMDS), utilizando o índice de Bray-Curtis como medida de similaridade entre a dieta das espécies.

1.4.4 Biologia Reprodutiva

A avaliação da biologia reprodutiva foi realizada nas espécies mais abundantes. As espécies de interesse comercial Sardinha *Lycengraulis grossidens* e o Cascudo-abacaxi *Pterygoplichthys pardalis* apresentaram um N amostral insuficiente para avaliação histológica e de tamanho de primeira maturação.

Indivíduos das espécies selecionadas tiveram suas gônadas retiradas, pesadas (g) e identificadas quanto ao sexo e o estágio de desenvolvimento gonadal (VAZZOLLER, 1996). A relação peso-comprimento das gônadas foi determinada pela equação $W = a L^b$, onde W é o peso total (g), L o comprimento total (mm), a corresponde ao intercepto (coeficiente de crescimento inicial ou fator de condição) e b representa o coeficiente alométrico (coeficiente de crescimento ou taxa de crescimento relativa do peixe) (LE CREN, 1951; JOBLING, 2002). A proporção sexual entre macho e fêmea (M:F), foi calculada de acordo com o número total de machos dividido pelo número total de fêmeas (VAZZOLLER, 1996).

No Ano 1, a avaliação dos estágios de desenvolvimento gonadal foi realizada com base nas classificações macroscópica e microscópica, seguindo a metodologia proposta por Vazzoler (1996), conforme consta no TR4. Após avaliação macroscópica, fragmentos das gônadas foram desidratados em série crescente de etanol (70, 80, 90 e 100%) e embebidos em metacrilato (Historesin, Leica Microsystems, Nussloch, Germany). Secções semi-seriadas de 3 μ m foram obtidas em micrótomo rotativo (Leica RM2255), para se obter o intervalo de no mínimo 40 μ m entre os cortes e as lâminas obtidas foram coradas com azul de toluidina com borato de sódio 1%. As lâminas foram fotografadas em fotomicroscópio óptico Olympus BX53, acoplado a câmera Olympus DP73 utilizando o software CellSens Imaging.

Também foram determinadas a relação gonadossomática (RGS), o Índice Gonadal (IG) e a variação temporal da RGS. A relação gonadossomática é uma relação entre o peso da gônada e o peso do indivíduo e pode ser expressa por: $RGS1 = W_o/W_t \times 100$. Onde W_o = peso das gonadas; W_t = peso total. Já o índice gonadal, ao fazer essa relação de peso da gônada e peso do indivíduo, utiliza o coeficiente linear da relação peso comprimento (VAZZOLLER, 1996). O "índice" gonadal, também denominado fator de condição gonadal, é expresso por: $IG = W_o/L_{tb}$, onde W_o = peso das gonadas; L_t

= comprimento total. b = coeficiente angular da regressão Wt/Lt (VAZZOLLER et al., 1989). Os cálculos do fator de condição sob a influência do peso das gônadas (K) e sem o peso das gônadas (K') e fator de condição gonadal (ΔK) foram efetuados conforme Vazzoller (1981, 1996): $K = Wt / Lsb$; $K' = Wc/Lsb$; onde, $Wc = Wt - Wg$; Wt , peso total (g); Wc , peso total menos o peso da gônada; Ls , comprimento total (mm); Wg , peso da gônada; Wt , peso total do peixe; b , coeficiente de alometria obtido através da relação peso-comprimento; $\Delta K = K - K'$. O período reprodutivo foi estabelecido por meio da análise mensal do fator de condição, comparando os com a curva de maturação, com base na variação mensal do índice gonadosomático médio. O aumento dos valores do IG é relacionado com a variação do fator de condição para determinar o período reprodutivo, período esse em que ocorre maior investimento nas gônadas.

1.4.5 Avaliação Genética

As amostras dos tecidos de peixes coletados no Ano 1 e Ano 2, além de amostras disponíveis na coleção zoológica da Universidade Federal de Viçosa, foram enviadas ao Laboratório de Evolução e Genética Animal - LEGAL da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), onde foram organizadas para as abordagens dos estudos genéticos.

Genética de populações

Visando a realização do monitoramento genético-populacional, foram selecionadas previamente 18 espécies de famílias diferentes, potencialmente mais abundantes, migradoras e não migradoras. Para cada uma das espécies selecionadas, 30 ou mais amostras foram coletadas em oito pontos amostrais no baixo rio Doce, no Ano 1 e Ano 2. Entretanto, somente sete dessas espécies tiveram número amostral suficiente por ponto para a realização de análises genético-populacionais, para as quais foram desenvolvidos e genotipados marcadores moleculares microssatélites específicos, além de terem sido sequenciados os genes mitocondriais Citocromo *c* oxidase subunidade I (COI) e Citocromo *b* (Cytb), bem como os genes nucleares Myh6 e Glyt.

Foram desenvolvidos 20 loci de microssatélites para *Astyanax lacustris*, *Deuterodon intermedius*, *Geophagus brasiliensis*, *Pachyurus adspersus*, *Hoplias malabaricus*, *Knodus moenkhausii* e *Poecilia vivipara*, dos quais os 10 mais polimórficos foram selecionados. Esses *primers* foram desenhados a partir de dados obtidos através de Sequenciamento de Nova Geração, onde um indivíduo de cada espécie alvo foi incluído para a construção de uma biblioteca genômica seguindo o protocolo disponível no sítio eletrônico <https://github.com/legalLab>. Para *Poecilia vivipara*, os microssatélites foram filtrados a partir do genoma de *Poecilia reticulata*, que está depositado no GenBank (banco de dados genéticos público). A filtragem e o desenho de *primers* heterólogos a partir do genoma de referência foram feitos utilizando o pipeline do programa MISA (BEIER et al., 2017). Os fragmentos com tamanho entre 100 e 280 pb e que continham microssatélites, foram anotados incluindo as regiões flangeadoras dos microssatélites candidatos.

Dentre as características desejadas, os loci microsatélites deveriam ser simples (não compostos), do tipo dinucleotídeos (com motivo de repetição de dois nucleotídeos) e perfeitos (sem interrupções). Foram selecionados aleatoriamente 1000 *loci* de microsatélites perfeitos espalhados pelo genoma de cada uma das espécies, de modo que deveriam conter, no mínimo, 10 repetições, uma vez que os loci com maior número de repetições, em geral, são mais polimórficos, ou seja, mais informativos. No caso de *Poecilia vivipara*, cujo genoma de referência estava disponível, foram selecionados os 1000 *loci* de microsatélites que melhor representavam todos os *linkage groups* do genoma, a fim de garantir uma melhor representatividade deste. Com o intuito de selecionar os *primers* mais promissores dentre esse conjunto de 1000 *loci*, os resultados dos desenhos iniciais foram utilizados para uma nova filtragem, de acordo com as seguintes especificações: número mínimo de repetições 15, número máximo de repetições 25 e tamanho total do amplicon entre 195 e 235 bp; *primers* sem repetições e sem homopolímeros, com temperatura de anelamento entre 59°C e 61°C e tamanho máximo de 21 bp.

Para *Poecilia vivipara* foram identificados, após essa filtragem, 51 pares de *primers*, dos quais 30 pares foram comprados. Para as demais espécies foram manufaturados 20 *primers*, os quais foram testados quanto sua efetividade de amplificação. Dentre estes, os 10 *primers* mais polimórficos e efetivos foram utilizados na amplificação de cada espécie separadamente. Em seguida, os produtos das amplificações de cada microsatélite foram misturados formando um pool para cada indivíduo. Esses pools foram purificados usando o método de purificação com PEG, a fim de eliminar os fragmentos pequenos e restos de reagentes que pudessem consumir os adaptadores na etapa seguinte. Posteriormente, foi feita a ligação dos adaptadores contendo as sequências identificadoras de cada indivíduo. Em cada uma das extremidades dos fragmentos foram ligados dois tipos de adaptadores, o adaptador A (N = 20) e o adaptador P (N = 20), respectivamente, de modo que o número de combinações de sequências identificadoras fosse correspondente ao número de combinações possíveis entre os diferentes adaptadores (N = 400). Assim, cada indivíduo recebeu uma combinação única de sequências identificadoras.

Após a ligação dos adaptadores, os *pools* de microsatélites por indivíduo foram purificados novamente e misturados de forma equimolar para a formação das bibliotecas genômicas de cada espécie. As bibliotecas então foram cortadas no Pippin Prep (Sage Science), a fim de selecionar somente os fragmentos com tamanho ideal para processamento no sequenciador de Nova Geração (Next Generation Sequencing - NGS) ION TORRENT PGM. Por fim, um novo pool contendo todas as espécies foi formado para compor a biblioteca genômica final, sendo este aplicado em dois chips ION PGM 318 (Life Technologies™), cada um com capacidade de gerar aproximadamente 10 milhões de leituras únicas (reads). Portanto, os microsatélites de todas as espécies selecionadas para genética de populações foram obtidos a partir de um único processamento de genotipagem por sequenciamento (Genotype-by-Sequencing - GBS).

Foi desenvolvido um *pipeline* que aplica métodos de bioinformática de processamento de dados genéticos para automatizar a “extração” dos microssatélites obtidos através do NGS. Especificamente, o *pipeline* separa todas as leituras de cada espécie por meio dos *primers* específicos que foram desenhados para cada uma delas, permitindo no máximo três erros de leituras para cada sequência. Em seguida, as leituras de cada indivíduo (*reads*) são demultiplexadas por meio da identificação da sequência identificadora da espécie, permitindo, no máximo, dois erros de leitura para cada sequência. As sequências barcode foram previamente inseridas nos adaptadores de cada espécie para permitir tal demultiplexação a *posteriori*, via processamento de bioinformática.

Em seguida à individualização das *reads* de cada indivíduo de cada espécie, foram filtrados somente os *loci* que continham pelo menos 10 *reads*. Esse número mínimo de réplicas permite escolher com confiabilidade os alelos presentes na amostra, uma vez que algumas *reads* podem conter erros de sequenciamento que causam variações no tamanho das sequências, não sendo essas de alelos diferentes, mas sim artefatos do sequenciamento. Por esse motivo, quanto maior o número de *reads* de cada *locus*, maior a confiabilidade na estimativa dos alelos. Por fim, o *pipeline* calcula o tamanho dos elementos repetitivos para cada alelo de cada *locus* e produz um histograma de densidade que permite a identificação dos tamanhos de fragmentos mais frequentes que são os alelos.

Semelhante ao método de genotipagem tradicional, os indivíduos que apresentam apenas um pico de tamanho de fragmentos são considerados homozigotos e aqueles com dois picos são considerados heterozigotos, sendo os alelos determinados pelo tamanho médio dos fragmentos sequenciados. A checagem dos alelos foi feita por meio de inspeção visual nos gráficos de densidade que mostram a frequência de cada tamanho de fragmento gerado no sequenciamento. É importante destacar ainda que, para *Poecilia vivipara*, foram utilizados os tamanhos dos fragmentos amplificados, porém para as demais espécies foi acrescida uma etapa prévia, de remoção da região flangeadora dos microssatélites, de modo que os alelos passaram a ser determinados pelo tamanho do próprio microssatélite. Esse procedimento foi realizado com o intuito de aumentar a precisão na inferência dos alelos, uma vez que as mutações ou erros de sequenciamento nas regiões flangeadoras poderiam estar aumentando as incertezas na determinação dos alelos. Por fim, o *pipeline* converte os dados para os formatos de entrada nos programas das análises genético-populacionais.

A estrutura genética populacional de cada espécie e entre as populações locais foram medidas por meio da Análise de Variância Molecular (AMOVA) efetuada no programa Arlequin v.3.5 (Excoffier e Lischer, 2010). A AMOVA mediu os níveis hierárquicos da distribuição da variabilidade genética e permitiu estimar os índices de endogamia totais F_{IS} , F_{ST} e F_{IT} . Também foi estimado, para cada espécie, o F_{ST} par a par entre todas as localidades, a fim de verificar o nível de estrutura genética entre populações locais nos diferentes pontos de coleta. Os níveis de endogamia também foram mensurados para cada localidade com o intuito de verificar as populações locais possivelmente mais ameaçadas.

Os testes de desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) para cada *locus* foram realizados usando uma abordagem bayesiana de cadeias de Markov para todos os *loci* de cada espécie no programa Arlequin. Cada cadeia continha 1 milhão de passos, com os resultados parciais sendo gravados a cada

100 mil passos. Os testes de desequilíbrio de ligação (*linkage disequilibrium* - LD) foram feitos com 1023 permutações e os valores de significância foram determinados pelo teste exato de *p* e teste de Chi-quadrado, considerando os respectivos graus de liberdade na comparação entre os diferentes *loci*.

Os principais índices de diversidade genética: número de alelos, amplitude no tamanho dos alelos e heterozigosidade esperada (*He*) foram estimados para cada *locus* de microsatélite, considerando todas as populações, a fim de medir o grau de polimorfismo dos *loci*. Além disso, os índices de diversidade: número médio de alelos, amplitude média do tamanho dos alelos e diversidade gênica, foram estimados para cada população local (ponto amostral), a fim de identificar quais pontos detêm maior diversidade genética e quais estão mais vulneráveis do ponto de vista da conservação.

DNA Barcoding e diversidade filogenética

Para os estudos moleculares com DNA *Barcoding* foram sequenciadas amostras de até cinco indivíduos de cada uma das espécies de peixe. Os DNAs genômicos das amostras e os genes de interesse foram amplificados, sequenciados, alinhados e editados como preparação para as análises genéticas subsequentes. Essa amostragem também foi utilizada para a realização de uma análise complementar, a estimativa do índice de diversidade filogenética. O intuito dessa análise é medir a variação temporal desse índice na comunidade de peixes do baixo Rio Doce e usá-lo como proxy para o monitoramento dos efeitos genéticos sofridos pela ictiofauna da região ao longo do tempo.

A região barcode do gene mitocondrial COI foi amplificada usando a combinação dos iniciadores COIFishF.2 (5'-TTRTGGRGCTACAAICCC-3') e COIFishR.1 (5'-TACTTCIGGGTGICCRAAGAAAYCA-3') (COLATRELI et al., 2012).

Antes de realizar as análises de *barcoding* foi checada a correta identificação taxonômica das amostras através da Basic Local Alignment Search Tool (Blast) e da reanálise de características morfológicas externas dos espécimes.

Para determinar as relações filogenéticas entre as espécies e populações de peixes coletados foi utilizada a metodologia do DNA *Barcoding* (HEBERT et al., 2004) que usa o gene COI + árvore de *neighbor-joining* + modelo evolutivo Kimura - 2 - parâmetros. Entre os métodos que usam distâncias genéticas, o *neighbor-joining* é um dos mais usados, principalmente por causa da sua eficiência computacional, especialmente quando a quantidade de sequências analisadas é muito grande. Este método funciona em passos, minimizando a soma dos comprimentos dos ramos a cada passo do processo de agregação ("clusterização") das sequências (KUMAR et al., 2008).

Para as análises de delimitação baseadas nos princípios da coalescência, o banco de dados de sequências foi reduzido a haplótipos únicos usando a função hapCollapse (<http://github.com/legalLab/protocols-scripts>). Em seguida, foram geradas árvores filogenéticas ultramétricas no programa BEAST 2.5.1 (BOUCKAERT et al., 2014) sob o modelo de substituição de nucleotídeos TIM3 + G inferido como o melhor modelo de evolução molecular no programa JmodelTest 2.1.10 (POSADA, 2008). O relógio molecular utilizado foi o log normal relaxado não correlacionado e o

modelo evolutivo coalescente de tamanho populacional constante (seguindo MONAGHAN et al., 2009). Foram executadas três corridas independentes de 20.000.000 de gerações de MCMC com árvores e parâmetros amostrados a cada 2.000 gerações e, após verificar a convergência, as corridas foram combinadas no LogCombiner 2.5.1 (RAMBAUT; DRUMMOND, 2018). A convergência dos parâmetros e o tamanho efetivo da amostra (ESS > 200) foram verificados no Tracer 1.7 (RAMBAUT et al., 2018). Uma árvore de máxima credibilidade do clado foi obtida após o burn-in de 1.000 árvores usando TreeAnnotator (BOUCKAERT et al., 2014). Todas as análises foram feitas no R v3.6.1. (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011).

Foram utilizados quatro métodos de delimitação de espécies de um único locus utilizando as sequências geradas neste projeto e as sequências do alto rio Doce provenientes do trabalho de SALES et al. (2018). Os métodos de delimitação utilizados foram: (1) GMYC, o modelo coalescente geral de Yule (FUJISAWA; BARRACLOUGH, 2013); (2) bGMYC, uma implementação bayesiana do GMYC (REID; CARSTENS, 2012) e (3) mínimo local (locMin), uma otimização de limite de distância e abordagem de agrupamento do pacote de software spider_1.3-0 (BROWN et al., 2012). Todas as análises foram realizadas no R v3.6.1. (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011). As metodologias seguiram os padrões preestabelecidos em Machado et al. (2018).

Para as análises de filogenia de comunidades de peixes do Rio Doce foi selecionado uma sequência de cada espécie previamente identificada. Os cálculos foram realizados entre assembleias (por ano). Foi realizada uma reconstrução filogenética por meio da análise de Máxima Verossimilhança no programa RAxML v.8.0 (STAMATAKIS, 2014) utilizando o modelo de substituição GTR + I + G, selecionado via critério de informação de Akaike implementado no programa JmodelTest 2.1.10 (POSADA, 2008). A árvore filogenética obtida no RAxML preservou os comprimentos dos ramos e foi utilizada para o cálculo da diversidade filogenética. A diversidade filogenética (*Phylogenetic diversity*-PD) foi calculada de acordo com o modelo proposto por FAITH (1992), a qual é definida como o comprimento total do ramo medido pela árvore, incluindo todas as espécies da assembleia. A função PD também retorna a riqueza de espécies (*species richness*-SR).

1.4.6 Composição de estrutura da comunidade de macroinvertebrados

No intuito de se analisar as diferenças nas composições das assembleias de macroinvertebrados amostradas nos diferentes ecossistemas aquáticos, foram calculados os índices de diversidade de Shannon-Wiener (H'), Equitabilidade de Pielou (J') e Dominância de Simpson (D_s). O índice de Shannon usado para quantificar a diversidade considera em sua base de cálculo a riqueza e a dominância das espécies dando igual peso às espécies raras e as mais abundantes:

$$H' = \frac{[N \ln(N) - \sum_{i=1}^S n_i \ln(n_i)]}{N}$$

Em que:

H' = Índice de Shannon-Wiener; n_i = número de indivíduos da i -ésima espécie; N = número total de indivíduos amostrados; S = número total de espécies amostradas (riqueza); \ln = logaritmo de base neperiana.

A equitabilidade (ou equidade) de Pielou (J') se refere a distribuição das espécies e a proporção das espécies em uma amostra:

$$J' = \frac{H'}{H_{max}}$$

Em que:

J' = Equitabilidade de Pielou; H' = Índice de diversidade de Shannon-Wiener; $H_{max} = \ln(S)$; S = número total de espécies amostradas (riqueza).

A dominância de Simpson (D_s) se refere a probabilidade de dois indivíduos, selecionados ao acaso na amostra, pertencerem à mesma espécie e quanto maior o valor de (D_s), menor a diversidade da comunidade:

$$D_s = 1 - \frac{\sum_{i=1}^S n_i(n_i - 1)}{N(N - 1)}$$

Em que:

D_s = Índice de dominância de Simpson; n_i = número de indivíduos amostrados da i -ésima espécie; S = número total de espécies coletadas; N = número total de indivíduos amostrados.

Análises de espécies indicadoras foi realizada com o intuito de verificar quais *taxa* são mais importantes na diferenciação das composições das assembleias de macroinvertebrados das estações de amostragens. Esta análise confere a cada *taxon* valores de indicação (IndVal), que variam de 0 a 100, segundo a abundância e a frequência relativa de cada um nos grupos definidos previamente, que nesse caso serão estações amostrais e condições ecológicas para os trechos de rios. Se, para um dado *taxon*, os valores de indicação entre os grupos forem significativamente diferentes ($p < 0,05$ em um teste de Monte Carlo com 10.000 iterações), então este *taxon* pode ser considerado como indicador de um dos grupos. As análises foram realizadas utilizando software livre R.

Curva de acumulação de espécie ou curva do coletor foi aplicada utilizando sete estimadores de riqueza de espécies (Chao 1 e 2, Jackknife 1 e 2, Bootstrap, ACE e ICE) com o intuito de avaliar como a riqueza de macroinvertebrados bentônicos varia de acordo com o esforço amostral. O número de *taxa* aumenta com o aumento no número de amostras e quando a curva atinge a estabilização, ou seja, quando não se observa aumento da riqueza com o aumento do esforço amostral indicando que todas as espécies foram amostradas. Os estimadores permitem estimar o número esperado de espécie em relação ao observado em um conjunto de amostras. Além disso permite estimar um número mínimo necessário de amostras para a caracterização de uma comunidade em um determinado ecossistema. O estimador Bootstrap é o método de estimativa da riqueza que utiliza dados de todas as espécies coletadas para estimar a riqueza total. O estimador Chao 1 determina o número absoluto em uma comunidade e é

baseado no número de espécies raras dentro de uma amostra e requer a abundância das espécies; o estimador Chao 2 consiste numa modificação do Chao 1 para uso com dados de presença/ausência levando em conta a distribuição das espécies entre as amostras; o estimador Jackknife se baseia na ocorrência de espécies e o número de amostras para estimar a riqueza total. O estimador ACE (*Abundance-based Coverage Estimator*) tem com foco na abundância das espécies raras no qual permite determinar os limites para os quais uma espécie seja considerada rara. Como consenso em geral são consideradas espécies raras aquelas com abundância entre 1 e 10 indivíduos. A riqueza pode variar conforme aumente ou diminua o limiar de abundância. O estimador ICE (*Incidence-based Coverage Estimator*) diferente do ACE tem foco nas espécies infrequentes e assim permite determinar os limites para os quais uma espécie seja considerada infrequente. Como consenso também são consideradas espécies infrequentes aquelas com incidência entre 1 e 10 indivíduos, embora exista pesquisadores que considerem espécies infrequentes entre 1 a 20 indivíduos (SANTOS, 2003; CHAO; CHIU, 2016; PROVETE et al., 2011).

Foi realizada uma ordenação do tipo NMDS (“non-metric multidimensional scaling”), utilizando o índice de distância de Bray-Curtis. Essa análise apresenta em um plano bidimensional todas as estações amostradas, nas diferentes campanhas amostrais, posicionando-as segundo a similaridade entre elas. Em seguida foi realizada uma análise de similaridade (ANOSIM), também utilizando a distância de Bray-Curtis, no sentido de verificar estatisticamente se os grupos observados visualmente pela NMDS foram de fato heterogêneos entre si com relação à composição taxonômica. Nesta análise a dissimilaridade média existente entre as amostras de dentro dos grupos é subtraída da dissimilaridade média existente entre as amostras dos diferentes grupos (Valor R). Os valores R variam entre -1 (similaridade total entre os grupos) e 1 (dissimilaridade total entre os grupos). Um valor R igual ou próximo a zero indica uma distribuição aleatória dos táxons entre os grupos, ou seja, que os grupos não possuem identidade com relação à composição taxonômica. Um processo de aleatorização de todas as amostras (teste de Monte Carlo, 10.000 iterações) foi realizado para avaliar a validade dos valores de R observados. Um valor $p > 0,05$ (mais que 5% das iterações aleatórias gerando valores iguais ou maiores que o R observado) indica que o valor de R observado poderia ter sido obtido ao acaso.

Uma análise de agrupamento (“Cluster Analysis”), como complementar a análise de NMDS, foi realizada com a totalidade dos taxa encontrados em cada trecho de rio e lagoa do baixo Rio Doce na campanha amostral de dezembro de 2019. Foi utilizado o índice de distância de Jaccard (presença/ausência) e a UPGMA (“*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean*”) como método de amalgamação e um índice de dissimilaridade utilizando o método de distância Euclidiana (abundância). Esta análise tem como objetivo a separação dos dados de presença/ausência e abundância de organismos em grupos homogêneos entre si e a partir desta separação a definição do número de grupos distintos. Os índices de similaridade medem a distância entre dois grupos ou amostras e quantificam o quanto são parecidos. As análises foram realizadas em software livre na plataforma do R-Studio (R C CORE TEAM, 2015).

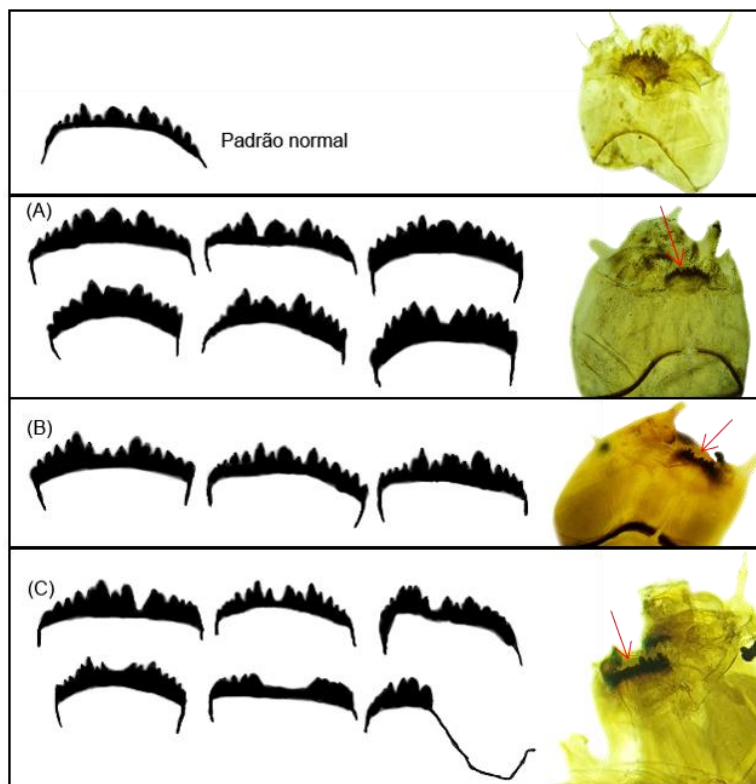
Uma análise de correspondência canônica (CCA) foi aplicada com o objetivo de avaliar a influência de fatores ambientais sobre as assembleias de macroinvertebrados bentônicos. Para os trechos lóticos foram utilizadas como variáveis preditoras os fatores ambientais obtidos pelo protocolo de habitat (CALLISTO et al., 2002) e fatores físico-químicos de qualidade de água (pH, temperatura °C, condutividade elétrica $\mu\text{S}/\text{cm}$, oxigênio dissolvido e turbidez NTU) e para as lagoas foram utilizados os fatores físico-químicos. As análises foram realizadas em software livre na plataforma do R-Studio (R CORE TEAM, 2015).

1.4.7 Avaliação de deformidades no aparelho bucal (mento) de larvas de Chironomidae

Para as larvas de Chironomidae coletadas, identificadas ao nível de gênero, foi determinado os grupos de alimentação funcional (GTFs) segundo a literatura disponível. As larvas classificadas como coletoras-catadoras, que se alimentam principalmente de matéria orgânica, tiveram suas partes bucais dispostas em lâminulas para serem analisados em microscópio e avaliar os padrões destas partes e identificar deformidades no aparelho bucal (mento).

A metodologia foi basicamente a proposta por Callisto et al. (2000) em um estudo na bacia do rio Piracicaba afluente do Rio Doce. Neste estudo Callisto e colaboradores avaliaram 3 classes de deformidades divididos em 15 diferentes variações comparadas ao padrão normal (A - sem dente lateral externo; B – deformidade medial fraca e C – deformidade medial severa ou qualquer combinação de fortes deformidades, Figura 3).

Figura 3: Classificação de deformidades do mentum de larvas de insetos do gênero *Chironomus*. A - Sem dente lateral externo; B – Deformidade medial fraca e C – Deformidade medial severa ou qualquer combinação de fortes deformidades. Figura adaptada de Callisto et al. (2000).



2 REFERÊNCIAS

- AGOSTINHO, A. A.; PELICICE, F. M.; GOMES, L. C. Dams and the fish fauna of the Neotropical region: impacts and management related to diversity and fisheries. **Brazilian journal of biology**, v. 68, n. 4, p. 1119-1132, 2008.
- AGOSTINHO, A. A. et al. Migratory Fish of the Upper Paraná River Basin, Brazil. Pp. 23-98. In: Carolsfeld, J.; Harvey, B.; Ross, C.; Baer, A. (Eds.). *Migratory Fishes of South America: Biology, Fisheries and Conservation Status*, Victoria: World Fisheries Trust, the World Bank and the International Development Research Centre, 372 p, 2003.
- AGOSTINHO, A. A. et al. Ecological and life history traits of *Hemiodus orthonops* in the invasion process: looking for clues at home. **Hydrobiologia**, v. 746, p. 415-430, 2015.
- ALVES, C. B. M. et al. Impacts of non-native fish species in Minas Gerais, Brazil: present situation and prospects, p. 291–314. In **Ecological and Genetic Implications of Implications of Aquaculture Activities**, 2007

- ANDRADE, V. X. L. et al. Reproductive dynamics of the main species of fish in the municipal reservoir of São José do Rio Preto. **Boletim Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 34, n. 3, p. 365 - 373, 2008.
- ATTAYDE, J. L. et al. Impacts of introducing Nile tilapia on the fisheries of a tropical reservoir in North-eastern Brazil. **Fisheries Management and Ecology**, v. 18, n. 6, p. 437-443, 2011
- BARBOSA J. M. Ocorrência de peixes da subfamília Serrasalminae (Osteichthyes, Characidae), no Piauí, Brasil. **Revista Nordestina de Biologia**, v. 3, p. 91-100, 1980.
- BAXTER, C. V. et al. Invading rainbow trout usurp a terrestrial prey subsidy from native charr and reduce their growth and abundance. **Oecologia**, v. 153, n. 2, p. 461-470, 2007.
- BELEI, F. A.; SAMPAIO, W. M. S.; FONSECA, A.; CANUTO, J. Z.. **Peixes do Rio Fruteiras (Bacia do rio Itapemirim): Na área de Influência da PCH Fruteiras - EDP**. 72 p, 2014
- BIODIVERSITAS. Biodiversidade em Minas Gerais. Segunda Edição. 2005 <<http://www.biodiversitas.org.br/atlas/sintese.pdf>> acessado em 10 de novembro de 2020.
- BIRINDELLI, J. L. O. et al. A New Species of *Hypomasticus* from Eastern Brazil Based on Morphological and Molecular Data (Characiformes, Anostomidae). **Copeia**, v. 108, n. 2, p. 416-425, 2020.
- BLACKBURN, T. M. et al. proposed unified framework for biological invasions. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 26, n. 7, p. 333-339, 2011.
- BLANCHET, S. et al. The disruption of dominance hierarchies by a non-native species: an individual-based analysis. **Oecologia**, v. 152, n.3, p. 569-581, 2007.
- BLANCHET, S. et al. The interaction of interspecific competition and environmental variability on the diel activity of Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 65, p. 1545-1553, 2008.
- BLOSSEY, B. Herbivory below ground and biological weed control: life history of a root-boring weevil on purple loosestrife. *Oecologia*, v. 94, p. 380-387, 1993. REJMANEK, M. **Invasive Plants and Invasive Ecosystems**. In: Sandlund, T.O., Schei, P.J., Vilken, A. (eds.) *Invasive Species and Biodiversity Management*. Dordrecht: Kluwer, 1999.
- BOCKMANN, F. A. Família Heptapteridae. In: BUCKUP, P. A.; MENEZES, N. A.; GHAZZI, M.S. **Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil**. Rio de Janeiro, Museu Nacional/Universidade Federal do Rio de Janeiro, p. 195, 2007.
- BOTERO-BOTERO, A.; RAMÍREZ-CASTRO, H. Ecología trófica de la sabaleta *Brycon henni* (Pisces: Characidae) en el río Portugal de Piedras, Alto Cauca, Colombia. **Revista MVZ Córdoba**, v. 16, n. 1, p. 2349-2355, 2011.
- BOWEN, S. H. Determinants of the chemical composition of periphytic detrital aggregate in a tropical lake (Lake Valencia, Venezuela). **Archiv für Hydrobiologie**, v. 87, p. 166-177, 1979b.

BOWEN, S. H. Detritivor in Neotropical fish communities. **Environmental Biology of Fishes**, v. 9, n. 2, p. 137-144, 1983.

BRITSKI, H. A.; SATO, Y.; ROSA, A. B. S. Manual de identificação de peixes da região de Três Marias: com chaves de identificação para os peixes da Bacia do São Francisco. 3rd ed. Brasília: Câmara dos Deputados, Coordenação de Publicações - CODEVASF, **Divisão de Piscicultura e Pesca**, 115 p. 1988.

BRITSKI, H. A.; SILIMON, K. Z. S, LOPES, B. S. Peixes do Pantanal: Manual de identificação. Brasil, DF: **EMBRAPA-CPAP**, 184 p., 1999.

BRYAN, M. B. et al. Patterns of invasion and colonization of the sea lamprey (*Petromyzon marinus*) in North America as revealed by microsatellite genotypes. **Molecular Ecology**, v. 14, n. 12, p. 3757-377, 2005.

BUCKUP, P. A.; MENEZES, N. A.; GHAZZI, M. S. **Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil**. Rio de Janeiro: Museu Nacional, 2007.

BUCKUP, P.A. et al. Guia de identificação das espécies de peixes da bacia do rio das Pedras, Município de Rio Claro, RJ. Rio de Janeiro: **The Nature Conservancy**, 79p. 2014.

BURRES, E. D. et al. Isotopic trophic guild structure of a diverse subtropical South American fish Community. *Ecology of Freshwater Fish*, v. 2013, n. 22, p. 66-72, 2013.

CALLISTO, M.; MARQUES, M. M.; BARBOSA, F. A. R. Deformities in larval Chironomus (Diptera, Chironomidae) from the Piracicaba River, southeast Brazil. **Verh. Internat. Verein. Limnol.** 27, p. 2699-2702. 2000.

CALLISTO, M. FERREIRA, W. R.; MORENO, P.; GOULART, M; PETRUCIO, M. Aplicação de um protocolo de avaliação rápida da diversidade de habitats em atividades de ensino e pesquisa (MG-RJ). **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 14, p. 91-98, 2002.

CARPENTER, K. E. The living marine resources of the Western Central Atlantic. Volume 3: Bony fishes part 2 (Opistognathidae to Molidae), sea turtles and marine mammals. **FAO, Rome**. Achiridae. Pp. 1925 – 1933, 2002.

CASATTI, L. et al. More of the same: high functional redundancy in stream fish assemblages from tropical agroecosystems. **Environmental Management**, v. 55, p. 1300-1314, 2015.

CASTAGNOLLI, N. Piscicultura de água Doce. Jaboticabal: FUNEP. 189 p. Dias, A.C.M.I.; C.C.B. Wyss & V.G. Lopes. 2005. Estudo da dieta natural de peixes no reservatório de Ribeirão das Lajes, Rio de Janeiro, Brasil. **Acta Scientiarum Biological Science**, v. 27, n. 4, p. 355-364.

CENEVIVA-BASTOS, et al. Microscopic Evidence of the Opportunistic Reproductive Strategy and Early Sexual Maturation of the Small-Sized Characin *Knodus moenkhausii* (Characidae, Pisces). **Anatomia, histologia, embryologia**, v. 44, n. 1, p. 72-80, 2015.

CENTRO DE REFERÊNCIA E INFORMAÇÃO AMBIENTAL (CRIA). **Specieslink - simple search**. Disponível em: <http://www.splink.org.br/index>. Acessado em: 04 de outubro de 2020.

CENTRO DE TECNOLOGIA EM AQUICULTURA E MEIO AMBIENTE (CTA). **Peixes de água doce do Rio Doce: na área de influência da UHE Mascarenhas**. Vitória, 2009.

CERVIGÓN, F. et al. Fichas FAO de identificación de especies para los fines de la pesca. Guia de campo de las especies comerciales marinas y de aguas salobres de la costa setentrional de Sur América. **FAO, Roma**. 513 p. Preparado com o financiamento da Comissão de Comunidades Europeas e de NORAD, 1992.

CHAO, A.; CHIU, C. **Nonparametric Estimation and Comparison of Species Richness**. In: eLS. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester. 2016

CONVÊNIO-RENOVA-UFV. **A ictiofauna da bacia do Rio Doce após o rompimento da barragem de rejeito da Samarco, com foco em segurança alimentar**. 2019.

COSTA, C.; IDE, S.; SIMONKA, C. **Insetos imaturos. Metamorfose e Identificação**. Ribeirão Preto: Holos, 2006.

COSTA, W. J. E. M. et al. Historical review and redescription of three poorly known species of the catfish genus *Trichomycterus* from south-eastern Brazil (Siluriformes: Trichomycteridae). **Journal of Natural History**, v. 53, p. 2905-2928, 2019.

COSTA, W. J. E. M. et al. Two new species of miniature psammophilic sarcoglanidine catfishes of the genus *Microcambeva* from the Atlantic Forest of eastern Brazil (Siluriformes: Trichomycteridae). **Journal of Natural History**, v. 53, n. 29-30, p. 1837-1851, 2019.

CTA-Centro Técnico em Aquicultura. **Peixes de água doce do rio Doce: Nas áreas de influência da UHE Mascarenhas**. CTA/EDP: Vitória, 2009

CUCHEROUSSET, J.; OLDEN, J. D. Ecological impacts of nonnative freshwater fishes. **Fisheries**, v. 36, n. 5, p. 215-230, 2011.

DE BRITTO, M. R. et al. **GUIA de Identificação das Espécies de PEIXES da Bacia do Rio das Pedras**, 2014.

DEI TOS et al. Ecology of *Pimelodus maculatus* (Siluriformes) in the Corumbá reservoir, Brazil. **Cybium**, v. 26, n. 4, p. 275-282, 2002.

DELIBERALLI, W. et al. The effects of heavy metals on the incidence of morphological deformities in Chironomidae (Diptera). **Zoologia**, v. 35, e 12947, 2018.

DUDGEON, D. et al. Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. **Biological Reviews**, v. 81, n. 2, p. 163-182, 2006.

DUPLAIN, R.R. et al. A New Species of *Trinectes* (Pleuronectiformes: Achiridae) from the Upper Rio San Juan and Rio Condoto, Colombia. **Copeia**, v. 3, p. 541-546, 2012.

ECONSERVATION. **Programa de monitoramento da ictiofauna do Rio Doce nos Estados de Minas Gerais e Espírito Santo – Atendimento a cláusula 164 do Termo de Transação de Ajustamento de Conduta Alínea A, Ofício SEI Nº 132/2016-DIBIO/ICMBIO**. Relatório Final. Relatório Técnico – RT ECV 260/18. Maio 2019

EIGENMANN, C.H.; KENNEDY, C.H. On a collection of fishes from Paraguay, with a synopsis of the American genera of cichlids. **Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia**, 55: 497 – 537, 1903.

EIGENMANN, C.H.; OGLE, F. An annotated list of characin fishes in the United States National Museum and the Museum of Indiana University, with descriptions of new species. **Proceedings of the United States National Museum**, v. 33, n. 1556, p. 1-36, 1907.

ERTHAL, A. P. R. C. et al. Reproductive cycle of *Leporinus copelandii* (Pisces: Anostomidae) females from the lower Paraíba do Sul river basin, RJ–Brazil. **Acta Biomedica Brasiliensia**, v. 6, n. 2, p. 116-128, 2015.

ESCHMEYER, W. (2020). **Catalog of Fishes**. Disponível em: <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>. Acesso em: 20 de outubro de 2020.

FAITH, D.P., C.A.M. Reid and J. Hunter. Integrating phylogenetic diversity, complementarity, and endemism for conservation assessment. **Conservation Biology**, n. 18, v. 1, p. 255-261, 2004.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Version 2007. Disponível em: http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oreochromis_niloticus/en. Acesso em: 29 de outubro de 2020.

FERREIRA, W. R.; PAIVA, L. T.; CALLISTO, M. Development of a benthic multimetric index for biomonitoring of a neotropical watershed. **Brazilian Journal of Biology**, 71, n 1, p. 15-25, 2011.

FERREIRA, W. R.; LIGEIRO, R.; MACEDO D. R.; HUGHES, R. M.; KAUFMANN, P. R., OLIVEIRA, L. G.; CALLISTO, M. Importance of environmental factors for the richness and distribution of benthic macroinvertebrates in tropical headwater streams. **Freshwater Science**, 33, n 3, p. 860-871, 2014.

FIGUEREDO, C. C.; GIANI, A. Ecological interactions between Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L.) and the phytoplanktonic community of the Furnas Reservoir (Brazil). **Freshwater Biology**, v. 50, n. 8, p. 1391-1403, 2005.

FISK, D. L. et al. Rapid evolution in response to introduced predators I: rates and patterns of morphological and life-history trait divergence. **BMC Evolutionary Biology**, v. 7, n. 1, p. 22, 2007.

FLOETER, S. R. et al. Fauna de peixes de recife brasileira: lista de verificação e observações. **Projeto Brasileiro de Peixes de Recife**, 2003.

FOGAÇA F. N. O.; ARANHA, J. M. R.; M. L. P. ESPER. Ictiofauna do rio do Quebra (Antonina, PR): ocupação espacial e hábito alimentar. **Interciência**, v. 28, n. 3, p. 168-173, 2003.

FRAGOSO-MOURA, E. N. et al. Loss of biodiversity in a conservation unit of the Brazilian Atlantic forest: the effect of introducing non-native fish species. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, p. 18-27, 2016.

FREITAS, T. M. S. et al. Length-weight relationships of 18 fish species from Paraíba do Sul basin, Minas Gerais, Brazil. **Journal Applied Ichthyology**, v. 33, p. 652-654, 2017.

FRICKE, R. et al. (Org.). Eschmeyer's Catalog of fishes: genera, species, references. Disponível em: <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>. Acesso em: 12 de novembro de 2020.

FRICKE, R.; ESCHMEYER, W. N.; VAN DER LAAN, R. (Org.). **Eschmeyer's Catalog of fishes: genera, species, references.** Disponível em: <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>. Acessado em: 04 de outubro de 2020.

FROESE, R., N. et al. Estimating fisheries reference points from catch and resilience. **Fish and Fisheries**, v. 18, n. 3, p. 506-526, 2017.

FUNDAÇÃO RENOVA. Programa de monitoramento da ictiofauna do Rio Doce nos estados de Minas Gerais e Espírito Santo – atendimento a cláusula 164 do Termo de Transação e de Ajustamento de Conduta Alínea A, ofício SEI nº 132/2016- DIBIO/ICMBIO – Relatório Final. Relatório Técnico – RT ECV 260/18. 2019.

GARCÍA-ARTEAGA, J. P; CLARO, R.; VALLE, S. Relações comprimento-peso de peixes marinhos cubanos. **Naga ICLARM Q.**, v. 20, n. 1, p. 38-43, 1997.

GASQUES, L.S. et al. A introdução do gênero *Cichla* (Block e Schneider, 1801) na planície de inundação do Alto Rio Paraná. Arq. Ciênc. **Vet. Zool.**, 17 (4): 261 – 266, 2014.

GIDO, K.B. & BROWN, J.H. Invasion of North American drainages by alien fish species. **Freshwater Biol.**, 42(2): 387 – 399, 1999.

GIDO, K. B.; FRANSSEN, N. R. Invasion of stream fishes into low trophic positions. **Ecology Freshwater Fish**, v. 16, p. 457-464, 2007.

GISD. **The Global Invasive Species Database.** Version 2015.1. Invasive Species Specialist Group ISSG 2015. Disponível em: <http://www.iucngisd.org/gisd/>. Acessado em: 20 de outubro de 2020.

GODINHO, A.L. & FORMAGIO, P.S. Efeitos da introdução de *Cichla ocellaris* e *Pygocentrus sp.* sobre a comunidade de peixes da Lagoa Dom Helvécio, Minas Gerais, pp. 93 – 102. In: Associação Mineira de Aquicultura, Belo Horizonte (eds.), Resumos do Encontro da Associação Mineira de Aquicultura, Associação Mineira de Aquicultura, Belo Horizonte, 1992.

GODINHO, A.L. et al. The Ecology of Predator Fish Introductions: The case of Rio Doce Valley Lakes. In: Ecology and Human Impact on Lakes and Reservoirs in Minas Gerais. R.M.; Giani, A. & von Sperling. Belo Horizonte, SEGRAC, p.77 – 83, 1994.

GODINHO, A.L. Peixes do Parque Estadual do Rio Doce. Belo Horizonte: Instituto Estadual de Florestas/Universidade Federal de Minas Gerais, 48p, 1996.

GOMES, A.P.P. et al. Efeitos de duas décadas de peixes exóticos na Lagoa Carioca, Parque Estadual do Rio Doce, MG. In: Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil, 23 a 28 de setembro de 2007, Caxambu – MG, 2007.

GOMIERO, L. M.; BRAGA, F. M. S. Reproduction of species of the genus *Cichla* in a reservoir in southeastern Brazil. **Braz. J. Biol.**, v. 64, n. 3B, p. 613-624, 2004

GONZÁLEZ-ACOSTA A. F., CRUZ-AGÜERO J.; CASTRO-AGUIRREA J. L. Review of the Marine Western Atlantic Species of the Genus *Eugerres* (Perciformes: Gerreidae). **Bulletin of Marine Science**, 80(1): 109–124, 2007.

GOZLAN, R. E. et al. Disease threat to European fish. **Nature**, v. 435, n. 7045, p. 1046-1046, 2005.

GREENFIELD, D. W.; THOMERSON, J. E. Fishes of the Continental waters of Belize, Family Achiridae. **New World soles**. University Press of Florida, Florida, p. 311, 1997.

GURGEL, J.J.S.; Fernando, C.H. Fisheries in Semi-Arid Northeast Brazil with Special Reference to the Role of Tilapias. **Int. Rev. Ges. Hydrobiol.**, v.79, n.1, p.77-94, 1994.

GUSMÃO-POMPIANI, P. MALABARBA, L.R, OLIVEIRA C, QUAPIO-GRASSIOTTO. Spermiogenesis and spermatozoa ultrastructure in the Serrasalminae (Ostrariophysi: Characiformes) with further evidence on the relationships of the piranhas and pacus. **Neotropical Ichthyology**, 7: 385-394, 2009.

HAMADA, N.; NESSIMIAN, J. L., QUERINO, R. B. **Insetos aquáticos na Amazônia brasileira: taxonomia, biologia e ecologia**. Editora do INPA, Manaus. 2014.

HELLAWELL, J. M.; ABEL, R. A. Rapid volumetric method for the analysis of the food of fishes. **Journal of Fish Biology**, v. 3, n. 1, p. 9-37, 1971.

HERNÁNDEZ-SANTOS, M. E. Aspectos reproductivos del loricárido *Pterygoplichthys pardalis* (Castelnau, 1855) en la laguna de las Ilusiones, Tabasco, México (Tese de Doutorado) **Universidad Juárez Autónoma de Tabasco**, pp. 64, 2008.

HOWES, G. J. Review of the genus *Brycon* (Teleostei: Characoidei). **Bulletin of the British Museum Natural History (Zool)**, V. 43, P. 1-47, 1982.

HUGHES R. M., HERLIHY A. T., GERTH W. J., PAN, Y. Estimating vertebrate, benthic macroinvertebrate and diatom taxa richness in raftable Pacific Northwest rivers for bioassessment purposes. **Environmental Monitoring & Assessment**. 2011. DOI 10.1007/s10661-011-2181-9.

HYSLOP, E. J. Stomach contents analysis – a review of methods and their application. **Journal of Fish Biology**, v. 17, n. 4, p. 411-429, 1980.

ICMBio. **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção**. Disponível em: http://icmbio.gov.br/portal/images/stories/comunicacao/publicacoes/publicacoes-diversas/livro_vermelho_2018_vol1.pdf. Acessado em: 13 de outubro de 2020.

IGAM. <<http://www.igam.mg.gov.br/monitoramento-da-qualidade-das-aguas2/monitoramento-da-qualidade-das-aguas-superficiais-do-rio-doce-no-estado-de-minas-gerais>> Acessado em 10 de novembro de 2020

IGAM. http://www.igam.mg.gov.br/images/stories/2020/QUALIDADE_AGUAS/Encarte_4_anos_-_Desastre_Doce_-_Final.pdf 2019. Acessado em 10 de novembro de 2020 ANG, M. H.; JOO, G. J.; LUCAS, M. C. Diet of introduced largemouth bass in Korean rivers and potential interactions with native fishes. **Ecology of Freshwater Fish**, v. 15, n. 3, p. 315-320, 2006.

IUCN. **The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2020-2**. Disponível em: <https://www.iucnredlist.org>. Acessado em: 20 de outubro 2020.

JOBLING, M. Environmental factors and rates of development and growth. In: HART, P. J. B.; REYNOLDS, J. D. (Org.). **Handbook of fish biology and fisheries. Fish biology**. USA: Blackwell, 2002. p. 97-122.

KAUFMAN, L. Catastrophic change in species-rich freshwater ecosystems. **BioScience**, v. 42, n. 11, p. 846-858, 1992.

KEITH, P. et al. Atlas des poissons d'eau douce de Guyane. Tome 2, Fascicule I: Batrachoidiformes, Mugiliformes, Beloniformes, Cyprinodontiformes, Synbranchiformes, Perciformes, Pleuronectiformes, Tetraodontiformes. Collection Patrimoines Naturels 43(I): 286p. Paris: Publications scientifiques du Muséum national d'Histoire naturelle, 2000.

KULLANDER, S. Cichlid fishes of the Amazon River drainage of Peru. Department of Vertebrate Zoology, Research Division, Swedish Museum of Natural History, 431p, 1986.

KULLANDER, S.O.; FERREIRA, E.J.G. A review of the South American cichlid genus *Cichla*, with descriptions of nine new species (Teleostei: Cichlidae). **Ichthyol. Explor. Freshwaters**, 17(4): 289 – 398, 2006.

LANGEANI, F. New Species of *Harttia* (Loricariidae, Loricariinae) from the Rio São Francisco Basin. *Copeia*, (1): 136 – 142, 2001.

LATINI, A.O. & PETRERE JUNIOR, M. Reduction of a native fish fauna by alien species: an example from Brazilian freshwater tropical lakes. **Fisheries Management and Ecology**, 11(2): 71 – 79, 2004.

LATINI, A.O. et al. Alien fishes in lakes of the Doce river basin (Brazil): range, new occurrences and conservation of native communities. **Lundiana**, 5(2): 135 – 142, 2004.

LATINI, A. O. et al. **Espécies exóticas invasoras de águas continentais no Brasil**. Série Biodiversidade, 39. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2016.

LE CREN, E. D. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). **Journal of Animal Ecology**, v. 20, p. 201-219. 1951.

LEÃO, G.N. Aspectos da biologia de *Eucinostomus argenteus* Bairds e Girard, 1855, Gerreidae, capturado no canal de Santa Cruz – Pernambuco (Dissertação). **Universidade Federal Rural de Pernambuco**. 2016.

LEPRIEUR, F. et al. Fish invasions in the world's river systems: when natural processes are blurred by human activities. **PLoS Biology**, v. 6, n. 2, p. e28, 2008.

LIGHT, T.; MARCHETTI, M.P. Distinguishing between invasions and habitat changes as drivers of diversity loss among California's freshwater fishes. **Conservation Biology**, 21(2): 434 – 446, 2007.

LIMA, F. C. T. *Brycon gouldingi*, a new species from the rio Tocantins drainage, Brazil (Ostariophysi, Characiformes, Characidae), with a key to the species in the basin. **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, v. 15, p. 279-287, 2004.

LOURES, R. C.; POMPEU, P. S. Long-term study of reservoir cascade in south-eastern Brazil reveals spatio-temporal gradient in fish assemblages. **Marine and Freshwater Research**, v. 69, n. 12, p. 1983-1994, 2018.

LOURES, R. C.; POMPEU, P. S. Temporal changes in fish diversity in lotic and lentic environments along a reservoir cascade. **Freshwater Biology**, v. 64, n. 10, p. 1806-1820, 2019. LUCENA C. A. S.; LUCENA, Z. M. S. Redefinição do gênero *Deuterodon* Eigenmann, 1907 (Ostariophysi: Characiformes: Characidae). **Comum. Mus. Ciênc. Tecnol. PUCRS, Sér. Zool.**, Porto Alegre, 15 (1): 113-135, 2002.

LOWE-MCCONNELL, R. H. **Fish communities in tropical freshwaters**. Nova Iorque: Longman, New York, 1975.

LUJAN, N. K. Jaw morpho-functional diversity, trophic ecology and historical biogeography of the Neotropical suckermouth armored catfishes (Siluriformes, Loricariidae). Dissertation, Auburn University, 2009.

MACRAE, P. S.; JACKSON, D. A. The influence of smallmouth bass (*Micropterus dolomieu*) predation and habitat complexity on the structure of littoral zone fish assemblages. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 58, n. 2, p. 342-351, 2001.

MALANSKI, E. et al. A new species of *Characidium* (Characiformes: Crenuchidae) from coastal basins in the Atlantic Rainforest of eastern Brazil, with phylogenetic and phylogeographic insights into the *Characidium alipioi* species group. **Neotropical Ichthyology**, v. 17, n. 2, p. e180121, 2019.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 53, de 1º de setembro de 2020**. Define o nome comum e respectivos nomes científicos para as principais espécies de peixes de interesse comercial destinados ao comércio nacional. Diário Oficial, 2020.

MARCENIUK, A. P. et al. Systematics, biogeography and conservation of *Paragenidens grandoculis* n. gen. and n. comb. (Siluriformes; Ariidae), a critically endangered species from southeastern Brazil. **Zootaxa**, v. 4586, n. 3, p. 425-444, 2019.

MARTINS, I.; MACEDO, D. R.; HUGHES, R. M.; CALLISTO, M. Are multiple multimetric indices effective for assessing ecological condition in tropical basins? **Ecological Indicators** 110, 105953. 2020.

MENEZES, M. S.; ARANHA, J. M. R.; CARAMASCHI, E. P. Ocorrência e aspectos da biologia reprodutiva de *Harttia loricariformis* (Loricariinae) no trecho inferior do rio Paraíba do Sul (Rio de Janeiro, Brasil). **Acta Biológica Paranaense**, v. 27, 1998.

MENEZES, N. A. et al. Peixes de água doce da Mata Atlântica – **Lista preliminar das espécies e comentários sobre conservação de peixes de água doce neotropicais**. São Paulo, Museu de Zoologia/Universidade de São Paulo, p. 407, 2007.

MENEZES, N. A.; FIGUEIREDO, J. L. Manual de Peixes Marinhos do Sudeste do Brasil (IV). **Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo**. 96p., 1980.

MERRITT, R. M.; CUMMINS, K. W. **An introduction to the aquatic insects of North America**. Iowa: Kendall Hunt, 1996.

MICHELE, O. D. A.; UIEDA, V. S. Diet of the ichthyofauna associated with marginal vegetation of a mangrove forest in southeastern Brazil. *Iheringia*, **Série Zoológica**, v. 9, n. 4, p. 486-497, 2007.

MOLOZZI, J.; FRANÇA, J. S.; ARAUJO, T. L. A.; VIANA, T. S. H., HUGHES, R. M.; CALLISTO, M. Diversidade de habitats físicos e sua relação com macroinvertebrados bentônicos em reservatórios urbanos em Minas Gerais. *Iheringia*, **Série Zoologia**, Porto Alegre, 101, n 3, p. 191-199, 2011.

MUGNAI, R.; NESSIMIAN, J. L.; BAPTISTA, D. F. **Manual de identificação de macroinvertebrados aquáticos do Estado do Rio de Janeiro: para atividades técnicas, de ensino e treinamento em programas de avaliação da qualidade ecológica dos ecossistemas lóticos**. Rio de Janeiro: Technical Books, 2010.

MUHLFELD, C. C. et al. Hybridization rapidly reduces fitness of a native trout in the wild. **Biology letters**, v. 5, n. 3, p. 328-331, 2009.

MUNROE, T. A. Achiridae, In: The Living Marine Resources of the Western Central Atlantic. Volume 3: Bony fishes part 2 (Opistognathidae to Molidae), sea turtles and marine mammals. FAO Species Identification Guide for Fishery Purposes. K. E. Carpenter (ed.). FAO, **Rome and American Society of Ichthyologists and Herpetologists Special Publication** 5. p. 1925-1933, 2003.

- MYERS, G. L. Fresh-water fishes and West Indian zoogeography. **Annual Report of the Board of Regents of the Smithsonian Institution**, p. 339-364, 1938.
- NASCIMENTO, F.L. et al. Distribuição espacial do tucunaré *Cichla sp.* (Pisces, Cichlidae), peixe amazônico introduzido no Pantanal, Brasil. Corumbá: Embrapa Pantanal, 17p, 2011.
- NELSON, J. S. Fishes of the World, 4th ed. New York: **John Wiley and Sons Inc.** 601p., 2006.
- NELSON, J.S. Fishes of the world. 3 Ed. New York. **John Willey e Sons.** 600 p., 1994.
- NETO, F. R. A. et al. Relatório anual de monitoramento da ictiofauna do reservatório da UHE Irapé. **Programa Peixe Vivo – CEMIG**, 2014.
- OLDEN, J.D. & POFF, N.L. Ecological processes driving biotic homogenization: testing a mechanistic model using fish faunas. **Ecology**, 85(7): 1867 – 1875, 2004.
- OTA, R. R. et al. Peixes da planície de inundação do alto rio Paraná e áreas adjacentes: revised, annotated and updated. **Neotropical Ichthyology**, 16(2): 1 – 111, 2018.
- OTA, R.R. et al. Peixes da planície de inundação do alto rio Paraná e áreas adjacentes: revised, annotated and updated. **Neotropical Ichthyology**, 16(2): 1 – 111, 2018.
- PELICICE, F.M. & AGOSTINHO, A.A. Fish fauna destruction after the introduction of a non-native predator (*Cichla kelberi*) in a Neotropical Reservoir. **Biological Invasions**, 11(8): 1789 – 1801, 2009.
- PEREIRA, M. C. et al. Índices de alimentação e ciclo reprodutivo em machos de piau-vermelho *Leporinus copelandii* (Steindachner, 1875) na bacia do baixo rio Paraíba do Sul. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 4, p. 599-607, 2007.
- PERESSIN, A. et al. Physical habitat as predictor of fish trophic structure in Brazilian Atlantic rainforest streams. **Neotropical Ichthyology**, v. 18, n. 2, p. 1-18, 2020.
- PETRERE Jr.M. River fisheries in Brazil: a review. *Regulated Rivers Research and Management*, Chichester, 4(1): 1-16, 1986.
- POMPEU, P. S.; GODINHO, A. L. Mudança na dieta da traíra *Hoplias malabaricus* (Bloch) (Erythrinidae, Characiformes) em lagoas da bacia do rio Doce devido à introdução de peixes piscívoros. **Rev. Bras. Zool.**, 18(4): 1219 – 1225, 2001.
- POMPEU, P. S. Dieta da pirambema *Serrasalmus brandtii* Reinhardt (Teleostei, Characidae) em quatro lagoas marginais do rio São Francisco, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia** 16 2: 19-26, 1999.
- POPE, K. L. et al. Evidence of indirect impacts of introduced trout on native amphibians via facilitation of a shared predator. **Biological Conservation**, v. 141, n. 5, p. 1321-1331, 2008.
- PRINGLE, C.M. et al. Regional effects of hydrologic alterations on riverine macrobiota in the new world: tropical-temperate comparisons. **Bioscience**, 9(9): 807 – 823, 2000.

PROVETE, D. B., SILVA, F. R.; SOUZA, T. G. Estatística aplicada à ecologia usando o R. **PPG Biologia Animal**. UNESP. 122 p. 2011.

QUEIROZ, L. J. et al. Peixes do rio Madeira. São Paulo: Santo Antônio Energia, Vol. 3, 416p, 2013.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. 2015. URL <https://www.R-project.org/>.

REIS, V. J. C. et al. Iterative taxonomy reveals a new species of *Trichomycterus* Valenciennes 1832 (Siluriformes, Trichomycteridae) widespread in Rio Doce basin: a pseudocryptic of *T. immaculatus*. *Journal of Fish Biology* Early view: 1-10, 2020.

Relatório Técnico DEAMB/SEMAD/SISEMA Nº 011/2016

RIZZO, E.; BAZZOLI, N. Reproduction and embryogenesis. In **Biology and Physiology of Freshwater Neotropical Fish** (pp. 287-313). Academic Press, 2020.

SANTOS, A. C. A.; ARAÚJO, F. G. Hábitos alimentares de *Gerres aprion* (Cuvier, 1829) (Actinopterygii, Gerreidae) na baía de Sepetiba, RJ. *Sitientibus, Feira de Santana*, n.17, p.185-195, 1997.

SANTOS, A. J. Estimativas de riqueza em espécies. In: Rudran, R., Cullen, L. Valladares-Padua, C. (Orgs.) **Métodos de estudo em biologia da conservação e manejo da vida silvestre**. Ed. da Universidade Federal do Paraná, Curitiba. P. 19-41. 2003.

SANTOS, M. N.; ROCHA, G. R. A. Dieta e hábitos alimentares de *Eucinostomus gula* (Quoy & Gaimard, 1824) em Itacaré, sul da Bahia. **Anais do VIII CEB**. Caxambu-MG, 2007.

SILVA, A.T. et al. Freshwater fishes of the Bahia State, northeastern Brazil. **Biota Neotropical**, v. 20, n. 4, p. 1-21, 2020.

SILVA, P.C.; Malabarba, M.C.; Malabarba, L.R. Integrative taxonomy: Morphology and ancient DNA barcoding reveals the true identity of *Astyanax taeniatus*, a tetra collected by Charles Darwin during the Beagle's voyage. *Zoologischer Anzeiger*, 278: 110 – 120, 2019.

SILVEIRA, E. L.; ARANHA, J. M. R.; MENEZES, M. S.; VAZ-DOS-SANTOS, A. M. Reproductive dynamics, age and growth of *Astyanax* aff. *fasciatus* in a Neotropical basin. **Marine and Freshwater Research**, v. 71, p. 670–683, 2020.

SIMBERLOFF, D. Given the stakes, our modus operandi in dealing with invasive species should be “guilty until proven innocent.”. **Conservation Magazine**, v. 8, n. 2, p. 18-19, 2007.

SLOBODIAN, V. Taxonomic revision of *Pimelodella* Eigenmann & Eigenmann, 1888 (Siluriformes: Heptapteridae): an integrative proposal to delimit species using a multidisciplinary strategy. Tese – Doutorado, **Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo**, São Paulo, 810p, 2017.

SMITH, W.S. et al. 2005. **As espécies de peixes introduzidas no rio Tietê**, p. 165-180. Em: Rocha, O.; E.L.G. Espíndola; N. Fenerich-Verani; J.R. Verani & A.C. Reitzler (Eds.). *Espécies invasoras em*

águas doces – estudo de caso e propostas de manejo. São Carlos, Editora da Universidade São Carlos, 416 p, 2005.

SMITH, W.S.; E.L.G. Espíndola & O. Rocha. 2005. As espécies de peixes introduzidas no rio Tietê, p. 165-180. In: Rocha, O.; E.L.G. Espíndola; N. Fenerich-Verani; J.R. Verani & A.C. Reitzler (Eds.). Espécies invasoras em águas doces – estudo de caso e propostas de manejo. São Carlos, Editora da Universidade São Carlos, 416 p.

SOARES, E.C.; GUIMARÃES-PAIVA, A.; LIMA-SANTOS, E.; MOREIRA-PEREIRA, S.; SANTANA-SANTOS, E.; ALMEIDA, E.O.; SILVA, T.S. Potential of carapeba (*Eugerres brasiliensis*) for aquaculture production. **Lat. Am. J. Aquat. Res.**, v. 44, n. 4, p. 718-725, 2016

SOARES, M.G.M. et al. (2008). Peixes de lagos do Médio Rio Solimões. 2º ed. rev.– Manaus: Instituto I-piatam, 160p, 1994.

STEINHART, G. B. et al. Increased parental care cost for nest-guarding fish in a lake with hyperabundant nest predators. **Behavioral Ecology**, v. 16, n. 2, p. 427-434, 2005.

SUNAGA, T. & VERANI, J.R. The fish communities of the lakes in Rio Doce Valley, Northeast Brazil, Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie Verhandlungen, 24(4): 2563 – 2566, 1991.

TELES, M. E. O; GODINHO, H. P. Ciclo reprodutivo da pirambeba *Serrasalmus brandtii* (Teleostei, characidae) na represa três Marias, rio São Francisco. **Revista Brasileira de Biologia**, 57:177-184, 1997.

TERÁN, G.E. et al. Opening the Trojan horse: phylogeny of *Astyanax*, two new genera and resurrection of *Psalidodon* (Teleostei: Characidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 20: 1 – 18, 2020.

THOMÉ, M. P. M.; DE PAULA, L. F. P.; ROSA, J. L. M.; SAROBA, C. C. Caracterização da ictiofauna de um riacho de Mata Atlântica, no âmbito de uma central geradora de energia, Carmo-RJ, Brasil.

TURGEON, K.; TURPIN, C.; GREGORY-EAVES, I. Dams have varying impacts on fish communities across latitudes: A quantitative synthesis. **Ecology letters**, v. 22, n. 9, p. 1501-1516, 2019.

VANNOTE, R. L. et al. The river continuum concept. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v. 37, p. 130-137, 1980.

VASCONCELOS, F. R. et al. Effects of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) on the plankton community of a tropical reservoir during and after an algal bloom. **Hydrobiologia**, v. 817, n. 1, p. 393-401, 2018.

VAZZOLER, A. E. A. DE M. 1981. Manual de métodos para estudos biológicos de população de peixes. Reprodução e crescimento. Brasília: CNPq – Programa Nacional de Zoologia. 108p. 1996. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá, EDUEM. 169p.

VAZZOLER, A. E. A. DE M. et al. Reprodução de *Prionotus punctatus* em ecossistema tropical costeiro do Estado de São Paulo. **Simpósio sobre Oceanografia**. São Paulo: Instituto Oceanográfico, 1989.

VAZZOLER, A. E. A. DE M.; CARACIOLO-MALTA, M. C.; AMADIO, S. A. Aspectos biológicos de peixes amazônicos. XII. Indicadores quantitativos do período de desova das espécies do gênero *Semaprochilodus* (Characiformes, Prochilodontidae) do baixo rio Negro, Amazonas, Brasil. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 49, n. 1, p. 175-181, 1989(b).

VIANNA, M. A. B. S. Revisão sistemática do gênero *Trichomycterus valenciennes* do sudeste do Brasil (Siluriformes: Loricarioidea: Trichomycteridae). **Tese de doutorado**, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2004.

VICENTE, I. S. et al. Perspectivas da produção de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) no Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 37, n. 4, p. 392-398, 2014.

VIEIRA, F. A ictiofauna do rio Santo Antônio, bacia do Rio Doce, MG: proposta de conservação. 101f. Tese (Doutorado em Ecologia, Conservação e Manejo de Vida Silvestre). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006. VIEIRA, F. Distribuição, impactos ambientais e conservação da fauna de peixes da bacia do Rio Doce. **MG Biota**, v. 2, p. 5-22, 2010.

VIEIRA, F. et al. **Peixes do Quadrilátero Ferrífero – Guia de Identificação**. Fundação Biodiversitas, Belo Horizonte, 208p, 2015.

VIEIRA, F. Ictiofauna do rio Santo Antônio, bacia do rio Doce, MG: proposta de conservação. Tese (Doutorado), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte/MG, 101p, 2006.

VIEIRA, F.; GASPARINI, J. L. Os Peixes Ameaçados de Extinção no Estado do Espírito Santo. In: PASSAMANI, M.; MENDES, S. L. (Org.). **Espécies da fauna ameaçadas de extinção no estado do Espírito Santo**. Vitória: IPEMA, 2007. p. 87-104.

VIEIRA, F.; GASPARINI, J. L.; MACIEIRA, R. M. **Guia Ilustrado dos Peixes da Bacia do Rio Benevente - ES**. Vitória: ACQUA Consultoria e Recuperação de Ambientes Aquáticos Ltda/São Joaquim Energia S. A, 2014.

VIEIRA, F.; GOMES, J. P. C.; MAIA, B. P. **Peixes do Quadrilátero Ferrífero: Guia de Identificação**. Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, 2015.

VITULE J. R. S; ARANHA, J. M. R. Feeding ecology of the “Iambari”, *Deuterodon langei* Travassos, 1957 (Characidae, Tetragonopterinae), of different sizes on Atlantic Forest stream, Paraná (Brazil). **Acta Biol. Par.**, Curitiba, 31 (1, 2, 3, 4): 137-150, 2002.

VONO et al. Biologia reprodutiva de três espécies simpátricas de peixes neotropicais: *Pimelodus maculatus* Lacepède (Siluriformes, Pimelodidae), *Leporinus amblyrhynchus* Garavell & Britski e *Schizodon nasutus* Kner (Characiformes, Anostomidae) do recém-formado Reservatório de Miranda, Alto Paraná. **Revista Brasileira de Zoologia**, 19(3): 819 – 826, 2002.

WEITZMAN, S. H.; MENEZES, N. A.; WEITZMAN, M. J. Phylogenetic biogeography of the Glandulocaudini (Teleostei: Characiformes, Characidae) with comments on the distributions of other freshwater fishes in eastern and southeastern Brazil. **Proceedings of a workshop on Neotropical distribution patterns**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1988.

Williamson, M. **Biological Invasions**. London: Chapman and Hall, 1996.

WINEMILLER, K. O.; KELSO-WINEMILLER, L. C. Food habits of tilapiine cichlids of the Upper Zambezi River and floodplain during descending phase of the hydrologic cycle. **Journal of Fish Biology**, V. 63, P. 120-128, 2003.

WINEMILLER, K. O. Life history strategies and the effectiveness for sexual selection. **Oikos**, 63: 318-327, 1992.

ZAGANINI, R. L. **Caracterização do regime alimentar de *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) e *Tilapia rendalli* (Boulenger, 1897) na represa de Barra Bonita, Médio Rio Tietê, SP**. 2009. Disertação mestrado, Universidade Estadual Paulista.

ZARET, T. M.; PAINE, R. T. Species Introduction in a Tropical Lake: A newly introduced piscivore can produce population changes in a wide range of trophic levels. **Science**, v. 182, n. 4111, p. 449-455, 1973.