



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Rafael Santos de Azevedo

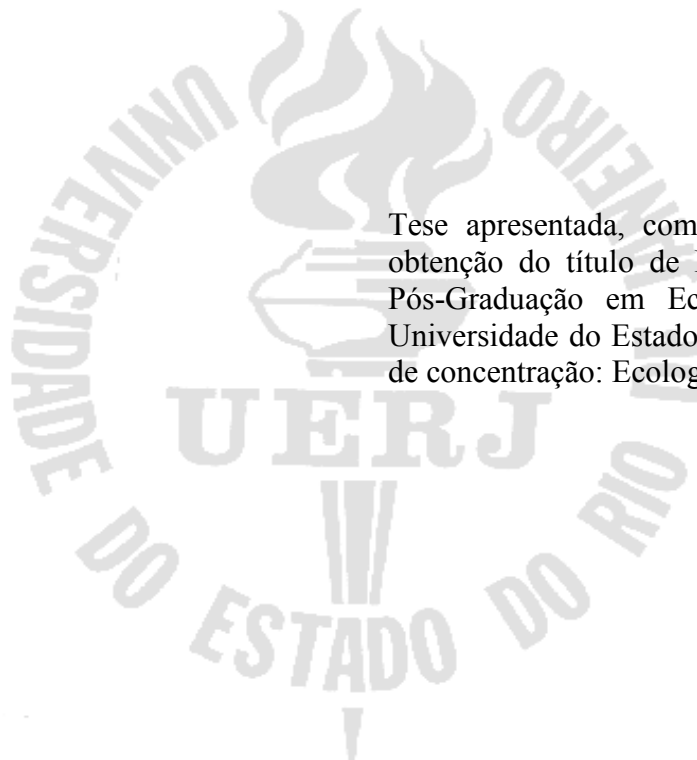
**Movimento e estruturação genética de duas espécies de peixes de um riacho
costeiro de Mata Atlântica, Marica RJ**

Rio de Janeiro

2017

Rafael Santos de Azevedo

Movimento e estruturação genética de duas espécies de peixes de um riacho costeiro de Mata Atlântica, Maricá RJ



Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Ecologia e Evolução.

Orientadora: Prof.^a Dra. Rosana Mazzoni

Coorientador: Prof. Dr. Cesar Amaral

Rio de Janeiro

2017

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CTC-A

A994

Azevedo, Rafael Santos de.

Movimento e estruturação genética de duas espécies de peixes de um riacho costeiro de Mata Atlântica, Maricá RJ / Rafael Santos de Azevedo. – 2017.

84 f. : il.

Orientadora: Rosana Mazzoni

Coorientador: Cesar Amaral

Tese (Doutorado em Ecologia e Evolução) – Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

1. Peixe – Genética de Populações - Teses. 2. Peixe - Mata Atlântica - Teses.
I. Mazzoni, Rosana. II. Amaral, Cesar. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes. IV. Título.

CDU 597

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Rafael Santos de Azevedo

Movimento e estruturação genética de duas espécies de peixes de um riacho costeiro de Mata Atlântica, Maricá RJ

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Ecologia e Evolução.

Aprovada em 04 de dezembro de 2017.

Coorientador:

Prof. Dr. Cesar Amaral

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Banca Examinadora:

Prof.^a Dra. Rosana Mazzoni (Orientadora)

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Prof.^a Dra. Érica Pellegrini Caramaschi

Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ

Prof.^a Dra. Karina Alessandra Morelli

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Prof. Dr. Anderson Vilasboa de Vasconcellos

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Rio de Janeiro

2017

DEDICATÓRIA

À minha mãe (*in memoriam*) que sempre será uma das pessoas mais importantes na minha vida, pois além de mãe, sempre foi minha amiga, conselheira, ouvinte e que tenho certeza que onde quer que esteja sempre estará me apoiando, independente das minhas escolhas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela força e direção na realização do trabalho. Ao programa de Pós-graduação em Ecologia e Evolução (PPGEE - UERJ) pela infra-estrutura que permitiu a realização do trabalho. A CAPES pela bolsa concedida para a realização do projeto de tese. À professora Dra. Rosana Mazzoni pela orientação, paciência e dedicação frente às dificuldades que enfrentei, pela confiança, amizade, atenção e ao aprendizado que me foi passado durante os quatro anos e alguns meses. (Muito Obrigado professora!). Ao meu co-orientador Dr. Cesar Amaral por toda amizade e ensinamento do zero até aqui na parte de genética, foi um aprendizado enorme, valeu mesmo. Ao professor Dr. Elizeu Fagundes por ter cedido espaço no Laboratório de Diagnóstico por DNA para realização das análises genéticas. Aos excelentes e competentes secretárias(os) da pós, Henrique (fez minha matrícula hehe) Soninha e Verusca, sempre prontas para judar no que for preciso. A professora Dra. Karina Alessandra Morelli por ter feito a revisão da tese e ter aceitado participar da banca. Aos professores Dra. Érica Pellegrini Caramaschi (UFRJ) e Dr. Anderson Vilasboa de Vasconcellos (UERJ) por terem aceitado participar da banca examinadora, e pelas ótimas contribuições dadas ao trabalho. Também aos professores Dra. Luisa Manna (UERJ) e Dr. Nathan Oliveira Barros (UFJF) por terem aceitado participar como suplentes da banca. À todos os amigos do labecopeixes Bruno, Thaína Gulias, Viviane Bernarde, Igor e em especial a Ariane Lima, Luisa Manna, Piatã Marques, Paula Mazzoni que foram os que mais me ajudaram em campo fazendo coletas e marcações de peixes no sol e na chuva. Ao amigo de turma Luiz Duarte por toda caminhada e companhia durante a parte de bancada e por muitas ideias trocadas. A Amanda Bitencourt a estagiária mais competente e dedicada que já vi. Aos amigos do LDD Marcelo Assis, Vanusca Maciel, Saulo, Sylvia Loyola, Carol Bezerra, Carol, Tamara Magalhães, Johann Machado que muito me ensinaram e também aguentaram minhas decepções durante as etapas de amplificação e sequenciamento (poxa gente não funcionou ☹). Ao amigo do labeco peixes (UFRJ) Thiago Lennon que muito me ajudou com as análises do capítulo de movimento. Aos amigos do mundo da ecologia de peixes que muito me ajudaram e estão sempre prontos para ajudar Claudio Jacaré, Carla Rezende, Bianca Terra, Daniela Rodrigues, Victor Trivério, Máira Moraes, Mayara, Victor Alves, Rogério Xaxim e Rafael Leitão. Aos meus amigos e ex coordenadores Erika Vita e Diego Roberto por todo apoio e flexibilidade no trabalho durante o doutorado. A minha atual coordenadora Gina Boemer pelo apoio na fase final e aos demais amigos da Ecology (Rafael Almeida, Pedro

Soares e Michele Lima). Por último, porém tão importantes quanto há todos os outros nomes citados, quero agradecer à minha esposa Roberta pelo seu carinho e apoio e por ouvir minhas lamentações, me orientando sempre a levantar a cabeça quando necessário. Aos meus amados filhos Nicole e Nicolas que muito contribuem com a alegria e o incentivo que eu preciso. Aos meus queridos irmãos Tiago e Mariana que estão sempre prontos a me ajudar e também todos meus familiares pelo incentivo. Agradeço em especial aos meus pais Juarez e Ana Maria (*in memoriam*) por tudo que eles fizeram por mim desde o meu nascimento até aqui, sempre me dando carinho, incentivo, direcionamento e apoio em todos os momentos da minha vida, sou muito orgulhoso de ser filho de vocês. Mãe, nunca teria sido capaz de chegar tão longe sem o seu carinho e apoio. Enfim, obrigado a todos !!!

Nesses tempos de céus de cinza e chumbo, nós
precisamos de árvores desesperadamente verdes

Mario Quintana

RESUMO

AZEVEDO, R. S. *Movimento e estruturação genética de duas espécies de peixes de um riacho costeiro de Mata Atlântica, Maricá RJ. 2017.* 84 f. Tese (Doutorado em Ecologia e Evolução) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

Compreender como a dispersão e a estrutura populacional estão inter-relacionadas é uma questão de interesse comum entre ecólogos e geneticistas de populações. Neste trabalho temos como hipótese que as diferenças no comportamento de movimentação de *Astyanax hastatus* e *Geophagus brasiliensis* no Rio Ubatiba, RJ, influenciam na estruturação genética das populações, de forma que *G. brasiliensis*, devido ao seu comportamento territorialista, realiza menos movimentos, apresenta menor fluxo gênico e algum grau de estruturação genética, enquanto *A. hastatus* por ser uma espécie de hábito mais ativo, possui maior fluxo gênico ao longo do rio, apresentando assim uma população panmítica. Para testar essa hipótese avaliamos a intensidade do movimento de cada espécie, utilizando a técnica de captura, marcação e recaptura (CMR) dos peixes, bem como determinar o nível de estruturação genética para ambas as espécies através de um marcador mitocondrial (D-loop). Para CMR, apesar do baixo número de indivíduos marcados recapturados, os resultados mostram que *A. hastatus* se movimenta mais e em distâncias maiores que *G. brasiliensis*, possuindo assim uma maior intensidade de movimento e uma maior área de vida. *A. hastatus* apresentou maior diversidade genética em relação a *G. brasiliensis*, esse resultado está associado a maior capacidade de dispersão e outras características da biologia de *A. hastatus*, como desova pelágica e distribuição mais ampla. A estruturação genética verificada através do índice F_{st} sugerem que *A. hastatus* representa uma unidade panmítica, enquanto que, *G. brasiliensis* apresenta estruturação genética entre o ponto mais a montante e os demais, sendo atribuído ao isolamento por distância, devido as características como comportamento territorialista, cuidado parental e movimento restrito. No Rio Ubatiba, independentemente de qualquer padrão inerente à história da colonização da bacia, as características biológicas das espécies (hábito sedentário e não sedentário) são sugeridas como fatores determinantes dos níveis de diversidade e estruturação genética observada para estas espécies.

Palavras-chave: DNA mitocondrial. Genética populacional. Rio Ubatiba.

ABSTRACT

AZEVEDO, R. S. *Movement and genetic structuration of two fish species of a coastal stream of Atlantic Forest, Maricá RJ*. 2017. 84 f. Tese (Doutorado em Ecologia e Evolução) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

Understand how a dispersion and a population structure are interrelated and the issue of common interest among ecologists and population geneticists. In this work, there is no behavior of movement of *Astyanax hastatus* and *Geophagus brasiliensis* in Rio Ubatiba, RJ, influencing the genetic structuring of the populations, so that *G. brasiliensis*, due to its territorialistic behavior, less movement accomplishment, presents a lesser general context and some degree of genetic structuring, while *A. hastatus*, because it is a more active species, presents a greater gene flow along the river, thus presenting a panmictic population. To test this hypothesis we evaluated the intensity of the movement of each species using the capture, marking and recapture (CMR) technique of the fish, as well as determining the genetic structuring level for both species through a mitochondrial marker (D-loop). For CMR, despite the low number of recaptured tagged individuals, the results show that *A. hastatus* moves more and at distances greater than *G. brasiliensis*, thus possessing a greater amount of movement and a larger area of life. *A. hastatus* presented greater genetic diversity in relation to *G. brasiliensis*, this result is associated to a greater dispersion capacity and other characteristics of the biology of *A. hastatus*, such as pelagic spawning and broader distribution. The genetic structure verified through the F_{st} index suggests that *A. hastatus* represents a panmictic unit, whereas, *G. brasiliensis* presents genetic structuring between the most upstream point and the others, being attributed to the distance isolation, due to the characteristics as territorialist behavior, parental care and restricted movement. In the Ubatiba River, regardless of any inherent pattern in the history of basin colonization, the biological characteristics of the species (sedentary habit and non sedentary habit) are suggested as determining factors of the levels of diversity and genetic structuring observed for these species.

Keywords: Mitochondrial DNA. Genetics of populations. Ubatiba river.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Exemplar de <i>Astyanax hastatus</i>	19
Figura 2	Exemplar de <i>Geophagus brasiliensis</i>	19
Figura 3	Esquema da localização geográfica da bacia do rio Ubatiba com os sete pontos amostrais.	21
Figura 4	Ponto P1	22
Figura 5	Ponto P2	22
Figura 6	Ponto P3	23
Figura 7	Ponto P4	23
Figura 8	Ponto P5	24
Figura 9	Ponto P6	24
Figura 10	Ponto P7	25
Figura 11	Mapa do Rio Ubatiba com os quatro pontos de amostragens utilizados para captura, marcação e recaptura	34
Figura 12	Esquema mostrando os pontos onde os peixes foram marcados e recapturados, tamanho das áreas de marcação e distância entre os pontos amostrais.....	35
Figura 13	Coleta de peixes através da técnica de pesca elétrica em um dos pontos do rio Ubatiba, Maricá - RJ.	35
Figura 14	Fotos mostrando a marcação dos indivíduos capturados.....	37
Figura 15	Proporção de indivíduos de <i>A. hastatus</i> e <i>G. brasiliensis</i> marcados e recapturados	39
Figura 16	Proporção de indivíduos de <i>A. hastatus</i> e <i>G. brasiliensis</i> com e sem movimento.	40
Figura 17	Distância percorrida (m) por ambas as espécies e o sentido (valores negativos correspondem a movimentos no sentido jusante e valores positivos a sentido montante).	40
Figura 18	- Distâncias percorridas por indivíduos de <i>Geophagus brasiliensis</i> e <i>Astyanax hastatus</i> no Rio Ubatiba, RJ	41

Figura 19	Estimativa de densidade de Kernel para movimentos de <i>Astyanax hastatus</i> a montante e a jusante do trecho de origem	41
Figura 20	- Estimativa de densidade de Kernel para movimentos de <i>Geophagus brasiliensis</i> a montante e a jusante do trecho de origem	42
Figura 21	Crescimento médio de <i>A. hastatus</i> no Rio Ubatiba em 15 e 25 dias.	42
Figura 22	- Crescimento médio de <i>G. brasiliensis</i> no Rio Ubatiba em 15 e 25 dias.	43
Figura 23	Correlação entre o deslocamento de indivíduos de <i>A. hastatus</i> e seu crescimento relativo em um tempo determinado.	43
Figura 24	Correlação entre o deslocamento de indivíduos de <i>G. brasiliensis</i> e seu crescimento relativo em um tempo determinado	44
Figura 25	Mapa do Rio Ubatiba com os seis pontos de amostragem de biologia molecular.....	60
Figura 26	Rede de haplótipos de sequências da região controle de <i>A. hastatus</i> geradas através do programa PopArt 1.7	66
Figura 27	Rede de haplótipos de sequências da região controle de <i>G. brasiliensis</i> geradas através do programa PopArt 1.7	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Ordem, altitude e coordenadas geográficas dos pontos amostrais.....	21
Tabela 2 -	Condições termocíclicas utilizadas nas reações de amplificação da região controle do DNA mitocondrial.....	61
Tabela 3 -	Condições termocíclicas utilizadas nas reações de sequenciamento da região controle do DNA mitocondrial.....	62
Tabela 4 -	Número de indivíduos analisados por ponto.....	65
Tabela 5 -	Valores da estatística Φ encontrados considerando 5 agrupamentos populacionais testados a priori (AMOVA) para cada espécie.	67
Tabela 6 -	Valores de estruturação genética das populações de <i>A. hastatus</i>	68
Tabela 7 -	Valores de estruturação genética das populações de <i>G. brasiliensi</i>	68
Tabela 8 -	Testes de de neutralidade	69

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO GERAL.....	15
1	ÁREA DE ESTUDO	20
2	MOVIMENTO DE DUAS ESPÉCIES DE PEIXES NO RIO UBATIBA, MARICÁ – RJ.....	30
2.1	Objetivo geral.....	33
2.1.1	<u>Objetivos específicos</u>	33
2.2	Material e métodos.....	33
2.2.1	<u>Área de estudo.....</u>	33
2.2.2	<u>Coleta de peixes, marcação e recaptura</u>	34
2.2.3	<u>Análise de dados</u>	37
2.3	Resultados	39
2.4	Discussão	44
	REFERÊNCIAS.....	48
3	ESTRUTURAÇÃO GENÉTICA POPULACIONAL DE DUAS ESPÉCIES DE PEIXES NO RIO UBATIBA, MARICÁ – RJ.....	55
3.1	Objetivo geral.....	59
3.1.1	<u>Objetivos específicos</u>	59
3.2	Material e Métodos	59
3.2.1	<u>Área de estudo.....</u>	59
3.2.2	<u>Coleta e amostragem dos peixes</u>	60
3.2.3	<u>Extração e quantificação do DNA</u>	61
3.2.4	<u>Reação de polimerase em cadeia (PCR)</u>	61
3.2.5	<u>Purificação e sequenciamento.....</u>	62
3.2.6	<u>Alinhamento e análise de dados.....</u>	63
3.3	Resultados.....	64
3.4	Discussão.....	70
	REFERÊNCIAS.....	75
	CONCLUSÕES GERAIS.....	82
	PESPECTIVA FUTURAS	84

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AMOVA – Análise de variância molecular

CEDAE – Companhia Estadual de Água e Esgoto do Rio de Janeiro

DNA – Ácido desoxirribonucleico

mtDNA – DNA mitocondrial

nDNA – DNA nuclear

FST – Índice de fixação de Wright

Hd – Diversidade haplotípica

π – Diversidade Nucleotídica

N – Tamanho amostral

PCR – Reação em cadeia de polimerase

μ – Micro

Φ – Índice de variância análogo ao índice de fixação de Wright

D – Teste de Tajima

INTRODUÇÃO GERAL

A Mata Atlântica é uma das florestas mais expressivas da América do Sul. A sua alta biodiversidade e elevado número de espécies endêmicas levaram este bioma a ser considerado como um *hotspot* de biodiversidade (MYERS *et al.*, 2000). A preocupação com a biodiversidade no Brasil tem crescido acentuadamente nas últimas duas décadas, acompanhada pela proliferação de organizações conservacionistas não governamentais e pela legislação ambiental (AGOSTINHO *et al.*, 2005). No entanto, é necessário um esforço muito maior para efetivamente deter as políticas ambientais insustentáveis, visto que, todos os principais biomas e ecossistemas foram significativamente impactados pelas atividades humanas (LOYOLA 2014, LIMA-JUNIOR *et al.*, 2015). Os riachos de Mata Atlântica são constantemente ameaçados por ações antrópicas, como retirada da mata ciliar, lançamento de efluentes químicos e orgânicos, retificações dos seus cursos, represamentos para captação de água e introdução de espécies exóticas (OLIVEIRA & BENNEMANN, 2005; GOMIERO & BRAGA, 2006; CASATTI, 2010; MIRANADA, 2012).

A maior riqueza de peixes de água doce do mundo é encontrada na América do Sul com cerca de 5.160 espécies registradas. Este número representa cerca de um terço de todos os peixes de água doce do mundo (REIS *et al.*, 2016). O Brasil é o país com a maior riqueza de peixes de água doce, possuindo 2.587 espécies catalogadas, cerca de 17% das espécies do mundo (BUCKUP *et al.*, 2007; REIS *et al.*, 2016). No entanto, acredita-se que a riqueza seja ainda maior quando é considerada a grande quantidade de ambientes (rios e riachos) que nunca foram explorados (REIS *et al.*, 2003). Estima-se que existam cerca de 269 espécies de peixes, distribuídas em 89 gêneros e 21 famílias, nos riachos da Mata Atlântica (ABILHOA *et al.*, 2011). Esses peixes possuem múltiplos hábitos alimentares, podendo ser herbívoros que consomem algas, onívoros ou predadores que regulam populações de insetos aquáticos, além de participarem do processamento da matéria orgânica nestes ambientes no caso das espécies detritívoras (WINEMILLER & JEPSEN, 1998; OYAKAWA *et al.*, 2006).

As características físicas de um riacho se modificam da cabeceira à foz formando assim um gradiente contínuo longitudinal onde as comunidades bióticas se ajustam de acordo com as características físicas (VANNOTE *et al.*, 1980). Riachos localizados em regiões montanhosas sofrem com forte variação sazonal da descarga fluvial durante a estação chuvosa, como enchentes e cabeças d'água, tornando esses ambientes bastante instáveis (WINEMILLER, 2008). Esses eventos estocásticos, podem aumentar a vazão do rio, afetando

diretamente a disponibilidade de abrigos, podendo levar algumas espécies a se movimentarem em busca de melhores habitats (NATHAN, 2008).

O movimento de peixes em riachos é um tipo de comportamento que, associado a outras características de sua história de vida, pode maximizar as chances de sobrevivência em ambientes tão instáveis como riachos costeiros (MAZZONI *et al.*, 2004; MAZZONI & IGLESIAS-RIOS, 2012). O movimento é um comportamento individual. Muitos animais nos limites de determinada área, com um ou mais habitats, exibem padrões diários e sazonais de movimento associado à utilização de recursos variáveis (LUCAS & BARAS, 2001). A área onde os peixes e outros animais restringem suas atividades é comumente chamado de área de vida ou lar (BURT, 1943; GERKING, 1953). Os movimentos exploratórios de maior alcance e os processos de dispersão podem fazer com que áreas com melhores características de recursos sejam descobertas e utilizadas, podendo resultar na adoção de novas áreas de uso pelas espécies (LUCAS & BARAS, 2001).

A colonização de uma nova área pelos organismos está diretamente relacionada a alguns fatores, tais como: história de vida, comportamento e variáveis ambientais (NASCIMENTO *et al.*, 2012). No caso dos peixes a capacidade de movimento está diretamente relacionada com suas características morfológicas (BREDA *et al.*, 2008). É importante diferenciar movimento de migração. Segundo Lucas & Baras (2001) a migração é um tipo de comportamento que envolve a agregação de indivíduos de uma população (não necessariamente em altas concentrações), e tais movimentos tendem a seguir uma periodicidade regular e, portanto, há, inevitavelmente, uma concentração no espaço e no tempo, em uma extensão variável. Ambos comportamentos de dispersão (movimento e migração), quando contemplam eventos reprodutivos, podem afetar a variação genética intra e inter populacional. Isso se dá pelo fluxo gênico, influenciando assim a persistência da população e organização espacial das mesmas, tanto em nível de população local quanto de metapopulação (FRASER *et al.*, 2005).

Mazzoni & Iglesias-Rios (2012) avaliaram padrões de movimento de dez espécies de peixes de um riacho de Mata Atlântica e identificaram dois grupos: (i) grupo de movimento longo (> 50 metros), e (ii) grupo de movimento curto (< 50 metros). No presente estudo escolhemos duas espécies do mesmo riacho, classificadas em grupos diferentes por Mazzoni & Iglesias-Rios (2012), para ampliar o conhecimento sobre seus movimentos e verificar se a forma como se movimentam pode influenciar na estruturação genética das populações. Para isso, foram escolhidas as espécies, *Astyanax hastatus* Myers, 1928 e *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824).

O gênero *Astyanax* pertence a família Characidae e reúne peixes conhecidos como piabas ou lambaris. Dada a sua diversidade de espécies, a família Characidae é também a família de peixes neotropicais com mais problemas taxonômicos. As relações dentro da família são em grande parte incertas e muitos gêneros não são monofiléticos, incluindo *Astyanax* que se encontra como *insertae sedis* (ROSSINI *et al.*, 2016). Atualmente o gênero *Astyanax* é composto por 138 espécies válidas (ESCHMEYER, 2012), com a distribuição desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina (EIGENMANN, 1921; LÓPEZ *et al.*, 2008). Seus exemplares possuem tamanho reduzido tendo como principais características morfológicas o corpo alto e lateralmente comprimido, a presença de nadadeira adiposa, linha lateral completa, pré-maxilar não protrátil, dentes pré-maxilares dispostos em duas séries (BRITSKI *et al.*, 1988).

A espécie *Astyanax hastatus* Myers, 1928 (Figura 1) esta distribuída em drenagens costeiras do Rio de Janeiro (MENEZES *et al.*, 2007; REIS *et al.*, 2003), seu comprimento padrão não ultrapassa 6 cm, o corpo é alto e lateralmente comprimido com uma mancha oval escura na região umeral e uma mancha escura no pedúnculo caudal estendendo-se até a extremidade dessa nadadeira, as nadadeiras são hialinas. Apresenta hábito alimentar onívoro, nectônica, nadadora rápida, pouco dependente de esconderijos nos microhabitats bentônicos (CASATTI, 2003). Apresenta fecundação externa, com reprodução ao longo de todo ano e ausência de cuidado parental (VAZZOLLER & MENEZES, 1992; MAZZONI & IGLESIAS-RIOS, 2007). Mazzoni & Iglesias-Rios (2012) sugerem que a espécie realize pequenas migrações reprodutivas.

Geophagus brasiliensis (Quoy & Gaimard, 1824) (Figura 2) pertence a família Cichlidae, que reúne peixes de pequeno a grande porte conhecidos popularmente como acará ou cará, possuem corpo alto e esverdeado iridescente com uma grande mancha escura ovalada no flanco do corpo, às vezes com faixas longitudinais azuladas; nadadeiras amarelo-avermelhadas, com pequenas manchas claras, primeiros raios das nadadeiras dorsal e anal rígidos. A linha lateral é dividida em dois ramos, a boca é retrátil, com o pré-maxilar móvel, e várias series de dentes cônicos no pré-maxilar e dentário (KULLANDER, 2003; DA GRAÇA & PAVANELLI, 2007). *Geophagus brasiliensis* tem como preferência ambientes lânticos e está distribuído nas drenagens costeiras do leste e sul do Brasil (MENEZES *et al.*, 2007; REIS *et al.*, 2003; ALVES-SILVA & DERGAM, 2014), podendo ser encontrada em ambientes conservados e perturbados (TEIXEIRA *et al.*, 2005). Possui hábito alimentar onívoro, alimentando-se de insetos aquáticos, algas e detritos misturados ao sedimento (ABELHA & GOULART, 2008). De acordo com Mazzoni & Iglesias-Rios (2002) a espécie

realiza desova parcelada em águas paradas, ao longo de vários meses. Durante a reprodução o peixe emparelha-se, cria ninhos e coloca ovos fertilizados no substrato, apresentam cuidado parental e os machos desenvolvem uma rugosidade na cabeça e tornam-se extremamente agressivos e territorialistas (KULLANDER, 2003; PARAGUASSÚ *et al.*, 2005; KADRY & BARRETO, 2010). De acordo com Winemiller (1989) e Kullander (2003) a espécie se encaixa perfeitamente na categoria de espécie sedentária.

A mobilidade do organismo é um fator determinante no nível de fluxo de genes entre as populações (AVISE, 2004), de modo que as espécies com grande potencial de dispersão e / ou altas taxas de migração geralmente têm níveis mais altos de fluxo gênico, que podem contribuir para ausência de estrutura populacional (FREELAND *et al.*, 2005; ADAMSON *et al.*, 2012). Compreender como a relação entre dispersão e estrutura populacional é interesse comum entre geneticistas de populações e ecólogos (MORELLI, 2008, FERREIRA *et al.*, 2016).

Neste trabalho temos como hipótese que as diferenças no comportamento de movimentação dessas duas espécies ao longo do rio, podem influenciar na estruturação genética das populações. Uma vez que *G. brasiliensis*, devido ao seu comportamento territorialista, realiza menos movimentos, logo espera-se que a espécie apresente estruturação genética populacional ao longo do Rio Ubatiba, enquanto que *A. hastatus* por ser uma espécie de hábito mais ativo ao longo de toda bacia, espera-se observar uma população panmítica com alto fluxo gênico. Sendo o Rio Ubatiba um riacho de pequenas dimensões, temos como hipótese alternativa que as características da história de vida e movimentos realizados pelas duas espécies não estariam influenciando na estruturação genética populacional das mesmas.

Para testar essas hipóteses avaliamos a intensidade do movimento de cada espécie, utilizando a técnica da marcação e recaptura dos peixes (capítulo 1), bem como uma análise genética populacional para determinar o nível de estruturação genética observada para ambas as espécies estudadas (capítulo 2).

Figura 1 - Exemplar de *Astyanax hastatus*



Foto: R. Mazzoni

Figura 2 - Exemplar de *Geophagus brasiliensis*



(Foto. R. Mazzoni).

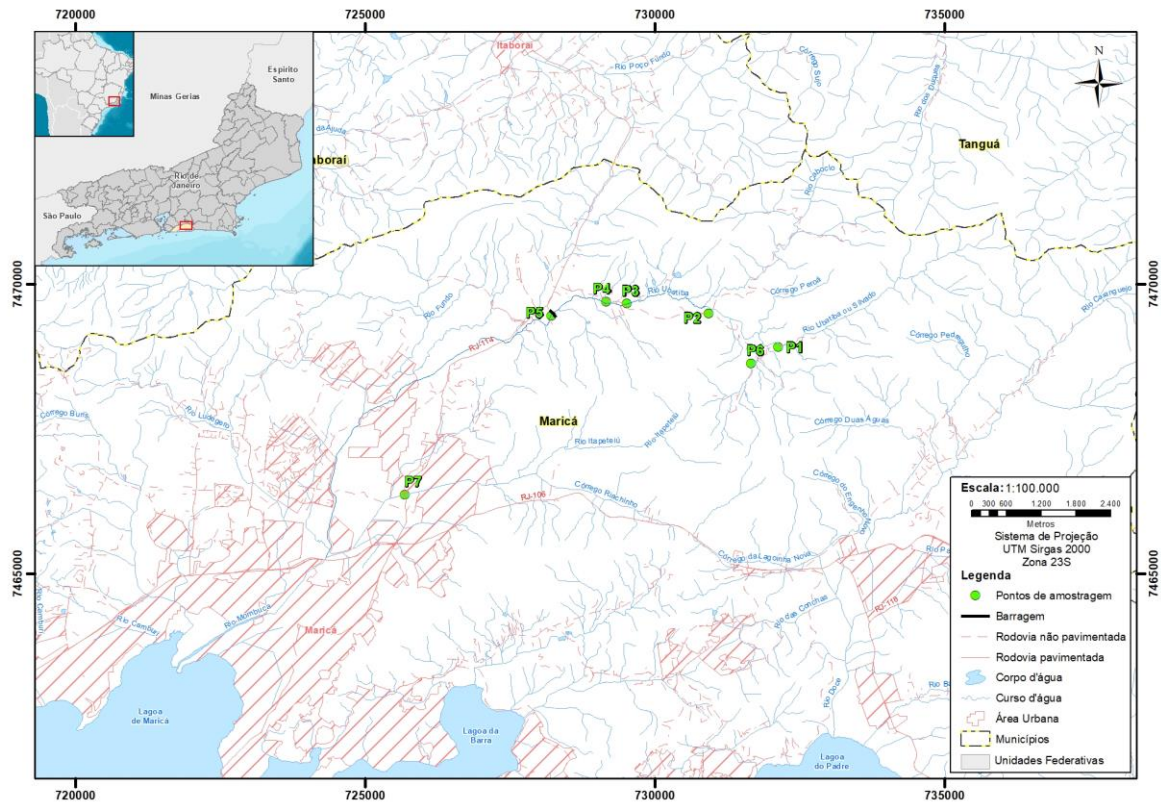
1. ÁREA DE ESTUDO

O Rio Ubatiba é um riacho de Mata Atlântica localizado na região dos lagos fluminense no município de Maricá, RJ a aproximadamente 70 km da cidade do Rio de Janeiro (22°60'S e 42°48'W) (Figura 3). O riacho tem cerca de 15 km desde as nascentes na serra do Espraiado até desembocar na lagoa de Maricá (*e.g.* ARANHA & CARAMACHI, 1997), sem conexão com outro rio de maior porte.

Sua drenagem envolve áreas impactadas pela ação antrópica, em especial pela prática da pecuária, retirada de areia e captação de água. No entanto, alguns fragmentos preservados são encontrados na região da cabeceira (*e.g.* MAZZONI *et al.*, 2005). O leito do rio Ubatiba é composto por um terreno basáltico, dominado por areia e pedras, onde é possível observar ambientes de corredeiras, rápidos e remansos intercalados. O nível da água na área de estudo é regulado exclusivamente pela precipitação pluviométrica ($\sim 1500 \text{ mm ano}^{-1}$) (*e.g.* MAZZONI *et al.*, 2004). A época do ano com maior intensidade de chuvas concentra-se nos meses de novembro a janeiro (MAZZONI & COSTA, 2007), porém, ao longo do ano, é comum que haja enchentes imprevisíveis.

Na década de 90 a Companhia de Água e Esgoto do Rio de Janeiro (CEDAE), construiu uma barragem no trecho médio inferior do rio Ubatiba. O barramento interrompe parcialmente o fluxo de água do rio Ubatiba, criando assim um reservatório para fins de captação e tratamento físico-químico da água para abastecimento da cidade de Maricá.

Figura 3 - Esquema da localização geográfica da bacia do rio Ubatiba com os sete pontos amostrais.



Para realização dos estudos foram selecionadas 7 pontos amostrais, sendo 5 ao longo do Rio Ubatiba e 2 em tributários (Rio Silvado e Rio Itapeteiú). Vale ressaltar que para os estudos de captura, marcação e recaptura foram utilizados apenas os pontos localizados na calha do Rio Ubatiba, e para os estudos de biologia molecular foram utilizados 6 pontos excluindo apenas o ponto P2. A seguir é apresentada uma tabela com informações sobre as localidades, fotos e descrição física de cada uma delas.

Tabela 1 - Ordem, altitude e coordenadas geográficas dos pontos amostrais.

Pontos	Rio	Ordem	Altitude	Coordenadas	
				X	Y
P1	Rio Ubatiba	1ª ordem	81 metros	732123,08	7468919,00
P2	Rio Ubatiba	2ª ordem	70 metros	730928,30	7469496,61
P3	Rio Ubatiba	2ª ordem	47 metros	729510,93	7469663,11
P4	Rio Ubatiba	2ª ordem	46 metros	729158,15	7469698,06
P5	Rio Ubatiba	2ª ordem	41 metros	728210,00	7469450,00
P6	Rio Silvado	1ª ordem	75 metros	731659,56	7468634,56
P7	Rio Itapeteiú	1ª ordem	39 metros	725682,90	7466363,79

Figura 4 - Ponto P1.



O ponto P1 é o mais a montante localizado no Rio Ubatiba. Com presença de poções, corredeiras e rápidos se alternando até o pé de uma cachoeira. Substrato formado por pedras, areia e folhiço. Mata Ciliar é presente em ambas as margens, sendo esse o ponto que se apresenta mais conservado.

Figura 5 - Ponto P2.



O ponto P2 está localizado no trecho médio superior do Rio Ubatiba. Com presença de poções e alguns rápidos. Substrato formado predominantemente por areia e poucas pedras. Margens com vegetação ripariana de gramíneas e arbustos.

Figura 6 - Ponto P3.



O ponto P3 está localizado no trecho médio inferior do Rio Ubatiba. Com presença de poções, rápidos e corredeiras se alternando. Substrato formado predominantemente por areia e poucas pedras. Ponto inserido em uma área de pasto com vegetação ripariana formada por gramíneas e arbustos.

Figura 7 - Ponto P4.



O ponto P4 está localizado no trecho médio inferior do Rio Ubatiba, sendo o último antes do barramento. Com presença de poções e poucos rápidos. Substrato formado por areia e argila. Apesar de inserido em uma área de pasto, possui uma pequena faixa de mata ciliar.

Figura 8 - Ponto P5.



O ponto P5 está localizado no trecho médio inferior do Rio Ubatiba, logo após o barragem para captação de água da CEDAE. Apresenta fluxo reduzido, com formação de poções e alguns rápidos. Substrato formado rochas, pedras soltas e areia. Após a barragem as margens apresentam mata ciliar.

Figura 9 - Ponto P6.



O ponto P6 está localizado no Rio Silvado, afluente do Rio Ubatiba. É um córrego estreito e raso de águas límpidas com a presença de poções, rápidos e corredeiras se alternando, substrato formado de areia, cascalho e pedras. Mata ciliar presente em ambas as margens.

Figura 10 - Ponto P7.



O ponto P7 está localizado no Rio Itapeteiú, afluente do Rio Ubatiba no trecho mais a jusante. É um córrego estreito com muita vegetação submersa, apresenta poções e rápidos se alternando, substrato formado por pedras, areia e argila. Presença de mata ciliar apenas em um trecho muito curto do rio. Ponto com muita influência de esgotos.

REFERÊNCIAS

- ABELHA, M. C. F. & GOULART, E. Oportunismo trófico de *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824)(Osteichthyes, Cichlidae) no reservatório de Capivari, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 26, n. 1, p. 37-45, 2008.
- ABILHOA V, BRAGA RR , BORNATOWSKI H, VITULE JRS. Fishes of the Atlantic Rain Forest Streams: Ecological Patterns and Conservation. In: GRILLO O, VENORA G (ORG) **Changing Diversity in Changing Environment**. Rijeka, Intech, pp. 259-282. 2011.
- ADAMSON, E. A. S., HURWOOD, D. A., MATHER, P. B. 2012. Insights into historical drainage evolution based on the phylogeography of the chevron snakehead fish (*Channa striata*) in the Mekong Basin. **Freshwater Biology** 57:2211–2229, 2012.
- AGOSTINHO, A. A.; THOMAZ, S. M. & GOMES, LUIZ C. Conservação da biodiversidade em águas continentais do Brasil. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 70-78, 2005.
- ALVES-SILVA, A. P. & DERGAM, J. A. Cryptic speciation within the Neotropical cichlid *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824)(Teleostei Cichlidae): a new paradigm in karyotypical and molecular evolution. **Zebrafish**, v. 12, n. 1, p. 91-101, 2015.
- ARANHA, J. M. R., & CARAMASCHI, E. P. Distribuição longitudinal e ocupação espacial de quatro espécies de Cyprinodontiformes no rio Ubatiba, Maricá, RJ, Brasil. **Acta Biológica Paranaense**, v 26, 1997.
- AVISE, J. C. **Molecular markers, natural history and evolution**, 2nd edn. Sinauer Associates, Sunderland. 2004.
- BREDA, L., DE OLIVEIRA, E. F., & GOULART, E. Ecomorfologia de locomoção de peixes com enfoque para espécies neotropicais. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, 27(4), 371-381, 2008.
- 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.
- 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**. 3a. ed. Minas Gerais: Ministério da Irrigação – CODEVASF, 115p, 1988.
- BURT, W. H. Territoriality and home range concepts as applied to mammals. **Journal of Mammalogy**, 24: 346-352, 1943.
- CASATTI, L.; MENDES, H.F.; FERREIRA, K.M. Aquatic macrophytes as feeding site for small fishes in the Rosana Reservoir, Paranapanema River, Southeastern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v.63, p.213-222, 2003.
- CASATTI, L. Alterações no Código Florestal Brasileiro: impactos potenciais sobre a ictiofauna/Changes in the Brazilian Forest Code: potential impacts on the ichthyofauna. **Biota Neotropica**, v. 10, n. 4, p. 31, 2010.

DA GRACA, W. J. & PAVANELLI, C. S. **Peixes da planície de inundação do alto rio Paraná e áreas adjacentes**, Maringá : EDUEM, 241p, 2007.

EIGENMANN C. H. *The American Characidae*. **Memoirs Museum of Comparative Zoology**, 23:209-310, 1921.

ESCHMEYER, W. N. (Ed). **Catalog of Fishes**. California Academy of Sciences (<http://research.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>). 2012. Electronic version accessed 11 november 2017.

FERREIRA, D. G., SOUZA-SHIBATTA, L., SHIBATTA, O. A., SOFIA, S. H., CARLSSON, J., DIAS, J. H. P., MAKRAKIS, S. & MAKRAKIS, M. C et al. Genetic structure and diversity of migratory freshwater fish in a fragmented Neotropical river system. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 27, n. 1, p. 209-231, 2016.

FRASER, D. J., DUCHESNE, P., & BERNATCHEZ, L. (2005). Migratory charr schools exhibit population and kin associations beyond juvenile stages. **Molecular Ecology**, 14(10), 3133-3146, 2005.

FREELAND, J. R., KIRK, H., PETERSEN, S. Genetic Analysis of Single Populations. **Molecular Ecology**, Second Edition, p. 77-128, 2005.

GERKING, S. D. Evidence for the concepts of home range territoriality in stream fishes. **Ecology**, 34: 347-365, 1953.

GOMIEIRO, L. M & BRAGA, F. M. S. Diversity of the ichthyofauna in the Serra do Mar State Park – Núcleo Santa Virgínia, São Paulo, Brazil. **Acta Scientiarum**, Biological Sciences 28: 213-218, 2006.

KADRY, V. O; & BARRETO, R. E. Environmental enrichment reduces aggression of pearl cichlid, *Geophagus brasiliensis*, during resident-intruder interactions. **Neotropical Ichthyology**, 8(2), 329-332, 2010.

KULLANDER, S. O. Family Cichlidae (Cichlids). In: REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS, Jr., C. J. (Ed.). **Check list of the freshwater fishes of South and Central America**. Porto Alegre: EDIPUCRS, p. 605-654, 2003.

LIMA-JUNIOR, D. P; MAGALHÃES, A. L. B; VITULE, J. R. S. Dams, politics and drought threat: the March of folly in Brazilian freshwaters ecosystems. **Natureza & Conservação** 13:196–198. 2015.

LÓPEZ, H., R. MENNI, M. DONATO & A. MIQUELARENA. Biogeographical revision of Argentina (Andean and Neotropical Regions): an analysis using freshwater fishes. **Journal of Biogeography**, 35, 1564-1579. 2008.

LOYOLA, R. Brazil cannot risk its environmental leadership. **Divers. Distrib.** 20:1365–1367. 2014.

LUCAS, M.C. & E. BARAS. **Migration of freshwater fishes**. Osney Mead, Blackwell Science, 420p, 2001.

- MAZZONI, R., & IGLESIAS-RIOS, R. Environmentally related life history variations in *Geophagus brasiliensis*. **Journal of Fish Biology**, 61(6), 1606-1618, 2002.
- MAZZONI, R., SCHUBART, S. A.; IGLESIAS-RIOS, R. Longitudinal segregations of *Astyanax janaeirensis* in Rio Ubatiba: a Neotropical stream of south-east Brazil. **Ecology of Freshwater Fish**, 13: 231-234, 2004.
- MAZZONI, R.; MENDONÇA, R. S.; CARAMASCHI, E. P. Reproductive biology *Astyanax janaeirensis* (Osteichthyes, Characidae) from the Ubatiba River, Maricá, RJ, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, 65: 643-649, 2005.
- MAZZONI, R. & COSTA, L. D. S. Feeding ecology of stream-dwelling fishes from a coastal stream in the Southeast of Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 50(4): 627-635, 2007.
- MAZZONI, R. & IGLESIAS-RIOS, R. Patterns of investment of the reproductive strategy of two stream-dwelling Characidae. **Brazilian Journal of Biology**, v. 67, n. 4, p. 695-699, 2007.
- MAZZONI, R. & IGLESIAS-RIOS, R. Movement patterns of stream-dwelling fishes from Mata Atlântica, Southeast Brazil. **Revista de Biologia Tropical**, 60(4): 1837-1846, 2012.
- MENEZES, N. A., WEITZMAN, S. H., OYAKAWA, O. T., LIMA, F. C. T., CASTRO, R. M. & WEITZMAN, M. J. **Peixes de água doce da Mata Atlântica: lista preliminar das espécies e comentários sobre conservação de peixes de água doce neotropicais**. Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo. 2007.
- MIRANDA, J. C. Ameaças aos peixes de riachos da Mata Atlântica. **Natureza On Line (Espírito Santo)**, v. 10, p. 136-139, 2012.
- MORELLI, K. A. **Migração do Curimbatá (*Prochilodus lineatus*, Prochilodontidae, Characiformes) no Rio Mogi-guaçu: Aspectos genéticos populacionais**. Tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu, 2008.
- MYERS N.; MITTERMEIER, C. G.; FONSECA, G. & KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, 408: 853-858, 2000.
- NASCIMENTO, A. T. A., DE OLIVEIRA NEVES, A. C., MARTINS, R. P., & COUTINHO, F. Â. Conservação da biodiversidade e dinâmica ecológica espacial: evolução da teoria. **Oecologia Australis**, 16(2), 156-164, 2012.
- NATHAN, Ran. An emerging movement ecology paradigm. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 49, p. 19050-19051, 2008.
- OYAKAWA, O. T; AKAMA, A; MAUTARI, K. C. & NOLASCO, J. C. **Peixes de Riachos da Mata Atlântica**. São Paulo: Editora Neotropica, 2006.
- OLIVEIRA, D. C. & BENNEMANN, S. T. Ictiofauna, recursos alimentares e relações com as interferências antrópicas em um riacho urbano no sul do Brasil. **Biota Neotropica**, v. 5, n. 1, p. 95-107, 2005.

- PARAGUASSÚ, A. R., D. R. ALVES & J. L. LUQUEL. Metazoários parasitos do acará, *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824) (Osteichthyes: Cichlidae) do Reservatório de Lajes, do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 14: 35-39, 2005.
- REIS, R. E; KULLANDER, S. O. & FERRARI JR, C. J. **Check list of the freshwater fishes of South and Central America**. EDPUCRS, Porto Alegre, Brasil. 2003.
- REIS, R. E; ALBERT, J. S; DI DARIO, F; MINCARONE, M. M; PETRY, P. & ROCHA, L. A. Fish biodiversity and conservation in South America. **Journal of Fish Biology**, v. 89, n. 1, p. 12-47, 2016.
- ROSSINI, B. C., Oliveira, C. A. M., MELO, F. A. G., ARAÚJO BERTACO, V., ASTARLOA, J. M. D., ROSSO, J. J., FORESTI, F. & OLIVEIRA, C. Highlighting *Astyanax* species diversity through DNA barcoding. **PloS one**, v. 11, n. 12, p. e0167203, 2016.
- TEIXEIRA, T.P.; PINTO, B.C.T; TERRA, B. F; ESTILIANO, E.O; GRACIA, D; ARAUJO, F. G. Diversidade das assembleias de peixes nas quatro unidades geográficas do rio Paraíba do Sul. **Iheringia, Série Zoologia** 95:347–357, 2005.
- WINEMILLER, K. O. Patterns of variation in life history among South American fishes in seasonal environments. **Oecologia** 81:225–24, 1989.
- WINEMILLER, K. O. & JEPSEN, D. B. “Effects of seasonality and fish movement on tropical river food webs”. **Journal of Fish Biology**, 53: 267-296, 1998.
- WINEMILLER, K. O.; AGOSTINHO, A. A.; CARAMASCHI, E. P. Fish ecology in tropical streams. **Tropical stream ecology**, p. 107-146, 2008.
- VANNOTE, R. L., MINSHALI, G. W., CUMMINS, K. W., SEDELL, J. R., & CUSHING, C. E. The river continuum concept. **Canadian journal of fisheries and aquatic sciences**, 37(1), 130-137, 1980.
- VAZZOLER, A. E. A.; MENEZES, N. A. Síntese dos conhecimentos sobre o comportamento reprodutivo dos Characiformes da América do Sul (Teleostei, Ostariophysi). **Revista Brasileira de Biologia**, v.52, p.627-640, 1992.

2. MOVIMENTO DE DUAS ESPÉCIES DE PEIXES NO RIO UBATIBA, MARICÁ – RJ

O conhecimento dos mecanismos de variação espacial e temporal é uma das questões mais importantes a serem desvendadas em estudos de ecologia de populações e comunidades (LOBÓN-CERVIÁ & RINCÓN, 2004).

Os peixes de água doce se movem vertical e horizontalmente através da paisagem aquática por uma variedade de razões, como encontrar e explorar recursos irregulares ou localizar habitats essenciais (por exemplo, para desova). Nos dias atuais há uma grande número de ferramentas disponíveis para estudar o movimento dos peixes (por exemplo, telemetria, genética populacional, hidroacústica, microquímica de otolitos, análise isotópica estável e marcação e recaptura), gerando conhecimentos que podem agora ser incorporados na avaliação biológica e no manejo da pesca (COOKE *et al.*, 2016).

A marcação e recaptura é uma das formas mais utilizadas para o estudo de movimento de peixes devido a sua aplicabilidade a um grande número de espécies e indivíduos (STENSETH & LIDICKER, 1992), podendo ser avaliadas informações como crescimento, mortalidade, dispersão e reprodução (BRENNAN *et al.*, 2007). Durante algum tempo estudos de marcação com peixes de pequeno porte foram realizadas com implantes visuais fluorescentes de elastômero (HALE & GRAY, 1998; FITZGERALD *et al.*, 2004; OLSEN *et al.*, 2004; BRENNAN *et al.*, 2007; FRYDA *et al.*, 2007; FICKE & MYRICK, 2009; MAZZONI & IGLESIAS-RIOS, 2012). No entanto, o emprego dessa forma de marcação não permite avaliar aspectos individuais da história de vida das espécies, como crescimento e área de vida por exemplo, devido a dificuldade de fazer marcações individuais com as cores. Os marcadores individuais mais utilizados são as chamadas de “tags alfa-numéricas” os quais podem ser internos ou externos (LEAL *et al.*, 2012) e fornecem informações individuais de crescimento, mortalidade e dispersão com maior fidelidade ao comportamento das espécies (SCHULZ, 1997; BRENNAN *et al.*, 2007).

O movimento de um organismo é definido como a mudança da posição do indivíduo em um dado intervalo de tempo, sendo uma característica fundamental da vida, regulada por processos que atuam ao longo de múltiplas escalas espaciais e temporais (NATHAN *et al.*, 2008). Os movimentos individuais de animais constituem processos importantes e altamente complexos que influenciam o resultado de muitos processos ecológicos de grande escala (PEDERSEN *et al.*, 2011), tais como estruturação das populações, comunidades e

ecossistemas, transferências de energia (HALL, 1972) segregação de tamanho corporal ao longo do rio (MAZZONI *et al.*, 2004), ligações entre populações de "fonte" e "sumidouro", colonização de habitats isolados ou recém-disponíveis (TAYLOR, 1997; LONZARICH *et al.*, 1998), e padrões de segregação ontogenéticas (HUGHES, 1998). Além disso, também são considerados uns dos principais fatores responsáveis pela estabilidade de comunidades de peixes, sendo os maiores valores de estabilidade associados às altas taxas de movimento (MARTIN-SMITH *et al.*, 1999; ALBANESE *et al.*, 2009).

Vários relatos indicam que as taxas de movimento dentro da área de vida de uma espécie tem relação positiva com a disponibilidade de recursos tróficos (HUEY & PIANKA, 1981), com o grau de territorialidade (HANSEN & CLOSS, 2005), com o tamanho do corpo d'água (WOOLNOUGH *et al.*, 2009) e também com o período reprodutivo (NATHAN, 2008; MAZZONI & IGLESIAS-RIOS, 2012).

De acordo com Nathan (2008), a área de vida de uma dada espécie reflete a distância regularmente viajada pelos organismos da população e é definida como o limite exterior do movimento realizado para desenvolvimento de suas atividades vitais (ex. alimentação, reprodução e refúgio). Nesse contexto, em ambientes temperados, alguns fatores como época do ano, período reprodutivo e características fisiográficas do ambiente tem importante influência no padrão de movimento dos peixes, além de refletir a dinâmica temporal da estrutura dessas comunidades (HANSEN & CLOSS, 2005).

Gerking (1959) propôs a teoria: O "Paradigma do Movimento Restrito" (PMR) em seu trabalho intitulado "O movimento restrito das populações de peixes". A teoria afirma que peixes adultos são sedentários e passam a maior parte de suas vidas em um curto espaço (20-50 m) do riacho. Essa idéia foi bem aceita na época e orientou grande parte das pesquisas acerca da dinâmica populacional de peixes de riachos nos 30 anos consecutivos (GOWAN *et al.*, 1994; RODRÍGUEZ, 2002). No entanto em 1994 a PMR foi contestada através de um trabalho sobre movimentos de salmonídeos residentes em riachos (GOWAN *et al.*, 1994). Posteriormente, outros estudos documentaram movimentos substanciais para outras espécies de riacho (RILEY *et al.*, 1992; YOUNG, 1994; GOWAN & FAUSCH, 1996, 2002). Até os dias de hoje, estudos com interesse nos movimentos de peixes de riachos vêm sendo desenvolvidos (*e.g.* MEYER & HINRICHS, 2000; SKALSKI & GILLIAN, 2000; SCHMETTERLING & ADAMS, 2004; SLAVIK *et al.*, 2005; RODRIGUEZ 2002; MAZZONI & IGLESIAS-RIOS, 2012; PIRES *et al.*, 2014; BARROS, 2017; BRANCO *et al.*, 2017).

De acordo com Mazzoni & Iglesias-Rios (2012) os movimentos dos peixes de riachos podem ser curtos (até 50 metros) ou longos (mais que 50 metros), dependendo dos fatores bióticos e abióticos que estão agindo sobre eles. Diariamente, os indivíduos podem nadar poucas distâncias em busca de alimento, abrigo ou repouso. Em períodos sazonais os peixes podem empreender movimentos com distâncias maiores, em função de alterações dos recursos e/ou condições do rio na área de vida que ele ocupa, forçando-os a migrarem para regiões mais distantes e com maior qualidade de recursos (SILVA, 2013; MARSHALL *et al.*, 2016). Esses movimentos tem importância na dinâmica de metapopulações (HANSKI, 1999). Além disso, a dispersão pode afetar a variação genética dentro e entre as populações através de fluxo gênico, influenciando assim a persistência da população e organização espacial das mesmas, tanto em nível de população local quanto de metapopulação (FRASER *et al.*, 2004).

A capacidade de movimento dos peixes está diretamente relacionada com as suas características morfológicas (BREDA *et al.*, 2005). Sendo assim, para empregar movimentos para montante, em contrafluxo, as condições corporais adequadas são muito importantes, pois a atividade demanda um maior gasto energético (LOWE *et al.*, 2006).

Apesar dos trabalhos sobre movimentos de peixes em riachos estarem aumentando nas últimas décadas (WINEMILLER & JEPSEN, 1998; SKALSKI & GILLIAM, 2000; MAZZONI & IGLESIAS-RIOS, 2012; SILVA, 2013; PÉPINO *et al.*, 2016; BARROS, 2017), as informações sobre o comportamento de movimento de muitas espécies ainda são limitadas e muitas vezes contraditórias, especialmente daquelas que estão ameaçadas de extinção e/ou sem interesse econômico. Nesse contexto, salientamos a importância de conhecer melhor os movimentos das espécies de riacho, considerando que esse conhecimento é necessário para a melhor compreensão da biologia das espécies, além de auxiliar o desenvolvimento de estratégias de conservação (KNAEPKENS *et al.*, 2005).

No presente estudo avaliamos os padrões de movimentos de duas espécies (*Astyanax hastatus* e *Geophagus brasiliensis*) com morfologia e história de vida distintas. Temos como hipótese que *Astyanax hastatus*, por ser um Characiforme, é uma espécie que deve realizar amplos movimentos e apresentar uma maior área de vida, pois essa é uma característica típica das espécies do grupo. Por outro lado, esperamos que *Geophagus brasiliensis*, por pertencer à um grupo típico de espécies que têm cuidado parental e são territorialistas, seja uma espécie sedentária, de pouco movimento e menor área de vida.

Variáveis como precipitação e estiagem são fatores importantes na estrutura das populações (NEIFF, 1990). O início da época chuvosa atua como um gatilho para a reprodução de peixes (BAILY *et al.*, 2008). Apesar de *A. hastatus* ser uma espécie que se

reproduz ao longo de todo ano no Rio Ubatiba (MAZZONI & IGLESIAS-RIOS, 2007), segundo). Buscamos verificar se há uma maior frequência de deslocamentos em períodos de chuva, visto que o movimento das duas espécies já foi documentado por Mazzoni e Iglesias-Rios (2012) durante o período de estiagem.

2.1 Objetivo geral

Comparar as espécies *A. hastatus* e *G. brasiliensis* no que se refere ao comportamento de movimento e avaliar a dinâmica desse comportamento durante a estação chuvosa, no Rio Ubatiba, RJ.

2.1.1 Objetivos específicos

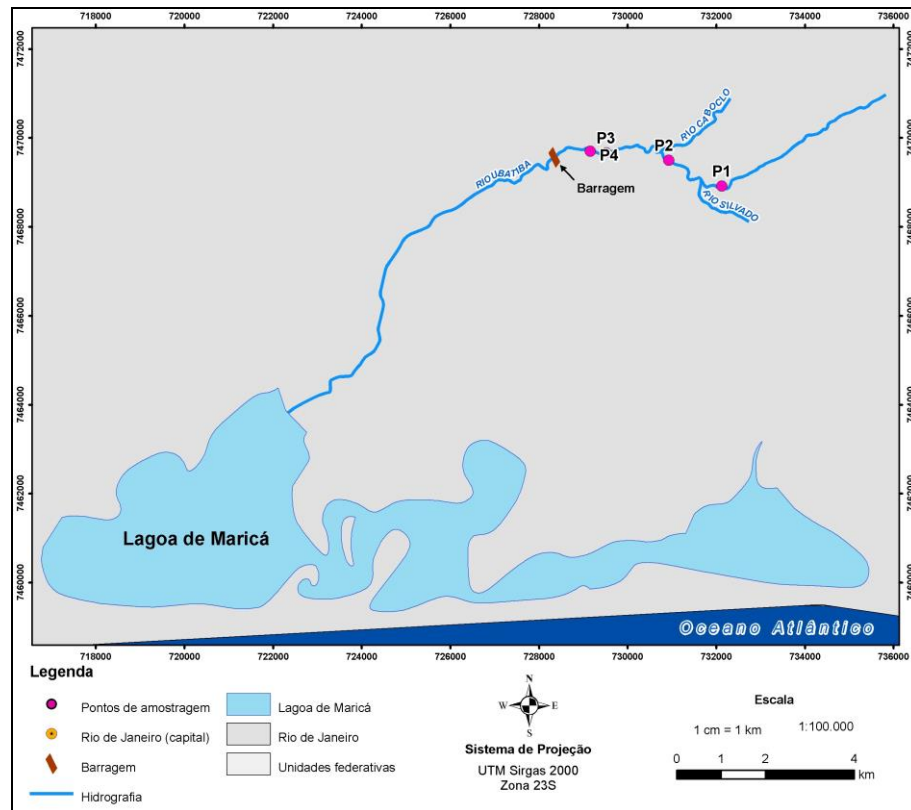
- Confirmar se o movimento realizado pelas espécies são de curta ou longa distância.
- Verificar se existe relação entre crescimento e deslocamento.
- Determinar a área de vida das duas espécies.

2.2 Material e métodos

2.2.1 Área de estudo

O Rio Ubatiba é um riacho de Mata Atlântica localizado na Região dos Lagos no norte fluminense no município de Maricá a aproximadamente 70 km da cidade do Rio de Janeiro (22°60'S e 42°48'W). Para esse trabalho foram amostradas 4 localidades dispostas ao longo dos trechos médio e superior da calha principal do Rio Ubatiba (Figura 11).

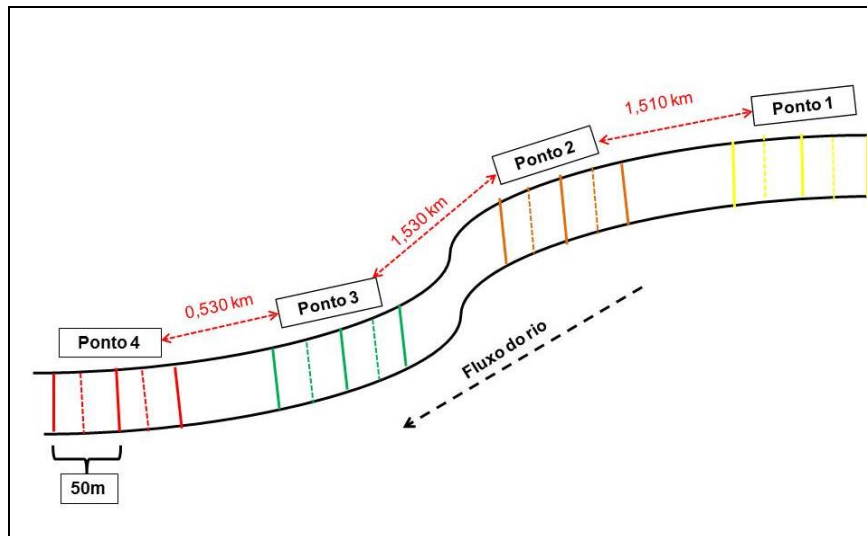
Figura 11 - Mapa do Rio Ubatiba com os quatro pontos de amostragens utilizados para captura, marcação e recaptura.



2.2.2 Coleta de peixes, marcação e recaptura

Para amostragem de peixes e detecção de movimentos ao longo do riacho foram realizadas três campanhas de marcação e recaptura entre os meses de dezembro de 2016 e janeiro de 2017 em quatro pontos amostrais. Para cada ponto foram delimitadas duas áreas subsequentes de 50 metros que foram divididas em áreas de 25 metros, para facilitar a identificação de movimentos de curta distância. (Figura 12). A distância entre os pontos de coleta foi mensurada através de imagem de satélite (Google earth).

Figura 12 - Esquema mostrando os pontos onde os peixes foram marcados e recapturados, tamanho das áreas de marcação e distância entre os pontos amostrais.



Os peixes foram capturados utilizando a técnica de pesca elétrica (MAZZONI *et al.*, 2000) do ponto mais a jusante para o mais a montante a partir de três capturas sucessivas em cada um dos trechos de 50 metros. Cada trecho amostral foi limitado à jusante e à montante, com redes de malha 0,5cm, para evitar fugas e assim capturar todos os indivíduos de *A. hastatus* e *G. brasiliensis* presentes naquele trecho de rio (Figura 13).

Figura 13 - Coleta de peixes através da técnica de pesca elétrica em um dos pontos do rio Ubatiba, Maricá - RJ.



A identificação das espécies foi feita visualmente, no caso do Rio Ubatiba a identificação das duas espécies foi facilitada, uma vez que para esse riacho são descritas apenas duas espécies do gênero *Astyanax* e uma do gênero *Geophagus* (MAZZONI & LOBÓN-CERVIÁ, 2000). Uma vez coletados todos os indivíduos eram colocados em caixas teladas dentro do próprio rio, fora da ação da eletricidade, para se recuperarem da mesma. Posteriormente foram anestesiados com tricaina metano sulfonato (TMS, MS222- nome comercial Tricaine-S). A administração do anestésico foi realizado por via respiratória, através das guelras, sendo cada indivíduo colocado em um balde com o produto diluído em água, seguindo as concentrações informadas pelo fabricante (Tricaine, S, 2015). O estado de anestesia foi confirmado após diminuição no batimento das nadadeiras. Após anestesiados, os peixes tiveram seu comprimento padrão medido e foram marcados com um implante visual (Visible Implant Alpha da Northwest Marine Technology, Inc), que são com etiquetas coloridas e biocompatíveis. A marcação foi realizada por implantes subcutaneos em região dorsal, próximo a nadadeira dorsal (Figura 14). Após marcados todos os exemplares eram devolvidos para uma segunda caixa também dentro do rio para que pudessem se recuperar até serem soltos dentro do mesmo trecho. Para cada ponto de marcação foi estabelecida uma cor de marcação para reconhecimento direto do movimento.

Figura 14 - Fotos mostrando a marcação dos indivíduos capturados



Legenda: a = etiquetas sendo destacadas e passadas para seringa de aplicação e b = indivíduo de *Astyanax hastatus* já marcado.

Os eventos de recaptura foram realizados 15 e 25 dias após a marcação, nos quatro pontos de amostragem ao longo do rio Ubatiba, a partir da mesma metodologia de captura utilizada para as marcações. Os peixes capturados durante os eventos de recaptura que não

estavam marcados passavam pelo mesmo processo de marcação, com intuito de aumentar o tamanho amostral para as análises de movimento.

2.2.3 Análise de dados

A proporção de indivíduos marcados e recapturados, proporção de indivíduos com e sem movimento, e a quantificação e orientação dos movimentos registrados para as duas espécies foram analisados visualmente a partir da observação de frequência. O crescimento médio de cada espécie foi estimado a partir da média do crescimento absoluto em mm para 15, 25 e 40 dias. Foi considerada como área de vida a distância máxima percorrida pelos indivíduos de *A. hastatus* e *G. brasiliensis*.

Diferenças significativas da média de distribuição de distâncias percorridas foram determinadas através de teste não-paramétrico de Mann-Whitney entre as duas espécies. O teste de Mann-Whitney é um caso especial do teste de Wilcoxon, análogo ao teste-T, quando comparadas as médias de duas amostras com dados não paramétricos. Diferenças nos padrões de movimento entre as duas espécies foram determinadas através de teste χ^2 de McNemar entre as proporções de indivíduos com e sem movimento. O teste χ^2 de McNemar compara dados dicotômicos pareados (*A. hastatus* com movimento e sem movimento, e assim também para *G. brasiliensis*) e testa a hipótese nula de que as proporções dos indivíduos com e sem movimento são iguais entre as espécies.

Para determinar uma possível orientação no movimento dos indivíduos da espécie, foi realizada uma estimativa da densidade de Kernel para movimentos a montante e a jusante dos indivíduos de *A. hastatus* e *G. brasiliensis*. Densidade de Kernel é comumente utilizada em estudos de estimativa de área de vida em outros táxons (e.g. WILLIAMS *et al.*, 2014; CHIRIMA & OWEN-SMITH, 2015; BARROS, 2017) e utiliza a densidade de movimentos dos indivíduos para determinar a probabilidade do mesmo estar presente a determinada distância de seu local de origem (WILLIAMS *et al.*, 2014; CHIRIMA & OWEN-SMITH, 2015). Neste trabalho, a densidade Kernel foi utilizada para representar a probabilidade de um indivíduo qualquer de *A. hastatus* e *G. brasiliensis* marcado ser encontrado em uma determinada distância a montante ou a jusante do trecho no qual foi originalmente capturado e marcado.

Para testar se houve relação significativa entre o investimento em deslocamento e o investimento em crescimento dos indivíduos de cada espécie, foi realizado um teste de

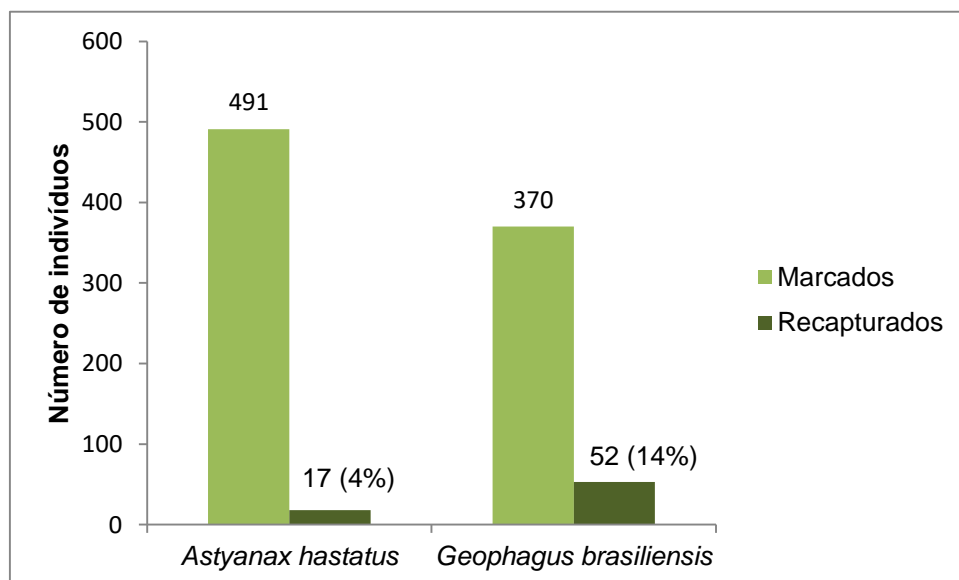
correlação não-paramétrica de Spearman. Foi determinado como investimento em deslocamento, a distância em metros percorrida por cada indivíduo em um certo intervalo de tempo. Foi determinado como crescimento, a razão do crescimento absoluto de cada indivíduo pelo seu tamanho corporal em um momento anterior (crescimento relativo). Valores duplo-zero (indivíduos que não cresceram e não se movimentaram) foram excluídos desta análise.

Todas as análises realizadas, bem como os gráficos gerados, foram conduzidos no programa R 3.2.3 (R Core Team, 2015).

2.3 Resultados

Dos 491 indivíduos de *Astyanax hastatus* marcados, 17 foram recapturados durante as duas campanhas de recaptura, representando 4% do total marcado. Para *Geophagus brasiliensis*, dos 370 exemplares marcados a recaptura foi de 14% com 52 indivíduos recapturados também durante as duas campanhas (**Figura 15**).

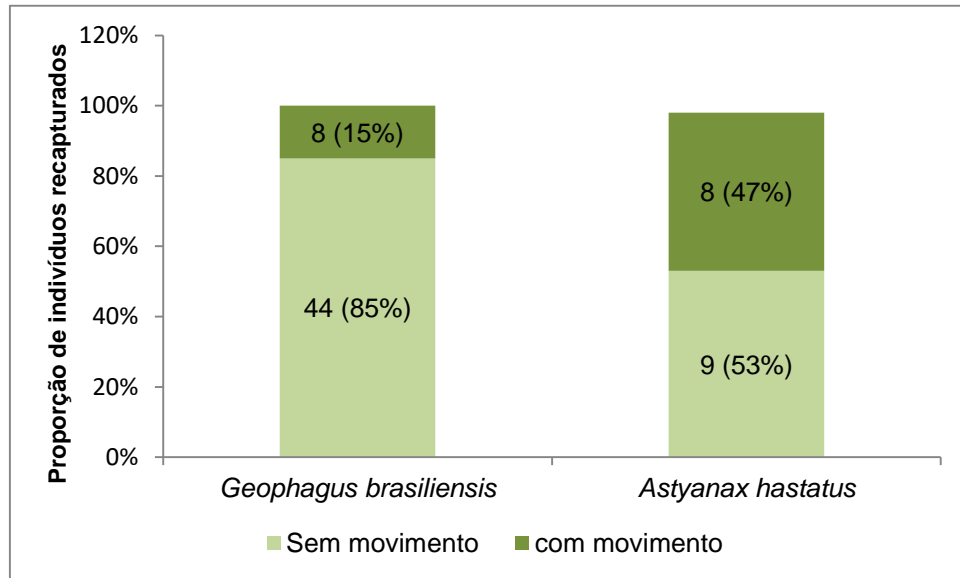
Figura 15 - Proporção de indivíduos de *A. hastatus* e *G. brasiliensis* marcados e recapturados.



Não foi encontrada diferença significativa entre as proporções de indivíduos com e sem movimento (McNemar $\chi^2 = 0,1$; $p = 1$) para ambas as espécies. Para *G. brasiliensis* quarenta e quatro indivíduos (85%) permaneceram no trecho de origem, enquanto oito indivíduos (15%) se deslocaram no máximo 50 metros. Para *A. hastatus*, nove indivíduos

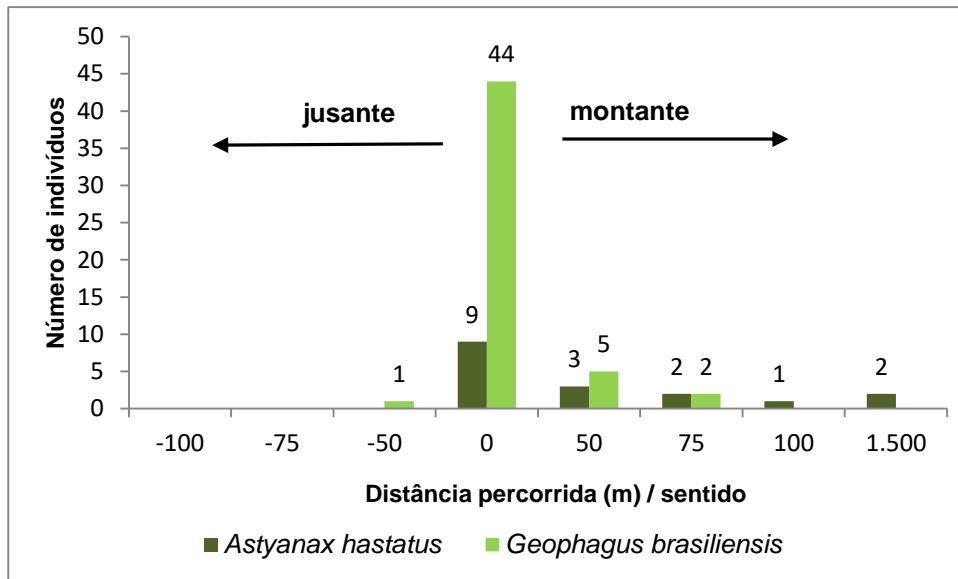
(53%) permaneceram no trecho de origem, enquanto oito indivíduos (47%) se deslocaram a uma distância de até 1500 metros (em dois casos) (Figura 16).

Figura 16 - Proporção de indivíduos de *A. hastatus* e *G. brasiliensis* com e sem movimento.



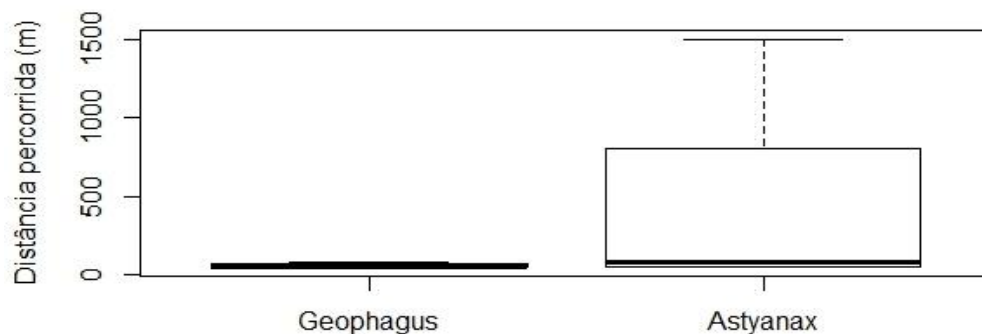
Para ambas as espécies, apesar do baixo número de indivíduos capturados com movimento, foi observado que, proporcionalmente *A. hastatus* realizou mais movimento e também percorreu distâncias maiores que *G. brasiliensis*. Outro fato observado foi com relação a orientação do movimento, sempre ocorrendo no sentido montante para *A. hastatus* (Figura 17).

Figura 17 - Distância percorrida (m) por ambas as espécies e o sentido (valores negativos correspondem a movimentos no sentido jusante e valores positivos a sentido montante).



Apesar da amplitude de movimentos para *A. hastatus* ser visualmente maior (Figura 18), não foram encontradas diferenças significativas entre as médias de distâncias percorridas entre as duas espécies (Mann-Whitney, $W = 17$; $p = 0,09$).

Figura 18 - Distâncias percorridas por indivíduos de *Geophagus brasiliensis* e *Astyanax hastatus* no Rio Ubatiba, RJ.



Em relação a densidade foi observado para *A. hastatus* (Figura 19), uma maior densidade Kernel de indivíduos sedentários (ca. 0,8% da densidade), mas uma cauda longa de densidade de movimento orientada no sentido montante, atingindo até 1500 m (representado por dois indivíduos). Para os movimentos de *G. brasiliensis*, as estimativas de densidade Kernel sugerem uma maior densidade de indivíduos sedentários, recapturados em seu trecho

de origem (ca. 4% da densidade) e baixas densidades de movimento em ambos os sentidos, tanto a jusante como a montante, deslocando-se no máximo 100 m (Figura 19).

Figura 19 - Estimativa de densidade de Kernel para movimentos de *Astyanax hastatus* a montante e a jusante do trecho de origem.

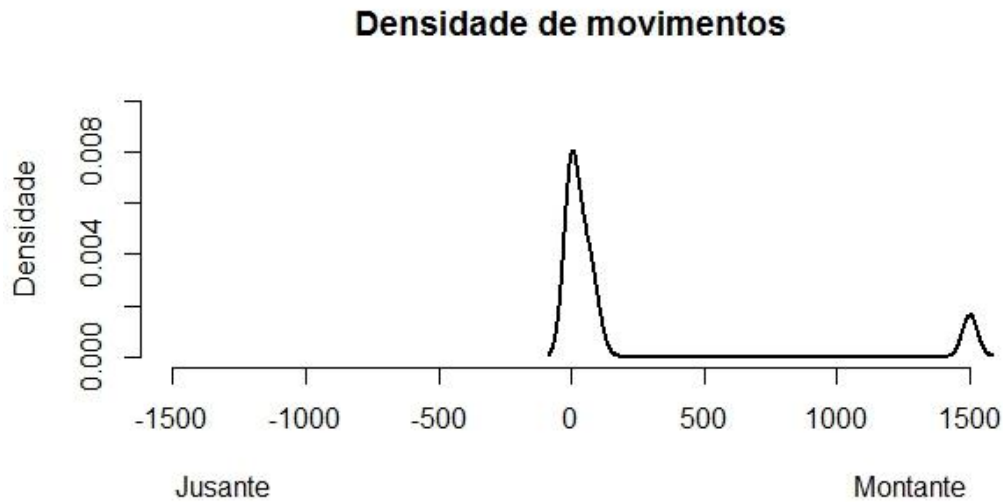
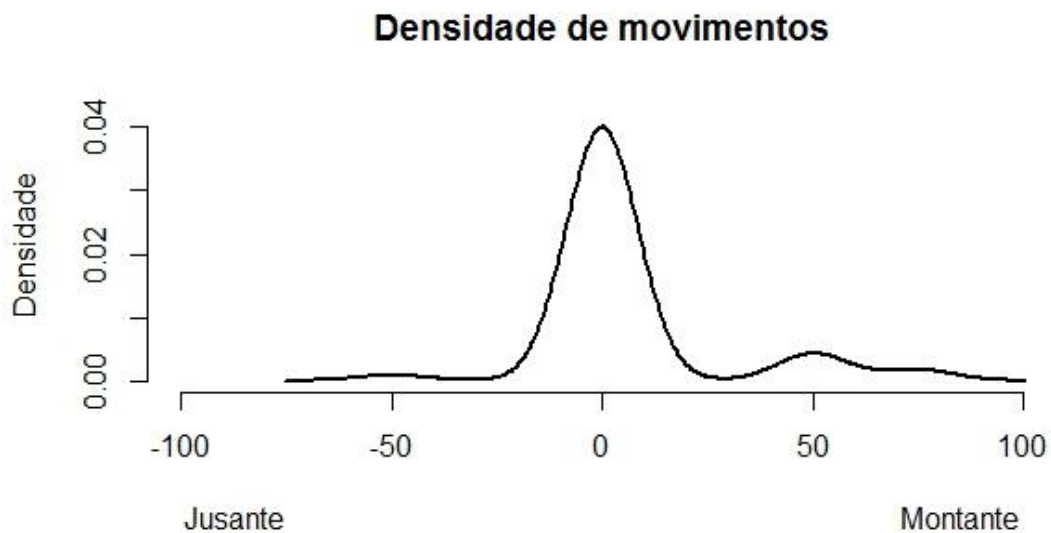
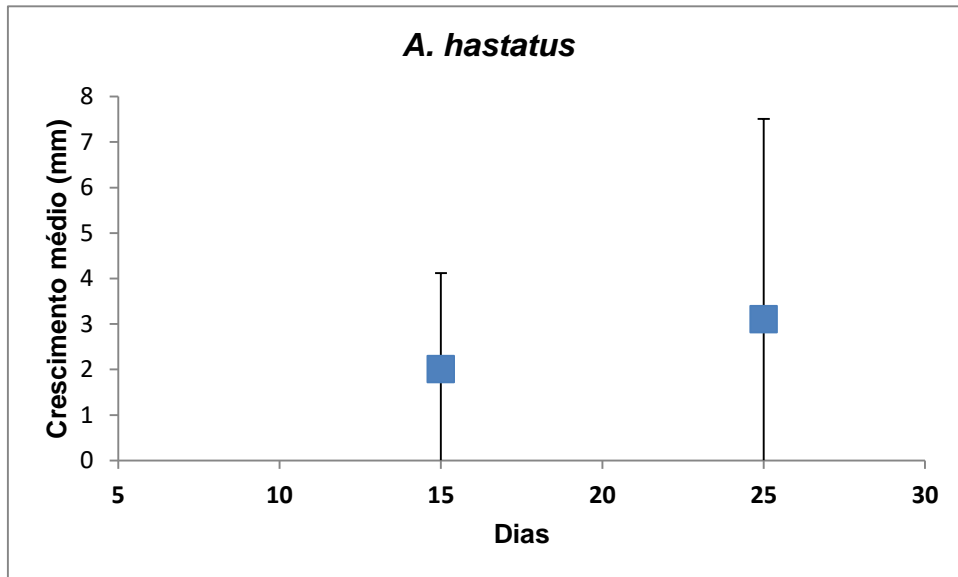


Figura 20 - Estimativa de densidade de Kernel para movimentos de *Geophagus brasiliensis* a montante e a jusante do trecho de origem.



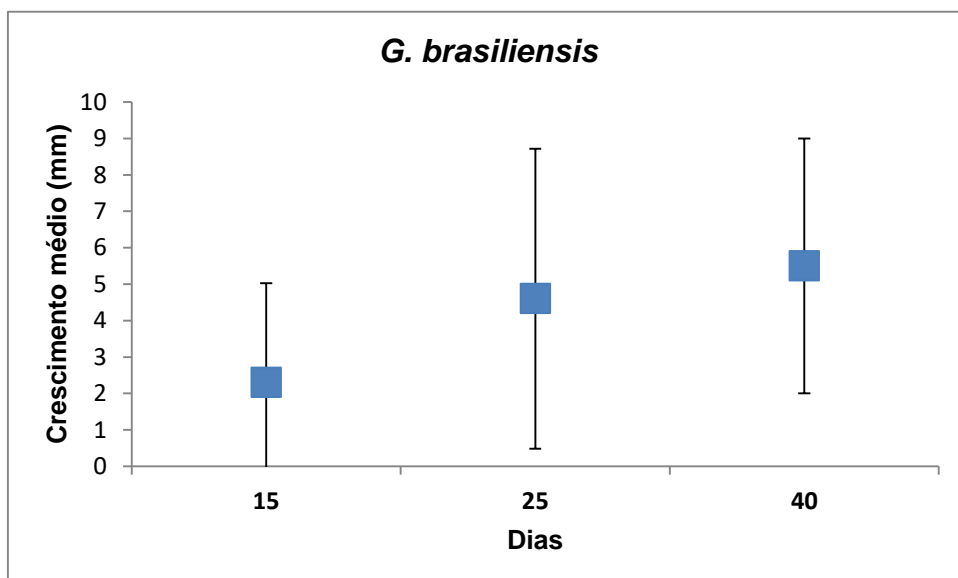
Para a espécie *A. hastatus* o crescimento em 15 dias variou de 3mm a 5mm e em 25 dias de 2mm a 16mm, sendo o crescimento médio de 2mm para 15 dias e 3,1mm em 25 dias. O alto desvio padrão indica um crescimento bastante heterogêneo dos indivíduos das populações de *A. hastatus* (Figura 21).

Figura 21 - Crescimento médio de *A. hastatus* no Rio Ubatiba em 15 e 25 dias.



Já para a espécie *G. brasiliensis* o crescimento em 15 dias variou de 1mm a 8mm e em 25 dias de 1mm a 15mm, sendo o crescimento médio de 2,3mm para 15 dias, 4,6mm em 25 dias e 5,5mm em 40 dias. Assim como para *A. hastatus* o alto desvio padrão também indica um crescimento heterogêneo dos indivíduos das populações de *G. brasiliensis* (Figura 22).

Figura 22 - Crescimento médio de *G. brasiliensis* no Rio Ubatiba em 15 e 25 dias.



Tanto para *A. hastatus* quanto para *G. brasiliensis* não houve correlação entre o deslocamento e o crescimento relativo individual (*A. hastatus* - $Rho = 0,144$; $p = 0,56$) e (*G.*

brasiliensis - $Rho = 0,047$; $p = 0,76$), indicando não haver relação entre o deslocamento e o crescimento para essas espécies no Rio Ubatiba, RJ. (Figura 23e Figura 24).

Figura 23 - Correlação entre o deslocamento de indivíduos de *A. hastatus* e seu crescimento relativo em um tempo determinado.

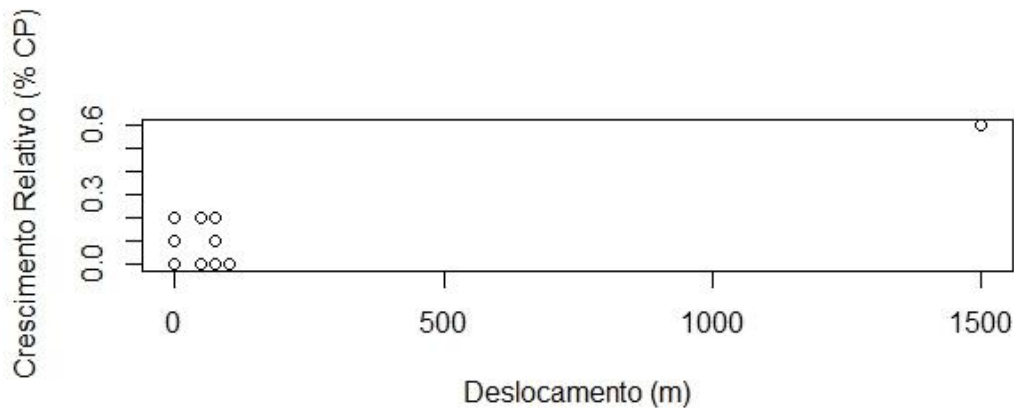
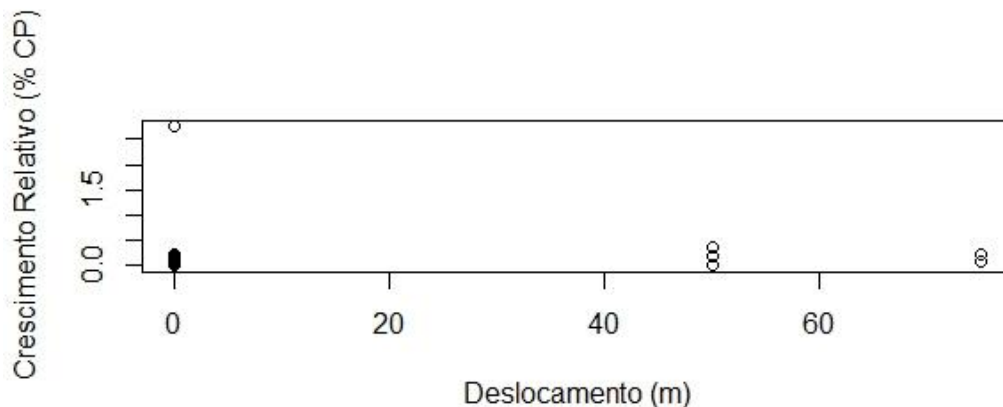


Figura 24 - Correlação entre o deslocamento de indivíduos de *G. brasiliensis* e seu crescimento relativo em um tempo determinado



2.4 Discussão

O movimento dos animais é um processo importante que liga habitats em paisagens heterogêneas, e pode ser crítico para a manutenção e persistência das populações no longo prazo (HANSKI & GAGGIOTTI, 2004; MARSHALL *et al.*, 2016).

A dificuldade de se registrar o movimento da maioria dos táxons, faz da captura, marcação e recaptura (YAMAMURA *et al.*, 2003; MAKRAKIS *et al.*, 2007; MAZZONI & IGLESIAS-RIOS, 2012) importante ferramenta do estudo de movimento (LEAL *et al.*, 2012). No entanto, a baixa recaptura para peixes é um fato comum em estudos de marcação e

recaptura (PORTO *et al.*, 1999; SMITHSON & JOHNSTON, 1999; MAZZONI & IGLESIAS-RIOS, 2012). Um grande número de peixes não recapturados também permite especular que esses indivíduos se deslocaram para regiões do rio fora da área de estudo. Não é possível afirmar que a não recaptura desses indivíduos marcados seja uma prova que eles se movimentaram, mas pode ser um indício de deslocamentos que não foram detectados, por estarem em outros trechos do rio que não foram amostrados.

Apesar de não ter sido encontrada diferença significativa entre as proporções de indivíduos com e sem movimento para ambas as espécies, os resultados indicam que *G. brasiliensis* apresentou comportamento mais sedentário que *A. hastatus*. A família Cichlidae compreende espécies com comportamento residente e agressivo (TURNER, 1994; BARRETO & VOLPATO, 2006; HIRSCHENHAUSER *et al.*, 2008). O comportamento territorialista e defensivo de *G. brasiliensis* é bem documentado na literatura (PARAGUASSÚ *et al.*, 2005; KADRY & BARRETO, 2010), a espécie apresenta cuidado parental e mantém locais de nidificação relativamente pequenos (cerca de 1-2m de diâmetro), que são defendidos contra outros peixes, principalmente os potenciais predadores (KOHDA, 1991, 1994). Essas características da história de vida da *G. brasiliensis* justificam a baixa taxa de movimento registrada para essa espécie no rio Ubatiba.

Já para *A. hastatus* os resultados mostraram que apesar do N amostral baixo, 47% dos indivíduos foram capturados em local diferente da marcação. Movimentos longitudinais já haviam sido registrados para a espécie por Mazzoni & Iglesias-Rios (2012) no mesmo rio, porém em um período sazonal diferente (seco). Mazzoni *et al.*, (2005) estudando a reprodução de *Astyanax janeiroensis*, observou que a mesma se reproduz ao longo de nove meses do ciclo anual, possivelmente em virtude da instável hidrologia do rio Ubatiba, os resultados encontrados por Mazzoni *et al.*, (2005) sugerem que as espécies nesse sistema (Rio Ubatiba) não apresentem um período reprodutivo demarcado, o que dificulta afirmar se os deslocamentos empregados por *A. hastatus* esteja relacionado à atividade reprodutiva.

É mais provável que os movimentos estejam mais relacionados à busca por recursos alimentares para suprir suas demandas energéticas, ou ainda ser um mecanismo para redução de competição intra-específica. Segundo LUCAS & BARAS, (2001) a orientação do movimento (montante ou jusante) pode ser um indicativo do objetivo do mesmo, para fins reprodutivos, alimentares e de abrigo. Diferentes tipos de deslocamentos longitudinais implicam em diferentes gastos energéticos para os peixes, pois a correnteza gera forças de resistência ao movimento (WEBB & WEIHS, 1986; SFAKIOTAKIS *et al.*, 1999). A movimentação em busca de recursos, pode ser reforçada pelo fato de a maior parte dos

movimentos observados nesse estudo estarem direcionados no sentido montante, com apenas um indivíduo de *G. brasiliensis* sendo capturado a jusante. No rio Ubatiba os resultados mostram que as espécies estão tendo um maior gasto energético para se deslocar, uma vez que nadar contra a correnteza demanda uma melhor capacidade natatória pelos indivíduos que as enfrentam e um maior gasto de energia (LIAO *et al.*, 2003; SAMPAIO *et al.*, 2012). Porém esse maior gasto pode ser compensado com uma maior oferta de recursos e microhabitats encontrados em ambientes mais conservados, como é o caso do trecho superior de muitos riachos de Mata atlântica (CASATTI, 2010) como o rio Ubatiba, que apresenta trechos mais conservados a montante.

A área de vida de uma espécie pode ser entendida pelas distâncias percorridas pelos indivíduos da sua população (BURT, 1943; NATHAN, 2008; MAZZONI & IGLESIAS-RIOS, 2012). Relatos indicam que as taxas de movimento dentro da área de vida de uma espécie tem relação positiva com a disponibilidade de recursos tróficos (HUEY & PIANKA, 1981), com o grau de territorialidade (HANSEN & CLOSS, 2005), com o tamanho do corpo d'água (WOOLNOUGH *et al.*, 2009) e, principalmente, com o período reprodutivo (NATHAN, 2008). Com base nos resultados observados é possível afirmar que a área de vida de *A. hastatus* é mais ampla que a de *G. brasiliensis* no Rio Ubatiba, e que essas espécies apresentam um comportamento comum à família onde estão inseridas.

Os peixes frequentemente respondem às mudanças que ocorrem no ambiente, as quais impõem mudanças sobre o crescimento, que são observadas durante sua vida. Estas são variações sazonais nas taxas de crescimento que refletem os efeitos dos fatores exógenos (ambientais) e dos fatores endógenos (assimilação) (WOOTTON, 1991). Quando enfrentam deslocamentos mais longos, independente da orientação do mesmo, indivíduos possivelmente gastam mais energia do que aqueles que permanecem sedentários, influenciando assim no crescimento. No entanto, para ambas as espécies estudadas não foram encontradas relações significativas entre deslocamento e crescimento. As taxas de crescimento foram bastante heterogêneas tanto para *G. brasiliensis* quanto para *A. hastatus*. Inúmeros são os eventos, durante a vida de uma espécie de peixe, responsáveis pelas variações que ocorrem em seus padrões de crescimento. A reprodução (BARBIERI & BARBIERI, 1983); o fotoperíodo (ROSS & HUNSTMAN, 1982); a salinidade (FAGADE, 1974); o suprimento alimentar (BEVERTON & HOLT, 1993; BRUTON & ALLANSON, 1974; BOWERING, 1978); o hábito alimentar (OLMSTED & KILAMBI, 1978) e as categorias tróficas, as quais os peixes pertencem (GRIMES, 1978).

Os peixes podem alterar seu comportamento de deslocamento ao longo do seu ciclo de vida de acordo com estímulos e/ou pressões ambientais, condições impostas por sua morfologia e necessidades fisiológicas (GOWAN & FAUSCH, 1996; RODRIGUEZ, 2002; ALBANESE *et al.*, 2004; ROBERTS & ANGERMEIER, 2007), dificultando a inferência de padrões gerais de movimento de peixes de riacho. Assim como observado no Rio Ubatiba para as duas espécies, alguns estudos apresentam em sua composição espécies com comportamento mais sedentário (APARICIO & SOSTOA, 1999; PETTY & GROSSMAN, 2004) conforme observado para *G. brasiliensis*, e outros que apresentam espécies com padrões de movimento heterogêneo, ou seja, com indivíduos sedentários e indivíduos que se movem e chegam a percorrer grandes distâncias, como é o caso de *A. hastatus* (SMITHSON & JOHNSTON, 1999; SKALSKI & GILLIAM, 2000; RODRIGUEZ, 2002; ROBERTS *et al.*, 2008; BREEN *et al.*, 2009).

O fato de *A. hastatus* realizar mais movimentos e apresentar uma maior área de vida que *G. brasiliensis*, corroborou nossa hipótese de que as características da história de vida de cada espécie está diretamente relacionada com o comportamento de movimento e dispersão dessas espécies, mesmo em ambientes com alta instabilidade ambiental como o Rio Ubatiba. E o período chuvoso não apresenta relação com aumento da taxa de movimento dessas espécies, pois os resultados foram bastante semelhantes ao observado por Mazzoni & Iglesias-Rios (2012) que estudaram o movimento dessas e de outras espécies durante o período de estiagem no Rio Ubatiba.

REFERÊNCIAS

- APARICIO E, DE SOSTOA A. Pattern of movements of adult *Barbus haasi* in a small Mediterranean stream. **Journal of Fish Biology**, 55: 1086-1095, 1999.
- ALBANESE, B.; ANGERMEIER, P.L.; DORAI-RAJ, S. Ecological correlates of fish movement in a network of Virginia streams. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences** 61: 857-869, 2004.
- ALBANESE, B., ANGERMEIER, P. L., PETERSON, J. T. Does mobility explain variation in colonisation and population recovery among stream fishes? **Freshwater Biology**, 54:1444–1460. 2009.
- ANGERMEIER, P. L.; SCHLOSSER, I. J. Spatial variation in demographic processes of lotic fishes: conceptual models, empirical evidence, and implications for conservation. 1995.
- BAILLY, D.; AGOSTINHO, A. A.; SUZUKI, H. I. Influence of the flood regime on the reproduction of fish species with different reproductive strategies in the Cuiabá river, upper Pantanal. **Brazilian River Research and Applications**, 24: 1218-1229, 2008.
- BARROS, T. F. **Estrutura populacional, estratégia reprodutiva e deslocamento de *Rhamdioglanis transfasciatus* Miranda Ribeiro, 1908, bagre endêmico de riachos costeiros de Mata Atlântica**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2017.
- BRANCO, P., AMARAL, S. D., FERREIRA, M. T., & SANTOS, J. M. Do small barriers affect the movement of freshwater fish by increasing residency?. **Science of The Total Environment**, v. 581, p. 486-494, 2017.
- BREEN, M.J.; RUETZ, C.R.; THOMPSON, K.J.; KOHLER, S.L. Movements of mottled sculpins (*Cottus bairdii*) in a Michigan stream: how restricted are they? **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 66: 31-41, 2009.
- BARBIERI, G.; BARBIERI, M. C. Growth and first sexual maturation size of *Gymnotus carpo* (Linnaeus, 1758) in the Lobo reservoir (state of São Paulo, Brazil) (Pisces, Gymnotidae). **Revue d'hydrobiologie tropicale**, v. 16, n. 2, p. 195-201, 1983.
- BARRETO, R. E. & G. L. VOLPATO. Stress responses of the fish Nile tilapia subjected to electroshock and social stressors. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 39: 1605-1612. 2006.
- BEVERTON, Raymond JH; HOLT, Sidney J. Recruitment and egg-production. In: **On the dynamics of exploited fish populations**. Springer Netherlands, 1993. p. 244-279.
- BRENNAN, N. P.; LEBER, K. M.; BLACKBURN, B. R. Use of coded-wire and visible implant elastomer tags for marine stock enhancement with juvenile red snapper *Lutjanus campechanus*. **Fisheries Research**, St John's, v. 83, p. 90-97.2007.

BREDA, L., DE OLIVEIRA, E. F., & GOULART, E. 2008. Ecomorfologia de locomoção de peixes com enfoque para espécies neotropicais. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 27, n. 4, p. 371-381, 2008.

BURT, W.H. Territoriality and home range concepts as applied to mammals. **Journal of Mammalogy**, 24: 346-352, 1943.

BRUTON, M. N.; ALLANSON, B. R. The growth of *Tilapia mossambica* Peters (Pisces: Cichlidae) in Lake Sibaya, South Africa. **Journal of Fish Biology**, v. 6, n. 6, p. 701-715, 1974.

BOWERING, W. R. Age and growth of the Greenland halibut, *Reinhardtius hippoglossoides* (Walbaum), in ICNAF Subareas 2–4. **ICNAF Res. Bull.**, v. 13, p. 5-10, 1978.

CASATTI, L. Alterações no Código Florestal Brasileiro: impactos potenciais sobre a ictiofauna/Changes in the Brazilian Forest Code: potential impacts on the ichthyofauna. **Biota Neotropica**, 10(4), 31. 2010.

CHIRIMA, G. J. & OWEN-SMITH, N. Comparison of Kernel Density and Local Convex Hull Methods for Assessing Distribution Ranges of Large Mammalian Herbivores. **Transactions in GIS**, v. 21, n. 2, p. 359-375, 2017.

COOKE, S. J., MARTINS, E. G., STRUTHERS, D. P., GUTOWSKY, L. F., POWER, M., DOKA, S. E., DETMERS, J. M., CROOK, D. A., LUCAS, M. C., HOLBROOK, C. M. & KRUEGER, C. C. A MOVING target—incorporating knowledge of the spatial ecology of fish into the assessment and management of freshwater fish populations. **Environmental monitoring and assessment**, v. 188, n. 4, p. 239, 2016.

FAGADE, S. O. Age determination in *Tilapia melanotheron* (Rupell) in the Lagos Lagoon, Lagos, Nigeria. In: Bagenal, T.B. (ed.) **Ageing of fish:- proceedings of a International Symposium**. London: Unwin. P 71-77, 1974.

FICKE, A. D.; MYRICK, C. A. A Method for monitoring movements of small fishes in urban streams. **North American Journal of Fisheries Management**, Bethesda, v. 29, p. 1444-1453, 2009.

FITZGERALD, J. L.; SHEEHAN, T. F.; KOCIK, J. F. Visibility of visible implant elastomer tags in Atlantic salmon reared for two years in marine net-pens. **North American Journal of Fisheries Management**, Bethesda, v. 24, p. 222-227, 2004.

FRYDA, N. J.; LAUX, J. W.; KOUPAL, K. D.; HOBACK, W. W. 2007. Successful application of visible implant elastomer tags on crappies, *Pomoxis* spp., without the use of anaesthetic. **Fisheries Management and Ecology**, East Yorkshire, v. 14, p. 235-238, 2007.

FRASER, D. J., DUCHESNE, P., & BERNATCHEZ, L. 2005. Migratory charr schools exhibit population and kin associations beyond juvenile stages. **Molecular Ecology**, 14(10), 3133-3146, 2005.

GERKING, S. D. The restricted movement of fish populations. **Biological Review**, 34: 221–242, 1959.

GOWAN, C.; YOUNG, M.K.; FAUSCH, K.D.; RILEY, S.C. Restricted movement in resident stream salmonids: A paradigm lost? **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 51: 2626–2637, 1994.

GOWAN, C.; FAUSCH, K. D. Long-term demographic responses of trout populations to habitat manipulations in six Colorado streams. **Ecological Applications**, 6: 931–946, 1996.

GOWAN, C. & FAUSCH, K. 2. Why do foraging stream salmonids move during summer? **Environmental Biology of Fishes**, 64: 139-153, 2002.

GRIMES, C. B. Growth and length-weight relationship of vermilion snapper, *Rhomboplites aurorubens*, from North Carolina and South Carolina waters. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 107, n. 3, p. 454-456, 1978.

HANSKI, I; GAGGIOTTI, O. E. (Ed.). **Ecology, genetics, and evolution of metapopulations**. Academic Press, 2004.

HALE, R. S. & GRAY, J. H. Retention and detection of coded wire tags and elastomer tags in trout. **North American Journal of Fisheries Management**, Bethesda, v. 18, p. 197-201, 1998.

HALL, C. A. S. Migration and metabolism in a temperate stream ecosystem. **Ecology** 53:585-604, 1972.

HANSEN, A. & CLOSS, G.P. Diel activity and home range size in relation to food supply in a drift-feeding stream fish. **Behavioral Ecology**, 16(3): 240-248, 2005.

HIRSCHENHAUSER, K., A. V. M. CANARIO, A. F. H. ROS, M. TABORSKY & R. F. OLIVEIRA. Social context may affect urinary excretion of 11- ketotestosterone in African cichlids. **Behaviour**, 145: 1367-1388. 2008.

HUEY, R.B.; PIANKA, E.R. Ecological consequences of foraging mode. **Ecology**, 62 (4): 991-999, 1981.

KADRY, V. O., & BARRETO, R. E. Environmental enrichment reduces aggression of pearl cichlid, *Geophagus brasiliensis*, during resident-intruder interactions. **Neotropical Ichthyology**, 8(2), 329-332. 2010.

KNAEPKENS, G.; BAEKELANDT, K.; EENS, A. Assessment of the movement behaviour of the bullhead (*Cottus gobio*), an endangered European freshwater fish. **Animal Biology**, 55: 219–226, 2005.

KOHDA, M. Intra- and interspecific social organization among three herbivorous cichlid fishes in lake Tanganyika. **Japanese Journal of Ichthyology**, 38: 147-163, 1991.

KOHDA, M.; MBOKO, S.K. Aggressive Behaviours Of Territorial Cichlid Fishes Against Larger Heterospecific Intruders. **African Sutydy Monographs**, 15(2): 69 -75, 1994.

LEAL, M. E., BARBOSA, A. S., & SCHULZ, U. H. Uso de Implante Visual Fluorescente de Elastômero (VIFE) na marcação de pequenos peixes de água doce tropicais. **Biotemas**, 25(3), 311-315. 2012.

- LOBÓN-CERVIÁ, J. & P.A. RINCÓN. Environmental determinants of recruitment and their influence on the population dynamics of stream-living brown trout *Salmo trutta*. **Oikos** 105: 641-646, 2004.
- LONZARICH, D. G., WARREN, Jr, M. L., & LONZARICH, M. R. E. Effects of habitat isolation on the recovery of fish assemblages in experimentally defaunated stream pools in Arkansas. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 55(9), 2141-2149, 1998.
- LIAO, J. C., D. N. BEAL, G. V. LAUDER & M. S. TRIANTLAFYLLOU. Fish exploiting vortices decrease muscle activity. **Science**, 302: 1566-1569, 2003.
- LOWE, W. H., G. E. LIKENS & B. J. COSENTINO. 2006. Self-organisation in streams: the relationship between movement behaviour and body condition in a headwater salamander. **Freshwater Biology**, 51: 2052-2062, 2006.
- LUCAS, M.C. & BARAS, E. **Migration of Freshwater Fish**. pp. 204-206. London: Blackwell Science Ltd., 2001.
- MARSHALL, J. C. MENKE, N., CROOK, D. A., LOBEGEIGER, J. S., BALCOMBE, S. R., HUEY, J. A., FAWCETT, J. H., BOND, N. R., STARKEY, A. H., LINKE, S & ARTHINGTON, A. H. Go with the flow: the movement behaviour of fish from isolated waterhole refugia during connecting flow events in an intermittent dryland river. **Freshwater Biology**, v. 61, n. 8, p. 1242-1258, 2016.
- MAKRAKIS, M. C., MIRANDA, L. E., MAKRAKIS, S., FERNANDEZ, D. R., GARCIA, J. O., & DIAS, J. H. P. Movement patterns of armado, *Pterodoras granulosus*, in the Paraná River Basin. **Ecology of Freshwater Fish**, 16(3), 410-416. 2007.
- MAZZONI R. & LOBON-CERVI, J. Longitudinal structure, density and production rates of a neotropical stream fish assemblage: the river Ubatiba in the Serra do Mar, southeast Brazil. **Ecography**, 23, 588–602, 2000.
- MAZZONI, R., FENERICH-VERANI, N. & CARAMASCHI, E. P. Electrofishing as a sampling technique for coastal stream fish populations and communities in the Southeast of Brazil. **Revista Brasileira de Biologia**, 60: 205-216. 2000.
- MAZZONI, R., SCHUBART, S. A.; IGLESIAS-RIOS, R. Longitudinal segregations of *Astyanax janairensis* in Rio Ubatiba: a Neotropical stream of south-east Brazil. **Ecology of Freshwater Fish**, 13: 231-234, 2004.
- MAZZONI, R.; MENDONÇA, R.S.; CARAMASCHI, E.P. Reproductive biology *Astyanax janairensis* (Osteichthyes, Characidae) from the Ubatiba River, Maricá, RJ, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, 65: 643-649, 2005.
- MAZZONI, R. & IGLESIAS-RIOS, R. Patterns of investment of the reproductive strategy of two stream-dwelling Characidae. **Brazilian Journal of Biology**, v. 67, n. 4, p. 695-699, 2007.
- MAZZONI, R. & IGLESIAS-RIOS, R. Movement patterns of stream-dwelling fishes from Mata Atlântica, Southeast Brazil. **Revista de Biologia Tropical**, 60(4): 1837-1846, 2012.

- MARTIN-SMITH, K.M.; ARMSTRONG, J.D. Growth rates of wild stream-dwelling Atlantic salmon correlate with activity and sex but not dominance. **Journal of Animal Ecology**, 71: 413–423, 2002.
- MEYER, L. & HINRICHS, D. Microhabitat preferences and movements of the weatherfish, *Misgurnus fossilis*, in a drainage channel. **Environmental Biology of Fishes**, 58: 297–306, 2000.
- NATHAN R, GETZ WM, REVILLA E, HOLYOAK M, KADMON R, SALTZ D, SMOUSE PE. A movement ecology paradigm for unifying organismal movement research. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 49, p. 19052-19059, 2008.
- NATHAN, Ran. An emerging movement ecology paradigm. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 49, p. 19050-19051, 2008.
- NEIFF, J. J. Ideas para la interpretación ecológica del Paraná. **Interciencia** 15(6): 424-441, 1990.
- OLSEN, E. M.; GJØSÆTER, J.; STENSETH, N. C. 2004. Evaluation of the use of visible implant tags in age-0 Atlantic cod. **North American Journal of Fisheries Management**, Bethesda, v. 24, p. 282-286, 2004.
- OLMSTED, L. L.; KILAMBI, R. V. Age and growth of spotted bass (*Micropterus punctulatus*) in Lake Fort Smith, Arkansas. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 107, n. 1, p. 21-25, 1978.
- PARAGUASSÚ, A. R., D. R. ALVES & J. L. LUQUEL. Metazoários parasitos do acará, *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824) (Osteichthyes: Cichlidae) do Reservatório de Lajes, do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 14: 35-39. 2005.
- PÉPINO, Marc; RODRÍGUEZ, Marco A.; MAGNAN, Pierre. Assessing the detectability of road crossing effects in streams: mark–recapture sampling designs under complex fish movement behaviours. **Journal of Applied Ecology**, v. 53, n. 6, p. 1831-1841, 2016.
- PEDERSEN, M. W., PATTERSON, T. A., THYGESEN, U. H., & MADSEN, H. Estimating animal behavior and residency from movement data. **Oikos**, 120 (9), 1281-1290, 2011.
- PIRES, D. F., BEJA, P., & MAGALHÃES, M. F. Out of pools: movement patterns of Mediterranean stream fish in relation to dry season refugia. **River research and applications**, 30(10), 1269-1280, 2014.
- PORTO, L.; MCLAUGHLIN, R.; NOAKES, D. Low-head barrier dams restrict the movements of fishes in two lake Ontario streams. **North American Journal of Fisheries Management**, 4:1028–1036, 1999.
- PETTY, J.T. & GROSSMAN, G.D. Restricted movement by mottled sculpin (Pisces: Cottidae) in a southern Appalachian stream. **Freshwater Biology**, 49: 631-645, 2004.
- R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2015. Disponível online no site <https://www.R-project.org/>

- RILEY, S. C.; FAUSCH, K. D.; GOWAN, C. Movement of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) in four small subalpine streams in northern Colorado. **Ecology of Freshwater Fishes**, 1:112–122, 1992.
- RODRÍGUEZ, M.A. Restricted movement in stream fish: the paradigm is incomplete, not lost. **Ecology**, 83: 1-13, 2002.
- ROBERTS, J. H., ROSENBERGER, A. E., ALBANESE, B. W. & ANGERMEIER, P. L. Movement patterns of endangered *Roanoke logperch* (*Percina rex*). **Ecology of Freshwater Fish**, 17: 374-381, 2008.
- ROBERTS, J.; ANGERMEIER, P. Spatiotemporal variability of stream habitat and movement of three species of fish. **Oecologia**, 151: 417-430, 2007.
- SAMPAIO, F. A. C., P. S. POMPEU, H. A. SANTOS & R. L. FERREIRA. Swimming performance of epigeal and hypogeal species of Characidae, with an emphasis on the troglolithic *Stygichthys typhlops* Brittan & Böhlke, 1965. **International Journal of Speleology**, 41(1): 9-16, 2012.
- SCHMETTERLING, D.A.; ADAMS, S.B. Summer Movements within the Fish Community of a small Montane stream. **North American Journal of Fisheries Management**, 24: 1163–1172, 2004.
- SFAKIOTAKIS, M., D. M. LANE & J. B. C. DAVIES. Review of fish swimming modes for aquatic locomotion. **IEEE Journal of Oceanic Engineering**, 24(2): 237-252, 1999.
- STENSETH, N. C.; LIDICKER JR, W. Z. Where do we stand methodologically about experimental design and methods of analysis in the study of dispersal. **Animal dispersal: small mammals as a model**. Chapman and Hall, London, UK, p. 295-312, 1992.
- SCHULZ, U. H. Mark retention in fin-clipped pacu, *Piaractus Mesopotamicus* (Holberg, 1887) and a short review of batchmarking techniques. **Revista Unimar**, Maringá, v. 19, n. 2, p. 413-419, 1997.
- SILVA, R. C. **Movimento longitudinal de peixes: uma análise Cienciométrica, manutenção de comunidades e implicação na colonização de um riacho costeiro**. Dissertação de Mestrado, Universidade do Estado do Rio de Janeiro. 2013.
- SLAVÍK, O.; BARTOS, L.; MATTAS, D. Does stream morphology predict the home range size in burbot? **Environmental Biology of Fishes**, 74: 89–98, 2005.
- SKALSKI, G.T.; GILLIAM, J.F. Modeling diffusive spread in a heterogeneous population: a movement study with stream fish. **Ecology**, 81: 1685, 2000.
- SMITHSON, E.B.; JOHNSTON, C.E. Movement patterns of stream fishes in a Ouachita Highlands stream: an examination of the restricted movement paradigm. **Transactions. American Fisheries Society**, 128: 847-853, 1999.
- TURNER, G. F. The fighting tactics of male mouthbrooding cichlids - the effects of size and residency. **Animal Behaviour**, 47: 655-662. 1994.

TAYLOR, C.M. Fish species richness and incidence patterns in isolated and connected stream pools: Effects of pool volume and spatial position. **Oecologia**, 110: 560–566, 1997.

YAMAMURA, K. Population estimation by a one release, two capture experiment. **Applied Entomology Zoology** 38: 475-486. 2003.

YOUNG, M.K. Mobility of brown trout in south-central Wyoming streams. **Canadian Journal of Zoology**, 72: 2078–2083, 1994.

WEBB, P. W. & D. WEIHS. Functional locomotor morphology of early life history stages of fishes. *Transactions of the American Fisheries Society*, 115: 115-127, 1986.

WOOLNOUGH, D. A., DOWNING, J. A., NEWTON, T. J. Fish movement and habitat use depends on water body size and shape. **Ecology of Freshwater Fish**, 18(1): 83-91, 2009.

WOOTTON, R.J. **Ecology of teleosts fishes**. London: Chapman e Hall. 404p, 1991.

WILIAMS, R., GRAND, J., KOOKER, S. K., BUCKLAND, S. T., REEVES, R. R., ROJAS-BRACHO, L., SANDILANDS, D. & KASCHNER, K. Prioritizing global marine mammal habitats using density maps in place of range maps. **Ecography**, 37: 212-220, 2014.

WINEMILLER, Kirk O.; JEPSEN, David B. Effects of seasonality and fish movement on tropical river food webs. **Journal of fish Biology**, v. 53, n. sA, p. 267-296, 1998.

3. ESTRUTURAÇÃO GENÉTICA POPULACIONAL DE DUAS ESPÉCIES DE PEIXES NO RIO UBATIBA, MARICÁ – RJ

Compreender como a dispersão e a estrutura populacional estão inter-relacionadas é uma questão de interesse comum entre ecólogos e geneticistas de populações (DRISCOLL, 1998; MORELLI, 2008; FERREIRA *et al.*, 2016). Segundo Avise (2000) a maioria das espécies exibe algum grau de estruturação populacional que pode ser interpretado em contextos geográficos e cronológicos. Nas últimas décadas, a biologia molecular revolucionou a pesquisa ecológica. Durante esse tempo, métodos para caracterização genética de indivíduos e populações tornaram-se bastante desenvolvidos e nos fornecem uma riqueza de dados fascinantes sobre a ecologia, evolução e dinâmica de populações de plantas, animais, fungos, algas e bactérias (FREELAND *et al.*, 2005; LOWE & ALLENDORF, 2010).

Os marcadores moleculares são importantes ferramentas para o estudo de genética de populações (AVISE, 2012; BUENO-SILVA, 2012). Um marcador genético é por definição, uma sequência de DNA associada a um fenótipo, que pode ser identificada em um ensaio bioquímico. De maneira mais generalista, podemos também considerar como marcadores genéticos todas as características que são herdadas, ainda que não possamos associá-las diretamente a nenhuma sequência de DNA (SCHLÖTTERER, 2004; OLIVEIRA, 2010, MATIOLI & PASSOS-BUENO, 2012). Os marcadores moleculares permitem, entre outras coisas, quantificar a diversidade genética, rastrear os movimentos dos indivíduos, medir a endogamia, identificar os restos de indivíduos, caracterizar novas espécies e retrair padrões históricos de dispersão (FREELAND *et al.*, 2005; AVISE, 2012).

Os primeiros marcadores moleculares, as alozimas, foram desenvolvidos na década de 1960 e eram baseados em enzimas, somente em 1980 foram desenvolvidos os primeiros marcadores moleculares que utilizavam o DNA como fonte de informação (BUENO-SILVA, 2012). Atualmente, quase a totalidade dos marcadores moleculares disponíveis acessam as informações genéticas nesse nível. De acordo com Morin *et al.*, (2004) desde do início da década de 90 os microssatélites e as sequências de DNA mitocondrial (mtDNA) são os marcadores mais utilizados em estudos de ecologia e evolução. O fato de esses marcadores apresentarem uma rápida evolução em suas sequências, os tornam bastante informativos para responder questões em nível populacional.

O DNA mitocondrial (mtDNA) caracteriza-se, entre outros aspectos, por ser clonal, apresentar herança uniparental, uma vez que é transmitido exclusivamente por via materna (FINSTERER, 2004), não apresentam recombinação, não possuem íntrons, e são amplamente

utilizados em estudos populacionais, pois apresentam amplo polimorfismo intraespecífico e evoluem mais rápido que o DNA nuclear (nDNA) (BROWN *et al.*, 1979; SACCONI *et al.*, 1999; AVISE, 2000). O mtDNA de vertebrados é relativamente pequeno com cerca de 16 kb, composto por uma dupla fita circular composta por duas cadeias: uma cadeia pesada (H), rica em guanina e uma cadeia leve (L), rica em citosina. Ao longo da sua sequência são encontrados 37 genes, responsáveis pela produção de energia e armazenamento de ATP, codificação de RNAs ribossômicos, RNAs transportadores e subunidades do sistema de fosforilação oxidativa (ROBIN & WONG, 1988; ARIAS *et al.*, 2003).

Dentre os marcadores mitocondriais conhecidos atualmente, dois se destacam em estudos genéticos com animais: o gene citocromo c oxidase I (COI) e a região controle do mtDNA (também conhecida como D-loop). A elevada taxa evolutiva, geralmente apresentada por esses dois marcadores, permite que eles sejam usados em vários tipos de estudos, incluindo filogeografia (WANG *et al.*, 2004; AMARAL *et al.*, 2013), identificação de espécies (ARDURA *et al.*, 2010; ROSSO *et al.*, 2012; PEREIRA *et al.*, 2013, ROSSINI *et al.*, 2016), e estudos de genética populacional e evolutiva (GARCEZ *et al.*, 2011; BRADIC *et al.*, 2012; FERREIRA *et al.*, 2016), dentre outros. A informação genética desses marcadores geralmente é obtida por meio do sequenciamento de fragmentos de DNA (BUENO-SILVA, 2012).

A região controle, chamada nos vertebrados de D-loop (*displacement loop*) de cerca de 16kb que é rica em sequências AT e desprovida de genes, porém com grande importância na replicação do mtDNA e na transcrição do RNA (ARIAS *et al.*, 2003; AVISE, 2012). É uma região bastante variável, possuindo alta taxa de mutação, chegando a ser de 5 a 10 vezes mais rápida do que o DNA nuclear (BROWN *et al.*, 1979; LEE *et al.*, 1995). A região controle do mtDNA tem sido utilizada em diversos estudos sobre estruturação populacional (MARTINS *et al.*, 2003; CASTRO *et al.*, 2007; MATOSO *et al.*, 2010; GARCEZ *et al.*, 2011; BRADIC *et al.*, 2012; FLUKER *et al.*, 2014; REIS *et al.*, 2015).

A variabilidade genética em populações naturais pode estar estruturada no tempo e no espaço. O desenvolvimento e a manutenção dessa estrutura dizem respeito ao “*pool*” gênico da espécie, a organização dos genótipos e sua distribuição espacial, eventos estocásticos como deriva gênica, e processos ecológicos como recrutamento, crescimento populacional, mortalidade e fecundidade (WRIGHT, 1931; GILPIN & SOULÉ, 1986; THUESEN *et al.*, 2007; LOWE & ALLENDORF, 2010).

A estruturação genética espacial pode ser favorecida por barreiras geográficas (por exemplo, cachoeiras) (FLAKER *et al.*, 2014) ou por uma distribuição espacial agrupada, que

proporcionam um certo grau de isolamento entre populações, promovendo restrição ao fluxo gênico e, conseqüentemente, um acúmulo de diferenças genéticas entre as populações isoladas (REIS *et al.*, 2015). Quando uma espécie possui uma distribuição geográfica ampla, o tamanho da área ocupada comparada à baixa capacidade de dispersão dos indivíduos pode impedir a formação de uma unidade panmítica única (LARSON *et al.*, 1984).

Os movimentos de indivíduos de uma espécie podem influenciar na variabilidade genética dentro e entre populações através de alterações no fluxo gênico, podendo ocasionar a persistência de uma população e influenciar sua organização espacial, tanto em nível de população quanto de metapopulação. (FELSENSTEIN, 1976; SLATKIN, 1985; FERREIRA *et al.*, 2016).

O fluxo gênico pode representar um mecanismo homogeneizador, mantendo as subpopulações conectadas e diminuindo a divergência genética (SLATKIN, 1985). Por outro lado, as restrições ao fluxo gênico podem levar as populações a se diferenciarem geneticamente, ocasionando uma estruturação espacial da variabilidade genética. Este modelo de diferenciação genética é conhecido como “isolamento por distância”, e foi proposto por Sewall Wright (“*isolation by distance*”, WRIGHT, 1931). Assim, a diferenciação genética entre populações pode ser o resultado da restrição ao fluxo gênico, e pode estar correlacionada com a distância geográfica.

Em populações subdivididas, a diferenciação genética deve refletir as diferenças locais em pressões seletivas, alta frequência de endogamia, ou podem ser resultado de processos aleatórios como mutação e deriva gênica (HARTL, 2008; MARTELETO, 2015).

Um dos fenômenos estocásticos, a deriva gênica, pode mudar a distribuição da variabilidade genética pela perda de variação dentro da população (perda de alelos) e pelo aumento da diferenciação entre populações por fixação de alelos (HARTL, 2008; MARTELETO, 2015). Tal fenômeno também pode provocar a fixação de alelos deletérios e provocar a diminuição do valor adaptativo dos indivíduos da população e, conseqüentemente, aumentar as chances de extinção (FRANKHAM *et al.*, 2003; REED & FRANKHAM, 2003; REED *et al.*, 2003).

Espécies com alta capacidade de dispersão exibem frequentemente baixos níveis de diferenciação populacional (WAPLES, 1987), enquanto aquelas com dispersão mais limitada, por características de sua história de vida ou barreiras intransponíveis ao movimento, exibem frequentemente um grau significativo de estrutura populacional (LARSON *et al.* 1984). Saber se a estruturação da população tem consistentemente qualquer relação com a capacidade de dispersão muitas vezes parece depender do taxon específico, da população ou do gene em

estudo. As primeiras tentativas para se verificar essa relação foram realizadas principalmente em grupos marinhos, onde uma grande variedade de táxons inclui espécies com ampla diversidade comportamental (GOOCH *et al.*, 1972, GAINES *et al.*, 1974). Atualmente vários estudos tem investigado essa relação em águas continentais, utilizando táxons com comportamentos distintos (THUESEN *et al.*, 2007; FERREIRA *et al.*, 2015, REIS *et al.*, 2015).

Para peixes com o comportamento mais sedentário que costumam viver intimamente associados aos seus territórios, sua dispersão é feita principalmente no estágio planctônico quando a capacidade de natação é limitada (SALE, 1980), garantindo assim o fluxo gênico entre subpopulações. O conhecimento da diversidade genética e da estrutura das espécies de peixes sedentários é particularmente interessante, uma vez que essas espécies aparentemente são mais propensas à deriva genética e à endogamia e, portanto, espera-se que exibam baixa diversidade genética e uma distribuição mais heterogênea dessa diversidade ao longo dos diferentes trechos de um rio ou uma bacia de drenagem (PHILIPPSSEN *et al.*, 2009; REIS *et al.*, 2015;).

Apesar dos estudos sobre estruturação genética utilizando espécies de peixes neotropicais sem valor comercial estarem aumentando, ainda assim a maioria das informações disponíveis está direcionada a espécies de interesse econômico / ou migradoras (ABREU *et al.*, 2009, CALCAGNOTTO & DESALLE, 2009; MATSUMOTO & HILSDORF, 2009; LOPERA-BARRERA *et al.*, 2010; SANCHES *et al.*, 2012; RIBEIRO *et al.*, 2016, RIBOLLI *et al.*, 2017).

Através do presente estudo pretendeu-se caracterizar geneticamente através da região controle (*D-loop*) do DNA mitocondrial as populações de duas espécies de peixes no Rio Ubatiba, Maricá, RJ, afim de testar as seguintes hipóteses:

- 1- As diferenças no comportamento de movimentação de *Astyanax hastatus* e *Geophagus brasiliensis* no Rio Ubatiba, RJ, influenciam na estruturação genética das populações. *G. brasiliensis*, devido ao seu comportamento sedentário, apresenta menor fluxo gênico e algum grau de estruturação genética, enquanto *A. hastatus* por ser uma espécie de hábito mais ativo, possui maior fluxo gênico ao longo do rio, apresentando assim ausência de estruturação genética;
- 2- *Astyanax hastatus* apresenta diversidade genética maior que *G. brasiliensis*, devido a algumas características como desova pelágica, maior capacidade de movimento e área de vida mais ampla.

- 3- Maior diversidade genética para as duas espécies no ponto mais a jusante, uma vez que riachos são ambientes instáveis e possuem fluxo unidirecional, arrastando larvas e juvenis no período de chuvas fortes.

3.1 Objetivo geral

Caracterizar geneticamente através da região controle (*D-loop*) do DNA mitocondrial as populações de duas espécies de peixes no Rio Ubatiba, Maricá, RJ.

3.1.1 Objetivos específicos

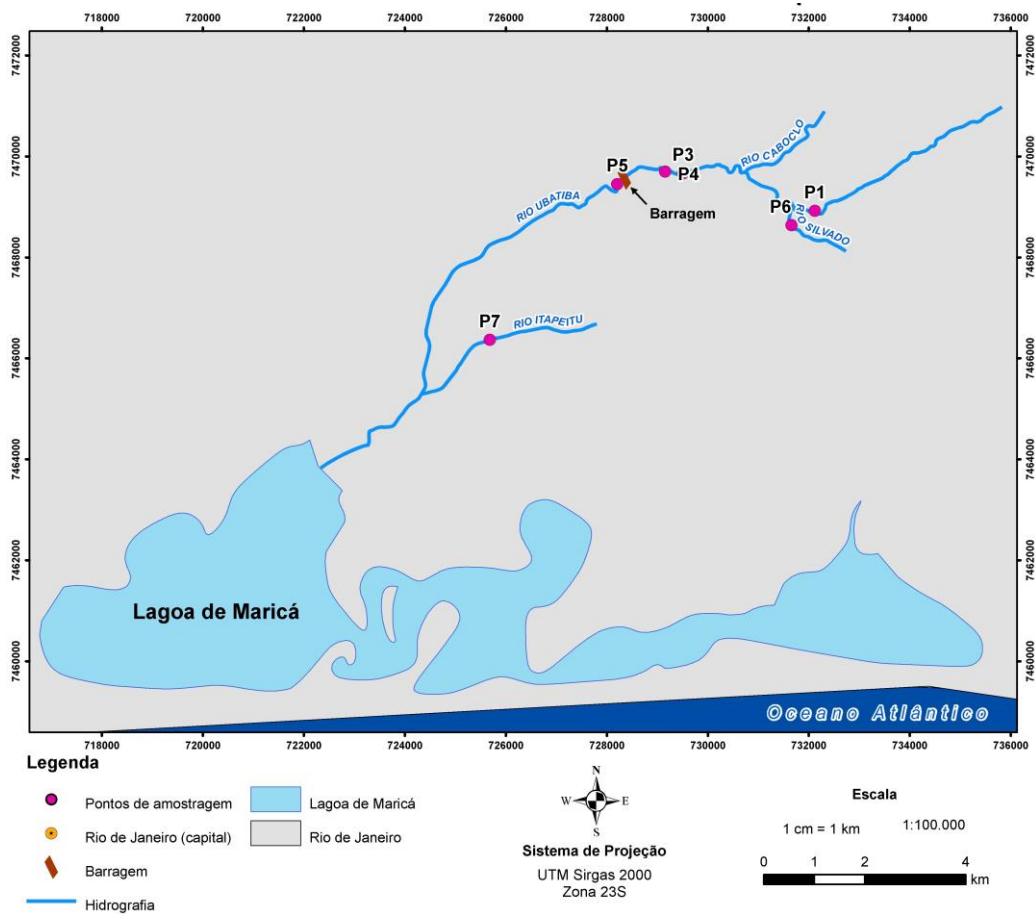
- Determinar a variabilidade genética de *A. hastatus* e *G. brasiliensis* no Rio Ubatiba, RJ;
- Verificar a existência de estruturação genética entre as populações estudadas de cada espécie;
- Comparar, através dos índices de diversidade e estruturação, os padrões observados para as duas espécies estudadas.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Área de estudo

O Rio Ubatiba é um riacho de Mata Atlântica localizado na região dos lagos fluminense no município de Maricá, RJ a aproximadamente 70 km da cidade do Rio de Janeiro (22°60'S e 42°48'W). Foram utilizadas 6 localidades amostrais, sendo 4 entre os trechos médio e superior da calha principal e 2 localizados em afluentes do Rio Ubatiba, Maricá, RJ (Figura 25).

Figura 25 - Mapa do Rio Ubatiba com os seis pontos de amostragem de biologia molecular.



3.2.2 Coleta e amostragem dos peixes

Para os estudos de genética populacional, parte do material foi coletado no início de 2014, durante o período de chuvas, para alguns pontos o número de amostras foi complementado com amostras obtidas através da técnica de pesca elétrica em pontos do estudo de movimento. Apesar de terem sido selecionados seis pontos fixos no estudo de movimento, foram utilizados para análises genéticas de cada espécie apenas amostras provenientes de cinco desses seis pontos, sendo um ponto não comum (P6) para *Astyanax hastatus* e (P7) para *Geophagus brasiliensis*. Os exemplares capturados eram mantidos vivos em caixas teladas para retirada de um pequeno fragmento da nadadeira caudal com auxílio de uma tesoura, a outra parte das amostras foi obtida da musculatura dorsal de indivíduos mortos durante manuseio para os estudos de captura, marcação e recaptura. As amostras foram identificadas por espécie (*Astyanax hastatus* e *Geophagus brasiliensis*) e ponto amostral e fixadas em álcool 100%.

3.2.3 Extração e quantificação do DNA

Para ambas as espécies, as amostras de fragmentos de nadadeira e tecido muscular foram extraídos conforme o protocolo de extração salina (ALJANABI & MARTINEZ 1997). As concentrações do DNA extraído foram determinadas através de análise por espectrofotometria, com a utilização do equipamento NanoDrop 2000 (Thermo scientific).

3.2.4 Reação de polimerase em cadeia (PCR)

A região controle (D-loop) do DNA mitocondrial de *A. hastatus* e *G. brasiliensis* foram amplificadas através dos primers H1 6498 5' -CCTGAAGTAGGAACCAGATG - 3' (Meyer *et al.*, 1990) e L1 5774M 5' -CAACATGAATTGGAGGTATAACCAGT - 3' (Prioli *et al.*, 2002). Vale ressaltar que para ambas as espécies, não foi utilizada a região controle completa nas análises.

Alíquotas contendo 2 µL de DNA total em concentração mínima de 10 ng/µL foram acondicionadas nos tubos específicos para a realização da reação de PCR. A reação foi composta por 5,0 µL de tampão Platinum 4x (Applied Biosystems), 1,0 µL de cada iniciador (10 µM) e 0,2 µL de Taq Platinum DNA polimerase (Applied Biosystems), 12 µL de água milli-Q em volume final de 21 µL. A amplificação foi realizada no termociclador Veriti (Applied Biosystems) através das condições termocíclicas descritas na Tabela 2.

Tabela 2 - Condições termocíclicas utilizadas nas reações de amplificação da região controle do DNA mitocondrial.

Ciclos	Temperatura	Tempo
1	94 °C	4 minutos
	50 °C	30 segundos
	72 °C	2 minutos
40	94 °C	15 segundos
	56 °C	30 segundos
	72 °C	2 minutos
1	72 °C	10 minutos

Aos produtos de PCR foram misturados a Ladder e o Safer Dye, aplicados em gel de agarose a concentração de 1,5% e separados por eletroforese em média tensão (110V por 30 minutos).

3.2.5 Purificação e sequenciamento

Após a amplificação, o produto de PCR foi purificado através da reação de 2 μL da enzima ExoSAP-IT® (USB Corporation) com alíquotas de 5 μL do produto amplificado. Esta preparação foi levada ao termociclador com 1 ciclo de 37°C por 15 minutos e 85 °C também por 15 minutos.

Após a etapa de ExoSap para cada amostra, foram realizadas reações de sequenciamento para as fitas senso e anti-senso da região controle com seus respectivos iniciadores. A mistura da reação foi realizada em microtubos, sendo composta por: 3 μL do iniciador, 1 μL de *Big Dye Terminator Sequencing Ready Reaction Kit v3.0* (Applied Biosystems), 2 μL de tampão Big Dye e 3 μL do produto purificado. As condições termocíclicas utilizadas nas reações de sequenciamento estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3 - Condições termocíclicas utilizadas nas reações de sequenciamento da região controle do DNA mitocondrial.

Ciclos	Temperatura	Tempo
25	95 °C	10 segundos
	50 °C	5 segundos
	60 °C	4 minutos

Após a reação de sequenciamento, o produto foi purificado em resina Sephadex® G-50 de acordo com a metodologia de Sambrook *et al.*, (1989). Para o preparo da resina, 750 μL de Sephadex® preparado em solução de 10 g em 150 mL de água Milli-Q foram aplicados em coluna de purificação apropriada, a qual foi acondicionada em um tubo de 1,5 mL e centrifugada a 8000 rpm por 90 segundos (Centrífuga Centrimicro 242 – FANEM). Após o descarte do filtrado, uma nova centrifugação nas mesmas condições da anterior foi executada, e desta vez, a coluna e a resina Sephadex® foram transferidas para um novo tubo de 1,5 mL onde foi adicionada uma alíquota de 10 μL de produto de sequenciamento, sendo novamente centrifugadas a 8000 rpm por 180 segundos.

Uma alíquota do filtrado de 6 μL foi adicionada a 8 μL de formamida (Hi-Di Formamide, Applied Biosystems) e estes foram aplicados em cada um dos poços da placa de sequenciamento. As amostras foram então submetidas à eletroforese capilar utilizando o sequenciador automático ABI Prism 3130/3500 (Applied Biosystems), preenchido com polímero POP-7™ (Applied Biosystems).

3.2.6 Alinhamento e análise de dados

As sequências foram editadas e alinhadas utilizando o programa *Geneious* 4.8.2 (KEARSE *et al.*, 2012).

As estimativas de fluxo gênico, diversidade genética haplotípica e nucleotídica (NEI, 1987) foram calculados através do programa *DNA_{sp}* v5.10 (LIBRADO & ROZAS, 2009) assim como definição dos indivíduos pertencentes a cada uma das populações e a criação dos arquivos de entrada dos programas Arlequin 3.5 (EXCOFFIER & LISCHER, 2010) e *PopART* (LEIGH & BRYANT, 2015).

Com todas as sequências por espécie foi construída uma rede de haplótipos através do programa *PopART* (LEIGH & BRYANT, 2015).

Com o programa *Alerquin* v3.5 (EXCOFFIER & LISCHER, 2010) foi verificada a diferenciação genética entres as populações, estimada pelo índice F_{st} com testes de significancia basada em 10.000 permutações. Esse índice representa uma média do grau de diferenciação genética ou de subdivisão interpopulacional (SLATKIN, 1991). Valores entre 0 e 0.05 indicam pouca diferenciação genética, entre 0.05 e 0.15 diferenciação moderada, entre 0.15 e 0.25 alta diferenciação e acima de 0.25 indica diferenciação genética muito alta. Foi aplicada a correção de Bonferroni para garantir maior controle do erro associado aos valores de p gerados a partir do índice F_{st} , visto que o Teste de Bonferroni é mais indicado para uma quantidade pequena de grupos, pois o nível de significância é dividido pelo número total de grupos usados. Para avaliar diversidade na estrutura genética populacional foi empregada a análise hierárquica de vâriância molecular (AMOVA) através dos seus índices (EXCOFFIER *et al.*, 1992). A Análise Molecular de Variância é capaz de particionar a variância molecular em variância intrapopulacional e variância interpopulacional de acordo com estruturas populacionais informadas *a priori*.

Os testes de neutralidade Tajima D (TAJIMA, 1989) e FS de Fu (FU, 1997) foram feitos também no programa Arlequin 3.5 com 10.000 permutações com intuito de testar a ocorrência de desvios em relação à hipótese nula de neutralidade nas sequências da região controle. Ambos os testes de neutralidade foram desenvolvidos com a finalidade de verificar a ocorrência de seleção em regiões do genoma, mas outros fatores como expansão ou redução (bottleneck) populacional ou heterogeneidade nas taxas de mutação também podem ser detectados por esses testes (ARIS-BROSOU & EXCOFFIER, 1996; FU & LI, 1993;

TAJIMA, 1996). O desvio do equilíbrio neutro só ocorre quando os valores são significativamente maiores ou menores que “0”.

Os valores positivos de F_s sugerem seleção balanceadora, subdivisão populacional ou efeito gargalo; valores negativos sugerem seleção direcional recente, seleção de alelos ligeiramente deletérios, expansão populacional (FU, 1997).

3.3 Resultados

Para *Astyanx hastatus* foram coletadas um total de 154 amostras, sendo obtidas 68 sequências da região controle (D-loop), o número de sequências por população variou entre 09 e 22. Já para *Geophagus brasiliensis* foram coletadas 105 amostras, sendo obtidas 74 sequências da região controle (D-loop), com um número de sequências variando entre 2 e 23 por população. Nas análises genéticas de *A. hastatus* foram utilizados fragmentos de 935 pb, e para *G. brasiliensis* fragmentos com 534 pb.

As porcentagens de bases nitrogenadas observadas para o fragmento sequenciado de *A. hastatus* foram 40.07% de adenina, 37.03% de timina, 12.47% guanina e 10.42% citosina. A taxa de transcrição/transversão estimada foi de 32/50 respectivamente. Foram detectados um total de 666 sítios polimórficos resultando em um total de 13 haplótipos.

Já as porcentagens de bases nitrogenadas observadas para o fragmento sequenciado de *G. brasiliensis* foram 26.64% de adenina, 37.64% de timina, 22.39% guanina e 13.37% citosina, a taxa de transcrição/transversão estimada foi de 8/2 respectivamente. Foram detectados um total de 19 sítios polimórficos, resultando em um total de 3 haplótipos.

A diversidade haplotípica (H_d) de *A. hastatus* foi maior (0,80000) para o ponto P4 e menor (0,61905) para P3. Já para diversidade nucleotídica (π) o maior valor (0,00771) foi observado para ponto P6 e o menor para o ponto P4 (0,00405) (tabela 4).

Para *G. brasiliensis* o maior valor de diversidade haplotípica foi registrada para o ponto P7 (1,00000) e o menor para P1 (0,00000). A diversidade nucleotídica foi maior no ponto P4 (0,01636) e assim como a diversidade haplotípica menor em P1 (0,00000) (tabela 4).

Observando os resultados totais por espécie, foi verificado que *A. hastatus* apresentou maior diversidade haplotípica (0,706) que *G. brasiliensis* (0,493). Porém, para diversidade nucleotídica os resultados foram inversos com *G. brasiliensis* apresentando maior valor (0,00959) do que *A. hastatus* (0,00566) (Tabela 4).

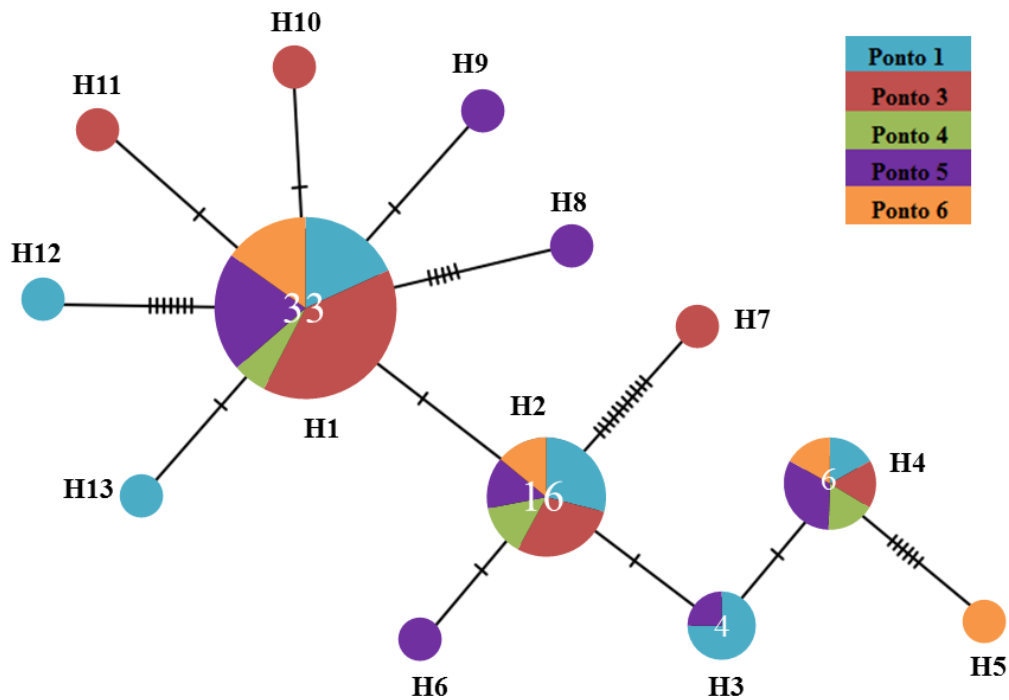
Tabela 4 - Número de indivíduos analisados por ponto

<i>Astyanax hastatus</i>				
Pontos	N sequências	h	H _d	Π
P1	17	6	0,79412	0,00570
P3	22	6	0,61905	0,00525
P4	5	3	0,80000	0,00405
P5	15	7	0,78095	0,00589
P6	09	4	0,69444	0,00771
TOTAL	68	13	0,706	0,00566
<i>Geophagus brasiliensis</i>				
Pontos	N sequências	h	H _d	Π
P1	22	1	0,00000	0,00000
P3	18	3	0,52288	0,00787
P4	21	3	0,60000	0,01636
P5	11	3	0,69901	0,01144
P7	2	2	1,00000	0,00386
TOTAL	74	3	0,493	0,00959

Legenda: h = número de haplótipos, H_d = diversidade haplotípica e
 π = diversidade nucleotídica

Dos haplótipos observados para *A. hastatus*, nove foram exclusivos por ponto amostral, sendo (H12 para ponto P1), (H7, H10 e H11 para P3), (H6, H8 e H9 para P5) e (H5 para P6), não sendo observado nenhum haplótipo exclusivo para o ponto P4. Apenas quatro haplótipos (H1, H2, H3 e H4) foram comuns a mais de um indivíduo e bem distribuídos nos seis pontos, grande parte dos haplótipos foram originados do haplótipo H1, fato que sugere uma recente expansão das populações da espécie no rio Ubatiba (Figura 26).

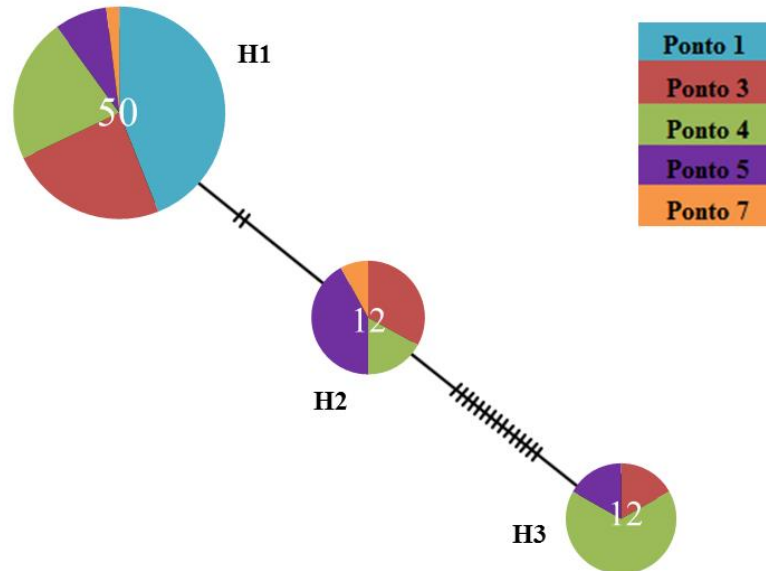
Figura 26 - Rede de haplótipos de seqüências da região controle de *A. hastatus* geradas através do programa PopArt 1.7.



Nota: O tamanho do círculo é proporcional a frequência do haplótipo e as cores correspondem aos pontos amostrais, os traços representam os passos mutacionais

Para a espécie *G. brasiliensis* foram identificados três haplótipos, sendo o haplótipo H1, o único a ser verificado para os seis pontos, pois os dois demais haplótipos H2 e H3 não foram encontrados no ponto mais a montante (Ponto 1) (Figura 27).

Figura 27 - Rede de haplótipos de sequências da região controle de *G. brasiliensis* geradas através do programa PopArt 1.7.



Nota: O tamanho do círculo é proporcional a frequência do haplótipo e as cores correspondem aos pontos amostrais, os traços representam os passos mutacionais.

A variação molecular foi maior dentro da população do que entre as supostas populações para ambas as espécies, com 82,85% e 100% (intra) e 17,15% e 0% (inter) para *G. brasiliensis* e *A. hastatus*, respectivamente.

Os resultados de Φ_{st} para *G. brasiliensis* foi 0,17155 indicando alta estruturação genética para espécie com valor de p significativo (0,00293). Para *A. hastatus* o valor de Φ_{st} foi de -0,01828 representando ausência de estruturação genética, com valor de p não significativo (0,64418) (Tabela 5).

Tabela 5 - Valores da estatística Φ encontrados considerando 5 agrupamentos populacionais testados *a priori* (AMOVA) para cada espécie.

<i>Geophagus brasiliensis</i>		<i>Astyanax hastatus</i>	
inter	17,15%	inter	0%
intra	82,85%	intra	100%
F_{st}	0,17155	F_{st}	-0,01828
p	0,00293	p	0,64418

De acordo com valores de Φ_{st} as supostas populações de *A. hastatus* não apresentam nenhuma estruturação, podendo ser consideradas como uma única população panmítica e indicando um alto fluxo gênico entre os pontos (Tabela 6). Já para *G. brasiliensis* os valores do índice Φ_{st} indicaram uma elevada diferenciação genética entre a população P1 (mais a montante) e as demais (P3, P4, P5, P6 e P7), assim como observado entre P3 e P4 no entanto o valor de p não foi significativo entre P1 e P7. Essa divergência no valor de p pode estar relacionado com baixo N amostral do ponto P7. (Tabela 7).

Tabela 6 - Valores de estruturação genética das populações de *A. hastatus*.

	P1	P3	P4	P5	P6
P1	*				
P3	0,04569	*			
P4	-0,1156	-0,00755	*		
P5	-0,01654	0,01432	-0,09028	*	
P6	-0,04106	-0,04015	-0,12839	-0,07919	*

Nota: Valores em vermelhos significam índice com valor de p significativo, após correção de Bonferroni.

Tabela 7 - Valores de estruturação genética das populações de *G. brasiliensis*.

	P1	P3	P4	P5	P7
P1	*				
P3	0,14598	*			
P4	0,37591	0,11223	*		
P5	0,37492	-0,02275	0,01578	*	
P7	0,84564	-0,27693	-0,00291	-0,24730	*

Nota: Valores em vermelhos significam índice com valor de p significativo, após correção de Bonferroni

Para a espécie *A. hastatus*, os testes de neutralidade apresentaram valores negativos para a estatística de Tajima (D) que representa uma expansão populacional da espécie. Para estatística F_s (F_s), os valores foram todos positivos o que sugere subdivisão populacional ou efeito gargalo, porém os valores de p não foram significativos. No entanto, como o índice Φ_{st} indicou a presença de uma única população para essa espécie os índices de neutralidade (D e F_s) foram aplicados para a mesma, com ambos indicando expansão populacional significativa (Tabela 8), sendo esse resultado também confirmado pelo modelo observado na rede de haplótipos.

Já para *G. brasiliensis*, analisando as supostas populações, essas apresentaram os três possíveis cenários para a estatística de Tajima (D) com valores de 0 para os pontos P1 e P7,

valor negativo no ponto P3 e valores positivos para P4 e P5. Para o F_s de Fu todos os valores são positivos, indicando uma deficiência de haplótipos (efeito gargalo) (tabela8). Assim como para *A. hastatus*, apesar de terem sido calculados os testes de neutralidade para as supostas populações, os mesmos testes também foram calculados baseando-se nos resultados de F_{ST} , considerando as duas populações definidas (P1 e todas as demais), foi verificado um equilíbrio para população P1 com valores de D e F_s de “0”. Já para segunda população (todas exceto P1) os resultados de D e F_s indicam a presença de efeito *bottleneck*. No entanto, os valores de p não foram significativos (Tabela 8).

Tabela 8 - Testes de de neutralidade

<i>Astyanax hastatus</i>						
	P1	P3	P4	P5	P6	Todos
<i>F_s</i>	28,07846	35,63819	11,33542	22,06530	19,05880	-10,07724
<i>p</i>	1,00000	1,00000	1,00000	1,00000	1,00000	0,00900
<i>D</i>	-1,55478	-2,65615	-3,31360	-2,08183	-2,45045	-2,12121
<i>p</i>	0,03000	0,00000	0,00000	0,00700	0,00000	0,00400
<i>Geophagus brasiliensis</i>						
	P1	P3	P4	P5	P7	Todos (exceto P1)
<i>F_s</i>	0,00000	6,64962	13,08356	6,50357	0,69315	13,68515
<i>p</i>	-	0,99300	1,00000	0,99000	0,34400	0,99800
<i>D</i>	0,00000	-0,67157	2,93466	0,09505	0,00000	2,21166
<i>p</i>	1,00000	0,29100	1,00000	0,58000	1,00000	0,98800

Legenda: (D = estatística D de Tajima (Tajima 1989), F_s = estatística de Fu (Fu, 1997) e P) para os agrupamentos populacionais. Nível de significância $p=0,05$ para D de Tajima e 0,02 para F de FU.

3.4 Discussão

Populações naturais normalmente têm níveis altos de variação genética, e essa variação é introduzida continuamente nas populações por diversos fatores como por exemplo a mutação e a chegada de migrantes (AVISE, 2012). Vários cenários podem ser propostos para explicar a manutenção de uma alta diversidade dentro de populações, incluindo grande tamanho populacional, heterogeneidade ambiental e características intrínsecas à história de vida da espécie que favorecem o rápido crescimento populacional (NEI, 1987).

A diversidade haplotípica observada para *Astyanax hastatus* foi mais alta (H_d variando de 0,619 a 0,800 entre os pontos amostrais e total de 0,706) que a diversidade haplotípica verificada para *Geophagus brasiliensis* (H_d variando de 0,0000 a 1,0000 e 0,493 no total). Para diversidade nucleotídica (π) o resultado encontrado foi inverso, sendo observado para *G. brasiliensis* valores maiores ($\pi = 0,0000$ a 0,00787 e total de 0,00959) que o observado para *A. hastatus* ($\pi = 0,00405$ e 0,00771 entre os pontos amostrais e 0,00566 no total).

Reis *et al.*, (2015) também observaram altos valores de diversidade genética ($H_d = 0,5693$ e $\pi = 0,001472$) para outra espécie do gênero (*A. xavante*) em um riacho da bacia do rio Araguari. Em trabalhos com *Astyanax altiparanae* na bacia do Alto Paraná também foram encontrados resultados semelhantes de diversidade genética (PRIORI *et al.*, 2002; PERES *et al.*, 2005). A alta variabilidade genética encontrada para *A. hastatus*, é provavelmente consequência da história evolutiva da espécie, das características intrínsecas como a versatilidade ambiental, desova pelagica, ausência de cuidado parental e maior capacidade de dispersão e de ocupar diversos habitats (FERREIRA, *et al.*, 2016).

Para *G. brasiliensis*, os valores de diversidade genética foram semelhantes aos resultados encontrados por Ferreira *et al.*, (2015) que analisou a estrutura genética da espécie na bacia do rio Laranjinha no Paraná. Esses autores afirmam que espécies sedentárias são mais propensas à deriva genética e à endogamia e, portanto, é esperado que as mesmas exibam baixa diversidade genética e uma distribuição mais heterogênea dessa diversidade ao longo dos diferentes trechos de um rio ou uma bacia de drenagem. Para outro Ciclídeo que apresenta características de história de vida semelhantes, como defesa de território e cuidado parental, Langen *et al.*, (2011) encontrou baixos níveis de diversidade genética nas populações estudadas. A relação entre a dispersão limitada e baixa variabilidade genética de

algumas espécies de peixes já foi documentada em outros estudos (ZAWADZKI *et al.*, 2005, SOFIA *et al.*, 2008, PHILIPPSEN *et al.*, 2009).

Utilizando outros marcadores diferentes da região controle, Ferreira *et al.*, (2016) comparou a diversidade genética entre *G. brasiliensis* e outra espécie do gênero *Astyanax* (*A. altiparanae*), e assim como em nossos resultados a diversidade genética da espécie com maior mobilidade foi maior.

Em termos espaciais, os dados de diversidade mostram-se bastante heterogêneos variando muito os níveis de variabilidade em cada localidade para ambas as espécies. Visto que, devido ao fluxo unidirecional do rio, esperavamos que a diversidade genética fosse maior na localidade mais a jusante, assim como observado por Reis *et al.*, (2015). No presente trabalho esse resultado pode estar relacionado ao baixo número de amostras analisadas, não corroborando a hipótese de maior diversidade no ponto mais a jusante.

As redes de haplótipos construídas com base nas sequências de ambas as espécies, reforçam os resultados de diversidade genética e sugerem que *A. hastatus* apresenta um maior número de haplótipos em comparação com *G. brasiliensis*. Para as duas espécies foi observado a existência de um haplótipo muito mais frequente que os demais. De acordo com Slatkin & Hudson (1991) este padrão é frequentemente observado em populações que passaram por um processo de expansão recente. Para a rede de haplótipos de *G. brasiliensis* chama a atenção a ausência do haplótipo H1 nos pontos mais a jusante. Mesmo sendo um ambiente com fluxo de água unidirecional onde ovos e larvas são carregados no sentido montante – jusante, o resultado indica que as características da história de vida, como desova pontual, cuidado parental, comportamento territorialista e a mobilidade limitada atuam na separação dos haplótipos ao longo do gradiente do Rio Ubatiba.

A AMOVA revelou maior variação molecular dentro das populações e menor entre populações para ambas espécies no Rio Ubatiba. Uma maior variação genética dentro das populações e não entre elas é comum, sendo observado para outras espécies de *Astyanax* e até mesmo para *G. brasiliensis* (FERREIRA *et al.*, 2016), assim como para outras espécies como *Pseudoplatystoma reticulatum* (ABREU *et al.*, 2009); Salmonídeos dos gêneros *Salvelinos* e *Salmo* no Canadá (GOMEZ-UCHIDA *et al.*, 2009); (GOMEZ-UCHIDA *et al.*, 2009); truta marrom *Salmo trutta* da Suécia (CARLSSON & NILSSON, 2000); pirarucu *Arapaima gigas* da Amazônia brasileira (ARARIPE *et al.*, 2013) e da espécie exclusivamente oceânica *Hoplostethus atlanticus* (VARELA *et al.*, 2013).

Os níveis de fluxo gênico e estrutura populacional são determinados por fatores ambientais, como a presença de barreiras físicas ou ecológicas, histórias de vida únicas,

seleção natural, eventos demográficos e distância geográfica entre populações (TATARENKOV *et. al.*, 2010; LOWE & ALLENDORF, 2010; AVISE, 2012). Em ambientes naturais se espera que quanto mais distanciadas geograficamente, mais geneticamente distantes sejam as populações em termos de base genética. Populações naturais frequentemente não mantêm panmixia, ou seja, a probabilidade de reprodução não é sempre a mesma, e depende de fatores biológicos e geográficos (SOLÉ-CAVA & CUNHA, 2012). A ausência de panmixia provoca uma estruturação (subdivisão) das populações, e segundo Wright (1978) é possível observar três tipos principais de estruturação de populações: i) **Modelo de ilhas**; ii) **Modelo passo-a-passo** (*stepping stones*) e iii) **Isolamento por distância** (IBD), em que o fator principal para a diferenciação é a limitação da dispersão em função da distância geográfica. No entanto, mesmo as espécies de peixes migratórios podem mostrar estruturações genéticas importantes entre suas populações em uma pequena escala geográfica ou mesmo dentro da área de drenagem de um único rio (SOFIA *et al.*, 2006, MATSUMOTO & HILSDORF, 2009; TATARENKOV *et. al.*, 2010).

No Rio Ubatiba a maior distância entre os pontos amostrais é observada entre P1 e P5 com cerca de 4 km de distância. Já em termos de obstáculos pode ser citado um pequeno barramento e reservatório entre os pontos P4 e P5 construído em 1981 pela empresa estadual CEDAE para tratar e melhorar o fornecimento de água para população de Maricá – RJ.

Os resultados do índice F_{st} para *A. hastatus* mostraram que todos os indivíduos amostrados em cada ponto podem ser considerados como fazendo parte de uma única população, não apresentando então nenhuma estruturação genética populacional. O fluxo gênico contínuo ao longo do Rio Ubatiba para essa espécie poder ser melhor compreendido com auxílio dos resultados apresentados no capítulo 1, onde foram observados indivíduos percorrendo cerca de 1,5 km dentro da área de estudo. Além disso foi observado que na época das chuvas a barragem fica submersa o que facilita a passagem de ovos e juvenis para jusante e a subida de indivíduos adultos para montante.

Espécies caracterizadas com maior mobilidade tendem a exibir níveis de estruturação genética menos complexos (GARCEZ *et al.*, 2011; FERREIRA *et al.*, 2015). Bradic *et al.*, (2012), através de marcadores microssatélites, verificou baixo índice de F_{st} para populações cavernícolas de *Astyanax*, sugerindo altos níveis de intercâmbio alélico entre as populações. No entanto, quando uma barreira natural ou artificial é significativa para uma espécie, a diferenciação genética entre populações pode ser observada. Reis *et al.*, (2015) observaram diferenciação genética entre populações de *A. xavante* em um riacho na bacia do rio Araguari, onde um dos pontos é isolado por uma alta queda d'água (cachoeira).

Para *G. brasiliensis* os resultados foram diferentes, com valores do índice F_{st} indicando direfenciação genética alta e significativa entre o ponto (P1) mais a montante e os demais (P3, P4 e P5). Esse resultado parece ser consequência das características comportamentais da espécie, tais como, territorialismo, cuidado parental e preferência por águas mais lentas (PARAGUASSÚ *et al.*, 2005; KADRY & BARRETO, 2010), o que limita a capacidade de dispersão desta espécie em comparação com outros peixes de água doce que não apresentam esse comportamento. Os estudos de movimento apresentados no capítulo 1 mostram que *G. brasiliensis* é de fato uma espécie de comportamento sedentário que se movimenta no máximo em distâncias de até 50 metros, fato que explica a forte diferenciação encontrada entre o ponto P1 que está localizado no trecho mais alto e distante para os demais. A estrutura genética das populações indicam um padrão de diferenciação genética proveniente do isolamento pela distância (IBD), padrão comum de subdivisão da população em espécies com capacidade de dispersão limitada (SLATKIN, 1993).

Em um estudo com *Hypostomus ancistroides*, uma espécie de peixe neotropical que exhibe comportamento sedentário e cuidado parental, os resultados revelaram níveis significativamente reduzidos de diversidade genética e estrutura genética significativa entre as populações estudadas (SOFIA *et al.*, 2008) como observado nos resultados apresentados aqui para *G. brasiliensis*.

Ferreira *et al.*, (2015) encontraram para *G. brasiliensis* em uma área de estudo bem mais extensa, valores de F_{st} semelhantes, variando de moderado (0,137) a muito alto (0,610). Outros estudos que analisam a estrutura populacional de diferentes espécies de peixes de água doce migratórios e não migratórios em pequena escala também relataram níveis elevados de diferenciação genética para peixes sedentários (CARLSSON *et al.*, 1999; LEUZZI *et al.*, 2004, SOFIA *et al.*, 2006, 2008). Portanto, é de se esperar que espécies de peixes sedentários, como é o caso de *G. brasiliensis*, que geralmente apresentam baixa capacidade de deslocamento, terão maior nível/grau de estruturação populacional dentro da bacia de drenagem em questão.

A história demográfica de uma população deixa uma assinatura no genoma de seus representantes modernos. Reconstruir essa história pode levar a conclusões úteis sobre vários processos evolutivos. Apesar dos testes de neutralidade serem mais indicados para outra linha de estudos moleculares, os mesmos foram utilizados nesse trabalho, no sentido de contribuir para o entendimento da variabilidade genética das espécies estudadas.

Os testes de neutralidade aliados ao modelo apresentado através da rede de haplótipos sugerem que a população de *A. hashtatus* no Rio Ubatiba está em expansão. A elevada

variabilidade genética e a expansão populacional observadas no presente estudo estão relacionadas ao potencial de dispersão e as taxas de movimento da espécie (FREELAND *et al.*, 2005; ADAMSON *et al.*, 2012), além de fatores relacionados a longa história evolutiva de interação espécie/ambiente do grupo. Segundo Lima *et al.*, (1985), a história evolutiva dos Characiformes no Brasil surgiu no Mioceno-Oligoceno entre 35 a 23 milhões de anos.

Para *G. brasiliensis* os testes de neutralidade não foram suficientes para dectar eventos de expansão ou gargalo populacional, sendo que a expansão é um evento não corroborado em virtude da rede de haplótipos observada para a espécie. Ferreira *et al.*, (2015) também não identificou eventos de expansão ou redução populacional através dos testes D (Tajima) e F_s (F_u) em seu estudo com *G. brasiliensis* na bacia do rio Laranjinha, PR.

Diversas razões podem ser apontadas para demonstrar a necessidade de se preservar a variabilidade genética de populações naturais, entre elas, o fato de que a perda da variabilidade pode aumentar a probabilidade de extinção através de um declínio na fecundidade e viabilidade. Populações com baixos níveis de variação genética, sobre as quais a seleção natural pode operar, podem ter oportunidades reduzidas para futuras adaptações frente a mudanças evolutivas. Assim a preservação da variabilidade genética pode ter papel chave na identificação das unidades evolutivas significativas para a conservação (RUBIN *et al.*, 2001). Nesse sentido, o conhecimento da diversidade genética de uma determinada espécie e a sua distribuição dentro e entre populações é essencial para fornecer os parâmetros necessários para a compreensão dos aspectos evolutivos e para o desenvolvimento de futuras ações de manejo e conservação (FRANKHAM *et al.*, 2010; ALLENDORF *et al.*, 2012).

Os resultados encontrados indicam que independentemente de qualquer padrão inerente à história da colonização da bacia, as características biológicas da espécie (hábito sedentário e não sedentário) são sugeridas como fatores determinantes dos níveis de diversidade e estruturação genética observada para estas espécies no Rio Ubatiba. No entanto, é importante ressaltar que algumas atividades antrópicas como a criação de pequenas barragens, na bacia do Rio Ubatiba podem também influenciar na estruturação genética das populações de peixes.

As informações sobre a variabilidade genética encontradas neste estudo poderão contribuir de maneira significativa na elaboração de planos de manejo e conservação de peixes de riachos, uma vez que, dependendo da magnitude, a perda de diversidade genética pode influenciar a variabilidade genética de uma população, limitando sua habilidade de se adaptar às mudanças ambientais e outras pressões seletivas.

REFERÊNCIAS

- ABREU, M.M.; PEREIRA, L.H.G.; VILA, V.B.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. Genetic variability of two populations of *Pseudoplatystoma reticulatum* from the Upper Paraguay River Basin. **Genetics and Molecular Biology**, v.32, n.4, p.868-873, 2009.
- ADAMSON, E. A. S., HURWOOD, D. A., MATHER, P. B. 2012. Insights into historical drainage evolution based on the phylogeography of the chevron snakehead fish (*Channa striata*) in the Mekong Basin. **Freshwater Biology** 57:2211–2229, 2012.
- ALLENDORF, F. W., LUIKART, G. H., AITKEN, S. N. **Conservation and the genetics of populations**, 2nd edn. Wiley Blackwell Publishing, Oxford, 2012.
- AMARAL, C. R. L; BRITO, P. M; SILVA, D. A.; CARVALHO, E. F. 2013. A new cryptic species of South American freshwater pufferfish of the genus *Colomesus* (Tetraodontidae), based on both morphology and DNA data. **PloS one** 8(9): e74397.
- ARDURA, A., LINDE, A. R., MOREIRA, J. C., & GARCIA-VAZQUEZ, E. DNA barcoding for conservation and management of Amazonian commercial fish. **Biological Conservation**, v. 143, n. 6, p. 1438-1443, 2010.
- ARARIPE, J.; RÊGO, P.S.; QUEIROZ, H.; SAMPAIO, I.; SCHNEIDER, H. Dispersal Capacity and Genetic Structure of *Arapaima gigas* on Different Geographic Scales Using Microsatellite Markers. **PloS one**, v.8, n.1, p.1-7, jan. 2013.
- ALJANABI, S. M., & MARTINEZ, I. 1997. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. **Nucleic acids research**, 25(22), 4692-4693, 1997.
- ARIAS, M. C., FRANCISCO, F. D. O., SILVESTRE, D., MELLO, G. A. R., & ALVES-DOS-SANTOS, I. O DNA mitocondrial em estudos populacionais e evolutivos de meliponíneos. **Apoidea Neotropica** (GAR Mello & I. Alves-dos-Santos, eds.). Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 305-309. 2003.
- ARIS-BROUSO S., EXCOFFIER L. 1996. The impact of population expansion and mutation rate heterogeneity on DNA sequence polymorphism. **Molecular Biology and Evolution** 13 494-504, 1996.
- AVISE, J. C. **Phylogeography: The History and Formation of Species**. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts. 2000.
- AVISE, J. C. **Molecular markers, natural history and evolution**. Springer Science & Business Media, 2012.
- BUENO-SILVA, M. Genética molecular e sistemática animal: Um breve histórico, contribuições e desafios. **Estudos de Biologia, Ambiente e Diversidade**, 34(83), 157-163, 2012.

BRADIC, M., BEERLI, P., GARCÍA-DE LEÓN, F. J., ESQUIVEL-BOBADILLA, S., & BOROWSKY, R. L. Gene flow and population structure in the Mexican blind cavefish complex (*Astyanax mexicanus*). **BMC evolutionary biology**, 12(1), 9, 2012.

BROWN, W. M., GEORGE, M., WILSON, A. C. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 76, n. 4, p. 1967-1971, 1979.

CALCAGNOTTO, D., DESALLE, R. Population genetic structuring in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) across the Paraná-Paraguay basin: evidence from microsatellites. **Neotropical Ichthyology**, v. 7, n. 4, p. 607-616, 2009.

CARLSSON, J., OLSEN, H. K., NILSSON, J., OVERLI, O., STABELL, O. B. Microsatellites reveal fine-scale genetic structure in streamliving brown trout. **Journal Fish Biology** 55:1290–1303, 1999.

CARLSSON, J. & NILSSON, J. Population genetic structure of brown trout (*Salmo trutta* L.) within a northern boreal forest stream. **Hereditas**, v.132, p.173-181, 2000.

CASTRO, A. L. F., STEWART, B. S., WILSON, S. G., HUETER, R. E., MEEKAN, M. G., MOTTA, P. J. & KARL, S. A. Population genetic structure of Earth's largest fish, the whale shark (*Rhincodon typus*). **Molecular Ecology**, 16(24), 5183-5192, 2007.

DRISCOLL, D. A. Genetic structure, metapopulation processes and evolution influence the conservation strategies for two endangered frog species. **Biological Conservation**, v. 83, n. 1, p. 43-54, 1998.

EXCOFFIER, L., SMOUSE, P. E., & QUATTRO, J. M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, 131(2), 479-491, 1992.

EXCOFFIER, L., & LISCHER, H. E. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular ecology resources**, 10(3), 564-567, 2010.

FERREIRA, D. G., GALINDO, B. A., FRANTINE-SILVA, W., ALMEIDA, F. S., & SOFIA, S. H. Genetic structure of a Neotropical sedentary fish revealed by AFLP, microsatellite and mtDNA markers: a case study. **Conservation genetics**, 16(1), 151-166, 2015.

FERREIRA, D. G., SOUZA-SHIBATTA, L., SHIBATTA, O. A., SOFIA, S. H., CARLSSON, J., DIAS, J. H. P., MAKRAKIS, S. & MAKRAKIS, M. C et al. Genetic structure and diversity of migratory freshwater fish in a fragmented Neotropical river system. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 27, n. 1, p. 209-231, 2016.

FELSENSTEIN, J. The theoretical population genetics of variable selection and migration. **Annual Review of Genetics**, 10: 253-280, 1976.

FINSTERER, J. Mitochondriopathies. **European Journal of Neurology: the official journal of the European Federation of Neurological Societies**, v. 11, p. 163-186, 2004.

- FLUKER, B. L., KUHAJDA, B. R., & HARRIS, P. M. The effects of riverine impoundment on genetic structure and gene flow in two stream fishes in the Mobile River basin. **Freshwater Biology**, 59(3), 526-543, 2014.
- FRAMKHAN, R., BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. **Introduction of conservation genetics**. Cambridge University Press, New Your, 2003.
- FREELAND, J. R.; KIRK, H., PETERSEN, S. Genetic Analysis of Single Populations. **Molecular Ecology**, Second Edition, p. 77-128, 2005.
- FU, Y. X. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. **Genetics**, 147(2), 915-925, 1997.
- FU, Y. X., Li, W. H. Statistical tests of neutrality of mutations. **Genetics** 133, 693-709, 1993.
- GAINES, M. S; CALDWELL, J; VIVAS, A. M. Genetic variation in the mangrove periwinkle *Littorana angulifera*. **AMarine Biology** 27:327-332, 1974.
- GARCEZ, R., CALCAGNOTTO, D., ALMEIDA-TOLEDO, L. F. 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**, v. 21, n. 3, p. 268-275, 2011.
- GILPIN, M. E.; SOULÉ M. E. Minimum viable populations: process of species extinction. Pp: 19-34, In: **Conservation biology, the science of scarcity and diversity**. SOULÉ, M. E. (eds.). Sunderlands, Sinauer Associates, 1986.
- GOOCH, J. L, SMITH, B. S; IKNUPP, D. Regional survey of gene frequencies in the mud snail *Nas- saCrius obsoletus*. **Biological Bulletin** 142:36-48, 1972.
- GOMEZ-UCHIDA, D., KNIGHT, T.W., RUZZANTE, D.E. Interaction of landscape and life history attributes on genetic diversity, neutral divergence and gene flow in a pristine community of salmonids. **Molecular Ecology**, v.18, p.4854-4869, 2009.
- HARPENDING, H. C. Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. **Human biology**, p. 591-600, 1994.
- HARTL, D. L. **Princípios da Genética de Populações**. Editora FUNPEC, 3 ed. Ribeirão Preto , SP. 2008.
- KADRY, V. O; & BARRETO, R. E. Environmental enrichment reduces aggression of pearl cichlid, *Geophagus brasiliensis*, during resident-intruder interactions. **Neotropical Ichthyology**, 8(2), 329-332, 2010.
- KEARSE, M., MOIR, R., WILSON, A., STONES-HAVAS, S., CHEUNG, M., STURROCK, S., BUXTON, S., COOPER, A., MARKOWITZ, S., DURAN, C., THIERER, T., ASHTON, B., MENTJIES, P., & DRUMMOND, A. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. **Bioinformatics**, 28(12), 1647-1649. 2012.

LARSON, A., D. B. WAKE and K. P. YANEV. Measuring gene flow among populations having high levels of genetic fragmentation. **Genetics** 106: 293-308, 1984.

LANGEN, K., SCHWARZER, J., KULLMANN, H., BAKKER, T. C. M., THUNKEN, T. Microsatellite support for active inbreeding in a cichlid fish. **PloS One** 6:1–9, 2011.

LEE, W. J., CONROY, J., HOWELL, W. H., & KOCHER, T. D. Structure and evolution of teleost mitochondrial control regions. **Journal of molecular evolution**, 41(1), 54-66, 1995.

LEIGH, J. W., & BRYANT, D. Popart: full feature software for haplotype network construction. **Methods in Ecology and Evolution**, 6(9), 1110-1116, 2015.

LEUZZI, M. S. P, ALMEIDA, F. S. D, ORSI, M. L., SODRE, L. M. K. 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.

LIMA, M.R.; SALARD-CHEBOLDAEF, M.; SUGUIO, K. Etude Palinologique de la Formation Tremembé, tertiaire du Bassin de Taubaté, (Etat de São Paulo, Bresil), D' Apres les Echantillons du Sondage n°42 du CNP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PALEONTOLOGIA, VIII, 1983, MMEDNPM, série Geologia, 27, **Paleontologia Estratigráfica**, v.2, p.379-393, 1985.

LIBRADO, P. & ROZAS, J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. **Bioinformatics**, v. 25, n. 11, p. 1451-1452, 2009.

LOWE, W. H. & ALLENDORF, F. W. What can genetics tell us about population connectivity?. **Molecular ecology**, v. 19, n. 15, p. 3038-3051, 2010.

LOPERA-BARRERO, N. M., RIBEIRO, R. P., POVH, J. A., SIROL, R. N. & MANGOLIN, C. A. Avaliação genética de populações naturais e de estoques de um programa de repovoamento de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) utilizando marcadores microsatélite. **Arq. Bras. Med**, v. 62, n. 4, p. 954-963, 2010.

MATSUMOTO, C. K. & HILSDORF, A. W. S. Microsatellite variation and population genetic structure of a neotropical endangered Bryconinae species *Brycon insignis* Steindachner, 1877: implications for its conservation and sustainable management. **Neotropical Ichthyology**, v. 7, n. 3, p. 395-402, 2009.

MARTELETO, F. MIRANDA. **Os efeitos da introdução de barreiras artificiais em rios sobre a genética populacional em peixes**. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná, Brasil. 2015.

MATOSO, D. A., MARTINS, C., ARTONI, R. F., GALETTI, P. M. JR. 2010. Preliminary qualitative analysis on DNAm in *Astyanax fasciatus* populations Cuvier, 1819 (Teleostei, Characidae) indicate population distinctiveness. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, n. 3, p. 663-667, 2010.

MARTINS, C., WASKO, A. P., OLIVEIRA, C., FORESTI, F. 2003. Mitochondrial DNA variation in wild populations of *Leporinus elongatus* from the Parana River basin. **Genetics and Molecular Biology**, v. 26, n. 1, p. 33-38, 2003.

MEYER A, KOCHER TD, BASASIBWAKI P & WILSON, A.C. 1990. Monophyletic origin of Lake Victoria cichlid fishes suggested by mitochondrial DNA sequences. **Nature** 347: 550-553, 1990.

MORELLI, K. A. **Migração do curimatá (*Prochilodus lineatus*, Prochilodontidae, Characiformes) no rio Mogi-Guaçu: Aspectos genéticos-Populacionais**. Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP. 2008.

MORIN, P. A., LUIKART, G., & WAYNE, R. K. SNPs in ecology, evolution and conservation. **Trends in Ecology & Evolution**, 19(4), 208-216, 2004.

MATIOLI, S. R.; PASSOS-BUENO, M. R. S. Métodos baseados em PCR para análise de polimorfismos de ácidos nucléicos. *In: Biologia molecular e evolução*. Holos/Sociedade Brasileira de Genética. 2012.

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

OLIVEIRA, C. Marcadores moleculares. **Boletim Sociedade Brasileira de Ictiologia** nº 100, 23-29, 2010.

PARAGUASSÚ, A. R., D. R. ALVES & J. L. LUQUEL. Metazoários parasitos do acará, *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824) (Osteichthyes: Cichlidae) do Reservatório de Lajes, do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 14: 35-39, 2005.

PEREIRA, L. H. G., HANNER, R., FORESTI, F., & OLIVEIRA, C. Can DNA barcoding accurately discriminate megadiverse Neotropical freshwater fish fauna?. **BMC genetics**, v. 14, n. 1, p. 20, 2013.

PERES, M.D.; VASCONCELOS, M.S.; RENESTO, E. Genetic variability in *Astyanax altiparanae* Garutti and Britski, 2000 (Teleostei, Characidae) from the Upper Paraná River basin, Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, v.28, n.4, p.717-724, 2005.

PHILIPPSEN, J. S., RENESTO, E., GE AHL, A. M., ARTONI, R. F., SHIBATTA, O. A., ZAWADZKI, C. H. Genetic variability in four samples of *Neoplecostomus yapo* (Teleostei: Loricariidae) from the Paranapanema basin, Brazil. **Neotropical Ichthyology** 7:25–30, 2009.

PRIOLI, S. M., PRIOLI, A. J., JÚLIO Jr, H. F., PAVANELLI, C. S., OLIVEIRA, A. V. D., CARRER, H., & Prioli, L. M. Identification of *Astyanax altiparanae* (Teleostei, Characidae) in the Iguaçú River, Brazil, based on mitochondrial DNA and RAPD markers. **Genetics and Molecular Biology**, 25(4), 421-430, 2002.

REIS, K. V., VENERE, P. C., SAMPAIO, I., RÊGO, P. S., VALLINOTO, M., & SOUZA, I. L. Downstairs gene flow: the effects of a linear sequence of waterfalls on the only population of the endangered minnow *Astyanax xavante*. **Journal of fish biology**, 87(3), 754-762, 2015.

REED, D. H.; FRANKHAM, R. Correlation between fitness and genetic diversity. **Conservation Biology**, 17: 230-237, 2003.

REED, D. H.; LOWE, E.; BRISCOE D. A.; FRANKHAM, R. Inbreeding and extinction: effects of rate of inbreeding. **Conservation Genetics**, 4: 405-410, 2003.

RIBOLLI, J., HOEINGHAUS, D. J., JOHNSON, J. A., ZANIBONI-FILHO, E., DE FREITAS, P. D., & GALETTI, P. M. Isolation-by-time population structure in potamodromous *Dourado Salminus brasiliensis* in southern Brazil. **Conservation Genetics**, v. 18, n. 1, p. 67-76, 2017.

RIBEIRO, R. P., LOPERA-BARRERO, N. M., POVH, J. A., RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, M. D. P., FORNAR, D. C., BAUMGARTNER, G., BAUMGARTNER, D., SOUZA, F. P., CASTRO, P. L., POVEDA-PARRA, A. R. Genetic diversity of *Salminus brasiliensis* wild populations in downstream and upstream Cachoeira Branca, Verde River MS Brazil: a preliminary view. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 1, 2016.

ROSSO, J. J., MABRAGAÑA, E., GONZALEZ CASTRO, M., & DIAZ DE ASTARLOA, J. M. DNA barcoding Neotropical fishes: recent advances from the Pampa Plain, Argentina. **Molecular Ecology Resources**, 12(6), 999-1011, 2012.

ROSSINI, B. C., Oliveira, C. A. M., MELO, F. A. G., ARAÚJO BERTACO, V., ASTARLOA, J. M. D., ROSSO, J. J., FORESTI, F. & OLIVEIRA, C. Highlighting *Astyanax* species diversity through DNA barcoding. **PLoS one**, v. 11, n. 12, p. e0167203, 2016.

ROBIN, E. D. & WONG, R. Mitochondrial DNA molecules and virtual number of mitochondria per cell in mammalian cells. **Journal of cellular physiology**, v. 3: p. 507-513, 1988.

RUBIN, C. S.; WARNER, R. E.; BOUZAT, J. L.; PAIGE, K. N. Population structure of Blanding's turtles (*Emydoidea blandingi*) in an urban landscape. **Biological Conservation**, v.99, p.323-330, 2001.

SACCONE, C.; DE GIORGI, C.; GISSI, C.; PESOLE, G.; REYES, A. Evolutionary genomics in Metazoa: the mitochondrial DNA as a model system. **Gene**, v. 38, p. 195-209, 1999.

SALE, P. F. The ecology of fishes on coral reefs. **Oceanography Marine Biology**. v. 18, p. 367- 421, 1980.

SANCHES, A., GALETTI JR, P. M., GALZERANI, F., DERAZO, J., CUTILAK-BIANCHI, B., & HATANAKA, T. Genetic population structure of two migratory freshwater fish species (*Brycon orthotaenia* and *Prochilodus argenteus*) from the São Francisco River in Brazil and its significance for conservation. **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 40, n. 1, 2012.

SAMBROOK, M.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 2nd. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 956p, 1989.

SCHLÖTTERER, C. The evolution of molecular markers—just a matter of fashion?. **Nature reviews genetics**, v. 5, n. 1, p. 63-69, 2004.

SLATKIN, M. Gene flow in natural populations. **Annual Review of Ecology Systematics**, 16: 393-430, 1985.

SLATKIN, M., & HUDSON, R. R. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. **Genetics**, 129(2), 555-562, 1991.

SLATKIN, Montgomery. Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. **Evolution**, v. 47, n. 1, p. 264-279, 1993.

SOFIA, S. H., SILVA, C. R., GALINDO, B. A., ALMEIDA, F. S., SODRE, L. M., MARTINEZ, C. B. 2006. Population genetic structure of *Astyanax scabripinnis* (Teleostei, Characidae) from an urban stream. **Hydrobiologia** 553:245–254, 2006.

SOFIA, S. H., GALINDO, B. A., PAULA, F. M., SODRE, L. M. K., MARTINEZ, C. B. R. Genetic diversity of *Hypostomus ancistroides* (Teleostei, Loricariidae) from an urban stream. **Genetics and Molecular Biology**, v. 31, n. 1, p. 317-323, 2008.

SOLÉ-CAVA, A.M.; CUNHA, H.A. A genética e a Conservação da Natureza. In: MATIOLI, S.R e FERNANDES, F.M.C. (Orgs). **Biologia Molecular e Evolução**. Riberão Preto: Holos, Editora Sociedade Brasileira de Genética, p.217-238, 2012.

TATARENKOV, A., HEALEY, C. I.M. & AVISE, J. C. 2010. Microgeographic population structure of green swordtail fish: genetic differentiation despite abundant migration. **Molecular Ecology** 19, 257–268, 2010.

TAJIMA, F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. **Genetics**, 123(3), 585-595, 1989.

TAJIMA, F. The amount of DNA polymorphism maintained in a finite population when the neutral mutation rate varies among sites. **Genetics** 143, 1457-1465, 1996.

THUESEN, P. A., PUSEY, B. J., PECK, D. R., PEARSON, R., & CONGDON, B. C. Genetic differentiation over small spatial scales in the absence of physical barriers in an Australian rainforest stream fish. **Journal of Fish Biology**, v. 72, n. 5, p. 1174-1187, 2008.

VARELA, A.I.; RITCHIE, P.A.; SMITH, P.J. Global genetic population structure in the commercially exploited deep-sea teleost orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*) based on microsatellite DNA analyses. **Fisheries Research**, v.140, p.83-90, 2013.

ZAWADZKI, C.H., RENESTO, E., REIS, R. E., MOURA, M. O., MATEUS, R. P. Allozyme relationships in hypostomines (Teleostei: Loricariidae) from the Itaipu reservoir, Upper Rio Parana basin, Brazil. **Genetica** 123:271–283, 2005.

WANG, J., LIN, H. D., HUANG, S., PAN, C. H., CHEN, X. L., & CHIANG, T. Y. Phylogeography of *Varicorhinus barbatulus* (Cyprinidae) in Taiwan based on nucleotide variation of mtDNA and allozymes. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 31, n. 3, p. 1143-1156, 2004.

WAPLES, S. A multispecies approach to the analysis of gene flow in marine shore fishes. **Evolution** 41: 385-400, 1987.

WRIGHT, S. **Evolution and the Genetics of Populations, v.4: Variability Within and Among Natural Populations**. Chicago: The University of Chicago Press. 590p. 1978.

WRIGHT, S. 1931. Evolution in mendelian populations. **Genetics**, 16: 97-159.

CONCLUSÕES GERAIS

A utilização conjunta das duas ferramentas, captura marcação e recaptura e biologia molecular mostraram-se robustas e complementares para gerar conclusões sobre os padrões de movimentação e estruturação genética de peixes em riachos.

- Apesar do baixo índice de recaptura, os resultados de marcação e recaptura mostraram de forma eficiente que *A. hastatus* é uma espécie muito mais ativa que *G. brasiliensis* e que realiza movimentos bem maiores também, levando os indivíduos de *A. hastatus* possuírem uma maior área de vida;
- *Astyanax hastatus* não realiza migração reprodutiva, com indivíduos se movimentando individualmente e não em grupo como no caso dos eventos de migração;
- De acordo com dados de marcação e recaptura, *G. brasiliensis* pode ser considerada como uma espécie sedentária, visto que realiza poucos movimentos individuais e em distâncias curtas (no máximo distâncias de 50 metros);
- Os estudos de marcação e recaptura também indicaram que ambas apresentam crescimento corporal heterogêneo, com indivíduos apresentando taxas de crescimento diferenciadas, provavelmente em função da alta instabilidade ambiental observada no riacho estudado;
- As populações de *A. hastatus* apresentaram uma elevada variabilidade genética em comparação a *G. brasiliensis*, devido a fatores intrínsecos ao comportamento de cada espécie;
- A baixa diversidade genética inerente de *G. brasiliensis*, que parece estar relacionada ao seu comportamento de cuidado parental e capacidade de dispersão limitada, deve, portanto, ser levada em consideração nas medidas de conservação para esta espécie e outras com comportamentos semelhantes. Assim como a construção de barreiras físicas também pode influenciar na diversidade de espécies como *Astyanax hastatus* que são mais ativas.

- Os testes de neutralidade foram eficientes para indicar expansão populacional para *A. hastatus* provavelmente devido a história evolutiva das bacias e das características da própria espécie;
- A espécie *G. brasiliensis* revelou estruturação genética entre as populações mais distantes, mostrando que mesmo em riachos de pequeno porte a distância pode ser considerada como um fator importante, dependendo da biologia das espécies.

PESPECTIVA FUTURAS

Dessa forma, acredita-se que para estudos futuros sobre estruturação genética no Rio Ubatiba bem como para pequenos riachos de Mata Atlântica, seria importante o uso combinado dos marcadores mitocondriais com marcadores nucleares, visto que, inferências comuns entre os dois marcadores sustentariam de forma mais robusta as hipóteses de estruturação, aumentando a confiança dos resultados e podendo, ainda, revelar padrões mais sutis, que possivelmente não seriam encontrados na análise de um único tipo de marcador.

Juntamente com a inclusão de marcadores nucleares, sugerimos também para os estudos de movimento, uma maior abrangência de tempo, contemplando todo um período hidrológico; caso possível aumentar o número de pontos e conseqüentemente a área de estudo, incluir outras bacias e ampliar o número de espécies estudadas, Visando assim, melhorar o entendimento entre as relações de distribuição e variabilidade genética para peixes de riachos costeiros, como é o caso do Rio Ubatiba.