

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

**DNA AMBIENTAL: CRIAÇÃO DE UMA BIBLIOTECA DE DADOS
REFERENCIAIS PARA A ICTIOFAUNA DA BACIA DO RIO SÃO FRANCISCO,
BRASIL**

Kênia Ferreira Camargos

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Biotecnologia, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Bacharel em Biotecnologia.

Uberlândia – MG

Junho – 2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

**DNA AMBIENTAL: CRIAÇÃO DE UMA BIBLIOTECA DE DADOS
REFERENCIAIS PARA A ICTIOFAUNA DA BACIA DO RIO SÃO FRANCISCO,
BRASIL**

Kênia Ferreira Camargos

Victor Alberto Tagliacollo

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Biotecnologia, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Bacharel em Biotecnologia.

Uberlândia – MG

Junho – 2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

**DNA AMBIENTAL: CRIAÇÃO DE UMA BIBLIOTECA DE DADOS
REFERENCIAIS PARA A ICTIOFAUNA DA BACIA DO RIO SÃO FRANCISCO,
BRASIL**

Kênia Ferreira Camargos

Victor Alberto Tagliacollo

Homologado pela coordenação do curso de
Biotecnologia em __/__/__.

Nilson Nicolau Júnior

Uberlândia – MG

Junho – 2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

**DNA AMBIENTAL: CRIAÇÃO DE UMA BIBLIOTECA DE DADOS
REFERENCIAIS PARA A ICTIOFAUNA DA BACIA DO RIO SÃO FRANCISCO,
BRASIL**

Kênia Ferreira Camargos

Aprovado pela Banca Examinadora em: __/__/__ Nota: __

Nome e assinatura do Presidente da Banca Examinadora

Uberlândia, 13 de junho de 2023

AGRADECIMENTOS

Com gratidão, gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos à Deus e à nossa amada Nossa Senhora Aparecida por terem intercedido em minha vida, concedendo-me a maravilhosa oportunidade de cursar Biotecnologia na renomada Universidade Federal de Uberlândia. Neste momento, não posso deixar de reconhecer e agradecer meus amados pais, Walter e Márcia, e minha querida irmã Soraya, por seu constante encorajamento e apoio ao longo de toda a minha vida. Sem a presença e dedicação deles, eu jamais teria alcançado esse feito tão significativo, especialmente considerando a necessidade de me estabelecer em uma nova cidade. Gostaria de expressar minha profunda gratidão a meu orientador, Victor, por sua orientação cuidadosa e valiosa amizade. Sua expertise e disponibilidade foram fundamentais para o meu crescimento acadêmico e pessoal durante todo o curso. Sou imensamente grata por sua presença em minha jornada.

Não posso deixar de agradecer a todas as pessoas que, de forma direta ou indireta, contribuíram para minha admissão e conclusão da graduação. Seus conselhos, apoio e incentivo foram verdadeiros pilares em meu caminho, e sou extremamente grata por cada gesto e auxílio que recebi ao longo dessa jornada acadêmica. Por fim, expresso minha profunda gratidão à Universidade Federal de Uberlândia por todo o investimento aplicado em minha formação. A instituição desempenhou um papel vital ao fornecer recursos, oportunidades de aprendizado e uma comunidade acadêmica vibrante, que me ajudou a expandir meus horizontes e adquirir conhecimentos fundamentais para a minha carreira.

Agradeço a todas as pessoas envolvidas por tornarem possível a realização desse sonho. Vou levar comigo todo o aprendizado adquirido e usar essas experiências como base para um futuro promissor na área da Biotecnologia. Mais uma vez, minha profunda gratidão a todas aquelas que ajudaram de alguma forma para minha jornada acadêmica. Sou grata por ter recebido tanto apoio e orientação ao longo desses anos. Que as bênçãos de Deus e de Nossa Senhora Aparecida estejam sempre com cada uma de vocês. Muito obrigada!

RESUMO

Com mais de 250 espécies de peixes e uma extensão de aproximadamente 2.800 km, a bacia do rio São Francisco é um importante elo socioeconômico entre as regiões nordeste e sudeste do Brasil. A bacia está localizada completamente no território brasileiro, drenando áreas dos biomas Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica, os dois últimos considerados hotspots globais de biodiversidade. No entanto, a ictiofauna da bacia tem sido afetada pelas atividades de hidrelétricas e mineração, que têm ocasionado poluição e assoreamento de tributários, mananciais e veredas mineiras. A ictiofauna do São Francisco é bem conhecida, mas a detecção frequente de espécies novas ou crípticas utilizando técnicas de DNA ambiental sugere que a biodiversidade na bacia é subestimada. Aplicação de tais técnicas em estudos de DNA ambiental é realizada através das comparações entre os DNAs sequenciados e bibliotecas genômicas referenciais. Devido à biodiversidade de peixes elevada do São Francisco, incluindo espécies novas e crípticas, as bibliotecas disponíveis estão incompletas ou apresentam identificações desatualizadas. Para auxiliar os estudos de DNA ambiental, este projeto organizou uma biblioteca atualizada de sequências de DNA para o marcador *barcoding* Citocromo Oxidase I (COI) de peixes do rio São Francisco. A biblioteca inclui espécimes-testemunhos coletados em tributários da bacia com sequências de DNA para o marcador COI depositadas no GenBank e BOLD. Os resultados indicam que os peixes pertencentes às ordens Characiformes, Siluriformes e Cyprinodontiformes apresentam alta representatividade de espécies e sequências do gene COI na bacia do Rio São Francisco. Essa constatação era esperada, uma vez que estes clados estão entre os mais diversos da região neotropical. No entanto, o que se destaca é a baixa representatividade de espécies e sequências do gene COI para as ordens Gymnotiformes e Cichliformes, sendo necessário um maior esforço amostral dentro da bacia para esses grupos. É importante destacar que esses clados são menos diversos no rio São Francisco em comparação com outras bacias hidrográficas, como a do Alto Paraná e a Amazônica. Diante disso, é fundamental investigar se esse padrão observado reflete uma menor diversidade no rio São Francisco devido a questões históricas ou a um viés de amostragem. Além disso, com base no mapa elaborado, é possível identificar que as regiões do submédio e baixo São Francisco apresentam baixa amostragem de dados para o gene COI. Portanto, é imprescindível direcionar um esforço amostral nessas áreas, a fim de compreender melhor a ictiofauna do rio São Francisco. Espera-se que, com a organização da biblioteca molecular referencial, haja uma atuação

conjunta entre pesquisadores e órgãos governamentais para o desenvolvimento de estratégias eficientes e planos de manejo efetivos visando a preservação da ictiofauna da bacia do rio São Francisco.

Palavras chaves: Peixes tropicais, marcador COI, preservação.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	1
2- OBJETIVO GERAL	3
2.1 - OBJETIVOS ESPECIFICOS:	3
4 - METODOLOGIA	4
4.1. - <i>Lista de espécies do São Francisco</i>	4
4.2. - <i>Bancos genômicos do COI</i>	4
4.3- <i>Banco de dados de distribuição espacial</i>	5
4.4 - <i>Análises estatísticas</i>	5
5 – RESULTADOS	6
5.1. - <i>Diversidade da Ictiofauna do São Francisco</i>	6
5.2 - <i>Banco de dados molecular</i>	8
5.4 - <i>Microregioes com deficit de coletas</i>	14
6 – DISCUSSÃO	15
6.1 <i>Riqueza da ictiofauna da bacia do rio São Francisco</i>	15
6.2 - <i>Biblioteca genômica do COI</i>	16
6.3 - <i>Base de dados de distribuição espacial</i>	17
6.4. - <i>Microregioes da bacia do Rio São Francisco</i>	18
7 - CONCLUSÃO	18
8-BIBLIOGRAFIA	20

LISTA DE GRÁFICOS

Figura 1- Soma geral da porcentagem de riqueza das principais ordens.....	6
Figura 2- Porcentagem de riqueza de Characiformes por família.....	7
Figura 3- Porcentagem de riqueza por família de Siluriformes.....	7
Figura 4- Porcentagem de riqueza por família e por Ordem.....	8
Figura 5- Porcentagem de gene COI por ordem.....	9
Figura 6- Porcentagem do gene COI por família de Characiformes.....	10
Figura 7- Porcentagem de gene COI por família de Siluriformes.....	11
Figura 8- Porcentagem de Gene COI por ordem/Família.....	12
Figura 9- Porcentagem de coordenadas GPS por ordens.....	12
Figura 10- Porcentagem de coordenadas GPS por família de Characiformes.....	13
Figura 11- Porcentagem de coordenadas GPS por por família de Siluriformes.....	14
Figura 12- Porcentagem de coordenadas GPS por ordem/Família.....	15

1. INTRODUÇÃO

A bacia do São Francisco, com uma extensão de cerca de 2.700 km, é considerada o maior rio exclusivamente lotado no território brasileiro, e abriga uma ampla diversidade de habitats e espécies (CASTRO & PEREIRA, 2019). Devido à sua extensão, o rio atravessa diferentes biomas, incluindo áreas da Caatinga, Mata Atlântica e Cerrado, com os dois últimos sendo considerados *hotspots* mundiais (TABARELLI, et al; 2005, MYERS et al., 2000). A região da bacia do São Francisco é um importante centro de diversidade de peixes, com cerca de 250 espécies nativas identificadas, sendo as principais famílias encontradas: Siluriformes, Cyprinodontiformes e Characiformes (PAN, 2020). No entanto, a bacia também possui algumas espécies invasoras e/ou introduzidas, tais como *Astronotus ocellatus* (Oscar/Acará-Açu), *Cichla ocellaris* (Tucunaré Amarelo), *Cichla monoculus* (Tucunaré-Açu), *Coptodon rendalli* (Tilápia do Congo), *Parachromis managuensis* (Ciclídeo Jaguar), *Oreochromis niloticus* (Tilápia do Nilo), *Poecilia reticulata* (Barrigudinho) e *Plagioscion squamosissimus* (Corvina) (RAMOS, et al; 2018). O conhecimento de ambas, espécies nativas e exóticas, e de suas distribuições geográficas, é essencial para o planejamento de estratégias de conservação e gestão eficazes para a conservação do rio São Francisco.

O rio São Francisco tem suas nascentes localizadas na Serra da Canastra no Cerrado de Minas Gerais (CBHSF, 2022). Sua bacia hidrográfica, com uma área de aproximadamente 640.000 km², que equivale a cerca de 7% do território nacional (PRUSKI et al., 2004), abrange vários biomas, sendo os mais ameaçados pelo desmatamento a Mata Atlântica e o Cerrado (MYERS et al., 2000). Este último é considerado um dos maiores biomas brasileiros, ficando atrás apenas da Amazônia, e contempla uma extensão territorial de 2 milhões de km², com clima tropical sazonal (RIBEIRO et al; 2001). O desmatamento do Cerrado tem sido catastrófico, provocando o assoreamento de rios e veredas da bacia do São Francisco, ameaçando assim a perpetuação da biodiversidade (FERREIRA et al., 2003). A utilização dos recursos hídricos do São Francisco, vem associada a premissa do desenvolvimento econômico, entretanto tal desenvolvimento se dá através do desmatamento, poluição industrial, doméstica, mineração, destruição de várzeas e lagoas marginais por meio da agricultura (SATO, et al. 1987; MENEZES, 1996). É preciso reconhecer que mais do que geração de renda, a bacia do São Francisco garante a subsistência de populações ribeirinhas

que dependem exclusivamente da pesca nas regiões nordeste e sudeste do país (ZUFFO, et al, 2019).

Para responder aos impactos ambientais que têm afetado a qualidade da bacia do São Francisco, tornou-se imprescindível a implementação de medidas de monitoramento ambiental que forneçam dados ágeis e precisos sobre as condições do rio e seus ecossistemas associados (CBHSF, 2017). Isso porque o monitoramento adequado é fundamental para o desenvolvimento de estratégias eficazes de gestão e conservação da biodiversidade, bem como para a avaliação do impacto de atividades antrópicas na região (GÜNTHER et al., 2012). Ademais, é importante destacar que as medidas de monitoramento precisam ser contínuas e integradas, envolvendo diversos aspectos como a qualidade da água, a diversidade biológica, a geomorfologia, entre outros (DIAS et al., 2014). Assim, a implantação de um sistema de monitoramento ambiental efetivo e preciso é uma ação essencial para garantir a sustentabilidade da bacia do São Francisco e promover a conservação dos seus ecossistemas e espécies associadas.

A monitoração da ictiofauna da bacia do São Francisco é uma atividade crucial para avaliar a conservação dos ecossistemas aquáticos. Para isso, diversas técnicas têm sido empregadas para a coleta de informações, como a análise de componentes químicos da água, captura de espécies por meio de redes de pesca (WATANABE, et al; 2022), eDNA *metabarcoding* (SALES, et al; 2021), entre outros. No entanto, a identificação de espécies crípticas é um grande desafio e a técnica de *metabarcoding* tem se mostrado mais eficiente nesse processo (SALES, et al; 2021). Essa técnica se baseia na amplificação do DNA ambiental, utilizando primers específicos para genes como COI e 12S, e na comparação das sequências geradas com bibliotecas de DNA, tais como o GenBank e o BOLD, para realizar a identificação taxonômica (MILAN, et al; 2020). Esses bancos de dados possuem sequências de grande parte das espécies do planeta (MEIKLEJOHN et al; 2019), com informações sobre esses marcadores *barcoding* (STOECKLE et al, 2017; TELETCHER et al -2009), além de informações sobre a origem geográfica (WANDERLEY et al, 2011). Além disso, o uso do *metabarcoding* para monitorar a ictiofauna do São Francisco vem contribuir significativamente para nosso entendimento sobre aspectos ecológicos da bacia (THOMSEN et al., 2015), permitindo assim a adoção de medidas mais eficazes para a conservação e manejo sustentável desses recursos naturais.

2- OBJETIVO GERAL

Neste estudo, realizamos a atualização das informações taxonômicas e sequências do marcador molecular COI disponíveis nos repositórios GenBank e BOLD, referentes aos espécimes coletados na bacia do rio São Francisco e depositados em coleções científicas nacionais e internacionais. Essa atualização resultou na criação de um banco de dados atualizado sobre a ictiofauna da bacia do rio São Francisco. Através da análise dessas informações, pudemos identificar os grupos taxonômicos que requerem uma maior amostragem e as microrregiões da bacia que demandam de maior esforço amostral.

2.1 - OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- Realizar a atualização das informações taxonômicas e sequenciais do marcador molecular COI, obtidas a partir dos repositórios GenBank e BOLD, referentes aos espécimes coletados na bacia do rio São Francisco e depositados em coleções científicas nacionais e internacionais.
- Criar um banco de dados atualizado sobre a ictiofauna da bacia do rio São Francisco, com base nas informações taxonômicas e sequenciais atualizadas.
- Identificar os grupos taxonômicos específicos que requerem uma maior amostragem na bacia do rio São Francisco, a fim de preencher lacunas de conhecimento existentes.
- Determinar as microrregiões da bacia do rio São Francisco que demandam um maior esforço amostral para melhor compreensão da diversidade de sua ictiofauna.

4 - METODOLOGIA

4.1. - Lista de espécies do São Francisco

A primeira fase do projeto envolveu a atualização do banco de dados com identificações taxonômicas de espécies mais recentemente descritas ou identificadas como nativas da bacia do rio São Francisco. Esta atualização foi conduzida por meio de consulta de referências científicas disponíveis e publicações, bem como catálogos online e análise de espécimes depositados em coleções científicas. Em alguns casos especialistas em grupos

taxonômicos mais complexos foram contactados para confirmar a ocorrência de algumas espécies na região.

4.2. - Bancos genômicos do COI

A segunda etapa deste trabalho teve como objetivo a atualização dos dados de sequências de referência do gene *barcoding* COI, disponíveis em repositórios públicos como BOLD e GenBank. Dado que ambos os repositórios são constantemente atualizados, é possível que novas sequências estejam disponíveis desde a última consulta. A partir da análise da lista das espécies que já possuíam sequências de referência e familiares que ainda necessitavam passar por esta etapa, foram identificados quais táxons apresentavam lacunas amostrais que precisavam ser preenchidas.

4.3- Banco de dados de distribuição espacial

A terceira etapa do estudo teve como objetivo construir um banco de dados que fornecesse informações sobre a distribuição espacial dos peixes ao longo da bacia hidrográfica do rio São Francisco. Para atingir esse objetivo, foram coletadas coordenadas geográficas de diversas fontes, incluindo artigos científicos, repositórios online como GBIF, catálogos e coleções científicas. Para garantir a confiabilidade dos dados, foram registradas informações adicionais como números de lotes e nome dos identificadores das espécies. As coletadas dos repositórios online, como GBIF e SpeciesLink, passaram por um processo semiautomatizado de filtragem de dados a fim de remover informações equivocadas, como coordenadas em oceanos ou fora da bacia hidrográfica do rio São Francisco. Em alguns casos, especialistas de grupos taxonômicos foram consultados para confirmar a ocorrência das espécies nas regiões indicadas pelas coordenadas. Com base nos dados coletados, foram identificadas microrregiões hidrográficas do rio São Francisco que careciam de informações de distribuições geográficas sobre os peixes.

4.4 - Análises estatísticas

A quarta e última etapa consistiu em análises estatísticas para identificar as frequências de ocorrência de sequências do gene COI por nível taxonômico. Além disso, foi gerado um mapa de distribuição geográfica das espécies COI da bacia do rio São Francisco através da plotagem de coordenadas geográficas utilizando pacotes do programa R. Os dados de sequências do gene COI e as distribuições geográficas foram combinadas ao mapa da bacia, possibilitando a identificação de microrregiões hidrográficas da bacia do rio São Francisco com baixa amostragem molecular. Essas regiões foram indicadas nos mapas como prioritárias para coletas e sequenciamentos de espécimes testemunhos.

5 – RESULTADOS

5.1. - *Diversidade da Ictiofauna do São Francisco*

A análise da riqueza revelou que na bacia do rio São Francisco estão presentes 248 espécies, distribuídas em cinco ordens taxonômicos. Dentre essas ordens, destacam-se as três principais: Characiformes, Siluriformes e Cyprinodontiformes, que juntas correspondem a aproximadamente 90% da diversidade de espécies na região. Em contraste, as demais ordens, como Gymnotiformes, Cichliformes e as categorizadas como "outros", apresentam uma representatividade menor, contribuindo com apenas 3,23% das espécies, o que equivale a menos de 10% da ictiofauna do rio São Francisco (Figura 1).

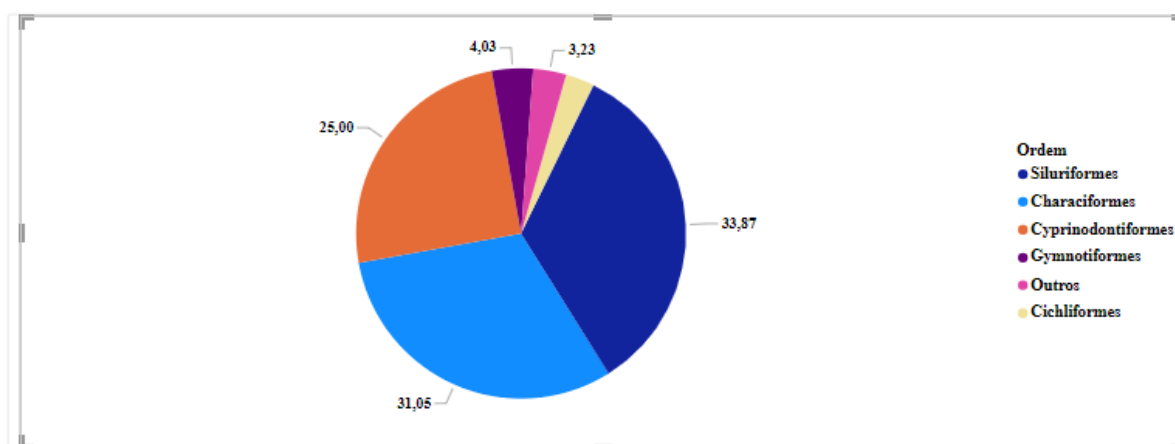


Figura 1 - Soma geral da porcentagem de riqueza das principais ordens. O gráfico ilustra a distribuição percentual da riqueza de espécies da ictiofauna do Rio São Francisco por ordens taxonômicas. A partir dessa representação, foi possível identificar as ordens que apresentam maior abundância nesse ecossistema fluvial. Nota-se que três ordens se destacam por sua elevada abundância: Characiformes (azul claro) com 31,05%;

Siluriformes (azul escuro) com 33,87%; e Cyprinodontiformes (laranja) com 25%. As demais ordens somadas representam menos de 10% da ictiofauna da Bacia do Rio São Francisco. N = 248.

Na Figura 2, são apresentados os dados referentes à diversidade da ictiofauna na Bacia do Rio São Francisco, com uma subdivisão por famílias. No grupo dos Characiformes, foi observado que as famílias mais proeminentes foram Characidae, responsável por 45,45% da riqueza, seguida por Crenuchidae, com 10,39%, e Anostomidae, com 9,09%. As demais famílias demonstraram uma representatividade menor na ictiofauna da bacia, somando aproximadamente 35% das espécies de Characiformes.

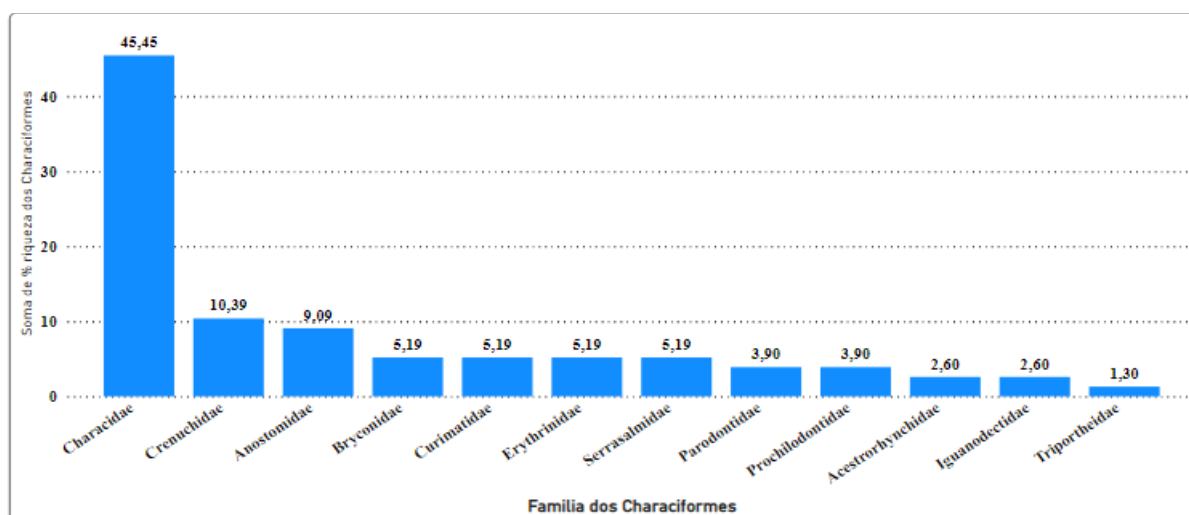


Figura 2- Porcentagem de riqueza de Characiformes por família. O gráfico ilustra a distribuição percentual da riqueza de famílias da ordem Characiformes na bacia do rio São Francisco. Characidae, Crenuchidae e Anostomidae foram as famílias mais representativas, compreendendo cerca de 70% dos 31,05% (Figura 1) da riqueza total que a ordem representa na região. As demais famílias possuem menor representatividade dentro da ictiofauna da de Characiformes no rio São Francisco. N = 77

Na figura 3, são apresentados os dados referentes ao percentual da riqueza de famílias de Siluriformes na bacia do rio São Francisco. Segundo os dados coletados, Loricariidae, Heptapteridae e Trichomycteridae são as famílias mais representativas, compreendendo cerca de 39,29%, 13,10% e 13,10%, respectivamente da riqueza total da bacia. As demais famílias possuem menor representatividade, somando aproximadamente 34% das espécies de Siluriformes (Figura 3).

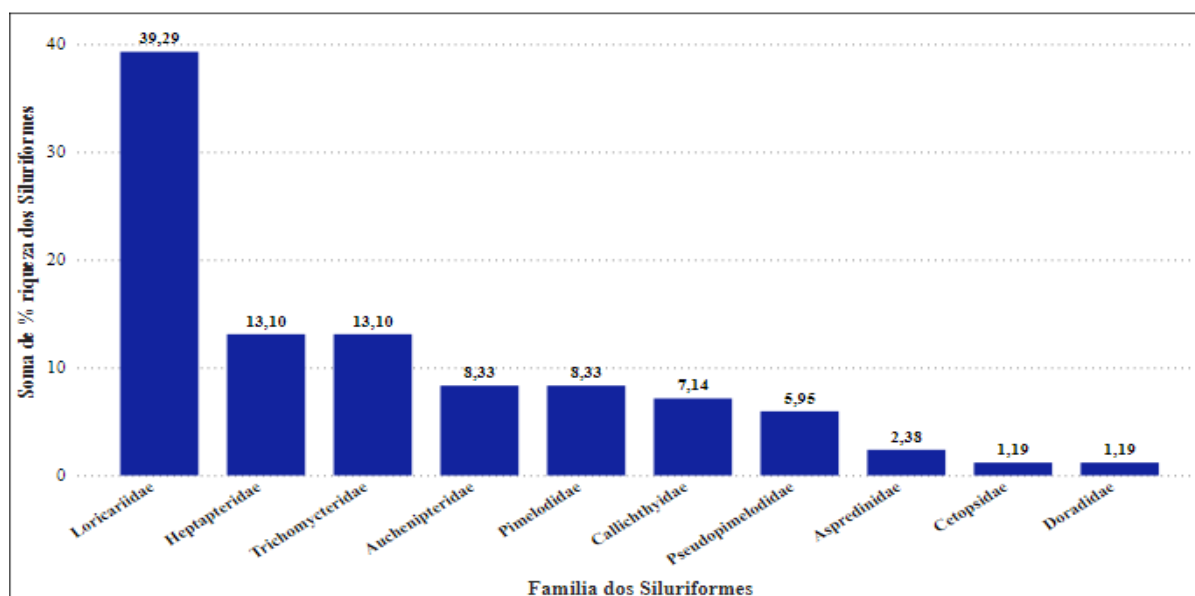


Figura 3- Porcentagem de riqueza por família de Siluriformes. O gráfico demonstra a distribuição percentual da riqueza de famílias da ordem Siluriformes na ictiofauna da Bacia do Rio São Francisco, destacando a proporção de cada uma em relação ao total de 33,87% que esta ordem representava na referida ictiofauna. Conforme constatado a partir do gráfico, a família Loricariidae foi a mais representativa, com 39,29% de abundância relativa. Heptapteridae e Trichomycteridae apresentaram valores similares, com 13,10% cada. N = 84

A figura 4 apresenta a distribuição percentual da riqueza de famílias das demais ordens presentes na bacia do rio São Francisco, excluindo Characiformes e Siluriformes, que foram ilustradas nas Figuras 2 e 3. As famílias Rivulidae (Cyprinodontiformes), Cichlidae (Cichliformes) e Sternopygidae (Gymnotiformes) em conjunto representam aproximadamente 82% do total de espécies. É importante ressaltar que, apesar de ser composta por uma única família, Rivulidae se destaca como a que possui a maior diversidade de espécies. As demais famílias, excluindo as mencionadas anteriormente, somam aproximadamente 18% da riqueza do São Francisco.

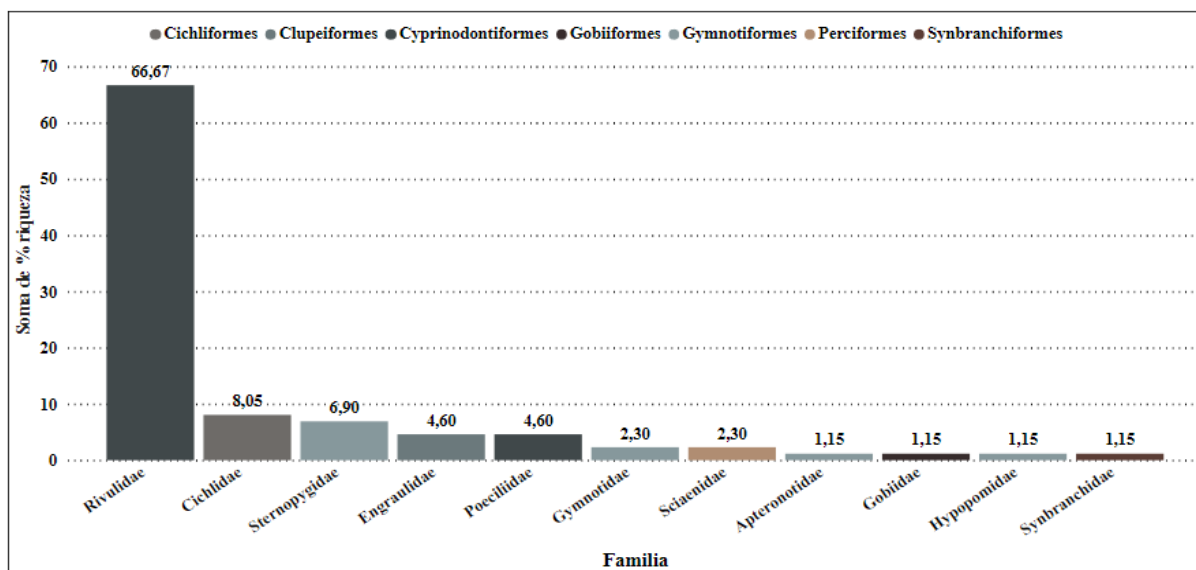


Figura 4- Porcentagem de riqueza por família e por Ordem. O gráfico ilustra a distribuição percentual de riqueza de famílias em todas as ordens, exceto as Characiformes e Siluriformes, na bacia do Rio São Francisco. As ordens Cyprinodontiformes e Gymnotiformes apresentaram o maior número de famílias, enquanto as ordens Cichliformes e Clupeiformes possuem apenas uma família cada. Estas ordens apresentam um número maior de riqueza. As demais ordens apresentaram apenas uma família cada, com menos de 3% de riqueza cada uma. N = 87

5.2 - Banco de dados molecular

A análise da diversidade genética revelou que na bacia do rio São Francisco estão sequências do gene COI para 66 espécies, distribuídas em cinco ordens taxonômicas. A Figura 5 ilustra a distribuição percentual do gene COI em diferentes ordens que ocorrem na bacia do rio São Francisco. Através deste gráfico, foi possível identificar as três ordens com maior porcentagem de gene COI na bacia do rio São Francisco, sendo elas Characiformes (43,94%), Siluriformes (36,26%) e Cyprinodontiformes (15,15%). A ordem Cichliformes apresentou uma porcentagem de apenas 3,03%, enquanto a ordem Gymnotiformes teve uma porcentagem ainda inferior com cerca de 2%. As outras ordens somadas correspondem a menos de 5% do total das espécies. Esses dados indicaram que as ordens Characiformes, Siluriformes e Cyprinodontiformes possuem mais sequências do gene COI na bacia do rio São Francisco.

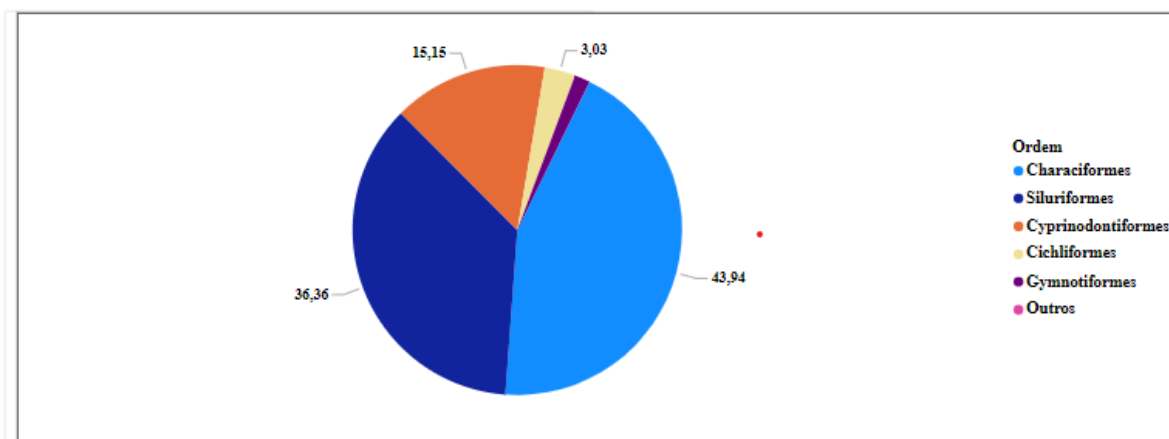


Figura 5- Porcentagem de gene COI por ordem. O gráfico destaca as três ordens mais abundantes em termos de diversidade genética representadas pelo gene COI na bacia do rio São Francisco, sendo elas: Characiformes, Siluriformes e Cyprinodontiformes que justas correspondem cerca de 95% da diversidade genética da bacia. As demais ordens somadas tiveram representatividade menor que 5%. N = 66

A Figura 6 ilustra a porcentagem de gene COI das famílias na ordem Characiformes. Dentro dessa ordem, a família Characidae representou 31,03% da diversidade genética, seguida pela família Anostomidae com 13,79%. As famílias Bryconidae e Serrasalminidae apresentaram a mesma porcentagem, com 10,34% cada uma. As famílias Crenuchidae, Curimatidae, Parodontidae e Prochilodontidae tiveram a mesma porcentagem de diversidade genética, com 6,90% cada uma. As demais famílias apresentaram valores inferiores a 4%. Esses dados indicam que as famílias Characidae e Anostomidae foram as mais representativas em termos de diversidade genética na ordem Characiformes na bacia do rio São Francisco (Figura 6).

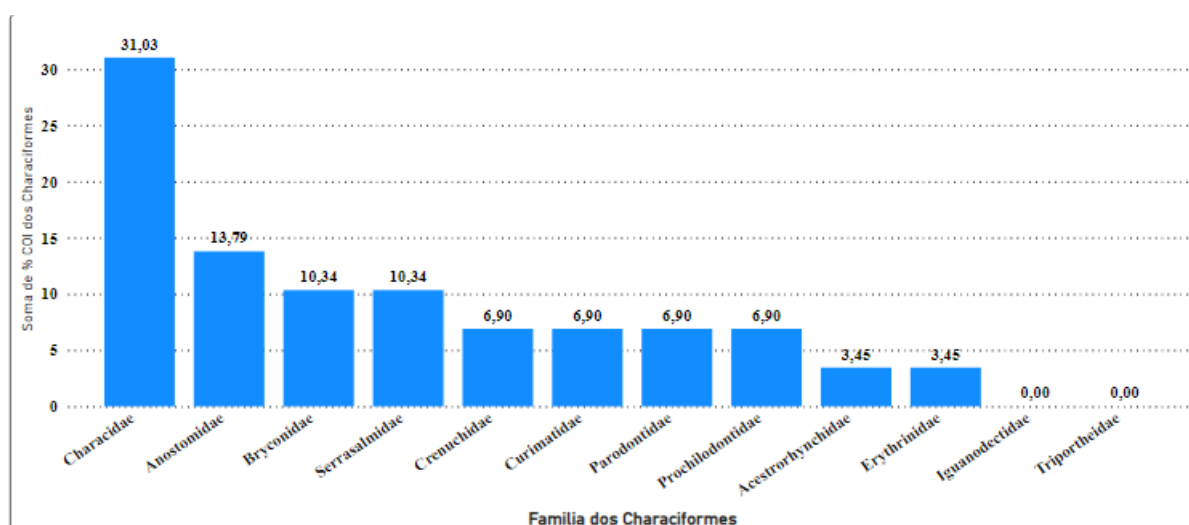


Figura 6- Porcentagem do gene COI por família de Characiformes. O gráfico apresenta as famílias da ordem Characiformes, onde é possível observar que as mais representativas em termos de diversidade genética são Characidae e Anostomidae. As demais famílias apresentam valores abaixo de 10%. N = 29

A Figura 7 ilustra a porcentagem de gene COI das famílias da ordem Siluriformes na bacia do rio São Francisco. Nessa ordem, a família Loricariidae representou 29,17% da diversidade genética, seguida pela família Pimelodidae com 16,67%. As famílias Heptapteridae e Trichomycteridae apresentaram a mesma porcentagem de diversidade genética, com 12,50% cada uma. As famílias Callichthyidae e Pseudopimelodidae tiveram a mesma porcentagem de diversidade genética, com 8,33% cada uma. As famílias Aspredinidae, Auchenipteridae e Doradidae apresentaram a mesma porcentagem de diversidade genética, com 4,17% cada uma. A família Cetopsidae não apresentou nenhuma representatividade em relação ao gene COI na bacia do rio São Francisco. Esses dados indicaram que as famílias Loricariidae e Pimelodidae apresentaram a maior diversidade genética na ordem Siluriformes na bacia do rio São Francisco (Figura 7).

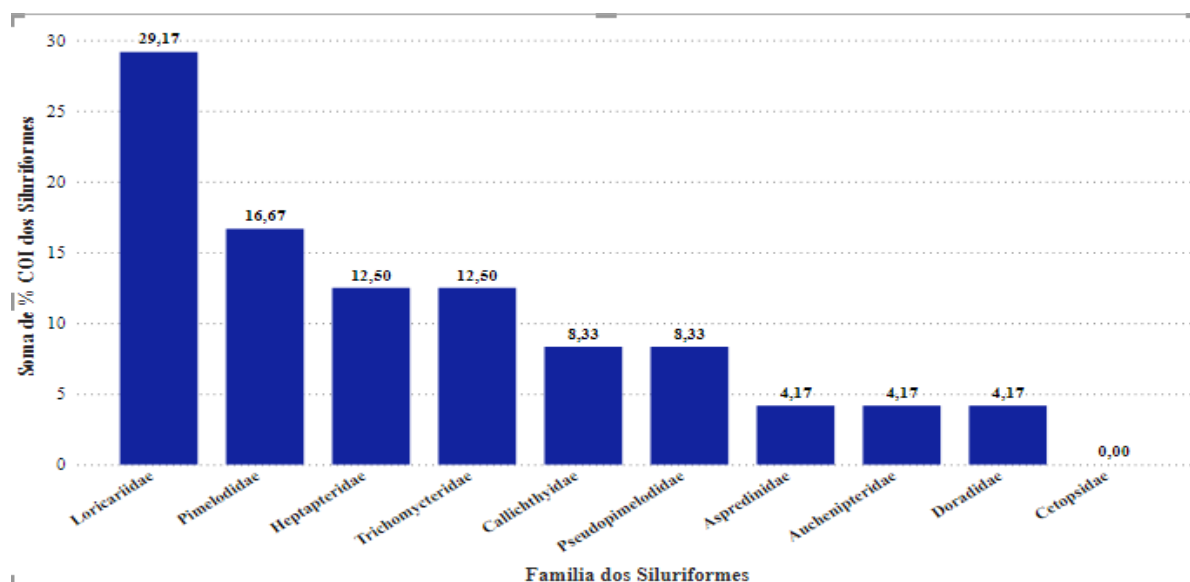


Figura 7- Porcentagem de gene COI por família de Siluriformes. O gráfico 7 apresenta as famílias da ordem Siluriformes, onde é possível observar que as mais representativas em termos de diversidade genética foram Loricariidae e Pimelodidae. As demais famílias apresentaram valores abaixo de 13%. N = 24

A Figura 8 ilustra a porcentagem do gene COI por família de todas as ordens que ocorrem na bacia do rio São Francisco, exceto Characiformes e Siluriformes. A ordem Cyprinodontiformes possui duas famílias que apresentaram o gene COI: Rivulidae, que representou 57,14% da diversidade genética, e Pociliidae, que representou 14,29%. A ordem Gymnotiformes também possui duas famílias que apresentam o gene COI: Gymnotidae e Stemopygidae, ambas com 7,14% de representatividade. A ordem Cichliformes, com apenas uma família denominada Chilidae, apresentou um nível de diversidade genética no gene COI de 14,29%. As demais ordens não apresentaram família que possua o gene COI (Figura 8).

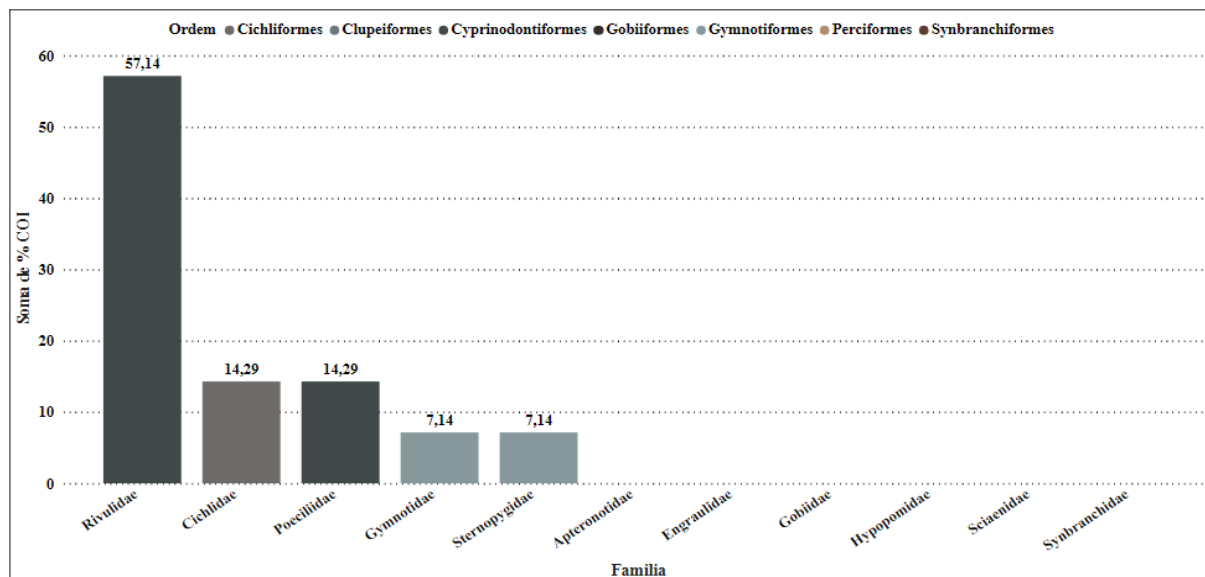


Figura 8- Porcentagem de Gene COI por ordem/Família. No gráfico acima é possível notar que a ordem Cyprinodontiformes apresenta a maior diversidade genética, as ordens Gymnotiformes e Cichliformes também apresentam diversidade, entretanto, em menor quantidade em relação a Cyprinodontiformes. As demais ordens não apresentam diversidade. N = 14

5.3 - Banco de dados espacial

O gráfico (Figura 9) mostrou a distribuição espacial das ordens que ocorrem na bacia do rio São Francisco, a partir da análise do mesmo é possível inferir que as ordens Characiformes e Siluriformes são as que apresentam maior distribuição espacial na bacia representando mais de 90% dos dados espaciais. As demais ordens representaram juntas cerca de 10% dos dados (Figura 9).

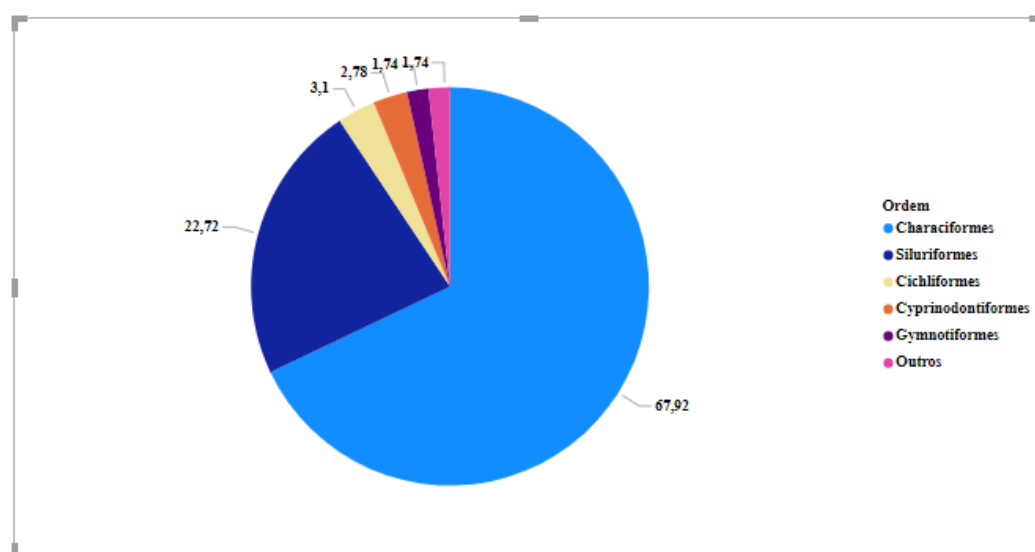


Figura 9- Porcentagem de coordenadas GPS por ordens. No gráfico acima é possível notar que a ordem Characiformes apresenta a maior porcentagem de coordenadas com aproximadamente 67,97% da distribuição

total da bacia, seguida pela ordem Siluriformes que apresenta 22,72%, as demais ordens apresentam valores muito baixo inferiores a 4%. N = 2126

A Figura 10 ilustra a distribuição espacial das famílias da ordem Characiformes na bacia do rio São Francisco. A partir da análise dos dados, é possível afirmar que a família Characidae é a mais representativa dentro dos 67,92% (Figura 9) de coordenadas que a ordem Characiformes possui na bacia, correspondendo a 47,22% desse total. Em seguida, a família Anostomidae também se mostra significativa, representando cerca de 10,73% das coordenadas correspondentes à ordem na região (Figura 10).

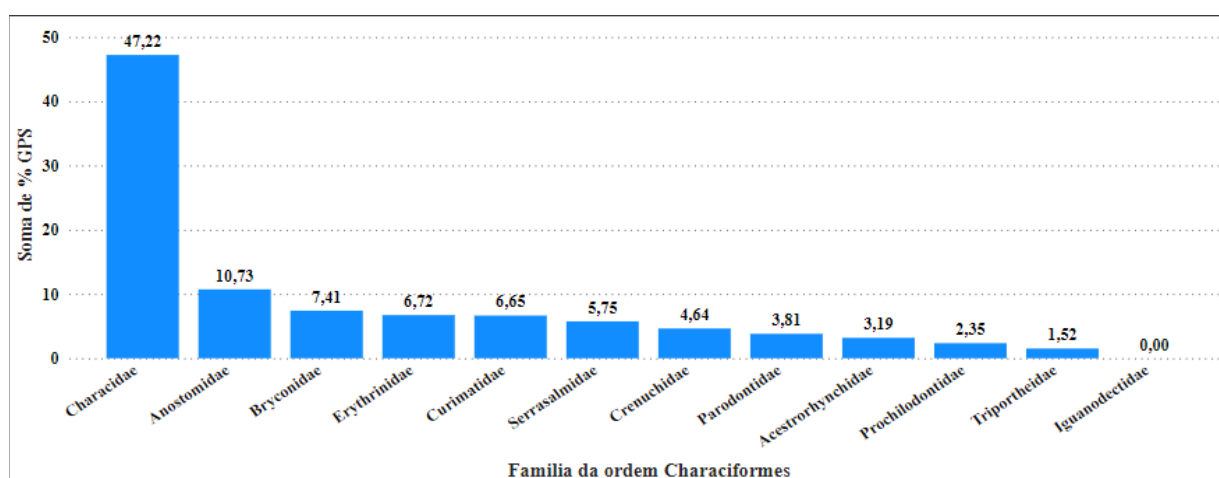


Figura 10- Porcentagem de coordenadas GPS por família de Characiformes. No gráfico 10, é possível observar que sete famílias da ordem Characiformes apresentaram porcentagens significativas de coordenadas na bacia do Rio São Francisco. A família Characidae se destaca com 47,22%, seguida por Anostomidae com 10,73%, Bryconidae com 7,41%, Erythrinidae com 6,72%, Curimatidae com 6,65%, Serrasalminidae com 5,75% e Crenuchidae com 4,64%. As demais famílias dessa ordem apresentaram porcentagens inferiores a 4%. N = 1444

A Figura 11 ilustra a distribuição espacial das famílias da ordem Siluriformes na bacia do rio São Francisco. A partir da análise dos dados, é possível afirmar que as famílias Loricariidae, Heptapteridae e Pimelodidae são as mais representativas dentro dos 22,72% (Figura 9) de coordenadas que a ordem Siluriformes possui na bacia, correspondendo a 72,68% desse total. As demais famílias representam cada uma menos de 10% das coordenadas da ordem (Figura 11).

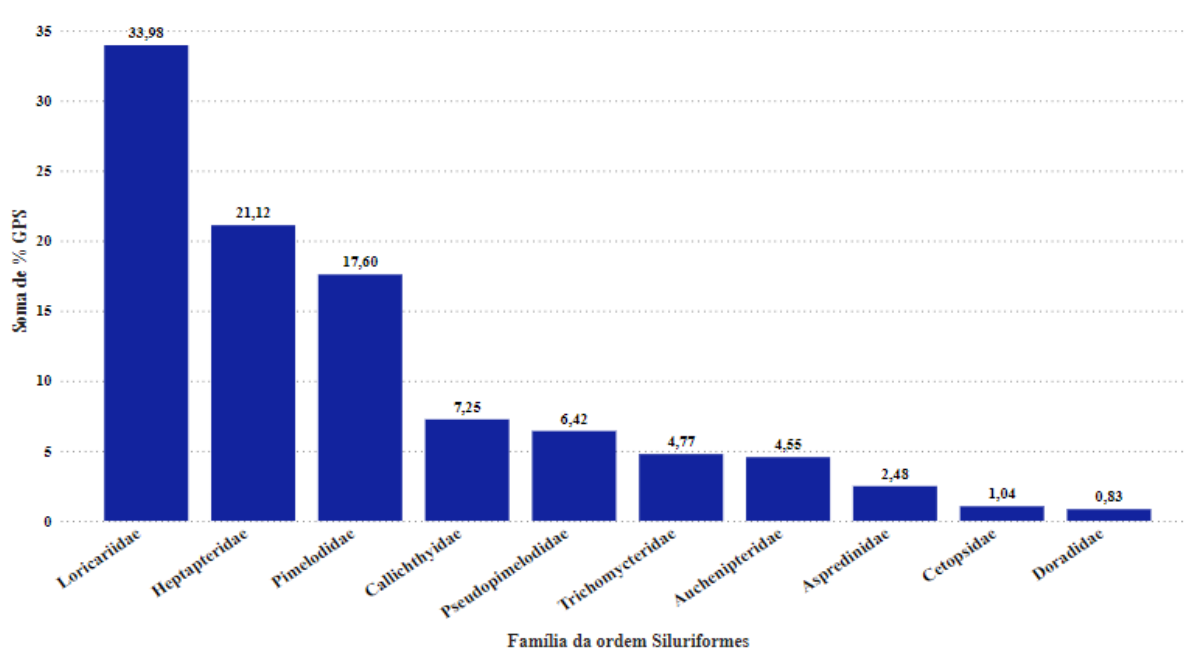


Figura 11- Porcentagem de coordenadas GPS por família de Siluriformes. No gráfico acima, é possível observar que as famílias Loricariidae, Heptapteridae, Pimelodidae, Callichthyidae, Pseudopimelodidae, Trichomycteridae e Auchenipteridae apresentaram as maiores proporções de coordenadas na bacia do Rio São Francisco. Essas famílias representam a maior parte das coordenadas, enquanto as demais famílias possuem uma presença menos significativa com menos de 3% cada uma. N = 483

A Figura 12 ilustra as ordens que possuem menor número de coordenadas na bacia do Rio São Francisco sendo elas: Cichliformes, Clupeiformes, Cyprinodontiformes, Gobiiformes, Gymnotiformes, Perciformes e Synbranchiformes. Foi possível notar que a ordem Cichliformes, representada pela família Cichlidae, apresentou a maior porcentagem de coordenadas, correspondendo a 3,03%. A ordem Cyprinodontiformes possuía duas famílias na bacia, cada uma com uma porcentagem de coordenadas inferior a 2%. A ordem Gymnotiformes apresentou o maior número de famílias na bacia, totalizando quatro, porém com porcentagem de coordenadas inferior a 3%. As demais ordens apresentaram porcentagem de coordenadas inferior a 1% (Figura 12).

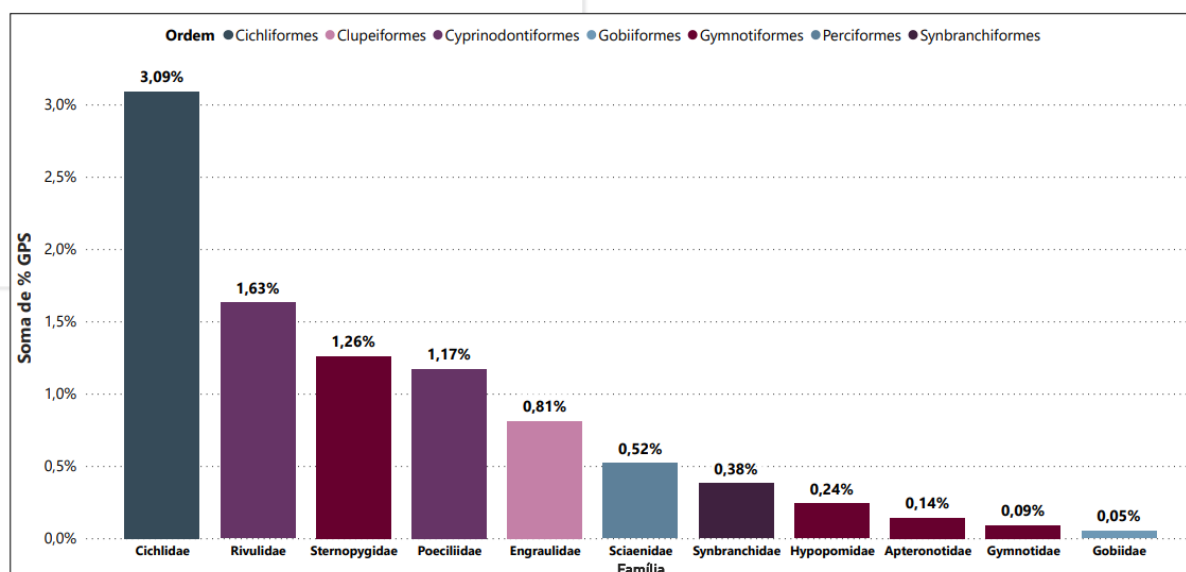


Figura 12- Porcentagem de coordenadas GPS por ordem/Família. É possível notar que na ordem Cichliformes a família Cichlidae apresenta coordenadas que representam 3,09% da abundância total dos dados espaciais. A ordem Cyprinodontiformes possui duas famílias, as Rivulidae com 1,63% e a Poeciliidae com 1,17%. A ordem Gymnotiformes possui quatro famílias, a Sternopygidae com 1,26%; Hypopomidae com 0,24%; Apterontidae com 0,14% e Gymnotidae com 0,9%. Já a ordem Gobiiformes possui uma família, a Gobiidae com 0,05% e Acanthuriformes também com uma família Sciaenidae com 0,52%. N = 199

5.4 - Microrregiões com déficit de coletas

A figura 13 representa as microrregiões da Bacia do rio São Francisco, que incluem as áreas do alto, médio, submédio e baixo. Os pontos nessa figura indicam a presença de peixes em diferentes regiões da bacia. É possível observar que o alto da bacia apresenta uma extensão maior e, conseqüentemente, tem uma maior quantidade de pontos representativos de espécies COI de peixes. Já o baixo, sendo uma região menor, possui menos pontos. Ao comparar os dados da figura 13 com a figura 9, pode-se constatar que as ordens Characiformes e Siluriformes são as mais comuns e amplamente distribuídas na Bacia do rio São Francisco. Essas ordens estão presentes em várias microrregiões, com destaque para o alto da bacia, que possui uma maior extensão e concentração de pontos representando peixes. Em contraste, as demais ordens são menos prevalentes e representam uma parcela menor dos dados espaciais e moleculares.

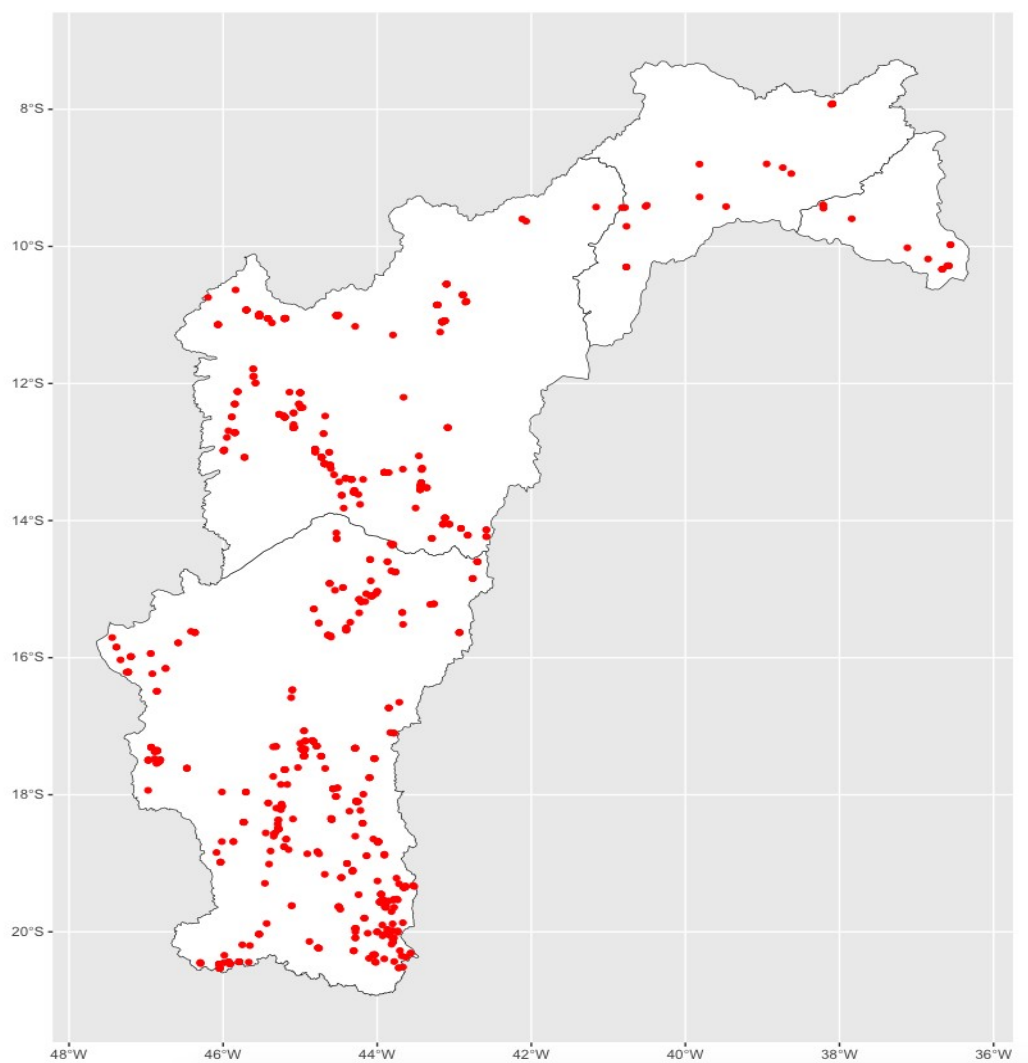


Figura 13 - Mapa das microrregiões com déficit de coletas. A figura representa as microrregiões da Bacia do rio São Francisco, subdivididas em alto (maior extensão e maior número de pontos), médio, submédio e baixo (menor extensão e menor número de pontos). Os pontos coloridos em vermelho representam a presença de espécies COI de peixes, e a concentração desses pontos indica a distribuição das diferentes ordens de peixes na bacia.

6 – DISCUSSÃO

6.1 Riqueza da ictiofauna da bacia do rio São Francisco

Os resultados desta pesquisa evidenciam a notável riqueza de espécies de peixes na Bacia do Rio São Francisco, destacando as ordens Characiformes, Siluriformes e Cyprinodontiformes, assim como suas famílias mais diversificadas, como Characidae, Loricariidae e Rivulidae, respectivamente. Compreender a distribuição dessas famílias dentro dessas ordens, especialmente os Rivulídeos, que são espécies altamente ameaçadas na América do Sul (TAGLIACOLLO et al., 2021), é crucial para o desenvolvimento de

estratégias eficazes de conservação e manejo das espécies. Isso se deve ao papel crucial desempenhado pela biodiversidade aquática na economia local, principalmente no que se refere às atividades como pesca artesanal e esportiva, turismo ecológico e piscicultura, especialmente entre os Characiformes e Siluriformes nesta bacia (MOREIRA, et al., 2008).

A análise demonstrou que as ordens Characiformes, Siluriformes e Cyprinodontiformes destacaram-se pela elevada riqueza de espécies na bacia estudada, totalizando cerca de 90% da riqueza de peixes. Essa predominância é atribuída à maior diversidade desses grupos de peixes neotropicais na região (PAN, 2020). No entanto, um fato interessante é que os Cichliformes, que também apresentam diversidade na América do Sul, possuem uma representatividade relativamente baixa no rio São Francisco. Isso pode ser resultado de um baixo esforço amostral direcionado a esses grupos ou da história evolutiva do clado, que demonstra uma maior diversidade em áreas de terras baixas, como as regiões amazônicas. Ademais, as famílias Characidae, Crenuchidae e Anostomidae foram as mais representativas na ordem Characiformes, correspondendo a 45,45%, 10,39% e 9,09% da riqueza total, respectivamente. Por sua vez, as famílias Loricariidae, Heptapteridae e Trichomycteridae foram as mais proeminentes na ordem Siluriformes, compondo aproximadamente 65,49% da riqueza total. Assim como ocorre para as ordens mencionadas, o predomínio dessas famílias pode ser parcialmente atribuído, principalmente, à alta diversidade de espécies desses grupos presentes na região neotropical, com destaque para os Characidae e Loricariidae (MALABARBA, et al., 2020).

Por sua vez, a relativa baixa representatividade das ordens Gymnotiformes e Cichliformes no Rio São Francisco, em comparação com outras bacias, pode ser explicada por suas preferências por ambientes específicos, como canais para os Gymnotiformes e lagos para os Cichliformes (BUCKUP, 2021). A baixa representação das ordens Gymnotiformes, Cichliformes na bacia também pode estar relacionada às suas necessidades ecológicas específicas, como a preferência alimentar e a capacidade de adaptação ao ambiente. Além disso, algumas dessas ordens são mais diversas em outras regiões da América do Sul como na Amazônia (BUCKUP, 2021) e nas regiões costeiras do Atlântico e do Pacífico (DEL MORAL-FLORES, et al; 2020). Portanto, embora a bacia do São Francisco represente uma amostra regional da diversidade neotropical, é possível observar que, para alguns grupos, as condições ambientais e ecológicas são fatores importantes que podem explicar suas distribuições geográficas.

Por outro lado, as ordens Characiformes, Siluriformes e Cyprinodontiformes foram as mais abundantes na região, o que está em consonância com pesquisas anteriores em ecossistemas de água doce neotropicais, que identificaram essas ordens como as mais diversas e abundantes (PAN, 2020, ALBERT et al., 2021). Essa dominância pode ser atribuída à capacidade dessas ordens de ocupar uma ampla gama de habitats e nichos ecológicos, bem como à sua alta capacidade de dispersão (MALABARBA, et al; 2020). A alta representatividade de Characidae dentro da ordem Characiformes também é consistente com estudos anteriores, que mostraram que esta família é uma das mais diversas e amplamente distribuídas na região neotropical (MALABARBA, et al; 2020). A dominância de Loricariidae dentro da ordem Siluriformes também está de acordo com estudos anteriores, que mostraram que esta família é um dos grupos mais diversos de peixes de água doce neotropicais, com alto grau de endemismo e diversidade morfológica na região Neotropical. (PEREIRA, et al; 2007).

6.2 - Biblioteca genômica do COI

A análise realizada neste estudo revelou que as ordens Characiformes, Siluriformes e Cyprinodontiformes são as mais representativas em termos de riqueza e número de sequências disponíveis nos repositórios GenBank e BOLD na bacia do Rio São Francisco. Esses resultados são esperados, considerando que essas ordens de peixes são reconhecidas por sua grande diversidade morfológica e ecológica, além de estarem amplamente distribuídas em diversos tipos de ambientes aquáticos (PEREIRA, et al., 2007; PAN, 2020). Esses resultados indicam que os esforços amostrais para elaboração de sequências genéticas não têm sido direcionados a grupos específicos, mas sim conduzidos de modo a representar efetivamente a diversidade de peixes na bacia. No entanto, é importante ressaltar que há uma escassez de registros de sequências de espécies invasoras. Ter dados sequenciados dessas espécies é crucial para permitir uma detecção mais rápida e uma intervenção precoce, visando evitar desequilíbrios ecológicos causados por invasões (SILVA et al., 2021). Assim, é necessário fortalecer a coleta e sequenciamento de espécies invasoras na região, a fim de garantir uma resposta mais eficaz e rápida para prevenir e mitigar os impactos negativos causados por essas invasões.

Entre as famílias de Characiformes, Characidae e Anostomidae apresentaram as maiores porcentagens de sequências disponíveis nos repositórios, enquanto as famílias

Loricariidae e Pimelodidae apresentaram as maiores porcentagens de sequências moleculares na ordem Siluriformes. Esses resultados estão em consonância com o esperado, uma vez que a alta diversidade dessas famílias é notória na região neotropical (PEREIRA, et al., 2007). É interessante observar que os peixes da família Pimelodidae estão bem representados nos bancos de dados. Essas espécies são migradoras e desempenham um papel importante na subsistência das comunidades ribeirinhas do São Francisco. Com a disponibilidade de sequências dessas espécies, é possível monitorar através do DNA ambiental o estado dos estoques pesqueiros ao longo do rio São Francisco. No entanto, é importante ressaltar que algumas famílias apresentaram uma representatividade baixa em relação ao gene COI (ex. Apterontidae, Gobiidae). Isso pode estar relacionado a diversos fatores, como a falta de representatividade das amostras coletadas em relação à diversidade total de espécies presentes na região ou à baixa diversidade desses grupos em ambientes de terras altas, como os Cichlidae (Cichliformes) e Apterontidae (Gymnotiformes). Esses fatores contribuem para a menor representatividade de sequências disponíveis dessas famílias nos repositórios, destacando a importância de futuras pesquisas para aumentar o conhecimento sobre a diversidade genética desses grupos específicos e suas relações com os ambientes em que estão presentes. Esses estudos podem incluir a coleta de amostras em locais ainda não amostrados na região. Além disso, é importante que os resultados obtidos sejam utilizados para o desenvolvimento de medidas de conservação da biodiversidade na região, visando a manutenção da diversidade genética das espécies presentes na bacia do rio São Francisco.

6.3 - Base de dados de distribuição espacial

A partir da análise dos dados, foi possível inferir que as ordens Characiformes e Siluriformes são as mais representativas na bacia do rio São Francisco, correspondendo a mais de 90% dos dados espaciais. Esses resultados corroboram com outros estudos que apontam para a importância dessas duas ordens na ictiofauna de diversas regiões do mundo (MOREIRA et al., 2007, NELSON., et al 2016). A análise da distribuição espacial das famílias da ordem Characiformes revelou que a família Characidae é a mais representativa na região da bacia do rio São Francisco, correspondendo a 47,22% do total de coordenadas da ordem. Esse resultado é de grande relevância, pois essa família é conhecida por apresentar uma diversidade de espécies significativa em diversos ambientes aquáticos, além de ter um valor comercial expressivo no mercado de aquarismo. Além disso, algumas espécies dessa

família desempenham um papel importante na pesca (MILAN et al., 2020). Outra família que se destacou foi a Anostomidae, representando cerca de 10,73% das coordenadas correspondentes à ordem na região. Esses resultados ressaltam a importância dessas famílias na composição da diversidade de peixes na bacia do São Francisco. Ao analisar a distribuição espacial das famílias da ordem Siluriformes, observou-se que as famílias Loricariidae, Heptapteridae e Pimelodidae são as mais representativas, correspondendo a 72,68% das coordenadas da ordem na região. Esse resultado também é relevante, especialmente para os Pimelodidae, uma vez que as espécies dessa família são frequentemente utilizadas na alimentação humana e possuem uma grande importância comercial no contexto da bacia do São Francisco (PEREIRA, et al., 2007). Essas análises da distribuição espacial das famílias de Characiformes e Siluriformes na bacia do rio São Francisco fornecem informações valiosas sobre a composição e representatividade desses grupos na região. Além disso, destacam a importância dessas famílias tanto do ponto de vista ecológico, devido à sua diversidade ecológica, quanto do ponto de vista socioeconômico, considerando seu valor comercial e uso na alimentação humana.

Em relação às ordens com menor número de coordenadas na bacia do rio São Francisco, foram identificadas as ordens Cichliformes, Clupeiformes, Cyprinodontiformes, Gobiiformes, Gymnotiformes, Perciformes e Synbranchiformes. Dentre essas, a ordem Cichliformes, representada pela família Cichlidae, apresentou a maior porcentagem de coordenadas, correspondendo a apenas 3,03% do total de coordenadas. No entanto, essa porcentagem ainda é considerada baixa, levando em consideração a diversidade deste grupo na região neotropical. Esses resultados podem ser explicados pela menor representatividade dessas ordens na região da bacia do rio São Francisco, como sugerido por BUCKUP (2021). Além disso, é possível considerar que o esforço amostral realizado não tenha sido direcionado especificamente para essas ordens, o que pode ter influenciado na menor quantidade de coordenadas disponíveis. Os resultados deste estudo indicam que as ordens Characiformes e Siluriformes, e suas respectivas famílias, são as mais representativas na bacia do rio São Francisco. Esses dados são importantes para a elaboração de planos de conservação e manejo da biodiversidade na região, bem como para a compreensão da distribuição geográfica na bacia hidrográfica do rio São Francisco. A análise espacial de dados de biodiversidade é uma ferramenta fundamental para o planejamento e implementação de políticas de conservação de recursos naturais, principalmente em regiões com considerável diversidade, como é o caso da bacia do rio São Francisco.

6.4. - Microrregiões da bacia do Rio São Francisco

Os resultados obtidos estão em concordância com pesquisas anteriores que destacaram a predominância das ordens Characiformes e Siluriformes na Bacia do rio São Francisco. Essas ordens foram registradas em várias microrregiões, especialmente no alto da bacia, que apresentou uma maior extensão e concentração de pontos representativos de peixes (RABELLO; 2021).

Os dados também evidenciam a influência das características ambientais nas distribuições espaciais das ordens de peixes ao longo do rio São Francisco. O alto da bacia, com sua topografia acidentada e rios menores, proporciona condições favoráveis para a diversidade de espécies de peixes (CBHSF, 2017). O médio São Francisco, com seu curso principal e planícies aluviais, abriga uma diversidade significativa, sendo as ordens Characiformes e Siluriformes as mais comuns nessa região (BELEI et al., 2016). O baixo São Francisco, com seus manguezais e influência das marés, desempenha um papel importante como área de reprodução, embora com menor representatividade de pontos de peixes em comparação às outras regiões (NETO et al., 2020).

Essas descobertas corroboram estudos anteriores sobre a biodiversidade dos peixes na bacia, enfatizando a relevância das ordens Characiformes e Siluriformes. No entanto, é fundamental considerar que as variações na distribuição espacial das ordens podem ocorrer devido a diferenças metodológicas e ambientais entre os estudos.

7 - CONCLUSÃO

Os resultados obtidos indicam que a ictiofauna da bacia do São Francisco reflete a diversidade neotropical, uma vez que a região abrange uma ampla área geográfica com diversos tipos de habitats. A presença de rios, lagos e reservatórios oferece uma variedade de nichos ecológicos para a colonização de diferentes espécies de peixes. Além disso, a localização da bacia entre a Caatinga e a Mata Atlântica contribui para a diversidade de espécies, uma vez que esses biomas distintos possuem características ecológicas únicas. A bacia do São Francisco abriga espécies endêmicas, ou seja, exclusivas dessa região, destacando sua importância como área de conservação da biodiversidade. Com base no levantamento realizado, a ictiofauna da bacia é composta por 248 espécies de peixes, sendo a

maioria pertencente às ordens Characiformes e Siluriformes. Além disso, a bacia abriga espécies de grande importância econômica, como o surubim, o dourado e o pacu. Este estudo ressalta a importância de complementar o banco de dados com as espécies ausentes nas ordens Characiformes, Siluriformes e Cyprinodontiformes na bacia do rio São Francisco. Recomenda-se a realização de estudos adicionais para aprofundar o conhecimento sobre outras ordens taxonômicas menos representativas na região, como Gymnotiformes, Cichliformes e as demais ordens menos prevalentes. A expansão da amostragem e a investigação aprofundada das famílias menos conhecidas desempenharão um papel crucial na obtenção de uma visão abrangente da diversidade de peixes na bacia do rio São Francisco. Além disso, essa abordagem permitirá a viabilização do estudo de DNA ambiental, uma ferramenta valiosa para revelar informações sobre a composição genética e a dinâmica populacional dos peixes na região. Portanto, a preservação da diversidade de espécies de peixes na bacia do São Francisco é fundamental para a manutenção da biodiversidade regional e reflete a riqueza e complexidade da fauna neotropical como um todo. A continuidade dos esforços de pesquisa e conservação é essencial para garantir a proteção dessas espécies e dos ecossistemas aquáticos que sustentam a vida na região.

8-BIBLIOGRAFIA

1. BELEI, Frederico et al. **Ictiofauna de área prioritária para conservação, Médio São Francisco**, Minas Gerais, sudeste do Brasil. 2016.
2. BUCKUP, Paulo Andreas. Taxonomia e filogenia de peixes de riachos brasileiros. **Oecologia Australis**, v. 25, n. 2, p. 230, 2021. <https://doi.org/10.4257/oeco.2021.2502.01>
3. CASTRO, César Nunes de; PEREIRA, Caroline Nascimento. **Revitalização da bacia hidrográfica do rio São Francisco: histórico, diagnóstico e desafios**. 2019.

4. CBHSF. **A bacia.** BH-MG, 2017. Disponível em: < <https://2017.cbhsaofrancisco.org.br/a-bacia/> >. Acesso em: 18 agosto 2022.
5. CBHSF. **Câmara Consultiva Regional – CCR Alto São Francisco.** BH-MG, 2017. Disponível em: < <https://2017.cbhsaofrancisco.org.br/ccrs/alto-sao-francisco/> >. Acesso em: 29 maio 2023.
6. DEL MORAL-FLORES, Luis Fernando et al. A new record of the exotic Guapote jaguar, *Parachromis managuensis* (Günther, 1867), (Cichliformes, Cichlidae) in a tropical coastal lagoon of the Mexican Pacific slope. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 15, n. 4, p. 479-485, 2020. <https://doi.org/10.3897/neotropical.15.e57669>
7. FERREIRA, Idelvone Mendes. **O afogar das Veredas: uma análise comparativa espacial e temporal das Veredas do Chapadão de catalão (GO).** 2003.
8. GOLD, Zachary et al. Melhorando a atribuição taxonômica de metabarcoding: Um estudo de caso de peixes em um grande ecossistema marinho. **Recursos de ecologia molecular**, v. 21, n. 7, pág. 2546-2564, 2021.
9. MALABARBA, Luiz Roberto; MALABARBA, Maria Claudia. Phylogeny and classification of Neotropical fish. In: **Biology and physiology of freshwater neotropical fish.** Academic Press, 2020. p. 1-19. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815872-2.00001-4>
10. MEIKLEJOHN, Kelly A.; DAMASO, Natália; ROBERTSON, James M. Avaliação de BOLD e GenBank–Sua precisão e confiabilidade para a identificação de materiais

biológicos. **PloS** **um**, v. 14, n. 6, pág. e0217084, 2019.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217084>

11. MILAN, David T. et al. Novos primers de metabarcoding 12S para avaliação aprimorada da biodiversidade de peixes de água doce neotropicais. **Relatórios científicos**, v. 10, n. 1, pág. 1-12, 2020.
12. MOREIRA, Cristiano Rangel et al. Relações filogenéticas na ordem Characiformes (Teleostei: Ostariophysi). **Unpublished Ph. D. Dissertation, Universidade de São Paulo**, v. 468, 2007.
13. MOREIRA, Danielle de Oliveira; COUTINHO, Bruno Rocha; MENDES, Sérgio Lucena. O status do conhecimento sobre a fauna de mamíferos do Espírito Santo baseado em registros de museus e literatura científica. **Biota Neotropica**, v. 8, p. 163-173, 2008. <https://doi.org/10.1590/S1676-06032008000200017>
14. MYERS, Norman et al. hotspots de biodiversidade para as prioridades de conservação. **Natureza**, v. 403, n. 6772, pág. 853-858, 2000. <https://doi.org/10.1038/35002501>
15. NELSON, Joseph S.; GRANDE, Terry C.; WILSON, Mark VH. **Fishes of the World**. John Wiley & Sons, 2016. <https://doi.org/10.1002/9781119174844>
16. NETO, Renato Luiz Bot; SPACH, Henry Louis; JUNIOR, Roberto Schwarz. CO-OCORRÊNCIA DE ESPÉCIES DE PEIXES NAS ÁREAS RASAS DA FOZ DO RIO SÃO FRANCISCO SE/AL. 2020. **Oecologia Australis**, v. 25, n. 3, p. 738-750. <https://doi.org/10.4257/oeco.2021.2503.09>

17. NOVAIS, Cândido Barreto de; SOUZA, Francisco Adriano de; SIQUEIRA, José Oswaldo. Caracterização fenotípica e molecular de esporos de fungos micorrízicos arbusculares mantidos em banco de germoplasma. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, p. 886-896, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2010000800015>
18. PAN. **Plano de Ação Nacional para Conservação de Espécies Ameaçadas da Fauna Aquática do Rio São Francisco**. DF, 2020. Disponível em:<<https://www.gov.br/icmbio/pt-br/centrais-de>>. Acesso em: 18 agosto 2022.
19. PEREIRA, Edson HL; VIEIRA, Fábio; REIS, Roberto E. A new species of sexually dimorphic Pareiorhaphis Miranda Ribeiro, 1918 (Siluriformes: Loricariidae) from the rio Doce basin, Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v. 5, p. 443-448, 2007. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252007000400003>
20. PRUSKI, Fernando F. et al. Precipitação média anual e vazão específica média de longa duração, na Bacia do São Francisco. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 8, p. 247-253, 2004. <https://doi.org/10.1590/S1415-43662004000200013>
21. RABELLO, Gabriela Crestana. **Ictiofauna da região da Serra da Canastra**, Minas Gerais. 2021.
22. RAMOS, Telton Pedro Anselmo et al. Continental ichthyofauna from the Paraíba do Norte River basin pre-transposition of the São Francisco River, **Northeastern Brazil**. **Biota Neotropica**, v. 18, 2018. <https://doi.org/10.1590/1676-0611-bn-2017-0471>

23. RIBEIRO, José Felipe; DA FONSECA, Carlos Eduardo Lazarini; SOUSA-SILVA, José Carlos. Cerrado: Caracterização e recuperação de matas de galeria. Planaltina, DF: **Embrapa Cerrados**, 2001., 2001.
24. ROSA, Ricardo S.; MENEZES, Naércio A. Relação preliminar das espécies de peixes (Pisces, Elasmobranchii, Actinopterygii) ameaçadas no Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 13, p. 647-667, 1996. <https://doi.org/10.1590/S0101-81751996000300015>
25. SALES, Naiara Guimarães et al. Dinâmica espaço-temporal no monitoramento de comunidades de peixes neotropicais usando metabarcoding de eDNA. **Ciência do Meio Ambiente Total**, v. 754, p. 142096, 2021. See More
26. SATO, Y.; CARDOSO, E. L.; AMORIM, J. C. C. Peixes das lagoas marginais do rio São Francisco a montante da represa de Três Marias. MG. Brasília: **CODEVASF**, 1987.
27. SILVA, Indianara Carniel da et al. **DNA barcoding para discriminação de espécies congêneras de Cambeva (Teleostei)**. 2021. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
28. STOECKLE, Mark Y.; SOBOLEVA, Lyubov; CHARLOP-POWERS, Zachary. O DNA ambiental aquático detecta a abundância sazonal de peixes e a preferência de habitat em um estuário urbano. **PloS um**, v. 12, n. 4, pág. e0175186, 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175186>
29. TABARELLI, Marcelo et al. Desafios e oportunidades para a conservação da biodiversidade na Mata Atlântica brasileira. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 132-138, 2005.

30. TELETCHEA, F. Métodos de identificação molecular de espécies de peixes: reavaliação e possíveis aplicações. **Rev Fish Biol Fisheries**, 19, 265–293 (2009). Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s11160-009-9107-4> >. >. Acesso em: 18 agosto 2022.
31. THOMSEN, Philip Francis; WILLERSLEV, Esque. DNA Ambiental—Uma ferramenta emergente na conservação para monitorar a biodiversidade passada e presente. **Conservação biológica**, v. 183, p. 4-18, 2015.
32. WANDERLEY, Maria das Graças Lapa et al. Checklist das Spermatophyta do Estado de São Paulo, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 11, p. 191-388, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1676-06032011000500013>
33. WATANABE, André Luiz et al. **CARACTERIZAÇÃO AMBIENTAL INTEGRADA DE ÁREA AQUÍCOLA NO BRAÇO OCOÍ, RESERVATÓRIO DE ITAIPU/PR, FASE PRÉ CULTIVO—PARTE II.**
34. ZUFFO, Alan Mario. **As Regiões Semiáridas e suas Especificidades 2**

ANEXOS



Planilhas utilizadas no TCC: <<https://mega.nz/folder/oAwgCbiZ#7hbkh3EojB7SX1lcG0Kh-Q>>.