



**PPGZOOOL**  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA  
UFAM

**Peixes do rio Manicoré: Uma abordagem taxonômica, molecular e ecológica sobre  
a ictiofauna dos igarapés**

**Micael Cavalli de Alencar e Silva**



**Manaus, Amazonas**

**Junho/2025**



**PPGZOO**  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA  
UFAM

**Peixes do rio Manicoré: Uma abordagem taxonômica, molecular e ecológica sobre a ictiofauna dos igarapés**

**Discente: Micael Cavalli de Alencar e Silva**

**Orientadora: Profa. Dra. Lúcia Helena Rapp Py-Daniel**

**Coorientadora: Profa. Dra. Izeni Pires Farias**

**Coorientador: Prof. Dr. Marcelo Salles Rocha**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Amazonas - UFAM como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Zoologia - PPGZool.



**Manaus, Amazonas**

**Junho/2025**

Ficha Catalográfica

Elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

---

- S586p Silva, Micael Cavalli de Alencar e  
Peixes do rio Manicoré: Uma abordagem taxonômica, molecular e ecológica sobre a ictiofauna dos igarapés / Micael Cavalli de Alencar e Silva. - 2025.  
111 f. : il., color. ; 31 cm.
- Orientador(a): Lúcia Helena Rapp Py-Daniel.  
Coorientador(a): Izeni Pires Farias.  
Coorientador(a): Marcelo Salles Rocha.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Amazonas, Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Manaus, 2025.
1. 12S. 2. COI. 3. Abundância. 4. Ictiofauna. 5. Molecular. I. Py-Daniel, Lúcia Helena Rapp. II. Farias, Izeni Pires. III. Marcelo Salles Rocha. IV. Universidade Federal do Amazonas. Programa de Pós-Graduação em Zoologia. V. Título
-

## AGRADECIMENTOS

A jornada até aqui não foi solitária, e muitas pessoas e instituições foram fundamentais para a realização desta dissertação e para a minha formação. Minha eterna gratidão a cada um.

Agradeço primeiramente à minha orientadora, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lúcia Rapp Py-Daniel, pela confiança, paciência e por compartilhar seu conhecimento comigo. Sua orientação foi essencial em todas as etapas deste trabalho.

A minha coorientadora, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Izeni Farias, por abrir as portas de seu laboratório e por sempre ser tão receptiva com as minhas ideias.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Marcelo Rocha, por estar comigo desde o início da graduação e sempre trocando uma ideia seja sobre o trabalho ou a vida.

Aos amigos da Coleção de Peixes do INPA (Diana, Paloma, Lucas, Valdenor, Suanny, Camila e Mayllon) pela parceria no dia a dia, pelas discussões científicas que tanto enriqueceram este trabalho e pelo companheirismo nos momentos bons e difíceis. Além disso, guardo com carinho as ótimas lembranças da nossa viagem para o EBI 2025 em Palmas-TO e também não posso esquecer dos nossos encontros no sítio, que sempre renderam momentos especiais e de descontração.

A todos os meus colegas e amigos do Laboratório de Evolução e Genética Animal (LEGAL-UFAM). Cada noite de pizza não foi apenas um momento de descontração, mas também a celebração de uma parceria que se estende ao dia a dia. Agradeço imensamente por todo constante auxílio em momentos de dúvidas e pela ajuda na bancada, desde as etapas de extração até o sequenciamento dos dados. Em especial, agradeço ao Mário, Aline, Valéria, Mariana e Pedro, cujo apoio foi essencial para a conclusão deste trabalho. E ao Prof. Dr. Tomás Hrbek, minha sincera gratidão por toda ajuda crucial no sequenciamento, filtragem dos dados e por toda ajuda na bioinformática. A colaboração de vocês fez toda a diferença.

Aos meus queridos colegas e amigos da turma de mestrado e seus “agregados”: Alana, Camila, Carol, Emerson, Geisy, Kennedy, Melyssa, Rafael, Wesley e Yasmin. A convivência com vocês foi um dos maiores presentes desta jornada acadêmica. Em meio aos desafios da pós-graduação, cada um de vocês contribuiu para tornar os dias mais leves, agradáveis e, muitas vezes, cheios de risadas. As trocas de conhecimento, as discussões construtivas, o apoio mútuo nos momentos de dúvida e a simples presença de vocês foram um grande incentivo e um porto seguro. A amizade que construímos será, sem dúvida, uma das mais valiosas lembranças deste período.

Dedico um agradecimento especial a Sabrina Lima, cuja companhia e compreensão tornaram este período final da dissertação um tempo de crescimento e partilha mútua dos desafios. Nossos momentos, muitas vezes em paralelo aos desafios acadêmicos, foram um refúgio e uma fonte de motivação para sempre seguir em frente. A troca de ideias, a cumplicidade e o carinho em nossa dinâmica foram essenciais para atravessar esta fase com mais serenidade e força. Sou grato por ter vivenciado este capítulo ao seu lado.

Aos meus amados pais e a toda a minha família, dedico a mais profunda gratidão. Por todo o amor que me cerca, pelo apoio em cada escolha e, principalmente, por acreditarem nos meus sonhos, mesmo quando as dificuldades pareciam torná-los distantes e inatingíveis. A presença constante de vocês, seja no incentivo diário, nas palavras de conforto ou na simples certeza de um lar acolhedor, foi o alicerce que me permitiu trilhar este caminho. Vocês são, e sempre serão, a minha base inabalável.

Aos meus amigos de longa data (Iago, Vinícius e Beatriz), que sempre torceram por mim, mesmo de longe, e que mantiveram a chama da amizade acesa ao longo desta jornada.

Um reconhecimento sincero a todas as instituições que financiaram e apoiaram, direta ou indiretamente, este trabalho. Sem o suporte dessas entidades, a realização desta pesquisa não seria possível.

Por fim, agradeço a todos que, de alguma forma, fizeram parte desta trajetória e contribuíram para este momento. A cada um, minha eterna gratidão.

## RESUMO GERAL

A Amazônia abriga uma das maiores diversidades ícticas do planeta, com muitas espécies ainda desconhecidas, especialmente em áreas pouco exploradas. A bacia do rio Manicoré, afluente do rio Madeira, é um exemplo dessa riqueza biológica, atualmente ameaçada por desmatamento e queimadas. Em resposta às pressões ambientais, comunidades locais solicitaram a criação de uma Unidade de Conservação, com apoio do Greenpeace Brasil. Para subsidiar essa demanda, o Greenpeace, em parceria com o Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), organizou a expedição “A Amazônia que Precisamos”, com o objetivo de realizar um levantamento biológico da bacia. Peixes foram coletados em igarapés distribuídos entre as margens direita e esquerda do rio Manicoré, utilizando peneiras e malhadeiras. Fragmentos de músculo foram preservados em álcool etílico absoluto para posterior análise genética. No Laboratório de Evolução e Genética Animal (LEGAL-UFAM), o DNA foi extraído pelo método CTAB 2% e foram amplificados os genes mitocondriais COI e 12S com primers específicos, visando à identificação molecular e à análise de diversidade. No Capítulo 1, a aplicação de múltiplos métodos de delimitação de espécies (GMYC, bGMYC, mPTP, locMin, ABGD, ASAP e morfológica) revelou discrepâncias entre os delimitadores, refletindo diferentes aspectos do processo evolutivo. No entanto, a congruência entre dois ou mais métodos indicou a existência de linhagens evolutivamente significativas, algumas com sinais de especiação críptica. O marcador COI demonstrou sensibilidade para detectar variações populacionais finas, inclusive entre margens opostas. No Capítulo 2, foi avaliada a estrutura ecológica das comunidades de peixes entre as margens. A abundância de indivíduos foi significativamente maior nos igarapés da margem direita, enquanto a riqueza de espécies não apresentou diferença estatística. Índices de diversidade também foram mais elevados e consistentes nessa margem, sugerindo maior estabilidade ecológica. A margem esquerda mostrou maior variabilidade nos padrões de diversidade, indicando possível influência de fatores ambientais heterogêneos ou impactos antrópicos diferenciados. Os resultados ressaltam a importância da bacia do rio Manicoré como área-chave para a conservação da ictiofauna amazônica, destacando a necessidade de estratégias integradas de pesquisa, manejo e proteção.

**Palavras-chave:** 12S, COI, abundância, ictiofauna, molecular, riqueza, rio Manicoré.

## ABSTRACT

The Amazon is home to one of the planet's greatest fish diversities, with many species yet unknown, especially in underexplored areas. The Manicoré River basin, a tributary of the Madeira River, exemplifies this biological richness, currently threatened by deforestation and fires. In response to environmental pressures, local communities, supported by Greenpeace Brazil, requested the creation of a Conservation Unit. To bolster this demand, Greenpeace, in partnership with the National Institute of Amazonian Research (INPA), organized the "Amazon We Need" expedition, aiming to conduct a biological survey of the basin. Fish were collected from streams on both the right and left banks of the Manicoré River using sieves and gillnets. Muscle fragments were preserved in absolute ethanol for subsequent genetic analysis. At the Animal Evolution and Genetics Laboratory (LEGAL-UFAM), DNA was extracted using the CTAB 2% method, and the mitochondrial genes COI and 12S were amplified with specific primers for molecular identification and diversity analysis. In Chapter 1, the application of multiple species delimitation methods (GMYC, bGMYC, mPTP, locMin, ABGD, ASAP, and morphological) revealed discrepancies among the delimitations, reflecting different aspects of the evolutionary process. However, congruence between two or more methods indicated the existence of evolutionarily significant lineages, some with signs of cryptic speciation. The COI marker demonstrated sensitivity in detecting fine population variations, even between opposite banks. In Chapter 2, the ecological structure of fish communities between the river banks was evaluated. Individual abundance was significantly higher in streams on the right bank, while species richness showed no statistical difference. Diversity indices were also higher and more consistent on this bank, suggesting greater ecological stability. The left bank showed greater variability in diversity patterns, indicating possible influence from heterogeneous environmental factors or differentiated anthropogenic impacts. The results emphasize the importance of the Manicoré River basin as a key area for the conservation of Amazonian ichthyofauna, highlighting the need for integrated research, management, and protection strategies.

**Keywords:** 12S, COI, abundance, ichthyofauna, molecular, richness, Manicoré river.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1:** Localização dos pontos de coleta de ictiofauna na bacia do rio Manicoré, Amazonas, Brasil. A imagem (A) mostra o curso do rio Manicoré e sua relação com o rio Madeira; (B) apresenta a distância da primeira coleta por trawl em relação das coletas nos igarapés; e (C) exhibe, em maior aproximação, os igarapés amostrados nas margens direita e esquerda do rio, com a indicação dos pontos de coleta realizados durante a expedição de campo em junho de 2022..... 24

**Figura 2:** Árvore ultramétrica gerada com base no marcador 12S, representando as relações evolutivas entre diversas famílias e ordens de peixes de água doce da região Neotropical. As cores indicam diferentes ordens de peixes: Characiformes (amarelo), Siluriformes (verde), Gymnotiformes (rosa), Synbranchiformes (laranja), e Blenniiformes (azul). Pontos pretos nos ramos indicam alto suporte de probabilidade posterior ( $\geq 95\%$ ) para os agrupamentos. A escala de barras na base representa substituições por sítio. Ilustrações à direita representam morfologias típicas de representantes de cada ordem (adaptado de Sleen & Albert, 2017)..... 33

**Figura 3:** Árvore ultramétrica gerada com base no marcador COI, mostrando a delimitação de linhagens evolutivas por diferentes métodos para Characiformes. As sequências do presente estudo estão identificadas com a letra “A”; as demais, de bancos públicos, apresentam letras variadas e indicação de origem quando possível. Quando não foi possível determinar a localização, utilizou-se “UN” indeterminado (undefined). A cor da sequência corresponde à cor de seu consenso..... 35

**Figura 4:** Árvore ultramétrica gerada com base no marcador COI, mostrando a delimitação de linhagens evolutivas por diferentes métodos para Siluriformes. As sequências do presente estudo estão identificadas com a letra “A”; as demais, de bancos públicos, apresentam letras variadas e indicação de origem quando possível. Quando não foi possível determinar a localização, utilizou-se “UN” indefinido (undefined). A cor da sequência corresponde à cor de seu consenso..... 39

**Figura 5:** Árvore ultramétrica gerada com base no marcador COI, mostrando a delimitação de linhagens evolutivas por diferentes métodos para Gymnotiformes. As sequências do presente estudo estão identificadas com a letra “A”; as demais, de bancos públicos, apresentam letras variadas e indicação de origem quando possível. Quando não foi possível determinar a localização, utilizou-se “UN” indefinido (undefined). A cor da sequência corresponde à cor de seu consenso..... 43

**Figura 6:** Árvore ultramétrica gerada com base no marcador COI, mostrando a delimitação de linhagens evolutivas por diferentes métodos para Atheriniformes, Blenniiformes e Synbranchiformes. As sequências do presente estudo estão identificadas com a letra “A”; as demais, de bancos públicos, apresentam letras variadas e indicação de origem quando possível. Quando não foi possível determinar a localização, utilizou-se “UN” indefinido (undefined). A cor da sequência corresponde à cor de seu consenso..... 46

**Figura 7:** Diversidade de peixes da região de Manicoré, Amazonas, destacando a riqueza taxonômica local. **BLENNIIFORMES:** (A) *Apistogramma agassizii*; (B) *Saxatilia* sp.; (C) *Monocirrhus polyacanthus*; **CHARACIFORMES:** (D) *Gnathocharax*

steindachneri; (E) *Hyphessobrycon ericae*; (F) *Elachocharax junki*; (G) *Elachocharax pulcher*; (H) *Curimatopsis cf. evelynae*; (I) *Erythrinus erythrinus*; (J) *Carnegiella strigata*; (K) *Bryconops sp.*; (L) *Copella callolepis*; (M) *Pyrrhulina brevis*; (N) *Iguanodectes geisleri*; **GYMNOTIFORMES**: (O) *Gymnotus gr. carapo*; (P) *Gymnotus sp.*; (Q) *Brachyhyopomus sp.*; (R) *Hypopygus lepturus*; (S) *Microsternarchus bilineatus*; (T) *Microsternarchus cf. bilineatus*; (U) *Steatogenys duidae*; **SILURIFORMES**: (V) *Megalechis picta*; (W) *Helogenes marmoratus*; (X) *Gladioglanis conquistador*; (Y) *Acestridium scutatatum*. Escala = 1 cm..... 53

**Figura 8:** Localização dos pontos de coleta de ictiofauna na bacia do rio Manicoré, Amazonas, Brasil. A imagem (A) mostra o curso do rio Manicoré e sua relação com o rio Madeira; (B) apresenta a distância da primeira coleta por trawl em relação das coletas nos igarapés; e (C) exhibe, em maior aproximação, os igarapés amostrados nas margens direita e esquerda do rio, com a indicação dos pontos de coleta realizados durante a expedição de campo em junho de 2022..... 67

**Figura 9:** Localização dos pontos de coleta de ictiofauna na bacia do rio Manicoré e abundância de espécies para cada igarapé. Pontos vermelhos = boca do igarapé; Barras amarelas = pontos de cachoeira, de forte turbulência; Gráficos = composição e riqueza de espécies para cada igarapé..... 74

**Figura 10:** Índices de riqueza e diversidades de espécies de peixes registradas em diferentes igarapés ao longo das margens direita (MD) e esquerda (ME) do rio Manicoré. Cada gráfico representa um índice..... 76

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Táxons identificados, número de espécies, ocorrência e marcador molecular utilizado. A coluna "Táxon" inclui a ordem e as respectivas famílias e espécies identificadas. "Espécies" indica o número de espécies registradas por família. "Ocorrência" refere-se à presença das espécies nas margens da região de estudo, sendo "ME" correspondente a margem esquerda e "MD" margem direita. A coluna "Marcador" especifica os marcadores moleculares utilizados.....30
- Tabela 2:** Resultados dos índices de riqueza e diversidade de espécies para cada igarapé, apresentando a distinção entre margens (MD = Margem direita; ME = Margem esquerda).....68
- Tabela 3:** Resultados das ANOVAs para os índices de riqueza.....71
- Tabela 4:** Dados referentes ao marcador 12S. A coluna "*catalogNumber*" inclui o número de campo das amostras de tecido do presente e os identificados nas amostras em bancos públicos. A coluna "*dnaNumber*" inclui o número de tombo do tecido na Coleção de Recursos Genéticos do INPA. A coluna "voucher" inclui o número de tombo nas coleções científicas. A coluna "*collectionPoint*" inclui o local de coleta das amostras. "margin" refere-se à presença das espécies nas margens da região de estudo, sendo "ME" correspondente a margem esquerda e "MD" margem direita..... 85
- Tabela 5:** Dados referentes ao marcador COI. A coluna "*catalogNumber*" inclui o número de campo das amostras de tecido do presente e os identificados nas amostras em bancos públicos. A coluna "*dnaNumber*" inclui o número de tombo do tecido na Coleção de Recursos Genéticos do INPA. A coluna "voucher" inclui o número de tombo nas coleções científicas. A coluna "*collectionPoint*" inclui o local de coleta das amostras. "margin" refere-se à presença das espécies nas margens da região de estudo, sendo "ME" correspondente a margem esquerda e "MD" margem direita..... 93
- Tabela 6:** Dados para compor a matriz de abundância utilizada nas análises de índices ecológicos..... 105

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>11</b>
<b>JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>13</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>14</b>
Objetivo Geral.....	14
Objetivos Específicos – Capítulo 1 - Uso do DNA barcoding para identificação da ictiofauna do rio Manicoré.....	14
Objetivos Específicos – Capítulo 2 - Análise da Riqueza e Abundância da Ictiofauna do rio Manicoré.....	14
<b>ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO.....</b>	<b>15</b>
Capítulo 1 – Uso do DNA barcoding para identificação da ictiofauna do rio Manicoré, um tributário do rio Madeira.....	15
Capítulo 2 – Análise da Riqueza e Abundância da Ictiofauna do rio Manicoré.....	15
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>16</b>
<b>CAPÍTULO 1 - Uso do DNA barcoding para identificação da ictiofauna do rio Manicoré, um tributário do rio Madeira.....</b>	<b>18</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>18</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>19</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>20</b>
Coleta de Ictiofauna e Caracterização Ambiental.....	20
Extração, amplificação e sequenciamento do DNA.....	23
Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para o COI.....	23
Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para o 12S.....	24
Preparação da Biblioteca.....	24
Sequenciamento de nova geração (NGS).....	25
Filtragem dos dados de bancos genéticos.....	25
Análises de dados.....	25
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>29</b>
Lista de espécies.....	29
Análises moleculares.....	33
Análise molecular com foco no marcador 12S.....	33
Análise molecular com foco no marcador COI.....	35
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>50</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>53</b>
<b>CAPÍTULO 2 - Análise da Riqueza e Abundância da Ictiofauna do rio Manicoré.....</b>	<b>58</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>58</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>59</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>60</b>
Área de estudo.....	60

Amostragem.....	62
Identificação das espécies.....	62
Análises de dados.....	62
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>65</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>76</b>
<b>DISCUSSÃO GERAL.....</b>	<b>79</b>
<b>CONCLUSÃO GERAL.....</b>	<b>81</b>
<b>MATERIAL SUPLEMENTAR.....</b>	<b>83</b>

## INTRODUÇÃO GERAL

A Amazônia é uma região de dimensões continentais, marcada por uma biodiversidade sem igual na superfície da Terra (van der Sleen & Albert, 2017). O seu principal rio, o Amazonas, é o maior do mundo em qualquer medida, incluindo o comprimento máximo da foz até o afluente mais distante se estendendo por mais de 6900 km (van der Sleen & Albert, 2017; Graça *et al.*, 2025), e também na proporção em relação à superfície global do rio (Goulding *et al.*, 2003), ocupando uma área de 6.1 milhões de km<sup>2</sup> (Graça *et al.*, 2025).

A idade da formação da bacia amazônica, a orogenia e a variação da altitude proporcionada pelos Andes a oeste e pelos escudos das Guianas e do Brasil Central ao norte e ao sul, respectivamente, associadas às mudanças climáticas desde o cenozóico, produziram uma grande diversidade de solos, sedimentos de diferentes formações geológicas e uma variedade de ecossistemas aquáticos e terrestres, resultando em uma maior concentração de espécies em muitos grupos de plantas e animais, incluindo um número sem igual de peixes de água doce (van der Sleen & Albert, 2017; Albert *et al.*, 2020; Cassemiro *et al.*, 2023).

A fauna de peixes de água doce que habita a bacia Amazônica compreende cerca de 60 famílias, 530 gêneros e aproximadamente 2.720 espécies de peixes descritas, das quais mais de 60% são endêmicas (Dagosta & de Pinna, 2019). Tais números podem ser subestimados, visto que novas descrições têm aumentado a riqueza de espécies de peixes de água doce em todo mundo (Hoorn e Wesselingh, 2011; Dagosta e de Pinna, 2017). No período de 2019 a 2024, foram descritas 1.334 novas espécies de peixes, com os seguintes totais anuais: 205 (2019), 218 (2020), 209 (2021), 202 (2022), 240 (2023) e 260 (2024). Esse crescimento contínuo reforça a intensa atividade taxonômica nos últimos anos. Somente para peixes de água doce, estima-se que quase 5 mil espécies tenham sido descritas entre 2006 e 2024 (Fricke *et al.*, 2025).

A ictiofauna amazônica desempenha papéis ecológicos cruciais, incluindo a ciclagem de nutrientes, a dispersão de sementes e a manutenção do equilíbrio dos ecossistemas aquáticos (Almeida *et al.*, 2018). Além disso, muitas dessas espécies têm grande importância econômica e cultural para as comunidades locais, as quais dependem da pesca como fonte de subsistência e sustento (Oliveira *et al.*, 2016). Todavia, apesar da importância socioeconômica e ambiental, são poucos os esforços para ações de manejo e conservação de muitas espécies.

A identificação e monitoramento das espécies de peixes nesses ambientes complexos e vastos representam um desafio significativo para os pesquisadores. É necessário o aprimoramento e desenvolvimento de técnicas e metodologias voltadas ao incremento do conhecimento da diversidade de peixes, pois ações antrópicas estão causando contínua perda de habitat e rápidos declínios populacionais, gerando risco de extinção de muitas espécies de peixes na América do Sul (Reis *et al.*, 2003).

Um exemplo dessa situação acontece na bacia do rio Manicoré, um tributário do rio Madeira, que apresenta água preta e corre no sentido Sul-Norte na América do Sul. O rio Manicoré é pouco amostrado, não havendo trabalhos que tratem do local como uma área de estudo, porém, é um local que aparenta ter uma boa preservação de sua biota. Existem apenas trabalhos que foram desenvolvidos em localidades próximas, na foz com o rio Madeira ou em frente à cidade de Manicoré (e.g. Ohara, 2018; Cardoso & Freitas, 2008; Cardoso & Freitas, 2007; Cardoso, 2005; Simões & Lopes, 1987). Esses estudos se devem à grande importância do rio Madeira, sendo o afluente mais extenso da bacia do rio Amazonas (Goulding *et al.*, 2003) que apresenta uma enorme riqueza de peixes, chegando a aproximadamente 1200 espécies em toda a sua bacia (Ohara, 2018).

O rio Manicoré abriga diversas comunidades ribeirinhas espalhadas por toda a sua extensão que vem trabalhando há 17 anos para criação de uma Unidade de Conservação (UC), como uma Reserva de Desenvolvimento Sustentável (RDS). Somente em 2022, os comunitários receberam a Concessão de Direito Real de Uso (CRDU) que garante o uso sustentável exclusivo às comunidades ribeirinhas da região, porém, a área demarcada continua sendo invadida por grileiros, responsáveis por incêndios, desmatamento, caça predatória e garimpo ilegal (Lima, 2022). Entretanto, para o processo de criação de uma UC são necessários mais estudos e, portanto, as comunidades interessadas na criação da RDS solicitaram à organização não governamental Greenpeace que desenvolvesse estudos iniciais sobre a região da bacia do Manicoré.

Em junho de 2022, o Greenpeace Brasil, contando com a colaboração do corpo de pesquisadores do INPA, realizou a expedição “A Amazônia que Precisamos”, levando pesquisadores de diversas áreas do conhecimento para estudar a biodiversidade da região do rio Manicoré. Em um mês de estudos de campo, os pesquisadores foram capazes de realizar um inventário biológico com mais de 600 espécies de aves, mamíferos, plantas, peixes, entre outros (Modelli, 2023). Esses dados prévios ajudam a

fortalecer a proposta dos comunitários para criação da RDS do Rio Manicoré, além de promover avanço do conhecimento biológico da região.

Para o entendimento e propostas de conservação, é fundamental o papel das coleções científicas biológicas nos estudos de biodiversidade (de Santana *et al.*, 2021). As coleções biológicas desempenham um papel vital na documentação e compreensão da diversidade biológica. Esse processo não apenas permite uma identificação precisa das espécies, por meio da taxonomia clássica ou integrativa, mas também assegura a disponibilidade de referências biológicas valiosas para futuras pesquisas e investigações científicas (Pimenta *et al.*, 2017).

## **JUSTIFICATIVA**

A Amazônia abriga a maior diversidade de peixes de água doce do planeta, com milhares de espécies descritas e um elevado número de endemismos. Contudo, apesar da sua importância ecológica, econômica e cultural, grande parte dessa biodiversidade permanece pouco conhecida, especialmente em áreas remotas e pouco estudadas, como o rio Manicoré.

A carência de estudos sistemáticos e atualizados sobre a ictiofauna desta região limita a implementação de estratégias eficazes de conservação e manejo sustentável. Ao mesmo tempo, pressões antrópicas crescentes, como o desmatamento, a mineração ilegal e a degradação dos ecossistemas aquáticos, ameaçam de forma direta a integridade da biodiversidade local.

Nesse contexto, a utilização de ferramentas moleculares como o DNA *barcoding* emerge como uma metodologia promissora para suprir lacunas no conhecimento taxonômico, confirmação de identificações morfológicas e na identificação rápida e precisa de espécies, mesmo em áreas de difícil acesso. A integração de dados genéticos com abordagens biogeográficas também é essencial para compreender os processos de diversificação e isolamento populacional que moldam a ictiofauna amazônica, contribuindo para uma base sólida de dados que apoie decisões conservacionistas.

Assim, este trabalho visou não apenas ampliar o conhecimento científico sobre a diversidade de peixes do rio Manicoré, mas analisar e identificar as espécies coletadas no inventário ictiológico, através de identificações morfológicas e estudos moleculares, e também estimar a distribuição dessa biota ao longo do rio Manicoré, fornecendo

subsídios práticos para a conservação da região, valorizando os esforços das comunidades locais na criação de uma Unidade de Conservação.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo Geral**

Compreender a diversidade e os fatores que estruturam as comunidades de peixes nos igarapés do rio Manicoré, integrando análises de DNA *barcoding* para a delimitação de linhagens evolutivas e estudos de padrões biogeográficos, com investigações sobre a riqueza e abundância da ictiofauna, a fim de enriquecer o conhecimento taxonômico e embasar estratégias de conservação e manejo sustentável da região.

### **Objetivos Específicos – Capítulo 1 - *Uso do DNA barcoding para identificação da ictiofauna do rio Manicoré***

- (i) Identificar as espécies de peixes coletadas nos igarapés do rio Manicoré utilizando marcadores moleculares COI e 12S.
- (ii) Elaborar uma lista de espécies da ictiofauna local com base em dados morfológicos e moleculares.
- (iii) Criar um banco de dados de DNA *barcoding* das espécies amostradas, contribuindo para os bancos de dados de referência global.
- (iv) Avaliar o potencial do DNA *barcoding* como ferramenta complementar à taxonomia tradicional para estudos de biodiversidade na Amazônia.

### **Objetivos Específicos – Capítulo 2 - *Análise da Riqueza e Abundância da Ictiofauna do rio Manicoré***

- (i) Investigar a riqueza das espécies em igarapés de margens opostas do rio Manicoré.
- (ii) Avaliar a influência de barreiras fluviais e geográficas - como a separação entre margens opostas - na estruturação da riqueza das comunidades de peixes.
- (iii) Testar se há variações significativas nos índices de diversidade (como Margalef e Menhinick) entre as margens do rio.
- (iv) Avaliar a variação da diversidade ecológica entre igarapés de margens opostas do rio Manicoré, com base nos índices de Shannon-Wiener e Simpson.

## **ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO**

Esta dissertação está organizada em dois capítulos principais, cada um focado em um conjunto de objetivos específicos relacionados à diversidade e biogeografia da ictiofauna do rio Manicoré.

### **Capítulo 1 – *Uso do DNA barcoding para identificação da ictiofauna do rio Manicoré, um tributário do rio Madeira***

Este capítulo apresenta a aplicação de técnicas moleculares para a confirmação da identificação morfológica de espécies de peixes coletadas na região do rio Manicoré. São utilizados os marcadores mitocondriais COI e 12S para gerar sequências genéticas que serão comparadas com bancos de dados de referência. Os resultados permitirão a construção de uma lista de espécies e a criação de um banco de dados genético para a região.

### **Capítulo 2 – *Análise da Riqueza e Abundância da Ictiofauna do rio Manicoré***

Este capítulo investiga os padrões de diversidade e distribuição da ictiofauna dos igarapés ao longo do rio Manicoré, com ênfase na comparação entre margens opostas. São analisadas a riqueza de espécies, a diversidade ecológica (índices de Shannon-Wiener e Simpson) e a variação nos índices de diversidade alfa, buscando identificar a influência de barreiras fluviais e geográficas sobre a estruturação das comunidades e a distribuição da comunidade íctica ao longo do rio Manicoré. Os resultados oferecem uma perspectiva biogeográfica relevante para a compreensão dos processos de especiação e para o direcionamento de estratégias de conservação na região.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERT, James S.; TAGLIACOLLO, Victor A.; DAGOSTA, Fernando. Diversification of Neotropical freshwater fishes. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 51, n. 1, p. 27-53, 2020.

ALMEIDA, Diogo; BORGHEZAN, Rogério; LOPES, Tadeu M. Ecological functions of fish in Amazonian floodplain ecosystems. **Amazoniana: Limnologia et Oecologia Regionalis Systemae Fluminis Amazonas**, v. 18, n. 3-4, p. 311-324, 2018.

CARDOSO, Renato Soares. A pesca comercial no município de Manicoré (rio Madeira), Amazonas, Brasil. **Dissertação de Mestrado - INPA**, 2005.

CARDOSO, Renato Soares; FREITAS, Carlos Edwar de Carvalho. A pesca de pequena escala no rio Madeira pelos desembarques ocorridos em Manicoré (Estado do Amazonas), Brasil. **Acta Amazonica**, v. 38, p. 781-787, 2008.

CARDOSO, Renato Soares; FREITAS, Carlos Edwar de Carvalho. Desembarque e esforço de pesca da frota pesqueira comercial de Manicoré (Médio Rio Madeira), Amazonas, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 37, p. 605-611, 2007.

CASSEMIRO, Fernanda AS *et al.* Landscape dynamics and diversification of the megadiverse South American freshwater fish fauna. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 120, n. 2, p. e2211974120, 2023.

DAGOSTA, Fernando CP; DE PINNA, Mário. The fishes of the Amazon: distribution and biogeographical patterns, with a comprehensive list of species. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v. 2019, n. 431, p. 1-163, 2019.

DAGOSTA, Fernando CP; PINNA, Mário de. Biogeography of Amazonian fishes: deconstructing river basins as biogeographic units. **Neotropical Ichthyology**, v. 15, 2017.

DE SANTANA, C. David *et al.* The critical role of natural history museums in advancing eDNA for biodiversity studies: a case study with Amazonian fishes. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 18159, 2021.

FRICKE, Ron; ESCHMEYER, W. N.; VAN DER LAAN, Richard. Catalog of fishes: genera, species, references. **California Academy of Sciences**, San Francisco, CA, USA <https://www.calacademy.org/scientists/projects/eschmeyers-catalog-of-fishes>, 2025.

GRAÇA, Manuel AS *et al.* Rivers of South America. **Elsevier**, 2025.

GOULDING, Michael; BARTHEM, Ronaldo; FERREIRA, Efreem Jorge Gondim. The Smithsonian atlas of the Amazon. 2003.

HOORN, Carina; WESSELINGH, Frank (Ed.). Amazonia: landscape and species evolution: a look into the past. **John Wiley & Sons**, 2011.

LIMA, Wérica. Comunidades do rio Manicoré lutam para viver. **Amazônia Real**, Manaus, 23 de agosto de 2022. Disponível em: <https://amazoniareal.com.br/especiais/comunidades-do-rio-manicore-lutam-para-viver/>. Acesso em: 29 de outubro de 2023.

MODELLI, Lais. Como o Greenpeace apoia a Ciência. **Greenpeace Brasil**, 28 de julho de 2023. Disponível em: <https://www.greenpeace.org/brasil/blog/como-o-greenpeace-apoia-a-ciencia/>. Acesso em: 29 de outubro de 2023.

OHARA, Willian Massaharu. Endemismo e análise biogeográfica dos peixes da bacia do rio Madeira. **Tese de Doutorado**. Universidade de São Paulo. 2018

OLIVEIRA, L. R. *et al.* Local ecological knowledge of artisanal fishermen on the diversity and ecology of fish species (Teleostei: Actinopterygii) in a tropical river. **Neotropical Ichthyology**, v. 14, n. 1, p. e150081, 2016.

PIMENTA, Alessandro Licurgo *et al.* A importância da curadoria de coleções zoológicas do subfilo Vertebrata para a comunidade científica. **Revista Presença**, v. 3, p. 17-34, 2017.

REIS, Roberto E. Check list of the freshwater fishes of South and Central America. **Edipucrs**, 2003.

SIMÕES, Mário F.; LOPES, Daniel F. Pesquisas arqueológicas no baixo/médio rio Madeira (AM). **Revista de Arqueologia**, v. 4, n. 1, p. 117-134, 1987.

VAN DER SLEEN, Peter; ALBERT, James S. (Ed.). Field guide to the fishes of the Amazon, Orinoco, and Guianas. **Princeton University Press**, 2017.

## **CAPÍTULO 1 - Uso do DNA *barcoding* para identificação da ictiofauna do rio Manicoré, um tributário do rio Madeira**

### **RESUMO**

A Amazônia, com sua vasta diversidade íctica, continua a revelar novas espécies em áreas ainda pouco exploradas, com a contínua descrição de novos táxons. A bacia do rio Manicoré, um afluente do rio Madeira, é um exemplo notável dessa riqueza, ameaçada por incêndios e desmatamento. Para proteger essa diversidade, a comunidade local solicitou a criação de uma Unidade de Conservação e pediu apoio ao Greenpeace Brasil. Em resposta, o Greenpeace, em colaboração com o Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), lançou a expedição "A Amazônia que Precisamos" para realizar um levantamento biológico da região. Durante a expedição, foram coletados peixes ao longo de 14 igarapés do rio Manicoré, distribuídos em seus trechos médio e baixo, utilizando peneiras e redes de cerco. Amostras de músculo foram retiradas e preservadas em álcool etílico absoluto para análises futuras. No Laboratório da Coleção de Peixes do INPA, todas as amostras foram identificadas a nível de espécie através de literatura especializada e auxílio de taxonomistas dos grupos. No Laboratório de Evolução e Genética Animal (LEGAL-UFAM), o DNA foi extraído utilizando o método CTAB 2%, com a qualidade e a quantidade do DNA sendo verificadas no espectrofotômetro Nanodrop 2000. Os genes mitocondriais COI e 12S foram amplificados por PCR com primers específicos. As sequências obtidas através do marcador 12S revelaram uma clara distinção entre as principais ordens e famílias de peixes neotropicais. Já para o marcador COI foram realizadas análises por meio de diferentes métodos de delimitação de espécies (ABGD, ASAP, bGMYC, GMYC, locMin, mPTP, percent, treeDist e morfologia), revelando um panorama complexo da diversidade genética local. Os delimitadores testados apresentaram distintos padrões de agrupamento, indicando que diferentes linhagens respondem de formas variadas aos processos evolutivos da região. Esses resultados apontam para uma diversidade ainda **subestimada** e reforçam a necessidade de repetir análises similares em outras drenagens amazônicas, ampliando o conhecimento sobre a ictiofauna regional e contribuindo para estratégias mais eficazes de conservação.

**Palavras-chave:** 12S, COI, Ictiofauna, Molecular, Rio Manicoré.

## INTRODUÇÃO

Na última década tem-se aumentado a utilização de métodos moleculares, como o DNA *barcoding*, o qual demonstra ser uma ferramenta promissora para a identificação de espécies. O gene mitocondrial citocromo c oxidase I (COI) é o marcador utilizado como um código de barras de DNA (Hebert *et al.*, 2003), proporcionando uma abordagem rápida e eficaz para discriminar os organismos (Hajibabei *et al.*, 2007). Outro marcador muito utilizado é o RNA ribossomal 12S, região altamente conservada e que é utilizada para fornecer informações sobre a diversidade biológica, especialmente em amostras ambientais obtidas a partir da água (Milan *et al.*, 2020).

Essa abordagem resultou na criação de enormes bancos de dados de referência que incluem detalhes taxonômicos das espécies junto de sequências de DNA, sendo os principais o GenBank (Benson *et al.*, 2013) e o BOLD (Ratnasingham e Hebert, 2007). Esses bancos de dados de sequências de referência são úteis na atribuição de táxons a uma amostra desconhecida, comparando a similaridade de sequências da amostra com aquelas do banco de dados de referência.

Essa técnica baseia-se na premissa da existência de um “*barcoding gap*”, onde a diversidade genética interespecífica (entre espécies diferentes) é significativamente maior do que a intraespecífica (dentro da mesma espécie), o que permite a identificação precisa de espécies e a detecção de espécies crípticas, organismos morfologicamente indistinguíveis, mas geneticamente distintos (Hebert *et al.*, 2004b; Smith *et al.*, 2006). Na Amazônia, o DNA *barcoding* tem revelado uma diversidade oculta significativa, como demonstrado em diversos estudos (eg. Benzaquem *et al.*, 2015; Britzke, 2015; Guimarães *et al.*, 2022).

No entanto, ainda existem lacunas significativas, especialmente na porção oeste da região, onde há poucos estudos disponíveis. Além disso, existem várias adversidades, como a falta de mão de obra qualificada e o escasso recurso financeiro para realização dos estudos. Compreender como a técnica do DNA *barcoding* pode ser estrategicamente aplicada no estudo abrangente da ictiofauna amazônica é de suma importância, não apenas para avançar o conhecimento científico, mas também para promover a conservação adequada e o manejo sustentável desses ecossistemas aquáticos únicos.

Portanto, à medida que nos aventuramos nesse campo de pesquisa, procuramos não apenas expandir nosso conhecimento sobre a diversidade da ictiofauna amazônica, mas também contribuir para a proteção em longo prazo desses ambientes fluviais e para

o bem-estar das comunidades que deles dependem. A pesquisa utilizando o DNA *barcoding* é capaz de gerar uma lista de espécies, sendo uma ferramenta promissora e poderosa para ser acrescentada aos estudos morfológicos para identificações taxonômicas, trazendo maior confiabilidade e agilidade para atingir esses objetivos, unindo ciência e conservação em prol da Amazônia e de sua riqueza biológica única.

A aplicação da técnica de DNA *barcoding*, utilizando os marcadores COI e 12S, justifica-se como uma ferramenta promissora que, somada aos estudos taxonômicos, ampliará o conhecimento sobre a diversidade da ictiofauna do rio Manicoré, contribuindo para a elaboração de uma lista de espécies da região e para a formação de um banco de dados genéticos que auxiliará na compreensão da distribuição e diversidade das espécies aquáticas.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Coleta de Ictiofauna e Caracterização Ambiental**

A bacia do rio Manicoré está localizada no sul do estado do Amazonas, Brasil, nas coordenadas 05°51'45.4"S, 61°21'11.0"W (Figura 1). Trata-se de um afluente da margem direita do rio Madeira, um dos principais rios da região Amazônica, e desempenha um papel fundamental na conectividade hidrográfica da bacia do rio Amazonas. O rio Manicoré percorre uma vasta região de alta biodiversidade e baixa densidade populacional, o que torna sua área de estudo rica em recursos naturais e ecológicos. Sua bacia hidrográfica é composta por uma malha de drenagem formada por numerosos igarapés, que são pequenos cursos d'água de várzea, essenciais para a conectividade entre diferentes tipos de ambientes aquáticos.

As coletas da ictiofauna foram realizadas entre os dias 06 e 21 de junho de 2022, período de vazante na região do rio Manicoré. Durante a expedição, foram amostrados 20 igarapés ao longo das margens do rio Manicoré, com métodos convencionais de captura, visando obter uma representação ampla da ictiofauna local. As coletas foram realizadas utilizando peneiras retangulares com aro de metal e malhas de diferentes tamanhos, além de redes de cerco de pequeno porte. É importante ressaltar, no entanto, que essas metodologias apresentam limitações na captura de certos grupos de peixes, especialmente aqueles associados ao substrato (demersais ou de fundo), devido à sua seletividade inerente (peixes de coluna d'água ou de locais rasos) e à forma de operação dos equipamentos. Cada igarapé foi amostrado por, no mínimo, três pesquisadores

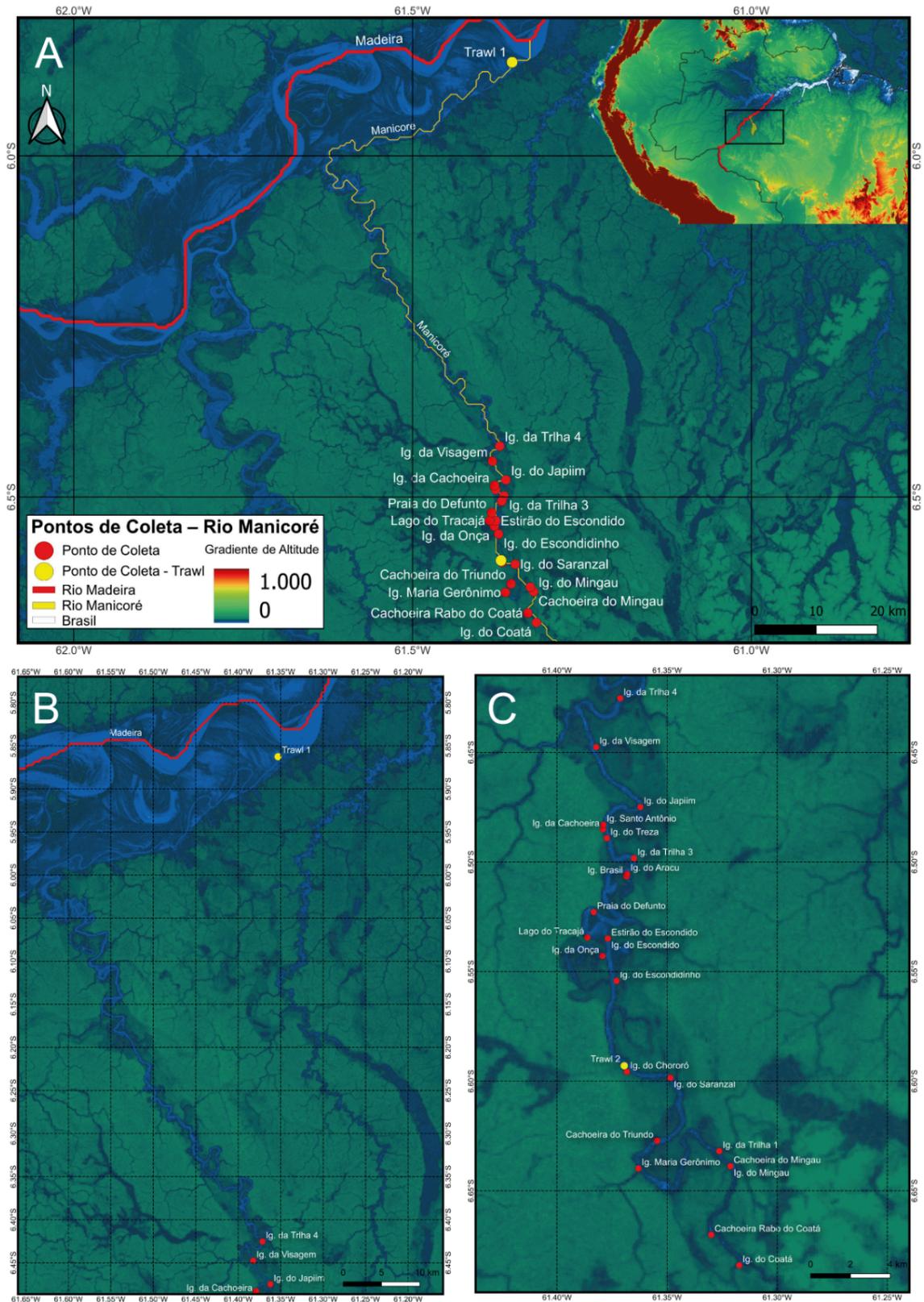
simultaneamente, utilizando peneiras em pontos distintos. O esforço amostral médio por igarapé variou entre 1 e 1,5 hora. Para garantir a padronização, os igarapés selecionados encontravam-se a uma distância aproximada entre 30 e 50 metros da confluência com o rio Manicoré.

Os espécimes capturados foram anestesiados com solução de eugenol (óleo de cravo), fixados em formaldeído a 10% e armazenados em tambores plásticos. Os procedimentos de captura e eutanásia obedeceram às diretrizes estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), com autorização do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), sob o número 11561 (IBAMA).

Todos os espécimes coletados foram triados logo após a captura e fixados em formol a 10%, processo essencial para a preservação das estruturas morfológicas e anatômicas utilizadas na identificação taxonômica. Após a fixação, os exemplares foram transportados ao laboratório da Coleção de Peixes do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), onde foram identificados até o nível taxonômico mais preciso possível, com base em literatura especializada e apoio de taxonomistas especialistas em diferentes grupos. Após a identificação, todos os indivíduos foram tombados no acervo da coleção, garantindo a permanência do material como testemunho físico do estudo. Esse conjunto de procedimentos assegura a confiabilidade e qualidade dos dados para análises subsequentes.

Previamente a fixação em formol a 10%, ainda no campo, amostras de músculo branco foram retiradas da região látero-dorsal direita de cada exemplar. As amostras foram acondicionadas em microtubos de 2 mL contendo álcool etílico absoluto (99,9%), visando à preservação do tecido para análises genéticas. Posteriormente, os tubos foram mantidos a -20 °C até o transporte para a Coleção de Recursos Genéticos do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), onde permanecem devidamente catalogados e armazenados sob condições ideais para conservação do DNA. A partir do material coletado, procedeu-se a uma subamostragem criteriosa.

Para as análises genéticas, foram selecionados somente os indivíduos coletados em igarapés que possuíam representação de coleta em ambas as margens do rio Manicoré. Este critério foi adotado para permitir comparações interespecíficas/entre margens, balancear o esforço amostral entre as margens.



**Figura 1:** Localização dos pontos de coleta de ictiofauna na bacia do rio Manicoré, Amazonas, Brasil. A imagem (A) mostra o curso do rio Manicoré e sua relação com o rio Madeira; (B) apresenta a distância da primeira coleta por *trawl* em relação das coletas nos igarapés; e (C) exibe, em maior aproximação, os igarapés amostrados nas margens direita e esquerda do rio, com a indicação dos pontos de coleta realizados durante a expedição de campo em junho de 2022.

### **Extração, amplificação e sequenciamento do DNA**

No Laboratório de Evolução e Genética Animal (LEGAL-UFAM), realizou-se a extração do DNA das amostras, foram utilizados fragmentos de tecido muscular previamente preservados em álcool etílico absoluto (99,9%). O protocolo adotado foi o método CTAB (Brometo de Cetil-Trimetil-Amônio), conforme descrito por Doyle e Doyle (1987), com adaptações para otimizar o rendimento e a qualidade do DNA extraído. As amostras foram inicialmente maceradas e incubadas em tampão de extração contendo CTAB e proteinase K a 65 °C, *overnight*. Em seguida, foi realizada a lavagem do DNA utilizando clorofórmio:álcool isoamílico (24:1), seguida de precipitação com isopropanol. Após a lavagem com etanol 70%, os pellets de DNA foram secos e ressuspensos em água ultrapura.

A concentração e a pureza do DNA extraído foram avaliadas por espectrofotometria utilizando o equipamento NanoDrop 2000 (Thermo Scientific), considerando-se os índices de absorbância a 260/280 nm para estimativa da pureza da amostra e 260/230 nm para verificar contaminações orgânicas. As amostras foram então diluídas em água ultrapura estéril para atingir concentrações finais entre 50 e 200 ng/μL, adequadas para as etapas de amplificação por PCR e sequenciamento.

### **Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para o COI**

O gene mitocondrial citocromo c oxidase subunidade I (COI) foi amplificado por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), utilizando o par de primers COI-Fish-f.2 (TTCTCCACCAACCACAARGAYATYGG) e COI-Fish-r.1 (CACCTCAGGGTGTCCGAARAAYCARAA), conforme descrito por Ivanova *et al.* (2007). As reações de PCR foram realizadas em volume final de 15 μL, contendo: 6,9 μL de água ultrapura, 1,8 μL de MgCl<sub>2</sub>, 1,5 μL de dNTPs, 1,5 μL de tampão KCl, 0,5 μL de BSA, 1,5 μL do primer e 0,3 μL de Taq DNA polimerase. As condições da PCR consistiram em: desnaturação inicial a 93 °C por 1 minuto, seguida de 35 ciclos de desnaturação a 93 °C por 10 segundos, anelamento a 52 °C por 45 segundos, e extensão a 72 °C por 1 minuto, finalizando com uma extensão final de 72 °C por 7 minutos.

Os produtos de PCR foram purificados por meio de *beads* magnéticas, utilizando protocolo baseado em separação magnética para remoção de contaminantes como primers não utilizados, nucleotídeos livres e outras impurezas. Após a purificação, os fragmentos amplificados foram armazenados a -20 °C até sua utilização nas etapas subsequentes de sequenciamento.

## Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para o 12S

A região 12S do RNA ribossomal (rRNA 12S) foi parcialmente amplificada por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR), utilizando o par de primers L1091 e H1478, conforme descrito por Kocher *et al.*, (1989), com o objetivo desta amplificação era obter um fragmento de DNA com um tamanho aproximado de 300 pares de bases (pb), contendo uma porção da região 12S do genoma ribossomal.

As reações de PCR foram realizadas em volume final de 15  $\mu\text{L}$ , contendo: 10,0  $\mu\text{L}$  de água ultrapura (ddH<sub>2</sub>O), 1,5  $\mu\text{L}$  de tampão 10X (contendo 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub>), 1,0  $\mu\text{L}$  de DNA molde, 1,2  $\mu\text{L}$  de dNTPs (10 mM), 1,2  $\mu\text{L}$  de cada primer (10  $\mu\text{M}$ ) e 0,5  $\mu\text{L}$  de Taq DNA polimerase (5 U/ $\mu\text{L}$ ) (PHT).

As condições de ciclagem térmica consistiram em uma desnaturação inicial a 95 °C por 2 minutos, seguida de 35 ciclos de desnaturação a 95 °C por 1 minuto, anelamento dos primers a 57 °C por 30 segundos, e extensão a 72 °C por 1 minuto, finalizando com uma extensão final de 72 °C por 7 minutos.

Posteriormente, as amostras foram purificadas por meio de *beads* magnéticas, utilizando protocolo baseado em separação magnética para remoção de contaminantes. Os produtos amplificados foram visualizados por meio de eletroforese em gel de agarose a 1%, corado com o corante *Blue Juice* e o intercalante *GelRed* (Biotium), conferindo um padrão de qualidade do DNA para as etapas subsequentes de sequenciamento.

## Preparação da Biblioteca

Cada amostra foi indexada utilizando os índices i7 e i5 disponibilizados pela empresa Illumina. Essa indexação dupla permite a multiplexação de várias amostras em uma única corrida de sequenciamento, pois cada combinação única serve como um “código de barras” que identifica individualmente cada amostra. Para isso, foram preparados dois *master mixes* distintos para cada primer, utilizando os seguintes reagentes para um volume final de 10,0  $\mu\text{L}$  por reação: 1,8  $\mu\text{L}$  de água ultrapura, 0,5  $\mu\text{L}$  de MgCl<sub>2</sub>, 0,5  $\mu\text{L}$  de dNTPs, 0,5  $\mu\text{L}$  de tampão KCl, 0,25  $\mu\text{L}$  de BSA, 0,8  $\mu\text{L}$  do primer adaptador e 0,15  $\mu\text{L}$  de Taq polimerase. Após a preparação do *master mix*, foi adicionado 1,0  $\mu\text{L}$  do produto da PCR previamente amplificado. Por fim, a biblioteca foi sequenciada no Illumina MiSeq, seguindo o protocolo PE250.

## **Sequenciamento de nova geração (NGS)**

O sequenciamento foi realizado por meio da tecnologia de sequenciamento de nova geração (NGS), utilizando uma plataforma de alto desempenho capaz de gerar grandes volumes de dados com elevada precisão. As bibliotecas foram carregadas na plataforma de sequenciamento, seguindo o protocolo do fabricante. O resultado do sequenciamento das bibliotecas foi obtido do Illumina em formato FASTAQ. As sequências foram desmultiplexadas em amostras individuais usando os índices i7 e i5. O processo de leitura gerou milhões de fragmentos curtos (*reads*), que foram então submetidos à etapa de filtragem e remoção de primers e adaptadores utilizando o *software* Cutadapt (Martin, 2011), amplamente utilizado em análises de NGS por sua eficiência na limpeza de dados.

## **Filtragem dos dados de bancos genéticos**

Para a construção do banco de dados molecular utilizado nas análises de delimitação, foi realizada uma criteriosa filtragem das sequências obtidas a partir de bancos públicos. Esse processo é essencial em abordagens de delimitação de espécies, uma vez que a acurácia das inferências depende diretamente da qualidade e confiabilidade dos dados genéticos e de seus metadados associados. Foram adotados critérios rigorosos de seleção, priorizando registros que apresentassem informações completas e confiáveis, como a presença de espécimes testemunhos (*vouchers*) tombados em coleções científicas, identificação taxonômica atribuída por especialistas (com nome do determinador informado), localidade geográfica precisa de coleta, disponibilidade de publicações associadas e, quando possível, a localização do material-tipo. Também foram consideradas informações sobre o tipo de bacia hidrográfica e drenagem de origem do exemplar, a fim de evitar a inclusão de sequências provenientes de regiões incongruentes com a área de estudo. A partir desses critérios, foi possível assegurar a qualidade do conjunto de dados de referência utilizado para comparação com os espécimes amostrados no campo.

## **Análises de dados**

As sequências obtidas foram visualizadas utilizando o *software* Geneious Prime v.2025.1.2 (<http://www.geneious.com/>) e alinhadas por meio do algoritmo MAFFT (*Multiple Alignment with Fast Fourier Transform*) (Katoh *et al.*, 2002). Para fins comparativos, foram obtidas sequências do banco de dados NCBI

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) correspondentes a espécies registradas na região de Manicoré; quando não disponíveis, foram utilizadas sequências de espécies do mesmo gênero.

Em seguida, todas as sequências - tanto as geradas neste estudo quanto as obtidas do NCBI - foram submetidas ao método “*map to reference*” no Geneious, utilizando como referência uma sequência do tipo RefSeq, cuja curadoria é continuamente mantida pela equipe e colaboradores do NCBI. Esse processo permitiu identificar a região efetivamente sequenciada, confirmando se ela corresponde à subunidade 1 do gene citocromo c oxidase (COI) ou ao gene ribossomal 12S, conforme o marcador utilizado.

Posteriormente, foi realizada uma revisão manual das sequências, com o objetivo de identificar possíveis mutações do tipo *indels* (inserções e deleções), que poderiam comprometer a acurácia do alinhamento. As sequências do gene COI foram traduzidas para aminoácidos, permitindo a verificação da presença de códons de parada prematuros, o que pode indicar erros de leitura ou artefatos gerados durante o sequenciamento. Nenhum códon de parada foi identificado nas regiões analisadas, o que reforça a integridade das sequências obtidas.

Com o alinhamento finalizado, utilizou-se o *software* BEAUTi para a criação do arquivo de entrada (input) do BEAST2 (Bouckaert *et al.*, 2019). Os parâmetros definidos incluíram o *BEAST Model Test* que escolhe o melhor modelo de substituição molecular para aquele conjunto de dados, *Relaxed Clock Log Normal* como modelo de relógio molecular, e o *Yule Model* como modelo de especiação. A cadeia de Markov Monte Carlo (MCMC) foi executada por 20 milhões de gerações. Visando melhorar a amostragem estatística, a análise foi realizada em triplicata, resultando em três arquivos XML distintos.

A execução da inferência filogenética foi conduzida no próprio BEAST2, gerando arquivos com os dados estatísticos da análise. A convergência das cadeias foi verificada no *software* Tracer (Rambaut *et al.*, 2018), por meio da inspeção dos valores de *Effective Sample Size* (ESS), assegurando que todos estivessem acima do valor recomendado de 200. Em seguida, os arquivos .log e .trees provenientes das três réplicas foram combinados utilizando o *LogCombiner* (Drummond *et al.*, 2012), removendo 20% iniciais de cada réplica (*burn-in*) e posteriormente processados no *TreeAnnotator* (Bouckaert *et al.*, 2019), que gerou a árvore ultramétrica final no formato

.tre. Por fim, a árvore foi visualizada no *software FigTree* (<https://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

Adicionalmente, foram realizadas análises de delimitação de espécies por meio do pacote *delimtools* (<https://github.com/legalLab/delimtools>) desenvolvido por Bittencourt P., Collins R. & Hrbek T. (2025). Essa ferramenta permite a aplicação de diversos métodos voltados à descoberta de espécies, bem como à classificação do conjunto de dados em possíveis agrupamentos de linhagens evolutivas ou unidades taxonômicas independentes. Os delimitadores foram utilizados com o objetivo de avaliar a coerência entre os agrupamentos genéticos obtidos a partir dos dados moleculares e as hipóteses taxonômicas baseadas na morfologia, além de investigar a existência de linhagens crípticas ou divergências genéticas não refletidas na taxonomia tradicional. Assim, essas análises contribuíram para uma abordagem integrativa na identificação e caracterização da diversidade específica do grupo em estudo. Abaixo seguem os métodos empregados na delimitação:

- (1) ABGD (*Automatic Barcode Gap Discovery*) ([Puillandre et al., 2012](#)), analisa as distâncias genéticas (como K2P) entre as sequências e identifica automaticamente um "gap" que separa espécies diferentes. Baseado na ideia do "*barcode gap*", que diz que a distância genética entre espécies é maior do que entre indivíduos da mesma espécie.
- (2) ASAP (*Assemble Species by Automatic Partitioning*) ([Puillandre et al., 2021](#)) trabalha com uma matriz de distância genética (K2P) e agrupa as sequências em partições, procurando a que melhor tem equilíbrio entre distância intra e interespecífica, indicando possíveis limiares entre espécies.
- (3) GMYC (*General Mixed Yule-Coalescent*) ([Fujisawa & Barraclough, 2013](#)) utiliza uma árvore ultramétrica para detectar onde ocorre a transição entre linhagens que representam espécies e linhagens dentro de uma mesma espécie. Ele é baseado em modelos de especiação (Yule) e coalescência genealógica (coalescent).
- (4) bGMYC (*Bayesian GMYC*) ([Reid & Carstens, 2012](#)) utiliza a estatística bayesiana para considerar incertezas e gerar probabilidades para cada limite entre espécies.
- (5) locMin, *Local Minimum Score* utiliza um critério estatístico para encontrar o ponto ótimo de corte em uma árvore filogenética ultramétrica, ou seja, onde termina uma espécie e começa outra. Embora não haja uma referência específica

com esse nome exato, o conceito encontra-se em trabalhos como o de Urheim *et al.*, 2016.

- (6) mPTP (multi-rate PTP) ([Kapli \*et al.\*, 2017](#)) um modelo de substituições que segue um processo de Poisson, ou seja, assume que espécies acumulam mutações a uma certa taxa ao longo do tempo e permite que diferentes partes da árvore tenham taxas evolutivas diferentes.
- (7) percent, limiar de divergência genética (*threshold*) é amplamente utilizado para delimitar espécies com base em diferenças genéticas entre organismos. Embora não exista um valor único universalmente aceito, diversos estudos sugerem limiares específicos dependendo do grupo taxonômico e do marcador genético utilizado.
- (8) treedist, *Tree Distance* o seu princípio é agrupar os indivíduos com base na distância patrística (isto é, a soma dos comprimentos dos ramos entre dois nós) extraída de uma árvore filogenética (geralmente uma árvore ultramétrica construída no BEAST). O método então aplica limiares de distância para definir os agrupamentos.
- (9) Posterior (Probabilidade a posteriori) mede o quanto o modelo bayesiano está confiante em cada hipótese de delimitação de espécie. Baseado em inferência bayesiana, que calcula a probabilidade de uma hipótese ser verdadeira dado os dados.

A delimitação de espécies foi realizada exclusivamente com o gene citocromo c oxidase subunidade 1 (COI), devido à sua reconhecida eficácia para essa finalidade como marcador universal de DNA *barcoding*, e os resultados finais de delimitação foram baseados no consenso da maioria (5 de 9) dos métodos empregados. Paralelamente, o gene 12S rRNA foi utilizado para a reconstrução filogenética, devido à sua maior conservação, permitindo a recuperação e identificação de categorias taxonômicas mais abrangentes, como ordens e famílias.

As representações gráficas dos resultados foram desenvolvidas no ambiente R versão 4.5.0 (R Core Team, 2025) com a interface do RStudio, versão 4.3.3 (R Studio Team, 2025), utilizando os pacotes ggplot2 (Wickham, 2016), ggtree (Yu *et al.*, 2017), phytools (Revell, 2012) e ape (Paradis *et al.*, 2004). Os mapas de distribuição geográfica foram elaborados no software QGIS, versão 3.32.1-Lima (QGIS Development Team, 2023), e as figuras finais foram editadas e vetorizadas no Inkscape, versão 1.2 (Inkscape Project, 2025).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Análises moleculares**

Ao todo, foram consideradas nove abordagens distintas para a delimitação das linhagens evolutivas, incluindo métodos baseados em dados moleculares e morfológicos. A primeira abordagem consistiu na identificação taxonômica tradicional, realizada com base em caracteres morfológicos diagnósticos, considerando descrições disponíveis na literatura especializada e material comparativo de referência. Essa etapa forneceu a base inicial para a comparação com os resultados obtidos pelas demais metodologias de delimitação.

Nem todas as espécies identificadas morfológicamente possuem sequências genéticas disponíveis em bancos públicos para os dois marcadores moleculares utilizados neste estudo - COI (Citocromo Oxidase I) e 12S (RNA ribossomal). Essa limitação dificultou a convalidação molecular de algumas unidades taxonômicas, restringindo a análise integrada entre morfologia e genética. Em determinados casos, o táxon mais próximo disponível em sequência era apenas em nível de gênero.

Para uma avaliação aprofundada da consistência e robustez dos agrupamentos, os dados genéticos foram analisados separadamente para cada marcador molecular, dedicando um conjunto de análises específico para o gene COI e outro, de forma independente, para o gene 12S. Essa abordagem individualizada permitiu examinar as particularidades de cada marcador antes de consolidar as descobertas. A partir da aplicação e comparação entre os diferentes métodos - que englobam abordagens baseadas em distância genética, modelos coalescentes e análises filogenéticas - foi possível avaliar a consistência e a robustez dos agrupamentos gerados, validando a solidez dos padrões de agrupamento observados.

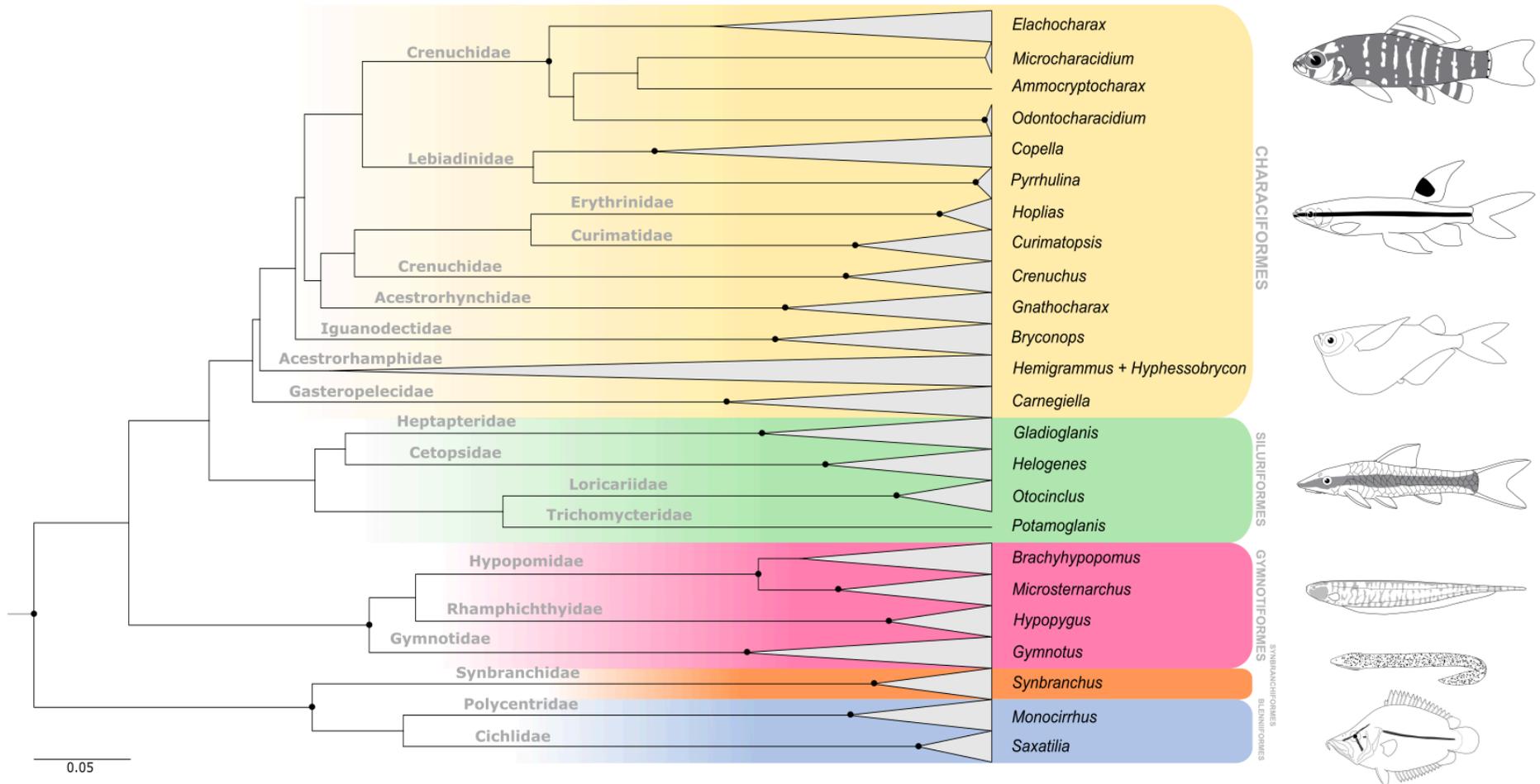
### **Análise molecular com foco no marcador 12S**

As análises moleculares foram iniciadas com o marcador mitocondrial RNA ribossomal 12S (12S rRNA), com 267 pares de bases (pb), por se tratar de uma região altamente conservada do genoma mitocondrial, o que o torna particularmente adequado para análises filogenéticas em níveis taxonômicos superiores, como ordens e famílias (Kocher *et al.*, 1989). Essa característica é de suma importância para a construção de um panorama evolutivo geral da ictiofauna estudada, complementando e validando a identificação morfológica inicial com dados genéticos robustos e confiáveis.

Adicionalmente, o marcador 12S é amplamente empregado em estudos de DNA ambiental (eDNA), o que permitiu, com os dados gerados, a construção de um banco de dados de referência local robusto e de grande valia. Embora o eDNA represente uma abordagem inovadora, não-invasiva e em rápido desenvolvimento para a avaliação da biodiversidade, sua eficácia na identificação de espécies depende crucialmente da existência de sequências de referência abrangentes e confiáveis (de Santana *et al.*, 2021; Morales, 2023). A criação deste banco de dados contribui significativamente para o aprimoramento futuro de estudos baseados em eDNA na região.

A relevância e a eficácia do marcador 12S foram notavelmente evidenciadas na árvore filogenética ultramétrica gerada a partir das análises. Observou-se uma clara e precisa distinção entre as principais ordens de peixes analisadas: Characiformes, Siluriformes, Gymnotiformes, Synbranchiformes e Blenniiformes. Para otimizar a visualização e facilitar a interpretação desses agrupamentos, cada ordem foi destacada com cores distintas, conforme ilustrado de maneira intuitiva na Figura 2, promovendo uma compreensão clara das relações evolutivas entre os diferentes grupos taxonômicos.

A consistência dos agrupamentos obtidos com o marcador 12S foi ainda mais corroborada pela alta robustez dos nós internos da árvore filogenética. Valores de probabilidades posteriores significativas em cada clado principal indicaram forte suporte estatístico para as relações filogenéticas inferidas. Essa solidez nos resultados sugere que o 12S é um marcador altamente informativo para a delimitação de ordens de peixes, mesmo em um contexto de variabilidade regional. A capacidade do 12S de agrupar espécies de forma coesa, refletindo suas classificações taxonômicas conhecidas, é um indicativo promissor para futuras investigações em biodiversidade aquática, especialmente na região da Amazônia.



**Figura 2:** Árvore ultramétrica gerada com base no marcador 12S, representando as relações evolutivas entre diversas famílias e ordens de peixes de água doce da região Neotropical. As cores indicam diferentes ordens de peixes: **Characiformes** (amarelo), **Siluriformes** (verde), **Gymnotiformes** (rosa), **Synbranchiformes** (laranja), e **Blenniiformes** (azul). Pontos pretos nos ramos indicam alto suporte de probabilidade posterior ( $\geq 95\%$ ) para os agrupamentos. A escala de barras na base representa substituições por sítio. Ilustrações à direita representam morfologias típicas de representantes de cada ordem (adaptado de Sleen & Albert, 2017).

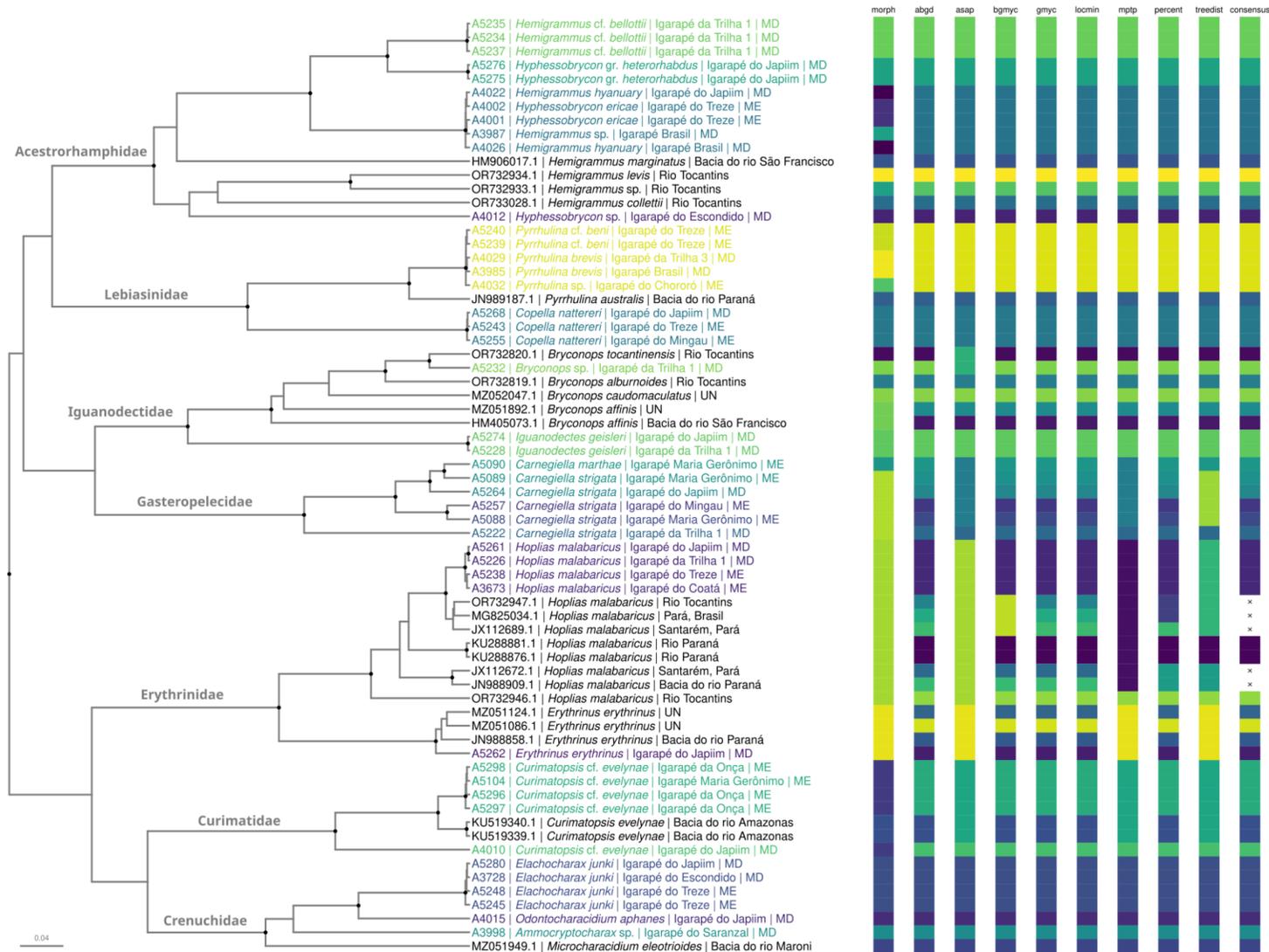
Os resultados do presente estudo, apesar de ser uma amostragem limitada, revelaram os níveis de relacionamento filogenético entre as ordens analisadas. Em particular, a análise demonstrou a posição da ordem Gymnotiformes como um grupo-irmão de um clado que engloba as ordens Characiformes e Siluriformes. As relações internas dentro desse clado foram resolvidas com elevado suporte estatístico, evidenciado por valores de probabilidade posterior iguais ou superiores a 0,95, representado através de um círculo no nó do ramo.

Dentro da ordem Characiformes, foi possível delimitar oito famílias: Crenuchidae, Lebiasinidae, Erythrinidae, Curimatidae, Acestrorhynchidae, Iguanodectidae e Acestrorhamphidae. Já em Siluriformes, foram identificadas quatro famílias: Heptapteridae, Cetopsidae, Loricariidae e Trichomycteridae. A ordem Gymnotiformes incluiu representantes das famílias Hypopomidae, Rhamphichthyidae e Gymnotidae, enquanto Synbranchiformes foi representada por Synbranchidae, e por fim, Blenniiformes foi representada por duas famílias: Cichlidae e Polycentridae.

Para garantir clareza na interpretação dos resultados, é importante destacar que a análise com o marcador 12S rRNA apresentou um panorama mais amplo e conservador das relações evolutivas, com maior resolução em níveis taxonômicos superiores, como ordens e famílias. A topologia gerada com esse marcador mostrou agrupamentos bem definidos entre as principais ordens de peixes analisadas, como Blenniiformes, Characiformes, Siluriformes, Gymnotiformes e Synbranchiformes, o que pode ser observado na Figura 2.

### **Análise molecular com foco no marcador COI**

Por outro lado, os resultados obtidos com o marcador Citocromo Oxidase I (COI), com seus 587 pares de bases (pb), que é o marcador universal de DNA *barcoding*, apresentados a seguir, revelaram uma estrutura filogenética distinta, com maior detalhamento em níveis taxonômicos inferiores (gêneros e espécies). Essa diferença no arranjo dos agrupamentos entre os dois marcadores reflete tanto a natureza evolutiva das regiões genômicas analisadas quanto suas aplicações complementares: enquanto o 12S favorece a visualização de relações profundas entre linhagens, o COI permite uma resolução mais precisa para a identificação e delimitação de espécies.



**Figura 3:** Árvore ultramétrica gerada com base no marcador COI, mostrando a delimitação de linhagens evolutivas por diferentes métodos para **Characiformes**. As sequências do presente estudo estão identificadas com a letra “A”; as demais, de bancos públicos, apresentam letras variadas e indicação de origem quando possível. Quando não foi possível determinar a localização, utilizou-se “UN” indeterminado (*undefined*). A cor da sequência corresponde à cor de seu consenso.

Nas análises de COI, foi observado que, em Characiformes, o arranjo entre as famílias foi limitado pela ausência de vários táxons, e houveram discrepâncias entre a identificação morfológica e as sequências obtidas. No entanto, a delimitação molecular permitiu o reconhecimento das linhagens evolutivas próximas.

A primeira discrepância se deu na formação de um agrupamento relativamente complexo, composto por espécies dos gêneros *Hemigrammus* e *Hyphessobrycon*, sem uma delimitação filogenética clara entre os dois. Do ponto de vista de espécie ou de linhagens evolutivas, o clado formado pelos espécimes identificados como *Hemigrammus* cf. *bellottii* foi consistentemente reconhecido por todos os delimitadores como representando uma única linhagem evolutiva. O mesmo padrão foi observado para *Hyphessobrycon* gr. *heterorhabdus*.

Para o clado irmão, observou-se a mistura de espécies de diferentes gêneros - *Hemigrammus hyanuary*, *Hyphessobrycon ericae* e *Hyphessobrycon* sp. -, o que sugere a necessidade de revisão da identificação morfológica desses táxons. Todos os delimitadores indicaram que esse agrupamento corresponde a uma única linhagem evolutiva, reforçando a hipótese de incongruência entre os critérios morfológicos e os dados moleculares.

Para o gênero *Pyrrhulina*, foram identificadas duas espécies com base na morfologia (*P.* cf. *beni* e *P. brevis*), além de um espécime classificado apenas a nível de gênero (*Pyrrhulina* sp.). No entanto, tanto os delimitadores baseados em distância genética quanto aqueles que utilizam a topologia da árvore indicaram consistentemente a presença de uma única linhagem evolutiva para essas amostras. A exceção foi *Pyrrhulina australis*, que apresentou uma linhagem claramente divergente, como já era esperado com base em sua distribuição geográfica e evidências anteriores.

Para o gênero *Copella*, apenas a espécie *C. nattereri* foi identificada morfolologicamente, e não foi possível incluir sequências de bancos públicos devido à sua ausência. As análises de delimitação apresentaram consenso entre os métodos, indicando que todas as amostras pertencem a uma única linhagem evolutiva. Apesar das coletas terem sido realizadas em igarapés de ambas as margens do rio, não foram observadas diferenças genéticas significativas que sugerissem processos de especiação.

Em *Bryconops*, pertencente a família Iguanodectidae, a identificação morfológica dos espécimes coletados no presente estudo chegou a nível de gênero, por esse motivo optou-se por utilizar sequências dos bancos públicos de várias espécies congêneres, a fim de proporcionar maior resolução quanto a identificação. Porém, cada

indivíduo sequenciado foi delimitado como uma única linhagem/espécie diferente, indicando que a espécie coletada na bacia do rio Manicoré não está entre as espécies amostradas dos bancos públicos.

Para a espécie *Iguanodectes geisleri*, não foram encontradas sequências disponíveis em bancos públicos, tanto da própria espécie quanto de seus congêneres, o que impossibilitou comparações mais amplas ou análises de coesão taxonômica entre diferentes localidades. As análises de delimitação foram unânimes em apontar a presença de uma única linhagem evolutiva.

Para o gênero *Carnegiella*, foram reconhecidas morfologicamente duas espécies: *C. marthae* e *C. strigata*. Os delimitadores utilizados nas análises concordaram quanto à distinção entre essas duas espécies, reforçando sua validade como unidades evolutivas distintas. No entanto, dentro de *C. strigata* observou-se uma elevada complexidade quanto às linhagens evolutivas, apresentando mais de uma, porém, sem um padrão perceptível. Apesar da presença de amostras provenientes de igarapés situados em ambas as margens do rio Manicoré, a estruturação genética observada não parece estar associada diretamente à separação geográfica entre as margens.

A espécie nominal *Hoplias malabaricus* apresenta uma ampla distribuição geográfica, o que motivou a inclusão de sequências provenientes de diversas localidades nos bancos públicos para fins comparativos. Na árvore filogenética, observou-se um alto suporte posterior para o grupo formado exclusivamente pelas amostras coletadas no presente estudo (A5261, A5226, A5238 e A3673). Cinco dos oito delimitadores empregados corroboraram a existência dessa unidade, sugerindo tratar-se de uma linhagem evolutiva distinta. Por outro lado, as sequências provenientes de bancos públicos não apresentaram um padrão claro de agrupamento, dificultando a identificação de linhagens. Observou-se, por exemplo, uma mistura de espécimes oriundos de diferentes bacias hidrográficas, como o rio Tocantins e o estado do Pará, ou ainda o rio Paraná e o Pará, o que pode refletir eficácia de identificação insuficiente, lacunas geográficas na amostragem ou complexidade críptica dentro do grupo.

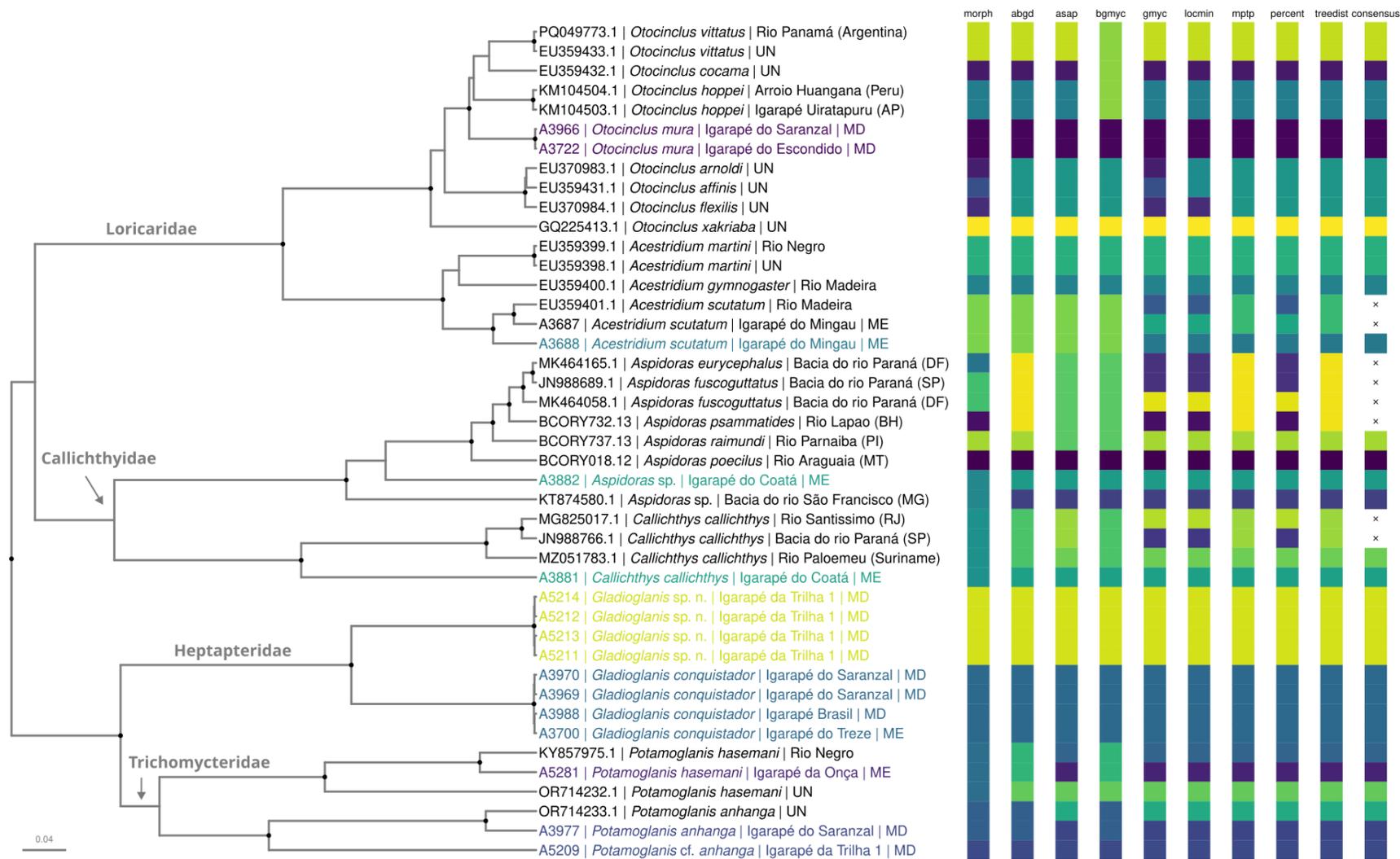
A espécie *Erythrinus erythrinus*, amplamente distribuída pela América do Sul, foi representada no presente estudo pela coleta no igarapé do Japiim (rio Manicoré), além de três sequências obtidas de bancos públicos, provenientes de diferentes regiões, incluindo a bacia do rio Paraná e outras localidades não identificadas. Na árvore filogenética, as amostras se agruparam com alto suporte posterior, formando um clado bem sustentado. No entanto, houve uma certa divergência entre os delimitadores de

espécies: enquanto alguns métodos - ABGD, bGMYC, GMYC, locMin e percent - indicaram a presença de múltiplas linhagens evolutivas, outros (ASAP, mPTP e treeDist) sugeriram que todas as amostras pertencem a uma única linhagem. Essa inconsistência pode refletir uma diversidade genética moderada dentro de *E. erythrinus*, possivelmente indicando o início de processos de diferenciação populacional, mas ainda sem um isolamento reprodutivo claro.

As análises de delimitação molecular para o gênero *Curimatopsis* indicaram uma notável diversidade genética, com evidências sugerindo a presença de espécies crípticas. Embora alguns métodos de delimitação, como o GMYC, tenham identificado uma única linhagem para determinados agrupamentos morfológicos, outras abordagens, como ABGD e bGMYC, indicaram a presença de múltiplas linhagens evolutivas dentro de unidades atualmente consideradas uma única espécie nominal, como *Curimatopsis evelynae*. Do ponto de vista morfológico, os espécimes foram classificados como *Curimatopsis* cf. *evelynae*, dado que não apresentaram correspondência plena com a chave taxonômica para a identificação da espécie, justificando a utilização do termo “cf.”. Contudo, os dados moleculares sugerem que esta população representa uma linhagem distinta, possivelmente uma espécie críptica. Adicionalmente, exemplares coletados em ambas as margens do rio Manicoré mostraram variações genéticas significativas, com indivíduos da margem direita sendo classificados pelos métodos de delimitação como pertencentes a uma linhagem evolutiva separada, indicando a possibilidade de uma nova linhagem ou unidade taxonômica.

Para a espécie *Elachocharax junki*, foram coletados exemplares em ambas as margens do rio. A aplicação de diferentes métodos de delimitação, incluindo ABGD, GMYC e bGMYC, não revelou a presença de estruturas populacionais distintas, sugerindo que não há evidências para a existência de linhagens evolutivas separadas dentro dessa espécie. Adicionalmente, a identificação morfológica corroborou essa conclusão, apontando para a uniformidade fenotípica dos exemplares, o que reforça a hipótese de uma única linhagem amplamente distribuída ao longo das margens do rio.

Apesar de nossa análise focar na delimitação de espécies, é crucial destacar a inclusão de *Odontocharacidium aphanes* e *Ammocryptocharax*. O registro genético dessas espécies é relevante, uma vez que inexitem sequências de COI publicamente disponíveis em bancos para comparação, tornando nossos dados pertinentes a fim de preencher essa lacuna de conhecimento.



**Figura 4:** Árvore ultramétrica gerada com base no marcador COI, mostrando a delimitação de linhagens evolutivas por diferentes métodos para **Siluriformes**. As sequências do presente estudo estão identificadas com a letra “A”; as demais, de bancos públicos, apresentam letras variadas e indicação de origem quando possível. Quando não foi possível determinar a localização, utilizou-se “UN” indefinido (*undefined*). A cor da sequência corresponde à cor de seu consenso.

A reconstrução da árvore ultramétrica para a ordem Siluriformes revelou a estrutura filogenética das espécies amostradas, incluindo representantes de diferentes famílias e gêneros com ocorrência em múltiplos igarapés da região amazônica. A topologia da árvore evidenciou agrupamentos bem definidos, com suporte para a monofilia de diversas linhagens, refletindo padrões coerentes com a taxonomia tradicional em muitos casos.

Foram incluídas sequências de exemplares de gêneros *Acestridium*, *Otocinclus*, *Callichthys*, *Aspidoras*, *Gladioglanis* e *Potamoglanis*, provenientes de distintos locais de coleta, como os igarapés do Mingau, Treze, Coatá, Saranzal, Brasil e da Trilha 1. Observou-se que algumas espécies, como *Gladioglanis conquistador* e *Potamoglanis anhangá*, formaram clados coesos, sugerindo baixa divergência intraespecífica, apesar da ampla distribuição geográfica (cf. Ferraris & Mago-Leccia, 1989; Lundberg, Dornbusch & Mago-Leccia, 1991; Rocha, Oliveira & Py-Daniel, 2008).

Sequências obtidas de bancos públicos foram incorporadas com o intuito de auxiliar na confirmação da identidade do gênero ou espécie de determinadas amostras. No caso do gênero *Otocinclus*, não havia sequências disponíveis para *Otocinclus mura*, o que motivou a inclusão de sequências de outras espécies congênicas. Essa abordagem permitiu validar a atribuição ao nível de gênero, evidenciada pela formação de um clado monofilético exclusivo de *Otocinclus*, com alto suporte posterior. A congruência topológica e o suporte estatístico fornecem evidência robusta de que as sequências analisadas no presente trabalho, e morfológicamente confirmada, pertencem a uma unidade taxonômica, *Otocinclus mura*, embora sem representação nas bases públicas de dados moleculares. Adicionalmente, os resultados revelaram um padrão intrigante e digno de nota: três indivíduos, originalmente depositados no GenBank e atribuídos a espécies distintas — *Otocinclus arnoldi*, *O. affinis* e *O. flexilis* — foram consistentemente delimitados como uma única unidade taxonômica em nossa análise, sugerindo a necessidade de investigações adicionais.

Padrão semelhante foi observado para o gênero *Acestridium*, que formou um clado monofilético com alto suporte, correspondente ao agrupamento do gênero. Devido à ausência de sequências específicas nas bases públicas para algumas espécies, optou-se por utilizar sequências congênicas provenientes de localidades próximas, como os rios Negro e Madeira. Com isso, foi possível recuperar um grupo consistente atribuído ao gênero *Acestridium*. Enquanto os delimitadores demonstraram eficácia na distinção das espécies nominais *Acestridium martini* e *A. gymnogaster*, não se observou um consenso

claro para o número de linhagens evolutivas em *A. scutatum*. Para essa espécie, o consenso majoritário foi alcançado apenas para a amostra A3688. Embora os delimitadores ABGD, ASAP e bGMYC tenham indicado a presença de uma única linhagem evolutiva para *A. scutatum*, tal inferência não foi corroborada pelos demais métodos.

Observa-se no clado formado pelo gênero *Aspidoras* que as sequências obtidas de bancos públicos auxiliaram na identificação até ao nível de gênero, porém, não colaboraram claramente com a identificação a nível de espécie ou linhagem, já que a amostra do presente estudo não foi identificada como sendo pertencente a algumas das demais linhagens, havendo a necessidade de uma maior amostragem de espécimes coletados mais próximos geograficamente.

O mesmo foi observado para o clado formado por *Callichthys*, porém, trata-se de somente uma espécie nominal e os delimitadores foram capazes de encontrar múltiplas linhagens evolutivas. Como é o caso dos delimitadores ASAP e bGMYC que encontraram apenas uma linhagem para exemplares coletados em São Paulo, Rio de Janeiro e Suriname. Algo que fica claro é que existe uma linhagem exclusiva do rio Manicoré, sendo um consenso corroborado por todos os delimitadores.

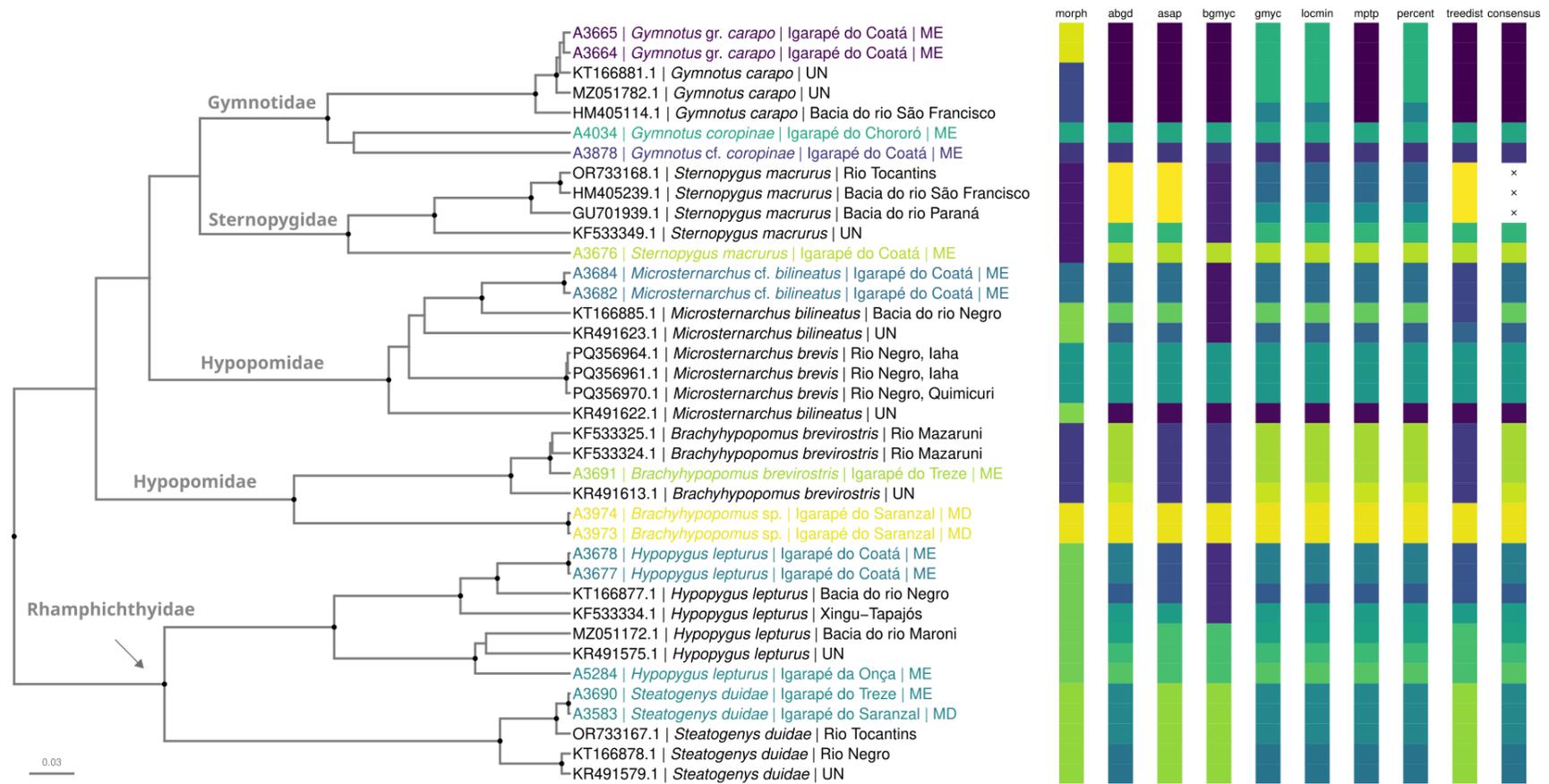
Na família Heptapteridae, representada pelo gênero *Gladioglanis*, houve a formação de dois clados principais, - um identificado como *Gladioglanis* sp. n. e o outro como *Gladioglanis conquistador*. Isso foi corroborado tanto na identificação morfológica, principalmente pela diferença no tamanho e formas corporais, como também na topologia da árvore e por todos os delimitadores utilizados, havendo a necessidade de maiores estudos para verificar se trata-se realmente de uma proposta de nova espécie ou a ampliação de distribuição de uma espécie já descrita, como o *Gladioglanis machadoi* que foi descrito para a região do rio Negro na Venezuela (Ferraris & Mago-Leccia, 1989).

Para o gênero *Potamoglanis*, que abrange as espécies *P. anhangá* e *P. hasemani*, os métodos de delimitação foram consistentes em indicar a presença de múltiplas linhagens distintas dentro de cada espécie nominal. Embora isso revele uma complexidade maior do que a esperada sob a taxonomia atual, uma delimitação homogênea e conclusiva entre as espécies nominais como um todo não foi alcançada devido à quantidade limitada de sequências disponíveis em bancos públicos. Essa escassez de dados inviabiliza uma amostragem mais abrangente e, conseqüentemente,

uma elucidação mais definitiva das relações filogenéticas e da diversidade críptica dentro do gênero.

Em suma, as análises de delimitação de espécies realizadas com diferentes métodos - incluindo abordagens morfológicas (morph), baseadas em distância genética (ABGD, ASAP, percent), modelos coalescentes (bGMYC, GMYC), inferência bayesiana de limiares genéticos (locMin), modelos probabilísticos de transição entre estados (mPTP), e medidas de dissimilaridade filogenética (treedist) - mostraram um padrão de concordância geral entre os métodos em diversos clados bem suportados, nos quais as linhagens morfoespecíficas correspondem a unidades evolutivas semelhantes. Entretanto, em outros grupos, houve considerável variação quanto ao número de linhagens reconhecidas, evidenciando a influência das diferentes premissas metodológicas na delimitação de espécies.

A combinação de múltiplos métodos de delimitação, aliada à interpretação filogenética e geográfica, permitiu uma avaliação mais robusta dos limites entre linhagens, indicando que a diversidade de Siluriformes na região pode estar subestimada. Esses resultados reforçam a importância de abordagens integrativas na delimitação de espécies, especialmente em regiões megadiversas e com histórico taxonômico incompleto, como a Amazônia.



**Figura 5:** Árvore ultramétrica gerada com base no marcador COI, mostrando a delimitação de linhagens evolutivas por diferentes métodos para **Gymnotiformes**. As sequências do presente estudo estão identificadas com a letra “A”; as demais, de bancos públicos, apresentam letras variadas e indicação de origem quando possível. Quando não foi possível determinar a localização, utilizou-se “UN” indefinido (*undefined*). A cor da sequência corresponde à cor de seu consenso.

Para a análise da ordem Gymnotiformes, os representantes do gênero *Gymnotus* apresentaram uma diversidade intraespecífica relevante. As amostras identificadas como *Gymnotus gr. carapo* (A3664, A3665), provenientes do Igarapé do Coatá, foram agrupadas como uma única linhagem em todos os métodos de delimitação aplicados, demonstrando coesão genética e correspondência com *Gymnotus carapo*. No entanto, uma amostra oriunda do banco público atribuída à mesma espécie, mas coletada na bacia do rio São Francisco, foi reconhecida como uma linhagem distinta por delimitadores como GMYC, locMin e percent, indicando divergência genética potencialmente associada à separação geográfica entre as bacias. No entanto, indivíduos identificados como *Gymnotus cf. coropinae* (A3878) e *Gymnotus coropinae* (A4034), oriundos de igarapés distintos, formaram um clado exclusivo, porém, os delimitadores concordaram em consenso que trata-se de linhagens diferentes, sugerindo possíveis sinais de estruturação críptica dentro do grupo *coropinae*.

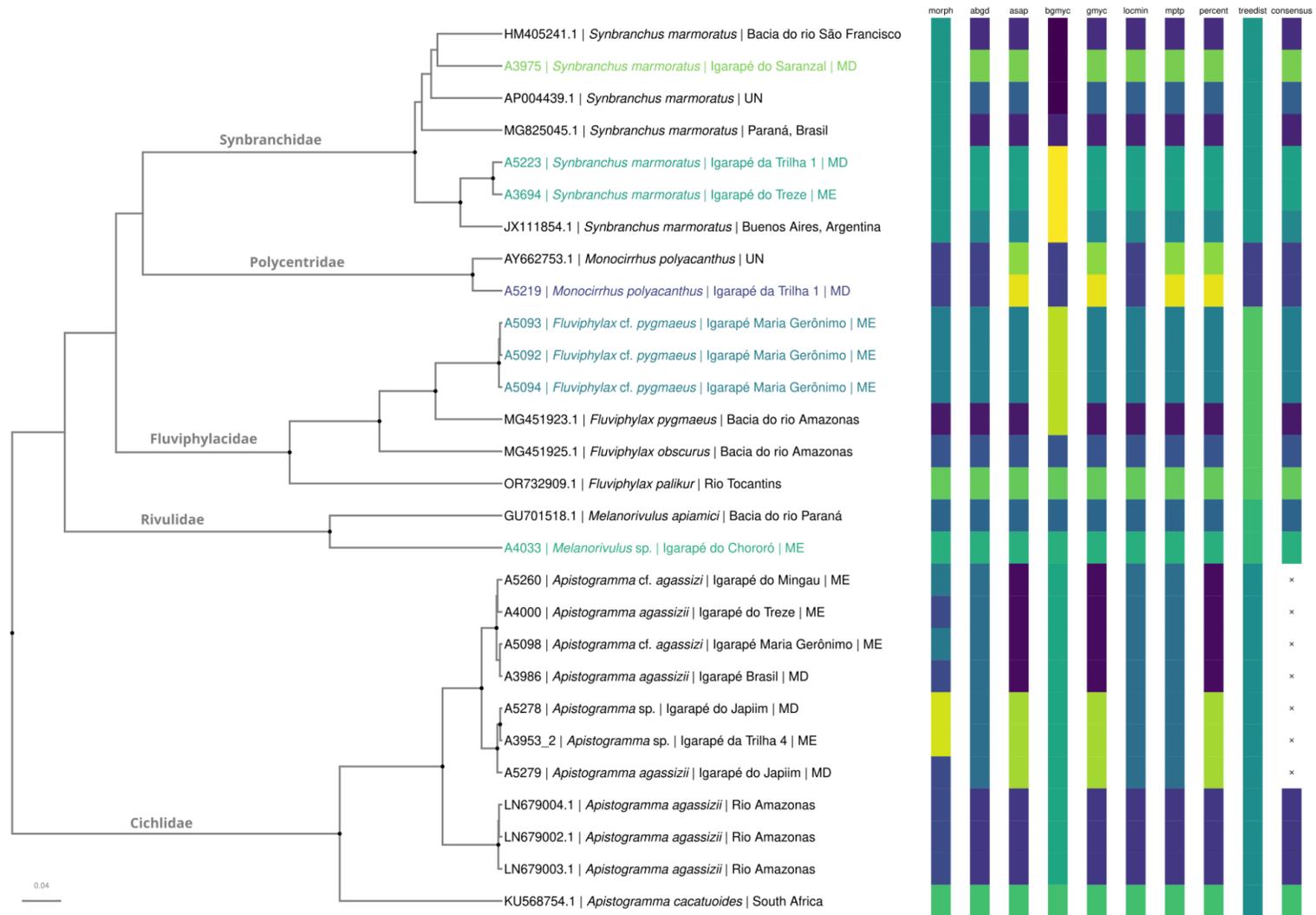
Para *Sternopygus macrurus*, os delimitadores apresentaram resultados inconclusivos em relação às sequências provenientes de bancos públicos, não havendo consenso claro quanto ao número de linhagens. Contudo, a amostra A3676, coletada no Igarapé do Coatá, foi consistentemente reconhecida como uma única e independente unidade evolutiva pela maioria dos métodos, sugerindo coesão genética local, ainda que a variabilidade observada nas amostras públicas possa refletir ampla distribuição geográfica ou possíveis linhagens crípticas dentro do táxon.

No gênero *Microsternarchus*, a análise do marcador COI revelou uma distinção importante entre as amostras coletadas no presente estudo, identificadas morfologicamente como *M. cf. bilineatus* (A3682, A3684), e as sequências de *M. bilineatus* provenientes de bancos públicos. Os diferentes métodos de delimitação de espécies consistentemente indicaram que as amostras de *M. cf. bilineatus* representam uma linhagem evolutiva distinta das amostras nominalmente atribuídas a *M. bilineatus*. Essa discordância entre a identificação morfológica preliminar e a delimitação molecular corrobora a indicação do "cf." (conferir), sugerindo que a população estudada pode representar uma espécie críptica ou uma unidade taxonômica ainda não formalmente reconhecida. A presença de *M. brevis* no mesmo gênero adiciona um grau de complexidade à delimitação, uma vez que as relações filogenéticas entre esses táxons não foram plenamente resolvidas, indicando a necessidade de revisão integrativa com dados morfológicos e moleculares adicionais para esclarecer os limites taxonômicos e a real diversidade dentro do grupo.

O gênero *Brachyhypopomus* apresentou um padrão de delimitação mais complexo. Para as amostras identificadas como *B. brevirostris*, os métodos ABGD, GMYC, locMin, mPTP e percent, indicam a existência de duas linhagens distintas, sendo uma exclusiva para o rio Manicoré, enquanto os delimitadores morph, ASAP, bGMYC e treedist, indicaram apenas uma única linhagem evolutiva. Assim como é observado para *Brachyhypopomus* sp., que houve a concordância entre todos os métodos, reconhecendo-a como uma única linhagem evolutiva independente e potencialmente uma nova espécie. Esses resultados indicam a necessidade de análises adicionais, incluindo dados morfológicos e geográficos, para elucidar os limites taxonômicos dentro do grupo.

O gênero *Hypopygus* também apresentou um padrão de delimitação taxonômica complexo. A espécie *Hypopygus lepturus*, representada por múltiplas amostras provenientes de diferentes localidades - incluindo o Igarapé do Coatá, Igarapé da Onça e registros de bancos públicos oriundos de diversas bacias hidrográficas, inclusive da localidade-tipo (bacia do rio Maroni) - revelou, por meio do consenso da maioria, múltiplas linhagens evolutivas, o que indica fortemente a presença de diversidade críptica dentro do táxon. Essa diversidade, por sua vez, pode ser um reflexo de um histórico evolutivo de divergência geográfica.

As análises para a espécie *Steatogenys duidae* indicaram a formação de um clado coeso com alto suporte posterior, refletindo consistência morfológica e genética entre as amostras. Os delimitadores morph, ASAP, bGMYC e treedist reconheceram a espécie como uma única linhagem evolutiva. No entanto, os métodos ABGD, GMYC, locMin, mPTP e percent sugeriram a existência de duas linhagens distintas. Um resultado particularmente intrigante foi a proximidade genética observada entre as amostras do rio Manicoré e do rio Tocantins, em contraste com a esperada afinidade com amostras do rio Negro, devido à proximidade geográfica.



**Figura 6:** Árvore ultramétrica gerada com base no marcador COI, mostrando a delimitação de linhagens evolutivas por diferentes métodos para **Atheriniformes**, **Blenniiformes** e **Synbranchiformes**. As sequências do presente estudo estão identificadas com a letra “A”; as demais, de bancos públicos, apresentam letras variadas e indicação de origem quando possível. Quando não foi possível determinar a localização, utilizou-se “UN” indefinido (*undefined*). A cor da sequência corresponde à cor de seu consenso.

As análises de delimitação de espécies para a família Synbranchidae revelaram evidências consistentes de diversidade críptica dentro do táxon atualmente reconhecido como *Synbranchus marmoratus*. A maioria dos métodos aplicados indicou a existência de até seis linhagens evolutivas distintas. Indicando que trata-se de um complexo de espécies, com diversas linhagens claramente determinadas pelos delimitadores ABGD, ASAP, GMYC, locMin, mPTP e percent. No entanto, a distinção morfológica entre essas linhagens permanece desafiadora, já que a espécie é tradicionalmente tratada como uma única unidade taxonômica de ampla distribuição geográfica, a designação de um lectótipo do Suriname traz estabilidade nomenclatural (cf. Friche *et al.*, 2025). No entanto, essa designação não resolve as questões taxonômicas subjacentes. A grande diversidade críptica deste táxon indica a necessidade de estudos mais aprofundados, com análises detalhadas de dados morfológicos e morfométricos em trabalhos futuros.

Um achado notável foi a formação de um grupo composto por amostras do rio Manicoré e indivíduos coletados em Buenos Aires, Argentina, indicando um padrão de relacionamento filogenético inesperado. Essa afinidade genética entre populações geograficamente tão distantes levanta hipóteses sobre rotas de dispersão históricas ou conexões hidrográficas passadas (Hubert & Renno, 2006), eventos de vicariância (separação de populações por barreiras geográficas) (Albert & Reis, 2011) ou mesmo limitações na taxonomia atual da espécie, reforçando a necessidade de estudos integrativos envolvendo morfologia, genética e biogeografia (cf. Dayrat, 2005).

Para a família Polycentridae, representada por *Monocirrhus polyacanthus*, pertencente à ordem Blenniiformes, os resultados das análises de delimitação indicam por maioria que há apenas uma linhagem evolutiva. Porém, temos a problemática da escassez de dados moleculares disponíveis, visto que atualmente, existem apenas quatro sequências do gene COI depositadas em bancos públicos para essa espécie, o que limita a robustez das inferências filogenéticas e de delimitação. Essa limitação evidencia a necessidade de maior esforço de amostragem molecular e taxonômica para o grupo, de modo a possibilitar uma avaliação mais precisa da diversidade genética e dos limites específicos dentro da família.

Em Fluviphylacidae, foi adotada uma abordagem baseada na comparação com sequências disponíveis em bancos públicos, utilizando espécies congêneres de *Fluviphylax pygmaeus*, com o objetivo de auxiliar na identificação molecular dos espécimes analisados neste estudo, inicialmente rotulados como *F. cf. pygmaeus*. Os métodos de delimitação de espécies (com exceção de bGMYC e treeDist) aplicados

foram consistentes ao indicar a existência de uma linhagem evolutiva distinta correspondente a esses espécimes provenientes do rio Manicoré.

A topologia da árvore ultramétrica forneceu alto suporte posterior para o agrupamento dos indivíduos analisados com sequências previamente identificadas como *F. pygmaeus*, coletadas na bacia do rio Amazonas, sugerindo afinidade filogenética entre essas amostras. Por outro lado, os espécimes analisados mostraram-se geneticamente divergentes de outras espécies congêneras, como *Fluviphylax obscurus*, também da bacia amazônica, e *F. palikur*, registrada na bacia do rio Tocantins. Esses resultados reforçam a hipótese de que os exemplares rotulados como *F. cf. pygmaeus* estão mais proximamente relacionados com a espécie *F. pygmaeus*, porém, são linhagens divergentes, necessitando de estudos adicionais integrando dados morfológicos e genéticos mais abrangentes para confirmar essa identificação e explorar essas possíveis variações.

A família Rivulidae, representada neste estudo pelos táxons *Melanorivulus* sp. do rio Manicoré e *Melanorivulus apiamici* do rio Paraná, proveniente de bancos públicos, apresenta desafios significativos relacionados à escassez de dados moleculares em bancos públicos, situação semelhante à observada na família Polycentridae. Apesar dessa limitação, os resultados obtidos permitiram confirmar, com elevado suporte posterior na árvore ultramétrica, o agrupamento consistente das amostras analisadas dentro do gênero *Melanorivulus*. Esse agrupamento indica coerência filogenética e fornece respaldo para a identificação no nível de gênero. No entanto, a delimitação específica permanece incerta, especialmente para as amostras rotuladas como *Melanorivulus* sp., cuja identidade taxonômica ainda requer validação. A ausência de um conjunto mais amplo de sequências de referência impede a avaliação mais precisa da diversidade intra e interespecífica dentro do gênero.

Para a família Cichlidae, o presente estudo incluiu representantes do gênero *Apistogramma* coletados em diversos igarapés da bacia do rio Manicoré, além de sequências obtidas de bancos públicos com procedência conhecida da bacia do rio Amazonas, incluindo uma amostra de *Apistogramma cacatuoides* sem informação de localidade de coleta. A reconstrução filogenética revelou alto suporte posterior para o agrupamento da família, bem como para o clado formado pelas amostras identificadas morfolologicamente como *A. agassizii*, *A. cf. agassizii* e *Apistogramma* sp.. Todas essas amostras foram posicionadas em um único clado, sugerindo, à primeira vista, sua inclusão em *Apistogramma agassizii* com base na topologia e suporte da árvore.

Contudo, as análises de delimitação de espécies não apresentaram um consenso unificado quanto ao número de linhagens dentro de *Apistogramma agassizii*, visto que ele é reconhecido na literatura sendo um complexo de espécies (cf. Britzke, 2015). Os métodos bGMYC e treedist sugeriram a existência de uma única linhagem evolutiva, refletindo uma possível continuidade genética entre as amostras. Por outro lado, os delimitadores ASAP, GMYC e percent indicaram a presença de múltiplas linhagens, sugerindo uma possível estruturação críptica ou divergência intraespecífica. Adicionalmente, os métodos ABGD, locMin e mPTP identificaram duas linhagens distintas: uma correspondente às amostras provenientes da bacia do rio Amazonas e outra composta por indivíduos da bacia do rio Manicoré.

Essa diferenciação das linhagens evolutivas pode ter sido impulsionado por diversos processos como: isolamento geográfico recente (atuação de barreiras fluviais sutis, como a própria largura ou fluxo do rio, ou conectividade com igarapés específicos que atuam como refúgios) (cf. Dagosta & de Pinna, 2019; Albert, Tagliacollo & Dagosta, 2020), seleção ecológica (adaptação a micro-habitats específicos) ou especiação recente onde a morfologia ainda não divergiu (cf. Funk *et al.*, 2007; Hebert *et al.*, 2004) mas suficientemente antigo para gerar sinal genético detectável por alguns dos delimitadores aqui utilizados.

### **Lista de espécies**

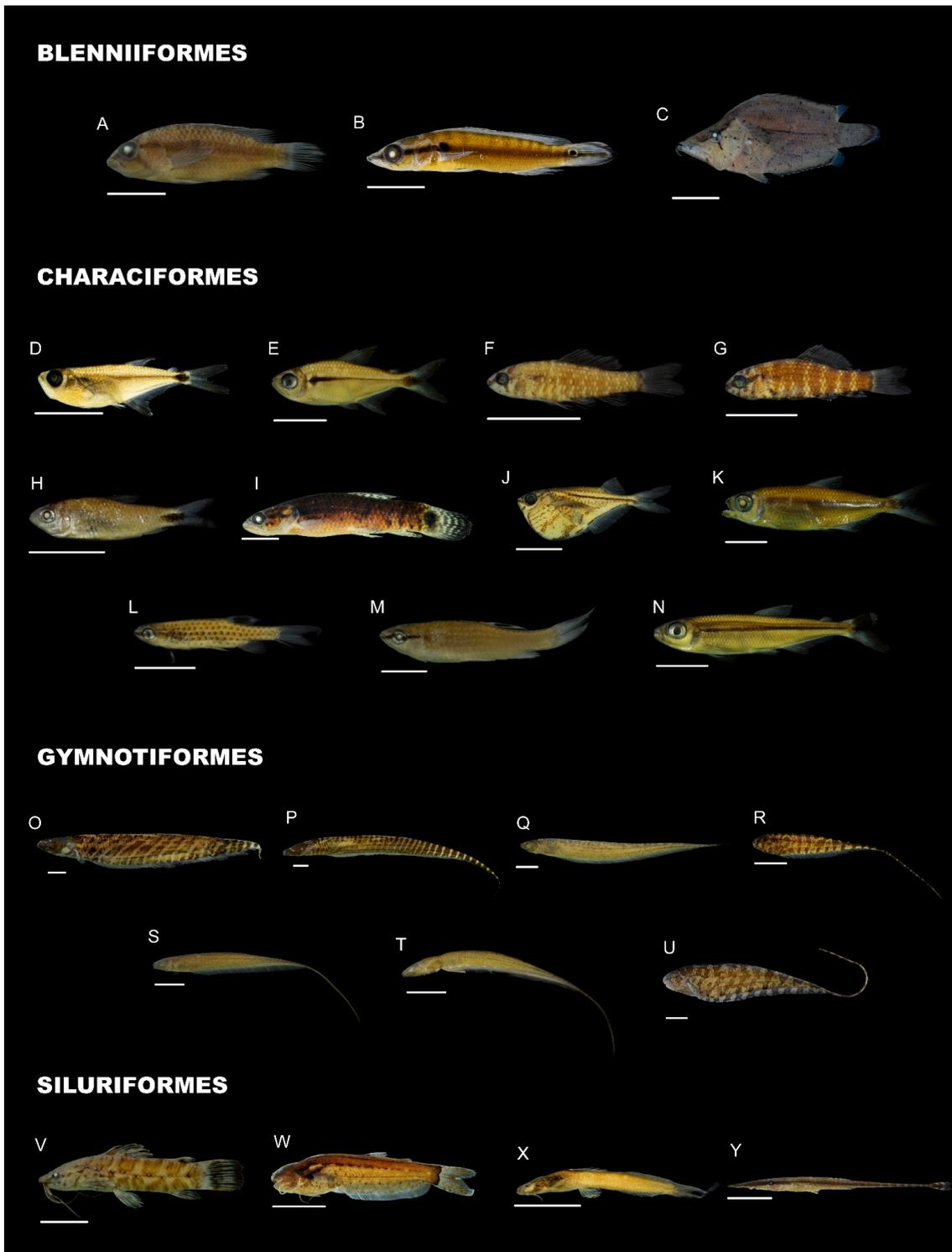
Durante o levantamento realizado na região de estudo, foram identificados representantes de diferentes ordens, famílias e espécies de peixes, com destaque para a ordem Characiformes, que apresentou a maior diversidade. A identificação foi realizada com base em caracteres morfológicos seguindo a classificação de Near & Thacker (2024) e Melo *et al.*, (2024), complementada, quando possível, por dados moleculares obtidos a partir dos marcadores mitocondriais COI e 12S. A tabela a seguir apresenta um resumo dos táxons registrados, o número de espécies por família, sua ocorrência na localidade amostrada, o marcador molecular utilizado para cada espécie incluída nas análises e as linhagens evolutivas identificadas por espécie, evidenciando possíveis casos de especiação críptica. Alguns exemplares representativos estão ilustrados na prancha fotográfica apresentada na Figura 7.

**Tabela 1:** Táxons identificados, número de espécies, ocorrência e marcador molecular utilizado. A coluna "Táxon" inclui a ordem e as respectivas famílias e espécies identificadas. "Espécies" indica o número de espécies registradas por família. "Ocorrência" refere-se à presença das espécies nas margens da região de estudo, sendo "ME" correspondente a margem esquerda e "MD" margem direita. A coluna "Marcador" especifica os marcadores moleculares utilizados. A coluna "Linhagens" informa o número de linhagens evolutivas identificadas por espécie/ciação críptica.

Táxon	Espécies	Ocorrência	Marcador	Linhagens
<b>ATHERINIFORMES</b>	<b>2</b>			
<b>Fluviphylacidae</b>	1			
<i>Fluviphylax cf. pygmaeus</i> (Myers & Carvalho, 1955)		ME	COI	2
<b>Rivulidae</b>	1			
<i>Melanorivulus</i> sp.		ME	COI	1
<b>BLENNIIFORMES</b>	<b>4</b>			
<b>Polycentridae</b>	1			
<i>Monocirrhus polyacanthus</i> Heckel, 1840		MD	12S / COI	1
<b>Cichlidae</b>	3			
<i>Apistogramma agassizi</i> (Steindachner, 1875)		MD / ME	COI	3
<i>Saxatilia</i> sp.		ME	12S	
<b>CHARACIFORMES</b>	<b>29</b>			
<b>Acestrorhynchidae</b>	1			
<i>Gnathocharax steindachneri</i> Fowler, 1913		ME	12S	
<b>Acestrorhamphidae</b>	7			
<i>Hemigrammus vorderwinkleri</i> Géry, 1963		ME	12S	
<i>Hemigrammus bellottii</i> (Steindachner, 1882)		MD	12S / COI	1
<i>Hemigrammus hyanuary</i> Durbin, 1918		MD	12S / COI	1
<i>Hemigrammus</i> sp.		MD	COI	1
<i>Hyphessobrycon ericae</i> Moreira & Lima, 2017		MD / ME	12S / COI	1
<i>Hyphessobrycon heterorhabdus</i> (Ulrey, 1894)		MD / ME	12S / COI	1
<i>Hyphessobrycon</i> sp.		MD	12S / COI	1
<b>Crenuchidae</b>	9			
<i>Ammocryptocharax</i> sp.		MD	12S / COI	1
<i>Crenuchus spilurus</i> Günther, 1863		ME	12S	

<i>Elachocharax junki</i> (Géry, 1971)		MD / ME	12S / COI	1
<i>Elachocharax pulcher</i> Myers, 1927		MD	12S	
<i>Elachocharax</i> sp.		ME	12S	
<i>Elachocharax</i> sp. n.		ME	12S	
<i>Microcharacidium</i> sp. n.		MD	12S	
<i>Microcharacidium</i> sp.		MD	12S	
<i>Odontocharacidium aphanes</i> (Weitzman & Kanazawa, 1977)		MD	12S / COI	1
<b>Curimatidae</b>	1			
<i>Curimatopsis</i> cf. <i>evelynae</i> Géry, 1964		MD / ME	12S / COI	2
<b>Erythrinidae</b>	2			
<i>Erythrinus erythrinus</i> (Bloch & Schneider, 1801)		MD	COI	4
<i>Hoplías malabaricus</i> (Bloch, 1794)		MD / ME	12S / COI	3
<b>Gasteropelecidae</b>	2			
<i>Carnegiella marthae</i> Myers, 1927		ME	12S / COI	1
<i>Carnegiella strigata</i> (Günther, 1864)		MD / ME	12S / COI	4
<b>Iguanodectidae</b>	2			
<i>Bryconops</i> sp.		MD	12S / COI	1
<i>Iguanodectes geisleri</i> Géry, 1970		MD	COI	1
<b>Lebiasinidae</b>	5			
<i>Copella callolepis</i> (Steindachner, 1876)		MD / ME	12S	
<i>Copella nattereri</i> (Steindachner, 1876)		MD / ME	12S / COI	1
<i>Pyrrhulina brevis</i> Steindachner, 1876		MD / ME	12S / COI	1
<i>Pyrrhulina beni</i> Pearson, 1924		ME	COI	1
<i>Pyrrhulina</i> sp.		ME	12S / COI	1
<b>GYMNOTIFORMES</b>	<b>11</b>			
<b>Gymnotidae</b>	4			
<i>Gymnotus carapo</i> Linnaeus, 1758		ME	12S / COI	1
<i>Gymnotus coropinae</i> Hoedeman, 1962		ME	12S / COI	2
<i>Gymnotus curupira</i> Crampton, Thorsen & Albert, 2005		ME	12S	
<i>Gymnotus</i> sp.		ME	12S	
<b>Hypopomidae</b>	6			
<i>Brachyhypopomus brevirostris</i> (Steindachner, 1868)		ME	12S / COI	1

<i>Brachyhypopomus</i> sp.		MD	COI	1
<i>Brachyhypopomus</i> sp. 2		ME	12S	
<i>Microsternarchus brevis</i> Cox Fernandes, Nogueira, Williston & Alves-Gomes, 2015		MD / ME	12S	1
<i>Microsternarchus bilineatus</i> Fernández-Yépez, 1968		MD / ME	12S / COI	3
<b>Rhamphichthyidae</b>	1			
<i>Hypopygus lepturus</i> Hoedeman, 1962		ME	12S / COI	5
<i>Steatogenys duidae</i> (La Monte, 1929)		MD / ME	COI	2
<b>SILURIFORMES</b>	<b>11</b>			
<b>Callichthyidae</b>	3			
<i>Aspidoras</i> sp.		ME	COI	1
<i>Callichthys callichthys</i> (Linnaeus, 1758)		ME	COI	2
<b>Cetopsidae</b>	1			
<i>Helogenes marmoratus</i> Günther, 1863		MD / ME	12S	
<b>Heptapteridae</b>	3			
<i>Gladioglanis conquistador</i> Lundberg, Bornbusch & Mago-Leccia, 1991		MD / ME	12S / COI	1
<i>Gladioglanis</i> sp.		MD	12S	
<i>Gladioglanis</i> sp. n.		MD	12S / COI	1
<b>Loricariidae</b>	2			
<i>Acestridium scutatum</i> Reis & Lehmann A. 2009		ME	COI	1
<i>Otocinclus mura</i> Schaefer, 1997		MD	12S / COI	1
<b>Trichomycteridae</b>	2			
<i>Potamoglanis hasemani</i> (Eigenmann, 1914)		MD / ME	12S / COI	3
<i>Potamoglanis anhangá</i> (Dutra, Wosiacki & de Pinna, 2012)		MD	COI	3
<b>SYNBRANCHIFORMES</b>	<b>1</b>			
<b>Synbranchidae</b>	1			
<i>Synbranchus marmoratus</i> Bloch, 1795		MD / ME	COI	6



**Figura 7:** Diversidade de peixes da região de Manicoré, Amazonas, destacando a riqueza taxonômica local. **BLENNIIFORMES:** (A) *Apistogramma agassizii*; (B) *Saxatilia* sp.; (C) *Monocirrhus polyacanthus*; **CHARACIFORMES:** (D) *Gnathocharax steindachneri*; (E) *Hyphessobrycon ericae*; (F) *Elachocharax junki*; (G) *Elachocharax pulcher*; (H) *Curimatopsis cf. evelynae*; (I) *Erythrinus erythrinus*; (J) *Carnegiella strigata*; (K) *Bryconops* sp.; (L) *Copella callolepis*; (M) *Pyrrhulina brevis*; (N) *Iguanodectes geisleri*; **GYMNOTIFORMES:** (O) *Gymnotus* gr. *carapo*; (P) *Gymnotus* sp.; (Q) *Brachyhypopomus* sp.; (R) *Hypopygus lepturus*; (S) *Microsternarchus bilineatus*; (T) *Microsternarchus* cf. *bilineatus*; (U) *Steatogenys duidae*; **SILURIFORMES:** (V) *Megalechis picta*; (W) *Helogenes marmoratus*; (X) *Gladioglanis conquistador*; (Y) *Acestridium scutatatum*. Escala = 1 cm.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente resultado mostrou que, apesar de ser uma amostragem limitada, os níveis de relacionamento entre as ordens foram de acordo com diferentes hipóteses elaboradas por diversos autores ao longo das últimas décadas (e.g., Fink & Fink, 1981; Dimmick & Larson, 1996; Nakatani *et al.*, 2011; Chen *et al.*, 2013; Betancur-R *et al.*, 2013; Arcila *et al.*, 2017; Near & Thacker, 2024). Em especial, observou-se a posição da ordem Gymnotiformes como grupo-irmão de um clado composto por Characiformes e Siluriformes, uma relação concordante com as hipóteses propostas por Betancur-R *et al.*, (2013) e também Near & Thacker (2024). Ambos trabalhos citados são amplamente reconhecidos e apesar de haver somente 287 pb para o gene 12S rRNA, foram recuperadas as relações propostas por esses autores os quais utilizaram muito mais marcadores genéticos e também dados morfológicos. Isso indica que o gene 12s tem grande informação filogenética. Vale ressaltar que esses estudos são utilizados como referência na sistemática de peixes, denotando uma das muitas hipóteses de relacionamento dentro de Ostariophysi/Otophysy neotropicais, grupo que apresenta desafios taxonômicos e filogenéticos relevantes.

Aprofundando a complexidade observada neste grupo, destaca-se a importância de se ter bancos de referência para regiões pouco ou nada conhecidas, como a região da bacia do rio Manicoré. Este estudo segue os moldes de outros estudos que foram pioneiros em diferentes regiões, reforçando a necessidade de expandir o conhecimento sobre a ictiofauna amazônica (cf. Díaz *et al.*, 2006; Guimarães *et al.*, 2018; de Freitas *et al.*, 2024).

Nesse contexto, os resultados obtidos neste estudo revelam um panorama complexo da diversidade genética nas linhagens de peixes da bacia do rio Manicoré. Para desvendar essa complexidade, aplicamos diversos delimitadores de espécies (GMYC, bGMYC, mPTP, locMin, ABGD, ASAP e morfológica). É importante notar que cada um desses métodos possui seus próprios pressupostos e, por isso, suas delimitações refletem diferentes aspectos do processo evolutivo, como divergência temporal, estrutura filogeográfica e distância genética (cf. Fujisawa & Barraclough, 2013; Puillandre *et al.*, 2012; Reid & Carstens, 2012; Kapli *et al.*, 2017; Kapli *et al.*, 2021). A falta de concordância total entre eles apenas reforça a natureza multifacetada da delimitação de espécies. No entanto, a congruência entre dois ou mais delimitadores pode ser considerada uma forte evidência filogenética, apontando para a existência de

linhagens evolutivamente significativas. Essa abordagem nos permitiu identificar a existência de cerca de 16 novas linhagens evolutivas, até então desconhecidas e que a identificação morfológica sozinha não seria capaz de apontar. Para aprofundar ainda mais essa compreensão da diversidade genética e confirmar a validade dessas novas linhagens, análises adicionais seriam cruciais.

Além disso, os dados indicam que as diferentes linhagens respondem de forma variável aos processos evolutivos e históricos da região, de acordo com suas restrições filogenéticas (*phylogenetic constraints*) (Harvey & Pagel, 1991). Essas restrições, que envolvem aspectos como taxas de diferenciação genética, potencial de dispersão, tempo de divergência e taxa de extinção, explicam por que análises padronizadas de diversidade e delimitação nem sempre se aplicam uniformemente a todos os grupos (Losos, 2011). Esse padrão ressalta a necessidade de abordagens comparativas que levem em conta o histórico evolutivo e ecológico de cada linhagem analisada.

Um dos achados mais relevantes foi a observação de que algumas linhagens do rio Manicoré apresentam diferenciação genética evidente entre as margens esquerda e direita (*Curimatopsis* cf. *evelynae*), enquanto outras não demonstram esse padrão (*Carnegiella strigata* e *Elachocharax junki*). Essa variação sugere que o fluxo gênico entre comunidades de igarapés de margens opostas pode ocorrer de forma seletiva, sendo mediado por fatores como a ecologia das espécies, sua capacidade de dispersão e a configuração hidrográfica local (cf. Albert & Reis, 2011; Luna, Ribas & Aleixo, 2022). Esses resultados reforçam a complexidade dos processos de diversificação em rios amazônicos, onde barreiras geográficas podem funcionar de forma assimétrica ou temporariamente permeável, dependendo da biologia dos organismos envolvidos (Albert & Reis, 2011; Albert, Val & Hoorn, 2018)

É fundamental destacar que o gênero *Curimatopsis* tem sido palco de significativas descobertas taxonômicas nos últimos anos. Houve uma proliferação de descrições de novas espécies, o que expandiu consideravelmente nosso entendimento sobre sua diversidade. Entre essas adições recentes à taxonomia do grupo, figuram espécies como *C. maculosa*, encontrada no rio Tapajós (Melo, Vari & Oliveira, 2016); *C. guaporensis*, descrita para o rio Madeira (Melo & Oliveira, 2017); *C. jaci*, cuja localidade-tipo é o rio Teles Pires, na bacia do Amazonas (Melo & Oliveira, 2017); *C. pallida*, com localidade-tipo no rio Cuieiras, afluente do rio Negro (Melo & Oliveira, 2017); *C. melanura*, proveniente do rio Nhamundá, afluente do rio Amazonas (Dutra, Melo & Netto-Ferreira, 2018); e *C. sabana*, com localidade-tipo no rio Carapo, na bacia

do Orinoco, Venezuela (Melo, 2020). Essa sequência de achados ressalta a importância contínua da pesquisa taxonômica na bacia amazônica e adjacências.

A identificação de diversidades crípticas ou linhagens distintas não é um achado isolado; pelo contrário, é um padrão consistentemente observado em uma vasta gama de estudos que empregam metodologias similares. Este cenário se alinha perfeitamente com os resultados obtidos em diversas pesquisas que também revelaram tais diferenciações (cf. Souza, 2008; Terencio, *et al.*, 2011; Schneider *et al.*, 2012; Benzaquem *et al.*, 2015; Santana *et al.*, 2023). A recorrência dessas descobertas em diferentes contextos reforça a robustez e a aplicabilidade do método utilizado para desvendar a complexidade das relações biológicas.

A partir dos padrões observados, emerge uma hipótese robusta: estamos diante de um cenário que pode envolver a presença de múltiplas linhagens crípticas. Tais linhagens, indistintas morfologicamente, mas geneticamente diferenciadas, são uma espécie de janela e de especial interesse para a taxonomia, conservação e entendimento da biodiversidade neotropical (Bickford *et al.*, 2007). A repetição dessa abordagem em outras drenagens da região, ou em comparações entre drenagens vizinhas, tem potencial para revelar ainda mais linhagens não reconhecidas atualmente, contribuindo para uma revisão abrangente da diversidade ictiofaunística amazônica sob uma perspectiva integrativa. Em conjunto, os achados desta dissertação reforçam a importância da utilização de múltiplos métodos de delimitação e de uma perspectiva filogenética ao se investigar a diversidade biológica em áreas megadiversas. Os resultados obtidos não apenas contribuem para o conhecimento da biodiversidade da bacia do rio Manicoré, mas também apontam caminhos promissores para futuras investigações em outras bacias amazônicas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERT, James S.; REIS, Roberto (Ed.). Historical biogeography of Neotropical freshwater fishes. **Univ of California Press**, 2011.

ALBERT, James S.; VAL, Pedro; HOORN, Carina. The changing course of the Amazon River in the Neogene: center stage for Neotropical diversification. **Neotropical Ichthyology**, v. 16, n. 03, p. e180033, 2018.

ALBERT, James S.; TAGLIACOLLO, Victor A.; DAGOSTA, Fernando. Diversification of Neotropical freshwater fishes. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 51, n. 1, p. 27-53, 2020.

ARCILA, Dahiana *et al.* Genome-wide interrogation advances resolution of recalcitrant groups in the tree of life. **Nature Ecology & Evolution**, v. 1, n. 2, p. 0020, 2017.

BENSON, D. A.; CAVANAUGH, M.; CLARK, K. Genbank.-Nucleic Acids Research, 41 (D1): D36-D42. 2013.

BENZAQUEM, Denise Correa *et al.* DNA *barcoding* in pencilfishes (Lebiasinidae: *Nannostomus*) reveals cryptic diversity across the Brazilian Amazon. **PloS One**, v. 10, n. 2, p. e0112217, 2015.

BETANCUR-R, Ricardo *et al.* The tree of life and a new classification of bony fishes. **PLoS Currents**, 2013.

BICKFORD, David *et al.* Cryptic species as a window on diversity and conservation. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 22, n. 3, p. 148-155, 2007.

BITTENCOURT, Pedro; COLLINS, Rupert; Hrbek, Tomás (2025). Delimitools: Helper Functions for Species Delimitation Analysis. R package version 0.2.0. Disponível em: <https://doi.org/10.32614/CRAN.package.delimitools>.

BOUCKAERT, Remco *et al.* BEAST 2.5: An advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis. **PLoS Computational Biology**, v. 15, n. 4, p. e1006650, 2019.

BRITZKE, Ricardo. Relações filogenéticas do gênero *Apistogramma* (Teleostei, Cichlidae) e filogeografia da espécie *Apistogramma agassizi*. **Tese de Doutorado**, Universidade Estadual Paulista - UNESP, 2015.

CASTRO PAZ, Francis Paola; BATISTA, Jacqueline da Silva; PORTO, Jorge Ivan Rebelo. DNA barcodes of rosy tetras and allied species (Characiformes:

Characidae: *Hyphessobrycon*) from the Brazilian Amazon basin. **Plos One**, v. 9, n. 5, p. e98603, 2014.

CHEN, Wei-Jen; LAVOUÉ, Sébastien; MAYDEN, Richard L. Evolutionary origin and early biogeography of otophysan fishes (Ostariophysi: Teleostei). **Evolution**, v. 67, n. 8, p. 2218-2239, 2013.

DAGOSTA, Fernando CP; DE PINNA, Mário. The fishes of the Amazon: distribution and biogeographical patterns, with a comprehensive list of species. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v. 2019, n. 431, p. 1-163, 2019.

DAYRAT, Benoit. Towards integrative taxonomy. **Biological journal of the Linnean society**, v. 85, n. 3, p. 407-417, 2005.

DE FREITAS, Elciane Araújo *et al.* Integrative use of DNA barcode and morphology reveal high level of diversity in the ornamental fish on the lower Amazon basin. **PloS One**, 2024.

DÍAZ, Juan *et al.* First DNA barcode reference library for the identification of South American freshwater fish from the lower Paraná river. **PLoS One**, 2016.

DIMMICK, Walter Wheaton; LARSON, Allan. A molecular and morphological perspective on the phylogenetic relationships of the otophysan fishes. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 6, n. 1, p. 120-133, 1996.

DOYLE, Jeff J.; DOYLE, Jane L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, 1987.

DRUMMOND, Alexei J. *et al.* Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. **Molecular Biology and Evolution**, v. 29, n. 8, p. 1969-1973, 2012.

DUTRA, G. M.; MELO, B. F.; NETTO-FERREIRA, A. L. A new species of *Curimatopsis* Steindachner (Characiformes: Curimatidae) from the Rio Nhamundá, Amazon basin. **Journal of Fish Biology**, v. 92, n. 2, p. 515-522, 2018.

FERRARIS JR, Carl J.; MAGO-LECCIA, Francisco. A new genus and species of pimelodid catfish from the Río Negro and Río Orinoco drainages of Venezuela (Siluriformes: Pimelodidae). **Copeia**, p. 166-171, 1989.

FINK, Sara V.; FINK, William L. Interrelationships of the ostariophysan fishes (Teleostei). **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 72, n. 4, p. 297-353, 1981.

FUJISAWA, Tomochika; BARRACLOUGH, Timothy G. Delimiting species using single-locus data and the Generalized Mixed Yule Coalescent approach: a revised method and evaluation on simulated data sets. **Systematic Biology**, v. 62, n. 5, p. 707-724, 2013.

FUNK, Daniel J.; OMLAND, Kevin E. Species-level paraphyly and polyphyly: frequency, causes, and consequences, with insights from animal mitochondrial DNA. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 34, n. 1, p. 397-423, 2003.

GUIMARÃES, Karen Larissa Auzier *et al.* DNA *barcoding* of fish fauna from low order streams of Tapajós River basin. **PLoS One**, 2018.

GUIMARÃES, Karen Larissa Auzier *et al.* DNA *barcoding* and phylogeography of the *Hoplias malabaricus* species complex. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 5288, 2022.

HAJIBABAEI, Mehrdad *et al.* DNA *barcoding*: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. **TRENDS in Genetics**, v. 23, n. 4, p. 167-172, 2007.

HARVEY, Paul H.; PAGEL, Mark D. The comparative method in evolutionary biology. **Oxford University Press**, 1991.

HEBERT, Paul DN *et al.* Biological identifications through DNA barcodes. Proceedings of the Royal Society of London. **Series B: Biological Sciences**, v. 270, n. 1512, p. 313-321, 2003.

HEBERT, Paul DN *et al.* Ten species in one: DNA *barcoding* reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astrartes fuligator*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 101, n. 41, p. 14812-14817, 2004.

HUBERT, Nicolas; RENNO, Jean-François. Historical biogeography of South American freshwater fishes. **Journal of Biogeography**, v. 33, n. 8, p. 1414-1436, 2006.

INKSCAPE PROJECT. *Inkscape: Draw freely*. Versão 1.3. [S. l.]: Inkscape Project, 2025. Disponível em: <https://inkscape.org>. Acesso em: 21 abr. 2025.

IVANOVA, Natalia V. *et al.* Universal primer cocktails for fish DNA *barcoding*. **Molecular Ecology Notes**, v. 7, n. 4, p. 544-548, 2007.

KAPLI, Paschalia *et al.* Multi-rate Poisson tree processes for single-locus species delimitation under maximum likelihood and Markov chain Monte Carlo. **Bioinformatics**, v. 33, n. 11, p. 1630-1638, 2017.

KATO, Kazutaka *et al.* MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. **Nucleic Acids Research**, v. 30, n. 14, p. 3059-3066, 2002.

KOCHER, Thomas D. *et al.* Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 86, n. 16, p. 6196-6200, 1989.

LUNA, Leilton Willians; RIBAS, Camila Cherem; ALEIXO, Alexandre. Genomic differentiation with gene flow in a widespread Amazonian floodplain-specialist bird species. **Journal of Biogeography**, v. 49, n. 9, p. 1670-1682, 2022.

LUNDBERG, John G.; BORNBUSCH, Alan H.; MAGO-LECCIA, Francisco. *Gladioglanis conquistador* n. sp. from Ecuador with diagnoses of the subfamilies Rhamdiinae Bleeker and Pseudopimelodinae n. subf. (Siluriformes: Pimelodidae). **Copeia**, p. 190-209, 1991.

LOSOS, Jonathan B. Phylogenetic Perspective on the Timing and Biogeography of Anole Evolution. In: Lizards in an evolutionary tree: ecology and adaptive radiation of anoles. **University of California Press**, 2009.

MARTIN, Marcel. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. **EMBnet.journal**, v. 17, n. 1, p. 10-12, 2011.

MELO, B. F.; OLIVEIRA, C. Three new species of *Curimatopsis* (Characiformes: Curimatidae) from the Amazon basin. **Journal of Fish Biology**, v. 91, n. 2, p. 528-544, 2017.

MELO, Bruno F. *et al.* *Curimatopsis maculosa*, a new species from the Rio Tapajós, Amazon basin, Brazil (Teleostei: Curimatidae). **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, v. 27, n. 4, p. 303, 2016.

MELO, Bruno F. *et al.* Phylogenomics of Characidae, a hyper-diverse Neotropical freshwater fish lineage, with a phylogenetic classification including four families (Teleostei: Characiformes). **Zoological Journal of the Linnean Society**, 2024.

MELO, Bruno F. New species of *Curimatopsis* from the río Caroni, Orinoco basin, Venezuela, with comments on *C. macrolepis* (Characiformes: Curimatidae). **Neotropical Ichthyology**, 2020.

MILAN, David T. *et al.* New 12S metabarcoding primers for enhanced Neotropical freshwater fish biodiversity assessment. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 17966, 2020.

NAKATANI, Masanori *et al.* Evolutionary history of Otophysi (Teleostei), a major clade of the modern freshwater fishes: Pangaeen origin and Mesozoic radiation. **BMC Evolutionary Biology**, v. 11, p. 1-25, 2011.

NEAR, Thomas J.; THACKER, Christine E. Phylogenetic classification of living and fossil ray-finned fishes (Actinopterygii). **Bulletin of the Peabody Museum of Natural History**, v. 65, n. 1, p. 3-302, 2024.

PARADIS, E.; CLAUDE, J.; STRIMMER, K. APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language. **Bioinformatics**, [S. l.], v. 20, n. 2, p. 289–290, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg412>.

PUILLANDRE, Nicolas *et al.* ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. **Molecular Ecology**, v. 21, n. 8, p. 1864-1877, 2012.

PUILLANDRE, Nicolas; BROUILLET, Sophie; ACHAZ, Guillaume. ASAP: assemble species by automatic partitioning. **Molecular Ecology Resources**, v. 21, n. 2, p. 609-620, 2021.

QGIS DEVELOPMENT TEAM. *QGIS Geographic Information System*. Versão 3.32.1-Lima. [S. l.]: Open Source Geospatial Foundation, 2023. Disponível em: <https://qgis.org>. Acesso em: 21 abr. 2025.

RAMBAUT, Andrew *et al.* Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. **Systematic Biology**, v. 67, n. 5, p. 901-904, 2018.

RATNASINGHAM, Sujeevan; HEBERT, Paul DN. BOLD: The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). **Molecular Ecology Notes**, v. 7, n. 3, p. 355-364, 2007.

REID, Noah M.; CARSTENS, Bryan C. Phylogenetic estimation error can decrease the accuracy of species delimitation: a Bayesian implementation of the general mixed Yule-coalescent model. **BMC Evolutionary Biology**, v. 12, p. 1-11, 2012.

REVELL, L. J. phytools: an R package for phylogenetic comparative biology (and other things). **Methods in Ecology and Evolution**, [S. l.], v. 3, n. 2, p. 217–223, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.2041-210X.2011.00169.x>.

R CORE TEAM. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Versão 4.5.0. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2025. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em: 21 abr. 2025.

ROCHA, Marcelo Salles; OLIVEIRA, Renildo Ribeiro de; PY-DANIEL, Lúcia H. Rapp. A new species of *Gladioglanis* Ferraris & Mago-Leccia from rio Aripuanã, Amazonas, Brazil (Siluriformes: Heptapteridae). **Neotropical Ichthyology**, v. 6, p. 433-438, 2008.

RSTUDIO TEAM. RStudio: Integrated Development Environment for R. Versão 4.3.3. Boston: RStudio, PBC, 2025. Disponível em: <https://www.posit.co>. Acesso em: 21 abr. 2025.

SANTANA, Paula *et al.* DNA barcode reveals occurrence of threatened species and hidden diversity on Teleost fish trade in the Coastal Amazon. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 19749, 2023.

SCHNEIDER, Carlos Henrique *et al.* Cryptic diversity in the mtDNA of the ornamental fish *Carnegiella strigata*. **Journal of Fish Biology**, v. 81, n. 4, p. 1210-1224, 2012.

SMITH, M. Alex; FISHER, Brian L.; HEBERT, Paul DN. DNA barcoding for effective biodiversity assessment of a hyperdiverse arthropod group: the ants of Madagascar. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 360, n. 1462, p. 1825-1834, 2005.

SOUZA, Eduardo Rodrigues de. Filogeografia do gênero neotropical *Fluviophylax* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) das bacias do Amazonas e do Orinoco. **Tese de Doutorado - INPA/UFAM**, 2008.

TERENCIO, Maria Leandra *et al.* Evidência de linhagens genéticas distintas em *Nannostomus eques* (Lebiasinidae), *Carnegiella strigata* e *C. marthae* (Gasteropelecidae) da Bacia do Rio Negro-AM. In: *Biología de las Poblaciones de Peces Amazónicos y Piscicultura*, p. 21, 2011.

URHEIM, Ellen; FORD, Eric; ST. JOHN, Katherine. Characterizing local optima for maximum parsimony. **Bulletin of Mathematical Biology**, v. 78, p. 1058-1075, 2016.

UTSUNOMIA, Ricardo *et al.* Molecular and cytogenetic analyses of cryptic species within the *Synbranchus marmoratus* Bloch, 1795 (Synbranchiformes: Synbranchidae) grouping: species delimitations, karyotypic evolution and intraspecific diversification. **Neotropical Ichthyology**, v. 12, p. 903-911, 2015.

VAN DER SLEEN, Peter; ALBERT, James S. (Ed.). Field guide to the fishes of the Amazon, Orinoco, and Guianas. **Princeton University Press**, 2017.

WICKHAM, H. ggplot2: elegant graphics for data analysis. **New York: Springer**, 2016.

YU, G.; SMITH, D. K.; ZHU, H.; GUO, Y.; GUAN, Y.; LAM, T. T. Y. ggtree: an R package for visualization and annotation of phylogenetic trees with their covariates and other associated data. **Methods in Ecology and Evolution**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. 28–36, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12628>.

## **CAPÍTULO 2 - Análise da Riqueza e Abundância da Ictiofauna do rio Manicoré**

### **RESUMO**

A estrutura das comunidades de peixes em pequenos cursos d'água amazônicos é fortemente influenciada por fatores ambientais e espaciais, o que torna esses sistemas ideais para estudos sobre diversidade e heterogeneidade ecológica. A bacia do rio Manicoré, localizada no sul do estado do Amazonas, é uma região pouco estudada sob essa perspectiva. Este estudo teve como objetivo analisar e comparar a estrutura da ictiofauna em igarapés das margens direita e esquerda da bacia do rio Manicoré, com ênfase em padrões de abundância, riqueza e diversidade. As coletas foram realizadas em múltiplos igarapés distribuídos nas duas margens do rio, utilizando métodos padronizados de amostragem, incluindo peneiras e pequenas malhadeiras. Todos os indivíduos capturados foram identificados, quantificados e agrupados por local de coleta. Para a análise da estrutura das comunidades, foram calculados índices ecológicos clássicos: riqueza total de espécies por igarapé, índices de riqueza (Margalef e Menhinick) e índices de diversidade de Shannon e Simpson (1-D). Testes estatísticos foram aplicados para avaliar a influência da margem do rio sobre as variáveis ecológicas. Os resultados mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa na riqueza de espécies ( $p = 0,116$ ), o que indica que o número de espécies tende a ser semelhante nos igarapés das duas margens. No entanto, a abundância total de indivíduos variou significativamente entre as margens ( $p = 0,021$ ), sendo geralmente maior nos igarapés da margem direita. Essa diferença também se refletiu nos índices de diversidade: os igarapés da margem direita apresentaram, em média, maior diversidade (Shannon e Simpson) e maior consistência na distribuição dos indivíduos. Em conjunto, os resultados evidenciam que, embora o pool regional de espécies seja amplamente compartilhado entre as margens, a estrutura ecológica das comunidades varia de acordo com condições locais, destacando a importância de fatores ambientais espaciais na regulação da abundância e diversidade de peixes em igarapés amazônicos.

**Palavras-chave:** Abundância, diversidade, índices, riqueza, rio Manicoré.

## INTRODUÇÃO

A biogeografia é a área da biologia que estuda a distribuição dos organismos no espaço e no tempo, buscando compreender os padrões de diversidade biológica e os processos que os determinam. Esse campo abrange fatores históricos, como a deriva continental e eventos de vicariância, além de fatores ecológicos contemporâneos, como adaptações ambientais e interações bióticas (van der Sleen & Albert, 2017). Quando aplicada à ictiofauna, a biogeografia se torna uma ferramenta crucial para investigar como os peixes de água doce se distribuem ao longo de bacias hidrográficas, rios, lagos, igarapés e áreas de várzea, os quais apresentam características físico-químicas e estruturas bastante distintas (Junk *et al.*, 1989; Reis *et al.*, 2016). Dentre esses ambientes, os igarapés - pequenos cursos d'água que drenam florestas primárias e secundárias - exercem um papel fundamental na manutenção da ictiofauna, funcionando como refúgios, áreas de alimentação e até mesmo como berçários para inúmeras espécies (Sabino & Zuanon, 1998).

Na região amazônica, que abriga a maior bacia hidrográfica do planeta e uma das mais ricas ictiofaunas conhecidas, essa abordagem tem se mostrado fundamental para desvendar os mecanismos que geram e mantêm a biodiversidade. Nesse contexto, os estudos biogeográficos não apenas revelam padrões de distribuição das espécies, mas também permitem inferir os processos evolutivos responsáveis por essa diversidade (Hoorn & Wesselingh, 2011), além de fornecer subsídios importantes para ações de manejo e conservação dos ecossistemas aquáticos amazônicos, cada vez mais ameaçados por pressões antrópicas.

Um marco clássico nos estudos biogeográficos da Amazônia é a teoria das barreiras fluviais proposta por Wallace (1852), segundo a qual grandes rios atuam como barreiras ao fluxo gênico, promovendo a especiação alopátrica entre populações de margens opostas. Tal hipótese segue sendo corroborada por estudos mais recentes que integram dados genéticos, geográficos e ecológicos, evidenciando a complexa dinâmica evolutiva e a compartimentalização da ictiofauna amazônica (*eg.* Goulding, Barthem & Ferreira, 2003; Dagosta & De Pinna, 2017).

O rio Manicoré, situado no sul da Amazônia brasileira, é um afluente de grande importância do rio Madeira. Suas águas negras, típicas de ambientes com elevada concentração de matéria orgânica dissolvida e baixa turbidez, percorrem vastas extensões de floresta primária e é alimentado por diversos igarapés que abrigam habitats

aquáticos diversos e altamente heterogêneos. Embora o rio Madeira seja reconhecido por sua enorme riqueza ictiológica - com mais de 1.200 espécies descritas - o rio Manicoré permanece pouco estudado, apesar de seu potencial.

As particularidades hidrológicas e geográficas do rio Manicoré - como a presença de corredeiras, variações no tipo de solo, variação no tipo de água, áreas alagáveis e a distância entre margens opostas - podem atuar como barreiras naturais ao fluxo gênico, promovendo o isolamento populacional e favorecendo processos de especiação. Nesse contexto, surge a pergunta: os igarapés localizados em margens opostas do rio Manicoré abrigam comunidades de peixes significativamente diferentes?

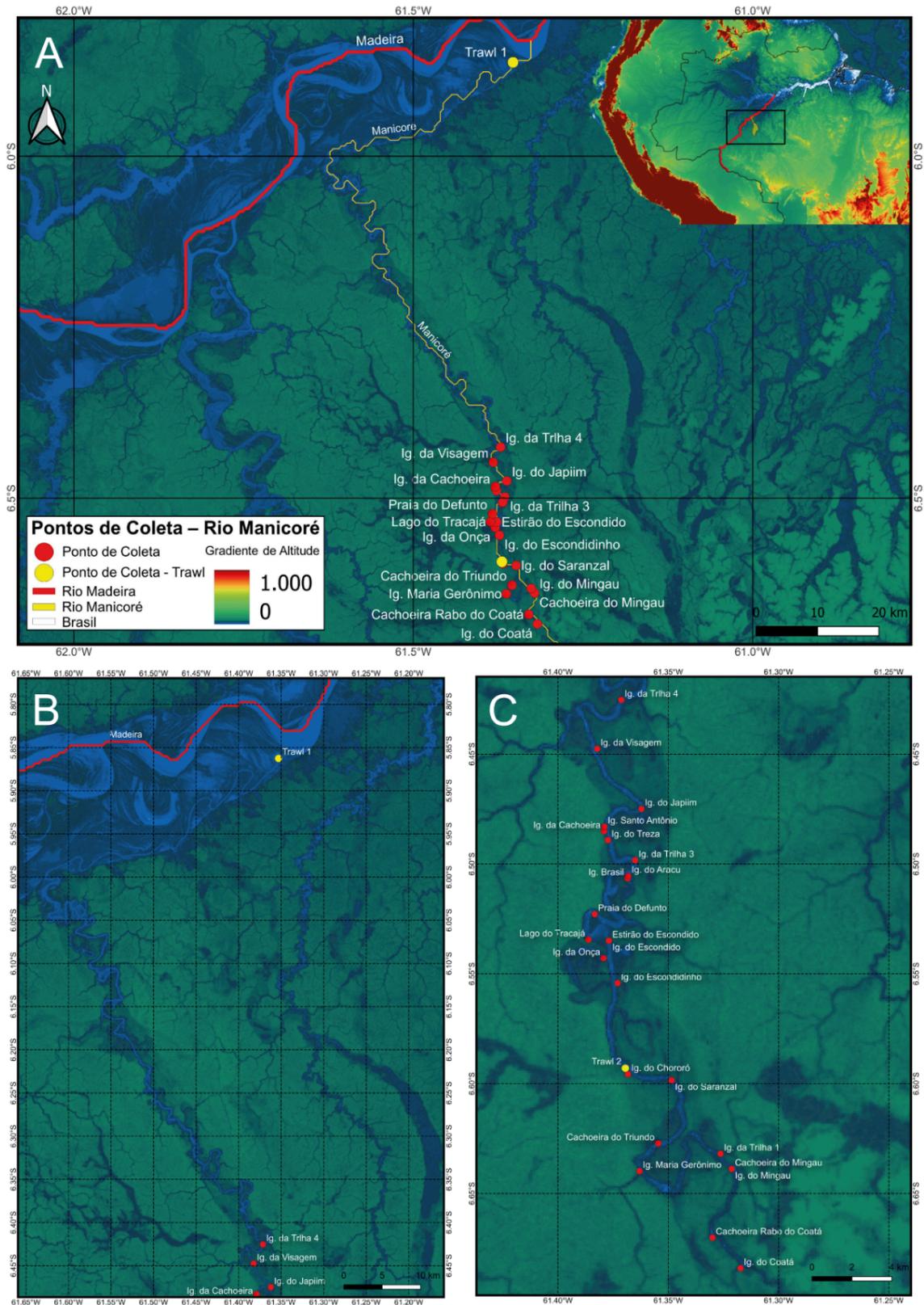
Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo: (i) investigar a riqueza de espécies capturadas em igarapés de margens opostas do rio Manicoré; (ii) avaliar a influência de barreiras fluviais e geográficas na estruturação da riqueza das comunidades de peixes; (iii) testar se há variações significativas nos índices de riqueza (Margalef e Menhinick) entre os igarapés de margens opostas do rio; (iv) avaliar a variação de diversidade entre igarapés com base nos índices de Shannon-Wiener e Simpson.

Neste contexto, a hipótese nula ( $H_0$ ) estabelece que as comunidades de peixes ao longo dos igarapés do rio Manicoré apresentam variação mínima na riqueza e na composição de espécies, independentemente da margem em que ocorrem, indicando elevada conectividade entre os ambientes. Em contraste, a hipótese alternativa ( $H_1$ ) propõe que há diferenças significativas na riqueza entre comunidades situadas em margens opostas do rio, o que sugeriria a atuação de barreiras fluviais ou geográficas na estruturação dessas comunidades.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Área de estudo**

O rio Manicoré está localizado na porção sul do estado do Amazonas, sendo um importante afluente da margem direita do rio Madeira. Trata-se de um sistema de águas pretas, com elevada concentração de matéria orgânica dissolvida, baixa turbidez e pH ligeiramente ácido. As coletas foram realizadas em diferentes igarapés ao longo da bacia do Manicoré, abrangendo margens opostas e distintos ambientes aquáticos (ex. trechos de corredeiras, áreas alagadas e remansos), com o objetivo de capturar a heterogeneidade ambiental e espacial da região.



**Figura 8:** Localização dos pontos de coleta de ictiofauna na bacia do rio Manicoré, Amazonas, Brasil. A imagem (A) mostra o curso do rio Manicoré e sua relação com o rio Madeira; (B) apresenta a distância da primeira coleta por *trawl* em relação das coletas nos igarapés; e (C) exibe, em maior aproximação, os igarapés amostrados nas margens direita e esquerda do rio, com a indicação dos pontos de coleta realizados durante a expedição de campo em junho de 2022.

## **Amostragem**

As campanhas de coleta foram realizadas durante o período de vazante, durante o mês de junho, quando o nível das águas está baixando e os acessos aos igarapés são facilitados. Foram utilizados métodos padronizados de captura de peixes, incluindo peneiras e redes de malhas específicas para igarapés, seguindo protocolos de amostragem estabelecidos para estudos de biodiversidade em águas interiores. Cada igarapé foi amostrado por, no mínimo, três pesquisadores simultaneamente, utilizando peneiras em pontos distintos. O esforço amostral médio por igarapé variou entre 1 e 1,5 hora. Os espécimes capturados foram anestesiados com eugenol, fixados em formol 10%, preservados em álcool absoluto e posteriormente triados para identificação taxonômica.

## **Identificação das espécies**

A identificação das espécies coletadas foi realizada por meio de uma abordagem multifacetada, garantindo a maior precisão taxonômica possível. Este processo envolveu: (i) Literatura especializada: Para cada grupo taxonômico relevante, foram consultados guias de campo, monografias, artigos científicos e chaves de identificação. (ii) Comparação com coleções científicas de referência: Os espécimes coletados foram comparados diretamente com exemplares já identificados e depositados na Coleção de Peixes do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). (iii) Auxílio de taxonomistas especialistas: A expertise de taxonomistas renomados foi fundamental para confirmar a identificação de grupos taxonômicos complexos ou pouco estudados. Isso confere um grande peso à sua identificação e garante a confiança nos resultados.

## **Análises de dados**

A composição de espécies em cada ponto foi organizada em uma matriz de abundância, a partir da qual foram calculados estatísticas descritivas e índices de riqueza/diversidade de espécies, seguindo a metodologia de Da Silva *et al.* (2022): índice de Margalef (Margalef, 1958), índice de Menhinick (Menhinick, 1964), índice de Shannon-Weaver (Shannon, 1948; Weaver, 1949) e índice de Simpson 1-D (ou Gini-Simpson) (Gini, 1912; Simpson, 1949). Esses índices foram a melhor medida entre comunidades e são amplamente utilizados. Suas fórmulas são as seguintes:

Índice de Margalef: 
$$D_{Mg} = \frac{S - 1}{\ln(N)}$$

Índice de Menhinick: 
$$D_{Mn} = \frac{S}{\sqrt{N}}$$

Índice de Shannon-Wiener: 
$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i * \ln p_i$$

Índice de Simpson: 
$$D = \sum_{i=1}^S p_i^2$$

onde:

S = o número de espécies na comunidade (= riqueza);

ln = logaritmo natural;

N = número total de indivíduos na comunidade (= abundância);

$D_{Mg}$  ou  $D_{Mn}$  = não tem um valor máximo e sua interpretação é comparativa, com valores maiores indicando maior riqueza de espécies;

$P_i$  = abundância relativa de cada espécie, calculada pela proporção dos indivíduos de uma espécie pelo número total dos indivíduos na comunidade;

$H'$  = não tem um valor máximo e sua interpretação é comparativa, com valores maiores indicando maior diversidade;

D = varia de 0 a 1, com valores próximos de 1 indicando menor diversidade enquanto valores próximos de 0 indicam maior diversidade. Para evitar confusão nas interpretações, normalmente o índice de Simpson é expressado como o valor inverso (1 - D) para que os maiores valores representam maior diversidade. Neste caso, o valor inverso é conhecido na literatura como índice Gini-Simpson.

Ao selecionar e aplicar esses índices, consideramos a influência da abundância (N) na avaliação da riqueza de espécies, sendo fundamental compreender as diferentes sensibilidades de cada um. O Índice de Margalef utiliza o logaritmo natural de N (ln(N)) em seu denominador, o que confere uma menor sensibilidade ao aumento do número de indivíduos em amostras muito grandes. Essa abordagem faz com que, em grandes amostras, a variação do índice seja proporcionalmente mais influenciada pela adição de novas espécies (S) do que por um grande acréscimo de indivíduos já existentes,

ponderando assim a riqueza de espécies em si. Por outro lado, o Índice de Menhinick, ao empregar a raiz quadrada de  $N$  ( $\sqrt{N}$ ) no denominador, tende a ser um pouco mais sensível a pequenas mudanças no número de indivíduos, especialmente em amostras de menor porte, onde a curva da raiz quadrada apresenta um crescimento relativamente mais acentuado. Assim, enquanto o Margalef busca suavizar o efeito do tamanho da amostra, permitindo que a riqueza seja um fator mais determinante para a diversidade real, o Menhinick mantém uma conexão mais direta com a abundância total, refletindo de forma mais explícita a relação entre o número de espécies e o esforço amostral.

Com os índices de riqueza e diversidade calculados, o passo seguinte consistiu na análise das variações observadas para testar as hipóteses propostas. Para tanto, as variações na riqueza e nos índices de diversidade foram analisadas por meio de análises de variância (ANOVA) e modelos lineares generalizados (GLMs), com o objetivo de avaliar a influência de barreiras naturais - a separação entre margens - enquanto possíveis fatores estruturantes da diversidade local. Os índices de diversidade considerados nessas análises incluíram a riqueza de espécies, Margalef, Menhinick, Shannon-Wiener e Simpson. Os GLMs foram utilizados para testar a significância estatística dessas variáveis categóricas na explicação da variação observada nos índices, adotando distribuições apropriadas aos dados (por exemplo, distribuição normal para variáveis contínuas). Essas análises ofereceram uma abordagem complementar para identificar padrões de diversidade associados à compartimentalização geográfica dos igarapés. Todas as análises foram conduzidas no ambiente R (versão 4.5.0), utilizando os pacotes *devtools* (Wickham *et al.*, 2022), *vegan* (Oksanen *et al.*, 2020), *ggplot2* (Wickham *et al.*, 2016), *BiodiversityR* (Kindt; Coe, 2005), *hillR* (Li, 2022) e *betapart* (Baselga *et al.*, 2023) para os cálculos estatísticos e visualizações gráficas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o levantamento ictiológico realizado na bacia do rio Manicoré, foram registrados 1.179 indivíduos de peixes, pertencentes a 127 espécies identificadas morfológicamente. As coletas abrangeram igarapés localizados em ambas as margens do rio - esquerda e direita -, sendo que grande parte das espécies foi registrada em mais de uma margem. Esse padrão de ocorrência sugere uma relativa homogeneidade na composição da ictiofauna entre os dois lados do rio.

Com o objetivo de testar a riqueza de espécies entre diferentes margens, foram calculados os valores das medidas básicas (riqueza e abundância), índices de riqueza (Margalef e Menhinick) e índices de diversidade (Shannon e Simpson  $1 - D$ ) para as espécies registradas nos igarapés amostrados na bacia do rio Manicoré. Esses indicadores permitem avaliar não apenas a quantidade de espécies presentes, mas também como os indivíduos estão distribuídos entre elas, oferecendo uma visão mais abrangente da estrutura da comunidade.

Entre os índices utilizados, destaca-se o índice de Simpson na forma  $1 - D$ , que representa a probabilidade de dois indivíduos retirados ao acaso pertencerem a espécies diferentes. Ou seja, quanto maior o valor do índice, maior a diversidade da comunidade, refletindo uma distribuição mais equitativa dos indivíduos entre as espécies. Diferente da forma original ( $D$ ), que mede dominância, o formato  $1 - D$  enfatiza a heterogeneidade da comunidade biológica. O índice de Shannon quantifica a incerteza associada em prever a identidade de uma espécie dado o número de espécies e a distribuição de abundância para cada espécie. Este índice é mais sensível às mudanças nas espécies raras da comunidade.

Os valores obtidos para cada igarapé foram organizados na Tabela 2, o que permite comparar as localidades e identificar possíveis variações na composição e estrutura da ictiofauna entre as margens.

**Tabela 2:** Resultados dos índices de riqueza e diversidade de espécies para cada igarapé, apresentando a distinção entre margens (MD = Margem direita; ME = Margem esquerda).

Igarapés		Medidas básicas		Índices de Riqueza		Índices de Diversidade	
		Riqueza	Abundância	Margalef	Menhinick	Shannon	Simpson
Igarapé Brasil	MD	21	103	4.32	2.07	2.06	0.81
Igarapé da Cachoeira	ME	21	188	3.82	1.53	2.4	0.9
Igarapé da Onça	ME	25	106	5.15	2.43	1.83	0.78
Igarapé da Trilha 1	MD	12	18	3.81	2.83	2.32	0.84
Igarapé da Trilha 4	ME	24	116	4.84	2.23	1.22	0.66
Igarapé da Visagem	MD	12	58	2.71	1.58	1.82	0.81
Igarapé do Aracu	MD	25	110	5.11	2.38	2.82	0.92
Igarapé do Choroó	ME	5	18	1.38	1.18	0.95	0.56
Igarapé do Coatá	ME	9	29	2.38	1.67	2.23	0.84
Igarapé do Escondido	MD	25	100	5.21	2.5	2.68	0.9
Igarapé do Japiim	MD	21	111	4.25	1.99	2.52	0.87
Igarapé do Mingau	ME	23	55	5.49	3.1	2.42	0.88
Igarapé do Saranzal	MD	13	15	4.43	3.36	2.14	0.83
Igarapé do Treze	ME	13	33	3.43	2.26	2.71	0.91
Igarapé Maria Gerônimo	ME	4	5	1.86	1.79	2.64	0.9
Igarapé Santo Antônio	MD	21	114	4.22	1.97	2.27	0.88

A análise das medidas básicas, índices de riqueza e índices de diversidade das espécies registradas nos igarapés da bacia do rio Manicoré revelou variações importantes na estrutura da ictiofauna entre as diferentes localidades. A riqueza de espécies variou entre 4 e 25, enquanto a abundância oscilou de 5 a 188 indivíduos. Igarapés como o do Aracu, da Onça e do Escondido apresentaram as maiores riquezas, com 25 espécies cada, refletindo ambientes potencialmente mais heterogêneos e favoráveis à diversidade biológica. Por outro lado, igarapés como Maria Gerônimo e Choroó mostraram valores bastante reduzidos de riqueza e abundância, o que pode estar relacionado a fatores ambientais restritivos ou menor complexidade de habitat.

Os índices de riqueza de Margalef e Menhinick, que ajustam a riqueza em relação à abundância, destacaram o Igarapé do Mingau como um dos mais diversos em termos relativos, com os maiores valores registrados (5,49 e 3,10, respectivamente), mesmo com uma abundância moderada de 55 indivíduos. Isso sugere que, proporcionalmente, esse igarapé abriga um número elevado de espécies em relação à quantidade de indivíduos amostrados.

Em relação à diversidade propriamente dita, avaliada pelos índices de Shannon e Simpson (na forma  $1 - D$ ), observou-se uma ampla variação entre os igarapés. O Igarapé do Aracu se destacou com os maiores valores de ambos os índices (Shannon = 2,82; Simpson = 0,92), indicando não apenas alta riqueza, mas também uma distribuição mais equitativa dos indivíduos entre as espécies, refletindo uma comunidade altamente diversa e equilibrada. Situação semelhante foi observada nos igarapés do Escondido, do Treze e do Japiim, que também apresentaram diversidade elevada.

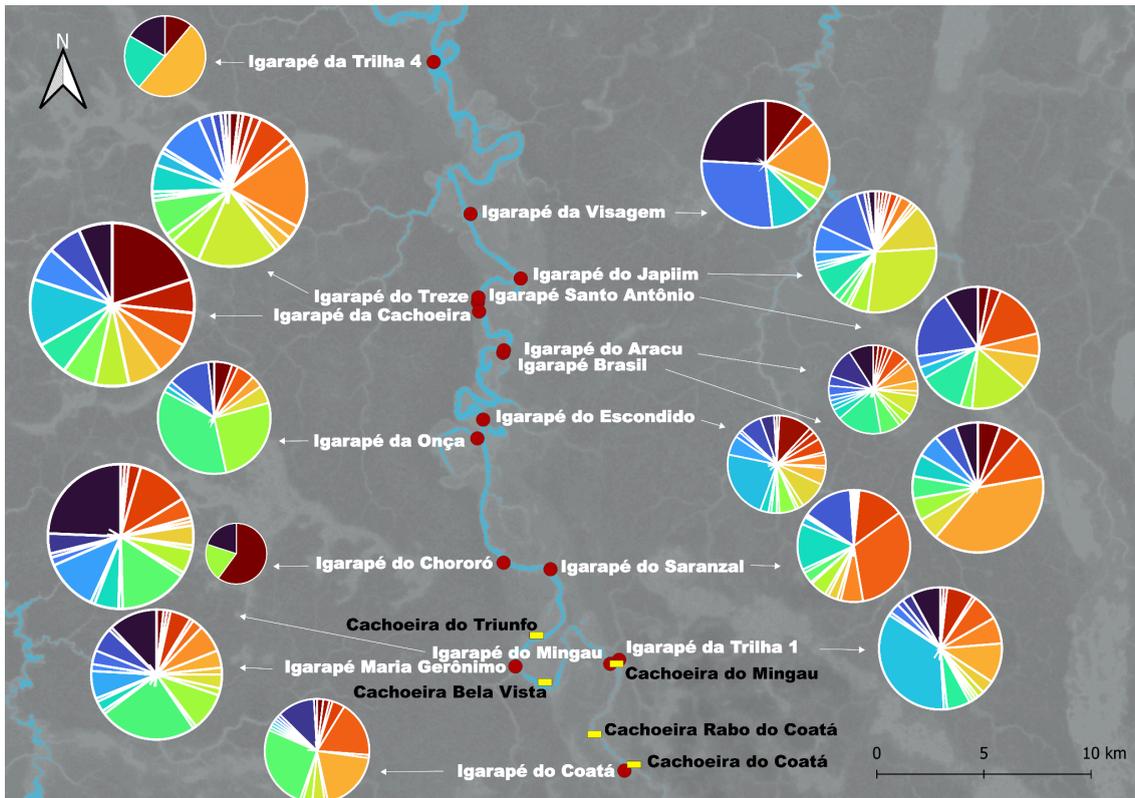
Em contraste, o Igarapé do Choro apresentou os menores valores de diversidade (Shannon = 0,95; Simpson = 0,56), o que sugere uma comunidade dominada por poucas espécies, com distribuição desigual dos indivíduos. De maneira semelhante, o Igarapé Maria Gerônimo apresentou baixa riqueza e abundância, embora seus índices de riqueza relativa não tenham sido os mais baixos, devido à normalização pela baixa abundância.

De modo geral, os resultados indicam que a diversidade da ictiofauna nos igarapés da bacia do rio Manicoré é bastante heterogênea entre as localidades, refletindo possíveis diferenças em características ambientais, disponibilidade de microhabitats, conectividade com o rio principal e grau de preservação dos ambientes. Essa variação espacial é relevante para entender os padrões ecológicos da região e pode subsidiar estratégias de conservação mais direcionadas.

### **Distribuição da abundância**

A Figura 9 complementa a análise apresentada ao ilustrar a disposição espacial dos igarapés amostrados na bacia do rio Manicoré, o qual flui em sentido sul-norte. Para facilitar a interpretação visual, os nomes dos igarapés foram posicionados conforme a margem à qual pertencem: nomes orientados para o lado esquerdo da figura indicam igarapés situados na margem esquerda, enquanto nomes voltados para o lado direito correspondem àqueles localizados na margem direita do rio. Por exemplo, o Igarapé do

Japiim aparece com o nome voltado para a direita, sinalizando sua posição na margem direita do rio Manicoré.



**Figura 9:** Localização dos pontos de coleta de ictiofauna na bacia do rio Manicoré e abundância de espécies para cada igarapé. Pontos vermelhos = boca do igarapé; Barras amarelas = pontos de cachoeira, de forte turbulência; Gráficos = composição e riqueza de espécies para cada igarapé.

Além da localização geográfica, a figura apresenta gráficos de pizza sobre cada ponto de coleta, os quais representam a composição e abundância das espécies registradas em cada igarapé. Esses gráficos visuais reforçam as diferenças estruturais observadas nos índices de riqueza e diversidade, destacadas anteriormente. Cabe ressaltar que as cores dos segmentos não foram padronizadas entre os diferentes gráficos, ou seja, uma mesma cor pode representar espécies diferentes em igarapés distintos. Essa opção foi adotada para melhorar a distinção visual dentro de cada gráfico individual, mesmo que isso comprometa a correspondência direta entre cores e espécies ao longo do mapa.

Dessa forma, a Figura 9 não apenas orienta espacialmente os pontos de coleta, mas também reforça visualmente a heterogeneidade da ictiofauna entre os igarapés, permitindo identificar padrões de diversidade, dominância e distribuição de espécies em diferentes margens do rio Manicoré.

## Teste de ANOVA

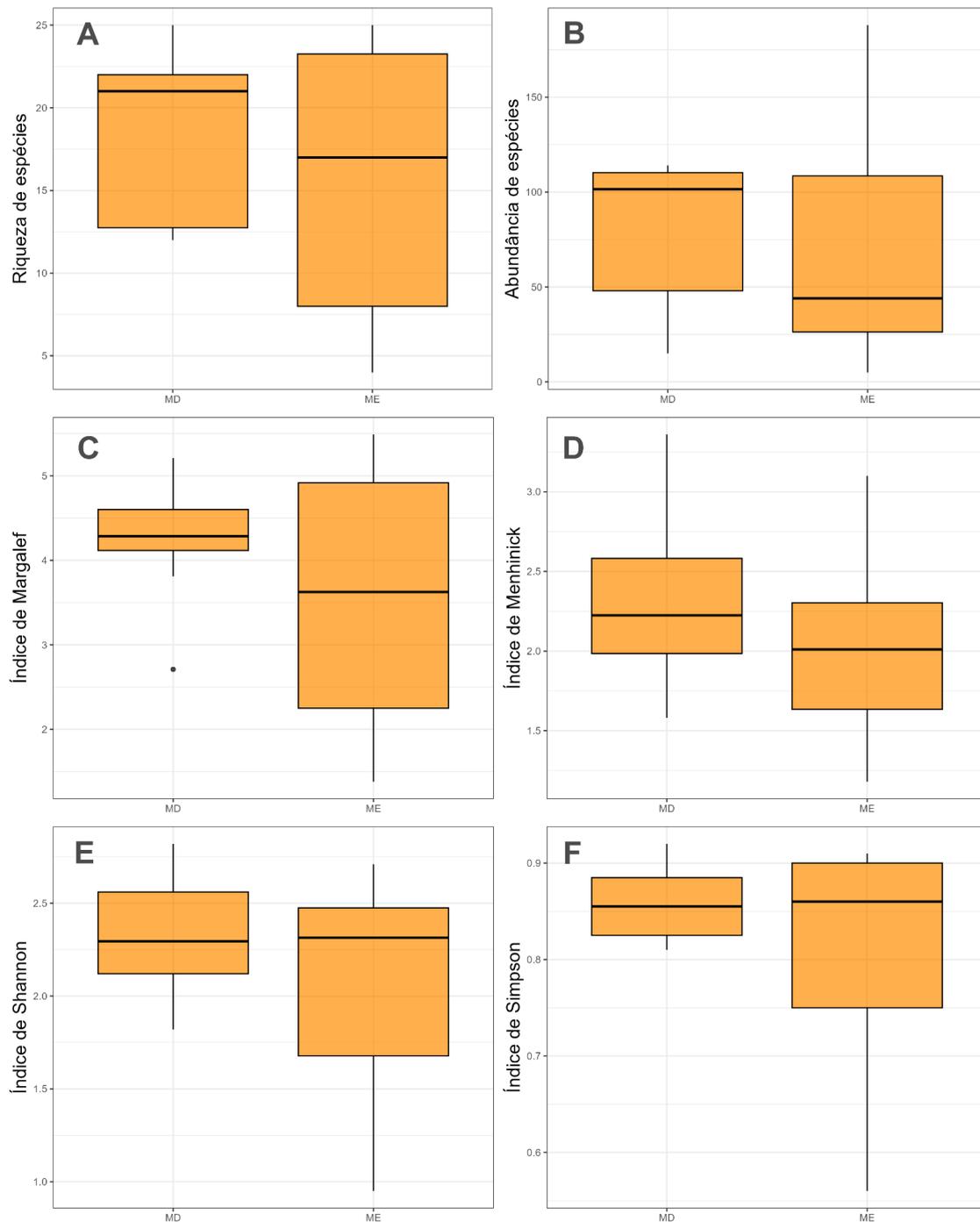
Para avaliar se havia diferenças significativas nos índices de diversidade entre os igarapés das margens esquerda e direita do rio Manicoré, foi realizada uma Análise de Variância (ANOVA). Esse teste estatístico é amplamente utilizado para comparar médias entre dois ou mais grupos e verificar se as variações observadas entre eles são estatisticamente significativas ou se podem ser atribuídas ao acaso. No presente estudo, a ANOVA foi aplicada aos valores dos índices riqueza e diversidade, com o intuito de testar a hipótese de homogeneidade na diversidade da ictiofauna entre as margens do rio. Os resultados dessas análises foram organizados em forma de tabela e estão mostrados na tabela 3, a fim de melhorar a visualização dos dados.

**Tabela 3:** Resultados das ANOVAs para os índices de riqueza.

Índices	F valor	P valor	Significância
Riqueza	0.7809	0.3918	Não significativo
Abundância	0.1365	0.7173	Não significativo
Margalef	1.3411	0.2662	Não significativo
Menhinick	1.1362	0.3045	Não significativo
Shannon	0.8043	0.385	Não significativo
Simpson	0.7945	0.3878	Não significativo

A Tabela 3 apresenta os resultados das ANOVAs aplicadas aos índices de riqueza e diversidade entre as margens do rio. Nenhuma das comparações foi estatisticamente significativa ( $p \leq 0.05$ ), o que indica que, do ponto de vista estatístico, não há diferença expressiva na riqueza, abundância ou diversidade entre as margens esquerda e direita.

Além da análise estatística, foram elaborados gráficos (Figura 10) comparativos para cada índice calculado, com o objetivo de visualizar as diferenças entre as margens esquerda e direita dos igarapés do rio Manicoré. Esses gráficos permitem uma interpretação mais intuitiva dos padrões de diversidade observados, facilitando a identificação de tendências ou contrastes na estrutura das comunidades de peixes.



**Figura 10:** Índices de riqueza e diversidades de espécies de peixes registradas em diferentes igarapés ao longo das margens direita (MD) e esquerda (ME) do rio Manicoré. Cada gráfico representa um índice.

A comparação dos índices ecológicos entre os igarapés situados nas margens direita (MD) e esquerda (ME) do rio Manicoré revela diferenças marcantes na estrutura das comunidades de peixes. Os valores de riqueza de espécies (Figura 10 A) mostram medianas semelhantes entre as margens, mas com maior variação na margem esquerda, indicando que essa margem abriga tanto igarapés com elevada riqueza quanto ambientes menos diversos.

Quanto à abundância de indivíduos (Figura 10 B), observa-se uma mediana mais elevada na margem direita, sugerindo que, em geral, essa margem possui maior densidade de peixes. Por outro lado, a margem esquerda apresenta maior dispersão nos valores, com igarapés que variam de muito pouco a extremamente abundantes, o que pode refletir diferenças locais nas condições ambientais ou no grau de conectividade com o canal principal.

Os índices de riqueza (Margalef e Menhinick) (Figura 10 C e D, respectivamente) reforçam esse padrão, mostrando valores mais altos e consistentes na margem direita, enquanto a margem esquerda apresenta maior amplitude e valores medianos inferiores. Isso sugere que, mesmo quando a riqueza absoluta é similar, os igarapés da margem direita tendem a manter uma riqueza relativa mais equilibrada em relação à abundância de indivíduos.

No que se refere aos índices de diversidade (Shannon e Simpson 1-D) (Figura 10 E e F, respectivamente), os igarapés da margem direita novamente se destacam com valores mais elevados e menos variáveis, indicando comunidades mais diversas e equilibradas, com menor dominância de poucas espécies. Já os igarapés da margem esquerda mostram grande heterogeneidade, com alguns locais altamente diversos, mas outros com diversidade reduzida, o que pode refletir diferentes graus de integridade ambiental ou pressões locais específicas.

## **Modelos lineares generalizados (GLM)**

A análise iniciou-se com o modelo nulo, que não inclui variáveis preditoras, servindo como base de comparação para avaliar se a variável “margem” exerce efeito significativo sobre a riqueza de espécies. Em seguida, foi ajustado um modelo com a margem como preditora, com o objetivo de testar se o tipo de margem (direita ou esquerda) influencia significativamente a variação na riqueza de espécies observada entre os igarapés.

Para comparar os dois modelos, foi realizada uma análise de deviance (ANOVA para modelos generalizados), que permite avaliar se a inclusão da variável explicativa melhora significativamente o ajuste do modelo. Nesse contexto, a deviance representa o grau de inadequação do modelo aos dados - valores menores indicam melhor ajuste, sendo conceitualmente semelhante à soma de quadrados residuais em modelos lineares.

Os resultados da análise mostraram que a inclusão da variável “margem” reduziu a deviance de 53,863 (modelo nulo) para 51,392 (modelo com margem), com uma diferença de 2,47 unidades. No entanto, o valor de  $p = 0,116$  indica que essa redução não é estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ). Dessa forma, conclui-se que o modelo que inclui a margem não apresenta desempenho significativamente superior ao modelo nulo na explicação da variação da riqueza de espécies entre os igarapés. Portanto, com base nesses dados, não há evidências estatísticas suficientes para afirmar que o tipo de margem influencia a riqueza de espécies na bacia do rio Manicoré.

Já para os valores de abundância de espécies, as análises mostraram que ela varia de acordo com a margem do rio Manicoré. O modelo nulo apresentou uma deviance residual de 599,97, enquanto o modelo com o efeito da margem teve uma deviance menor, de 594,68. A diferença entre os modelos (deviance = 5,2974) foi testada por meio de uma ANOVA para modelos generalizados, resultando em um valor de  $p = 0,02136$ , que é estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ). Esse resultado indica que o modelo com a variável “margem” se ajusta significativamente melhor aos dados do que o modelo nulo, ou seja, a margem do rio exerce influência significativa sobre a abundância de espécies nos igarapés da bacia do rio Manicoré.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A estrutura da ictiofauna nos igarapés da bacia do rio Manicoré apresentou variações importantes entre as margens direita e esquerda do rio, especialmente em termos de abundância e diversidade. As análises realizadas indicaram que, embora a riqueza de espécies (número total de espécies por igarapé) não varie significativamente entre as margens ( $p = 0,116$ ), a abundância de indivíduos é significativamente influenciada pelo lado do rio em que o igarapé está localizado ( $p = 0,021$ ). Isso significa que, embora se encontre um número médio similar de espécies em igarapés de ambas as margens, a forma como essas espécies estão representadas (quantos indivíduos de cada uma e o total de indivíduos) difere significativamente, sugerindo possíveis diferenças nos fatores ecológicos que regulam a densidade populacional das espécies.

A análise dos índices ecológicos reforça esse padrão. Os igarapés da margem direita apresentaram, em geral, valores mais elevados e consistentes de abundância, bem como índices de diversidade (Shannon e Simpson 1-D) mais altos, indicando comunidades mais equilibradas, com menor dominância de poucas espécies. Por outro lado, os igarapés da margem esquerda mostraram maior variabilidade nos valores de riqueza e diversidade, com alguns locais extremamente diversos e outros consideravelmente empobrecidos, o que pode refletir uma maior heterogeneidade ambiental ou variações no grau de integridade ecológica entre os diferentes igarapés.

Este padrão se alinha com o que foi observado no estudo de Mendonça *et al.* (2005) sobre igarapés na Amazônia Central. Eles encontraram que a riqueza média de espécies por local era similar entre os locais amostrados. No entanto, eles também notaram uma alta troca na composição de espécies entre locais e uma alta especificidade de hábitat. O fato de que a riqueza por local era baixa em relação ao total de espécies encontradas na reserva reforçou a ideia de que ambientes diferentes abrigam conjuntos de espécies distintos.

Estudos recentes continuam a testar a hipótese das barreiras fluviais (HBF) em diversos grupos taxonômicos amazônicos, embora com resultados variados (eg. Naka and Brumfield *et al.*, 2018; Fordham *et al.*, 2020; Dambros *et al.*, 2020; Weir *et al.*, 2015). Fordham *et al.* (2020) testaram o efeito do tamanho dos rios na similaridade de comunidades de primatas em margens opostas na Amazônia. Ao utilizar as classificações taxonômicas mais recentes, eles encontraram que a similaridade na composição da comunidade de primatas em margens opostas era menor do que em

estudos mais antigos, mostraram que o efeito da HBF em primatas Neotropicais pode ter sido subestimado anteriormente.

Outros estudos focaram em rios específicos e grupos como aves, mostrando que rios como o Tapajós (Maximiano *et al.* 2020) e o Negro (Naka and Brumfield *et al.*, 2018) atuam como barreiras significativas para a dispersão de espécies, influenciando a variação na composição taxonômica e abundância relativa das comunidades de aves. A barreira do Tapajós varia ao longo do seu curso, com diferentes graus de diferenciação ou zonas de contato/hibridização nas cabeceiras.

Entretanto, o papel dos rios pode ser complexo e interagir com outros processos, como mudanças climáticas (Musher *et al.* 2022). Alguns estudos encontraram apenas um efeito fraco das barreiras fluviais na composição de espécies para a maioria dos grupos animais e vegetais estudados (Dambros *et al.* 2020). A hibridização em regiões de cabeceira pode indicar isolamento reprodutivo incompleto, desafiando a generalidade da HBF como motor de especiação.

A riqueza de espécies, embora semelhante entre as margens em termos de valores médios, demonstrou maior dispersão na margem esquerda. Isso pode indicar que essa margem abriga ambientes com diferentes níveis de complexidade estrutural, conectividade ou grau de preservação. Estudos em outros grupos taxonômicos amazônicos também demonstram a heterogeneidade ambiental na variação da composição e abundância das comunidades (cf. Maximiano *et al.* 2020; Dambros *et al.* 2020; Barbosa *et al.* 2022). Já os índices de riqueza padronizada (Margalef e Menhinick) e os índices de diversidade evidenciaram que a margem direita sustenta comunidades mais homogêneas e equilibradas, tanto em termos de riqueza relativa quanto de distribuição dos indivíduos entre as espécies.

A representação espacial dos igarapés, conforme ilustrado na Figura 10, corrobora essa interpretação ao exibir a distribuição dos pontos de coleta ao longo do rio Manicoré, possibilitando a identificação das disparidades estruturais entre os igarapés. Os gráficos circulares, associados a cada ponto, evidenciam a variação na composição específica entre os locais. Embora não haja padronização cromática entre os gráficos, a variação no tamanho e na proporção dos segmentos permite constatar que igarapés da margem direita tendem a apresentar maior diversidade interna e menor dominância de uma ou poucas espécies. Em contrapartida, alguns igarapés da margem esquerda revelam segmentos que se destacam notavelmente, indicando um predomínio de espécies dominantes em determinados locais.

Do ponto de vista ecológico, essas diferenças entre as margens podem estar relacionadas a fatores ambientais assimétricos, como variações na cobertura vegetal, no tipo de uso do solo, no tipo de substrato (mais arenoso, mais rochoso), na conectividade hidrológica com o canal principal, na estabilidade do leito e nas características físico-químicas da água (cf. Barbosa *et al.* 2022). Além disso, é fundamental considerar que além da pressão antrópica generalizada, o desmatamento acelerado em Manicoré, concentra-se em sua maioria na margem esquerda do rio Manicoré (cf. Lima, 2024; Carvalho *et al.*, 2022). Essa assimetria pode resultar em impactos não homogêneos na estrutura das comunidades aquáticas entre as margens do rio. Os resultados de Mendonça *et al.* (2005) mostram que características ambientais (estruturais e de qualidade da água) estão significativamente relacionadas à composição da ictiofauna baseada em dados quantitativos (abundância). Isso apoia a ideia de que as diferenças nos índices de diversidade e riqueza padronizada entre as margens podem ser impulsionadas por variações nas condições do hábitat que afetam a abundância e a distribuição de indivíduos.

A ausência de efeito significativo da margem sobre a riqueza de espécies, contrastando com a influência significativa sobre a abundância, sugere que as espécies estão amplamente distribuídas entre as margens, mas as condições locais influenciam a densidade com que elas ocorrem. Isso é consistente com um cenário em que o "pool" regional de espécies é compartilhado, mas fatores locais determinam o sucesso reprodutivo, sobrevivência e abundância relativa das populações. Apesar de ter sido realizada apenas uma amostragem por igarapé, os resultados podem ser indicativos de heterogeneidade de composição e abundância servindo como suporte para escolha de áreas para pesca artesanal. A presença de substratos rochosos em alguns igarapés (Brasil, Coatá e Mingau) podem ser indicativos de alterações na composição e abundância, porém à época, os igarapés ainda estavam bem cheios, visto que era o início da vazante. Coletas adicionais podem esclarecer muitos desses pontos.

A metodologia utilizada na análise da ictiofauna de igarapés do rio Manicoré é bem distinta da encontrada na literatura onde são comparadas riqueza e abundância de grandes drenagens dos dois lados do rio Amazonas (Cox-Fernandes *et al.*, 2004) ou diversos igarapés provenientes de diferentes drenagens em uma determinada região (Mendonça *et al.*, 2005). Esta análise que compara as margens direita e esquerda de uma única drenagem mostrou ser bastante informativa e com potencial para desenvolvimento de estudos futuros dos igarapés, da formação geológica da área e

melhor detalhamento do impacto das cachoeiras, proporcionando maiores subsídios para o uso da área como futura unidade de conservação, preservando o ambiente e auxiliando a população local. Portanto, os resultados reforçam a importância de considerar a heterogeneidade espacial e ambiental dentro das bacias hidrográficas para compreender os padrões de distribuição da ictiofauna. Além disso, evidenciam o valor das margens do rio como unidades ecológicas distintas, com implicações relevantes para o manejo e a conservação dos recursos aquáticos na região.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, Waleska *et al.* Habitat association constrains population history in two sympatric ovenbirds along Amazonian floodplains. **Journal of Biogeography**, v. 49, n. 9, p. 1683-1695, 2022.

BASELGA, Andres *et al.* betapart: Partitioning beta diversity into turnover and nestedness components. R Package version, v. 1, n. 1, 2018. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=betapart>

CARVALHO, Tayane; DAS CHAGAS, Jolemia; COBELLO, Letícia; MEIRELLES, Fernanda. Análise histórica e socioambiental do processo de criação da Reserva de Desenvolvimento Sustentável Rio Manicoré. **Observatório BR-319**, 2022.

COX-FERNANDES, Cristina; PODOS, Jeffrey; LUNDBERG, John G. Amazonian ecology: tributaries enhance the diversity of electric fishes. **Science**, v. 305, n. 5692, p. 1960-1962, 2004.

DA SILVA, Fernando Rodrigues; GONÇALVES-SOUZA, Thiago; PATERNO, Diogo Borges; VANCINE, Maurício Humberto. Análises Ecológicas no R. **Nupeeka**, 2022. Disponível em: <https://analises-ecologicas.netlify.app/>

DAGOSTA, Fernando Cesar Paiva; DE PINNA, Mário. Biogeography of Amazonian fishes: deconstructing river basins as biogeographic units. **Neotropical Ichthyology**, v. 15, 2017.

DAMBROS, Cristian *et al.* The role of environmental filtering, geographic distance and dispersal barriers in shaping the turnover of plant and animal species in Amazonia. **Biodiversity and Conservation**, v. 29, p. 3609-3634, 2020.

FORDHAM, Gail; SHANEE, Sam; PECK, Mika. Effect of river size on Amazonian primate community structure: A biogeographic analysis using updated taxonomic assessments. **American Journal of Primatology**, v. 82, n. 7, 2020.

GOULDING, Michael; BARTHEM, Ronaldo; FERREIRA, Efreim Jorge Gondim. The Smithsonian Atlas of the Amazon. **Smithsonian Institution Press**, 2003.

HOORN, Carina; WESSELINGH, Frank. (Ed.). Amazonia: Landscape and Species Evolution: A Look into the Past. **John Wiley & Sons**, 2011.

JUNK, Wolfgang J. *et al.* The flood pulse concept in river-floodplain systems. **Canadian special publication of fisheries and aquatic sciences**, v. 106, n. 1, p. 110-127, 1989.

KINDT, Roeland; COE, Richard. Tree diversity analysis: a manual and software for common statistical methods for ecological and biodiversity studies. **World Agroforestry Centre**, 2005. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=BiodiversityR>

LI, Daijiang. hillR: taxonomic, functional, and phylogenetic diversity and similarity through Hill Numbers. **J. Open Source Softw.**, v. 3, n. 31, p. 1041, 2018. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=hillR>

LIMA, Wérica. Extrativistas do rio Manicoré (AM) denunciam desmatamento acelerado. **Brasil de Fato**, 2024. Disponível em: <https://www.brasildefato.com.br/2024/04/30/extrativistas-do-rio-manicore-am-denuncia-m-desmatamento-acelerado/>. Acesso em: 09 de jun. de 2025

MARGALEF, Ramon. **Information theory in ecology**. 1973.

MAXIMIANO, Marina Franco de Almeida *et al.* The relative role of rivers, environmental heterogeneity and species traits in driving compositional changes in southeastern Amazonian bird assemblages. **Biotropica**, v. 52, n. 5, p. 946-962, 2020.

MENDONÇA, Fernando P.; MAGNUSSON, William E.; ZUANON, Jansen. Relationships between habitat characteristics and fish assemblages in small streams of Central Amazonia. **Copeia**, v. 2005, n. 4, p. 751-764, 2005.

MENHINICK, Edward F. A comparison of some species-individuals diversity indices applied to samples of field insects. **Ecology**, v. 45, n. 4, p. 859-861, 1964.

MUSHER, Lukas J. *et al.* River network rearrangements promote speciation in lowland Amazonian birds. **Science Advances**, v. 8, n. 14, 2022.

NAKA, Luciano N.; BRUMFIELD, Robb T. The dual role of Amazonian rivers in the generation and maintenance of avian diversity. **Science Advances**, 2018.

OKSANEN, Jari *et al.* Community ecology package. R Package version, v. 2, n. 0, p. 321-326, 2013. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>

REIS, R. E. *et al.* Fish biodiversity and conservation in South America. **Journal of Fish Biology**, v. 89, n. 1, p. 12–47, 2016. <https://doi.org/10.1111/jfb.13016>

SABINO, J.; ZUANON, J. A stream fish assemblage in Central Amazonia: distribution of species and seasonal changes in species composition. **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, v. 9, n. 3, p. 201–214, 1998.

SHANNON, Claude E. A mathematical theory of communication. **The Bell System Technical Journal**, v. 27, n. 3, p. 379-423, 1948.

SIMPSON, Edward H. Measurement of diversity. **Nature**, v. 163, n. 4148, p. 688-688, 1949.

VAN DER SLEEN, Peter.; ALBERT, James S. (Ed.). Field Guide to the Fishes of the Amazon, Orinoco, and Guianas. **Princeton University Press**, 2017.

WALLACE, Alfred. R. On the monkeys of the Amazon. **Annals and Magazine of Natural History**, v. 14, n. 84, p. 451-454, 1852.

WEAVER, Warren. The mathematical theory of communication. **University of Illinois Press**, 1963.

WEIR, Jason T. *et al.* Hybridization in headwater regions, and the role of rivers as drivers of speciation in Amazonian birds. **Evolution**, v. 69, n. 7, p. 1823-1834, 2015.

WICKHAM, Hadley *et al.* devtools: tools to make developing R packages easier. R package (Version 2.4.5). R package. 2022. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=devtools>

WICKHAM, Hadley. Getting Started with ggplot2. In: ggplot2: Elegant graphics for data analysis. Cham: **Springer International Publishing**, 2016. p. 11-31. Disponível em: <https://ggplot2.tidyverse.org>

## DISCUSSÃO GERAL

A dissertação teve como objetivo principal investigar a diversidade da ictiofauna na bacia do rio Manicoré utilizando abordagens complementares: uma voltada à delimitação de linhagens evolutivas por meio de dados moleculares (Capítulo 1) e outra na análise da estrutura ecológica das comunidades de peixes (Capítulo 2). Em conjunto, os resultados obtidos revelam uma biodiversidade rica, mas também estruturalmente complexa e espacialmente heterogênea, que reflete a interação entre processos evolutivos históricos e fatores ecológicos contemporâneos.

No Capítulo 1, foi utilizada a técnica de DNA *barcoding*, utilizando os marcadores mitocondriais COI e 12s, em conjunto com diversos métodos de delimitação de espécies (ABGD, ASAP, bGMYC, GMYC, mPTP, locMin, percent, treeDist e morfológica). O marcador 12s, por ser mais conservado, foi útil para análises em níveis taxonômicos superiores, como ordens e famílias, revelando uma distinção entre as principais ordens de peixes analisadas (Characiformes, Siluriformes, Gymnotiformes, Synbranchiformes e Blenniiformes). As relações observadas com o 12s foram consistentes com hipóteses propostas em estudos anteriores (*eg.* Betancur-R *et al.*, 2013; Near & Thacker, 2024).

Já o marcador COI, com maior variabilidade, foi empregado para delimitação de grupos em níveis inferiores, como gêneros e espécies. A aplicação de múltiplos métodos de delimitação de espécies com o COI revelou um panorama complexo da diversidade genética local. A aplicação de múltiplos delimitadores de espécies evidenciou padrões conflitantes e, ao mesmo tempo, complementares sobre a diversidade genética. A incongruência entre os métodos, reflete os pressupostos distintos de cada método e captura diferentes aspectos do processo evolutivo, com divergência temporal ou estrutura filogenética. No entanto, quando há congruência entre os métodos considera-se uma forte evidência para a existência de linhagens evolutivamente significativas, algumas com sinais de especiação críptica.

Os resultados do Capítulo 1 indicaram a presença de múltiplas linhagens crípticas, ou seja, linhagens geneticamente distintas, mas morfológicamente indistinguíveis. Exemplos notáveis incluíram indicações de divergência dentro de espécies nominalmente amplamente distribuídas, como *Synbranchus marmoratus*, onde a maioria dos métodos sugeriu a existência de múltiplas linhagens, e um agrupamento inesperado entre amostras do rio Manicoré e Buenos Aires (Argentina) para esta

espécie. No gênero *Curimatopsis*, a análise molecular indicou que a população local representa uma linhagem distinta, possivelmente uma espécie críptica (*Curimatopsis* cf. *evelynae*), e mostrou variações genéticas significativas entre exemplares coletados nas margens direita e esquerda do rio Manicoré. Esta diferenciação genética entre margens opostas foi observada para algumas linhagens, como *Curimatopsis* cf. *evelynae*, enquanto outras não demonstraram esse padrão.

No Capítulo 2, investigou-se a estrutura ecológica das comunidades de peixes nos igarapés do rio Manicoré, comparando especificamente as margens direita e esquerda. Foram analisados a riqueza total de espécies, abundância e índices de diversidade (Margalef, Menhinick, Shannon-Wiener e Simpson 1-D). Os resultados revelaram que a riqueza de espécies não apresenta diferença estatisticamente significativa entre os igarapés das margens direita e esquerda ( $p = 0,116$ ). Isso sugere que o número de espécies tende a ser semelhante nos igarapés de ambos os lados do rio.

No entanto, embora a riqueza taxonômica se mantenha estável entre as margens, a abundância e a diversidade das comunidades variam significativamente entre as margens ( $p = 0,021$ ). Igarapés da margem direita apresentaram comunidades mais equilibradas e homogêneas, ao passo que os da margem esquerda mostraram maior variação, indicando possível influência de fatores ambientais como tipo de solo, conectividade hidrológica e pressão antrópica. Essa assimetria ecológica espelha, em parte, os padrões de estrutura genética observados no Capítulo 1, sugerindo que tanto a diversidade genética quanto a ecológica estão sujeitas a processos locais e regionais distintos.

A integração dos dois capítulos evidencia que a delimitação de linhagens evolutivas e a estruturação ecológica das comunidades não são processos isolados. A filogenia e a ecologia compartilham um espaço de interseção onde padrões de diversidade podem ser modulados por dispersão diferencial, adaptação local, eventos históricos de vicariância ou permeabilidade temporária de barreiras naturais. Esse entendimento reforça o valor de estudos integrativos na Amazônia, especialmente em áreas pouco amostradas como a bacia do rio Manicoré, onde a complexidade ambiental e a história evolutiva contribuem para moldar a biodiversidade regional.

## CONCLUSÃO GERAL

Esta dissertação empregou uma abordagem integrada, combinando investigações genéticas (Capítulo 1) e análises ecológicas (Capítulo 2), para entender melhor a diversidade da ictiofauna na bacia do rio Manicoré, um importante afluente do rio Madeira. Os resultados obtidos revelam um cenário de biodiversidade rica e estruturalmente heterogênea, moldada pela interação de processos evolutivos e ecológicos.

No Capítulo 1, a aplicação de múltiplos métodos de delimitação de espécies, como GMYC, bGMYC, mPTP, locMin, ABGD, ASAP, percent, treeDist e a identificação morfológica, revelou discrepâncias nas delimitações, indicando que diferentes delimitadores refletem distintos aspectos do processo evolutivo. No entanto, a congruência observada entre cinco ou mais métodos fornece forte evidência filogenética para a existência de linhagens evolutivamente significativas, algumas das quais apresentando sinais de especiação críptica.

A análise demonstrou que o marcador mitocondrial COI, embora limitado pela ausência de sequências públicas para algumas espécies, permitiu o reconhecimento de linhagens evolutivas. Casos notáveis incluem as evidências moleculares que sugerem a presença de espécies crípticas no gênero *Curimatopsis*, com variação genética significativa entre as margens, indicando a possibilidade de uma nova linhagem ou unidade taxonômica. Para *Apistogramma agassizii*, alguns métodos de delimitação identificaram duas linhagens distintas, uma na bacia do rio Amazonas e outra na bacia do rio Manicoré, sugerindo um processo de isolamento geográfico. Esses resultados ressaltam que a riqueza de espécies na região pode estar subestimada e que abordagens integrativas são cruciais em áreas megadiversas com histórico taxonômico incompleto.

No Capítulo 2, a análise da estrutura ecológica das comunidades de peixes em igarapés das margens direita e esquerda do rio Manicoré mostrou padrões distintos. Embora a riqueza de espécies (número total de espécies por igarapé) não tenha apresentado diferença estatística significativa entre as margens ( $p = 0,116$ ), a abundância total de indivíduos foi significativamente maior nos igarapés da margem direita ( $p = 0,021$ ). Essa assimetria também se refletiu nos índices de diversidade (Shannon e Simpson), que foram, em média, mais elevados e consistentes na margem direita, sugerindo maior estabilidade ecológica. Em contraste, a margem esquerda exibiu maior variabilidade nos padrões de diversidade, possivelmente devido a fatores

ambientais heterogêneos ou impactos antrópicos diferenciados. A representação espacial dos pontos de coleta e a composição visual dos gráficos de pizza reforçaram essa heterogeneidade na estrutura das comunidades entre os igarapés.

Em conjunto, os resultados de ambos os capítulos demonstram que, enquanto o pool regional de espécies pode ser amplamente compartilhado entre as margens do rio, processos locais e regionais distintos influenciam tanto a estruturação genética quanto a ecológica. A detecção de diferenciação genética entre margens para algumas espécies (Capítulo 1) corrobora as evidências ecológicas de variação na abundância e diversidade entre margens (Capítulo 2), sugerindo que as barreiras hidrográficas podem atuar de forma assimétrica na diversificação e na composição das comunidades.

Este estudo reforça a importância fundamental das abordagens integrativas que conectam genética, ecologia e biogeografia para a compreensão aprofundada dos processos que geram e mantêm a diversidade biológica na Amazônia. Além disso, destaca a relevância ecológica e evolutiva das margens do rio Manicoré como unidades distintas, com implicações diretas para o manejo sustentável e a formulação de políticas ambientais que considerem a heterogeneidade intra-bacia.

Os achados desta dissertação fornecem subsídios práticos essenciais para a conservação da região, valorizando os esforços das comunidades locais na criação de uma Unidade de Conservação, como uma Reserva de Desenvolvimento Sustentável. A identificação de linhagens evolutivas significativas e a caracterização da estrutura ecológica das comunidades são dados cruciais para a tomada de decisões de manejo e proteção.

Por fim, este trabalho aponta para a necessidade urgente de intensificar a amostragem e a pesquisa em outras drenagens amazônicas, repetindo abordagens similares em mais locais. Isso permitirá testar a generalidade dos padrões aqui identificados e contribuir para uma revisão mais precisa e realista da vasta biodiversidade amazônica – uma tarefa urgente frente às crescentes pressões ambientais que ameaçam os ecossistemas aquáticos da região.

## MATERIAL SUPLEMENTAR

**Tabela 4:** Dados referentes ao marcador **12S**. A coluna "catalogNumber" inclui o número de campo das amostras de tecido do presente e os identificados nas amostras em bancos públicos. A coluna "dnaNumber" inclui o número de tombo do tecido na Coleção de Recursos Genéticos do INPA. A coluna "voucher" inclui o número de tombo nas coleções científicas. A coluna "collectionPoint" inclui o local de coleta das amostras. "margin" refere-se à presença das espécies nas margens da região de estudo, sendo "ME" correspondente a margem esquerda e "MD" margem direita.

catalogNumber	dnaNumber	voucher	order	family	scientificName	collectionPoint	margin
AF285917.1			BLENNIIFORMES	Cichlidae	Saxatilia_lepidota		
A5259	P37570	INPA-ICT 060411	BLENNIIFORMES	Cichlidae	Saxatilia_sp.	Igarapé do Mingau	ME
MW621200.1			BLENNIIFORMES	Polycentridae	Monocirrhus_polyacanthus		
A5219	P37530	INPA-ICT 060291	BLENNIIFORMES	Polycentridae	Monocirrhus_polyacanthus	Igarapé da Trilha 1	MD
MW742324.1			CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hemigrammus_armstrongi		
NC066991.1			CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hemigrammus_armstrongi		
NC027946.1			CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hemigrammus_bleheri		
A5235	P37546	INPA-ICT 060283	CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hemigrammus_cf._bellottii	Igarapé da Trilha 1	MD
A5237	P37548	INPA-ICT 060283	CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hemigrammus_cf._bellottii	Igarapé da Trilha 1	MD
LC145857.1			CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hemigrammus_hyanuary		
A4022	P37472	INPA-ICT 060549	CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hemigrammus_hyanuary	Igarapé do Japiim	MD
MG755550.1			CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hemigrammus_marginatus		
MW768877.1			CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hemigrammus_ocellifer		

NC066993.1			CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hemigrammus_ocellifer		
OR884543.1			CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hemigrammus_sp.		
OR884544.1			CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hemigrammus_sp.		
OR884545.1			CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hemigrammus_sp.		
A4023	P37473	INPA-ICT 060480	CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hemigrammus_vorderwinkleri	Igarapé Maria Gerônimo	ME
NC066989.1			CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hyphessobrycon_amapaensis	Amapá, Brasil	
A4001	P37451	INPA-ICT 060505	CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hyphessobrycon_ericae	Igarapé do Treze	ME
A4002	P37452	INPA-ICT 060505	CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hyphessobrycon_ericae	Igarapé do Treze	ME
A4027	P37477	INPA-ICT 060550	CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hyphessobrycon_gr_ericae	Igarapé do Japiim	MD
A4028	P37478	INPA-ICT 060550	CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hyphessobrycon_gr_ericae	Igarapé do Japiim	MD
A5275	P37586	INPA-ICT 060546	CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hyphessobrycon_gr_heterorhab dus	Igarapé do Japiim	MD
A5277	P37588	INPA-ICT 060546	CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hyphessobrycon_gr_heterorhab dus	Igarapé do Japiim	MD
NC050876.1			CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hyphessobrycon_herbertaxelrod i		
NC080887.1			CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hyphessobrycon_heterorhabdus	UN	
OQ857750.1			CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hyphessobrycon_heterorhabdus		
A3949	P37406	INPA-ICT 060568	CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hyphessobrycon_heterorhabdus	Igarapé da Trilha 4	ME
A3995	P37445	INPA-ICT 060327	CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hyphessobrycon_sp.	Igarapé do Saranzal	MD

A4013	P37463	INPA-ICT 060366	CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hyphessobrycon_sp.	Igarapé do Escondido	MD
LC036839.1			CHARACIFORMES	Acestrorhynchidae	Gnathocharax_sp.		
A5205	P37516	INPA-ICT 060479	CHARACIFORMES	Acestrorhynchidae	Gnathocharax_steindachneri	Igarapé Maria Gerônimo	ME
A5206	P37517	INPA-ICT 060479	CHARACIFORMES	Acestrorhynchidae	Gnathocharax_steindachneri	Igarapé Maria Gerônimo	ME
A3998	P37448	INPA-ICT 060325	CHARACIFORMES	Crenuchidae	Ammocryptocharax_sp.	Igarapé do Saranzal	MD
AP011986.1			CHARACIFORMES	Crenuchidae	Crenuchus_spilurus	UN	
A4005	P37455	INPA-ICT 060500	CHARACIFORMES	Crenuchidae	Crenuchus_spilurus	Igarapé do Treze	ME
A3727	P37378	INPA-ICT 060358	CHARACIFORMES	Crenuchidae	Elachocharax_junki	Igarapé do Escondido	MD
A3728	P37379	INPA-ICT 060358	CHARACIFORMES	Crenuchidae	Elachocharax_junki	Igarapé do Escondido	MD
A5246	P37557	INPA-ICT 060501	CHARACIFORMES	Crenuchidae	Elachocharax_junki	Igarapé do Treze	ME
LC036707.2			CHARACIFORMES	Crenuchidae	Elachocharax_pulcher		
A3992	P37442	INPA-ICT 060330	CHARACIFORMES	Crenuchidae	Elachocharax_pulcher	Igarapé do Saranzal	MD
A3993	P37443	INPA-ICT 060330	CHARACIFORMES	Crenuchidae	Elachocharax_pulcher	Igarapé do Saranzal	MD
A5288	P37599	INPA-ICT 060302	CHARACIFORMES	Crenuchidae	Elachocharax_sp.	Igarapé da Onça	ME
A5290	P37601	INPA-ICT 060302	CHARACIFORMES	Crenuchidae	Elachocharax_sp.	Igarapé da Onça	ME
A5247	P37558	INPA-ICT 060501	CHARACIFORMES	Crenuchidae	Elachocharax_sp._n.	Igarapé do Treze	ME

A5078	P37489	INPA-ICT 060369	CHARACIFORMES	Crenuchidae	Microcharacidium_sp.	Igarapé do Escondido	MD
A5227	P37538	INPA-ICT 060289	CHARACIFORMES	Crenuchidae	Microcharacidium_sp._n.	Igarapé da Trilha 1	MD
A4014	P37464	INPA-ICT 060548	CHARACIFORMES	Crenuchidae	Odontocharacidium_aphanes	Igarapé do Japiim	MD
A4015	P37465	INPA-ICT 060548	CHARACIFORMES	Crenuchidae	Odontocharacidium_aphanes	Igarapé do Japiim	MD
A5103	P37514	INPA-ICT 060475	CHARACIFORMES	Curimatidae	Curimatopsis_cf._evelynae	Igarapé Maria Gerônimo	ME
A5104	P37515	INPA-ICT 060475	CHARACIFORMES	Curimatidae	Curimatopsis_cf._evelynae	Igarapé Maria Gerônimo	ME
AP011988.1			CHARACIFORMES	Curimatidae	Curimatopsis_evelynae		
AP011992.1			CHARACIFORMES	Erythrinidae	Hoplías_malabaricus		
MG755554.1			CHARACIFORMES	Erythrinidae	Hoplías_malabaricus		
MG755555.1			CHARACIFORMES	Erythrinidae	Hoplías_malabaricus		
A5226	P37537	INPA-ICT 060286	CHARACIFORMES	Erythrinidae	Hoplías_malabaricus	Igarapé da Trilha 1	MD
A5261	P37572	INPA-ICT 060544	CHARACIFORMES	Erythrinidae	Hoplías_malabaricus	Igarapé do Japiim	MD
A5090	P37501	INPA-ICT 060469	CHARACIFORMES	Gasteropelecidae	Carnegiella_marthae	Igarapé Maria Gerônimo	ME
A5091	P37502	INPA-ICT 060469	CHARACIFORMES	Gasteropelecidae	Carnegiella_marthae	Igarapé Maria Gerônimo	ME
AP011983.1			CHARACIFORMES	Gasteropelecidae	Carnegiella_strigata	UN	
A5256	P37567	INPA-ICT 060409	CHARACIFORMES	Gasteropelecidae	Carnegiella_strigata	Igarapé do Mingau	ME
A5088	P37499	INPA-ICT 060468	CHARACIFORMES	Gasteropelecidae	Carnegiella_strigata	Igarapé Maria Gerônimo	ME

OR198677.1			CHARACIFORMES	Iguanodectidae	Bryconops_affinis	Brasil	
MT080700.1			CHARACIFORMES	Iguanodectidae	Bryconops_giacopinii		
OR884347.1			CHARACIFORMES	Iguanodectidae	Bryconops_sp.		
OR884348.1			CHARACIFORMES	Iguanodectidae	Bryconops_sp.		
OR884350.1			CHARACIFORMES	Iguanodectidae	Bryconops_sp.		
A5232	P37543	INPA-ICT 060277	CHARACIFORMES	Iguanodectidae	Bryconops_sp.	Igarapé da Trilha 1	MD
A5233	P37544	INPA-ICT 060277	CHARACIFORMES	Iguanodectidae	Bryconops_sp.	Igarapé da Trilha 1	MD
LC036733.1			CHARACIFORMES	Lebiasinidae	Copella_arnoldi		
A3945	P37402	INPA-ICT 060567	CHARACIFORMES	Lebiasinidae	Copella_callolepis	Igarapé da Trilha 4	ME
A5079	P37490	INPA-ICT 060355	CHARACIFORMES	Lebiasinidae	Copella_cf._callolepis	Igarapé do Escondido	MD
A5080	P37491	INPA-ICT 060355	CHARACIFORMES	Lebiasinidae	Copella_cf._callolepis	Igarapé do Escondido	MD
A4031	P37481	INPA-ICT 060311	CHARACIFORMES	Lebiasinidae	Copella_nattereri	Igarapé do Escondidinho	MD
A5243	P37554	INPA-ICT 060499	CHARACIFORMES	Lebiasinidae	Copella_nattereri	Igarapé do Treze	ME
MW621172.1			CHARACIFORMES	Lebiasinidae	Copella_nigrofasciata		
OR884385.1			CHARACIFORMES	Lebiasinidae	Copella_sp.		
OR884386.1			CHARACIFORMES	Lebiasinidae	Copella_sp.		
A5254	P37565	INPA-ICT 060423	CHARACIFORMES	Lebiasinidae	Pyrrhulina_brevis	Igarapé do Mingau	ME

A4029	P37479	INPA-ICT 060571	CHARACIFORMES	Lebiasinidae	Pyrrhulina_brevis	Igarapé da Trilha 3	MD
A4032	P37482	INPA-ICT 060310	CHARACIFORMES	Lebiasinidae	Pyrrhulina_sp.	Igarapé do Chororó	ME
AB969846.1			GYMNOTIFORMES	Gymnotidae	Gymnotus_carapo		
AP011979.1			GYMNOTIFORMES	Gymnotidae	Gymnotus_carapo	UN	
MG755546.1			GYMNOTIFORMES	Gymnotidae	Gymnotus_carapo		
A3878	P37386	INPA-ICT 060393	GYMNOTIFORMES	Gymnotidae	Gymnotus_cf._coropinae	Igarapé do Coatá	ME
A5224	P37535	INPA-ICT 060282	GYMNOTIFORMES	Gymnotidae	Gymnotus_cf._curupira	Igarapé da Trilha 1	MD
A3664	P37324	INPA-ICT 060391	GYMNOTIFORMES	Gymnotidae	Gymnotus_gr._carapo	Igarapé do Coatá	ME
A3665	P37325	INPA-ICT 060391	GYMNOTIFORMES	Gymnotidae	Gymnotus_gr._carapo	Igarapé do Coatá	ME
OR884515.1			GYMNOTIFORMES	Gymnotidae	Gymnotus_sp.		
OR884516.1			GYMNOTIFORMES	Gymnotidae	Gymnotus_sp.		
OR884517.1			GYMNOTIFORMES	Gymnotidae	Gymnotus_sp.		
OR884518.1			GYMNOTIFORMES	Gymnotidae	Gymnotus_sp.		
OR884519.1			GYMNOTIFORMES	Gymnotidae	Gymnotus_sp.		
OR884520.1			GYMNOTIFORMES	Gymnotidae	Gymnotus_sp.		
A3667	P37327	INPA-ICT 060392	GYMNOTIFORMES	Gymnotidae	Gymnotus_sp.	Igarapé do Coatá	ME
A3692	P37352	INPA-ICT 060497	GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Brachyhypopomus_brevirostris	Igarapé do Treze	ME

A3693	P37353	INPA-ICT 060497	GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Brachyhypopomus_brevirostris	Igarapé do Treze	ME
AP011570.1			GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Brachyhypopomus_occidentalis		
MH399591.1			GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Brachyhypopomus_occidentalis		
LC193369.1			GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Brachyhypopomus_sp.		
OR884334.1			GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Brachyhypopomus_sp.		
OR884335.1			GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Brachyhypopomus_sp.		
A3704	P37364	INPA-ICT 060498	GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Brachyhypopomus_sp.2	Igarapé do Treze	ME
KX058570.1			GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Brachyhypopomus_verdii		
A3720	P37371	INPA-ICT 060370	GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Microsternarchus_bilineatus	Igarapé do Escondido	MD
A3892	P37400	INPA-ICT 060569	GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Microsternarchus_brevis	Igarapé da Trilha 4	ME
A3893	P37401	INPA-ICT 060569	GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Microsternarchus_brevis	Igarapé da Trilha 4	ME
A5225	P37536	INPA-ICT 060290	GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Microsternarchus_cf._bilineatus	Igarapé da Trilha 1	MD
A3994	P37444	INPA-ICT 060338	GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Microsternarchus_cf._brevis	Igarapé do Saranzal	MD
A5286	P37597	INPA-ICT 060306	GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Microsternarchus_sp.	Igarapé da Onça	ME
A3679	P37339	INPA-ICT 060395	GYMNOTIFORMES	Rhamphichthyidae	Hypopygus_lepturus	Igarapé do Coatá	ME
A3707	P37367	INPA-ICT 060506	GYMNOTIFORMES	Rhamphichthyidae	Hypopygus_lepturus	Igarapé do Treze	ME
OR884608.1			GYMNOTIFORMES	Rhamphichthyidae	Hypopygus_sp.		

AP012014.1			SILURIFORMES	Cetopsidae	Helogenes_marmoratus	UN	
A3997	P37447	INPA-ICT 060334	SILURIFORMES	Cetopsidae	Helogenes_marmoratus	Igarapé do Saranzal	MD
A5253	P37564	INPA-ICT 060416	SILURIFORMES	Cetopsidae	Helogenes_marmoratus	Igarapé do Mingau	ME
A3700	P37360	INPA-ICT 060502	SILURIFORMES	Heptapteridae	Gladioglanis_conquistador	Igarapé do Treze	ME
A3732	P37383	INPA-ICT 060361	SILURIFORMES	Heptapteridae	Gladioglanis_sp.	Igarapé do Escondido	MD
A5213	P37524	INPA-ICT 060280	SILURIFORMES	Heptapteridae	Gladioglanis_sp._n.	Igarapé da Trilha 1	MD
A5214	P37525	INPA-ICT 060280	SILURIFORMES	Heptapteridae	Gladioglanis_sp._n.	Igarapé da Trilha 1	MD
A3887	P37395	INPA-ICT 060390	SILURIFORMES	Heptapteridae	Gladioglanis_sp._n.	Igarapé do Coatá	ME
MT323116.1			SILURIFORMES	Loricariidae	Otocinclus_affinis		
KX087176.1			SILURIFORMES	Loricariidae	Otocinclus_cf._hoppei		
A3990	P37440	INPA-ICT 060339	SILURIFORMES	Loricariidae	Otocinclus_mura	Igarapé do Saranzal	MD
A5085	P37496	INPA-ICT 060375	SILURIFORMES	Trichomycteridae	Potamoglanis_hasemani	Igarapé do Escondido	MD
AP004439.1			SYMBRANCHIFORMES	Synbranchidae	Synbranchus_marmoratus	UN	
MG755633.1			SYMBRANCHIFORMES	Synbranchidae	Synbranchus_marmoratus		
MG755634.1			SYMBRANCHIFORMES	Synbranchidae	Synbranchus_marmoratus		
OR884954.1			SYMBRANCHIFORMES	Synbranchidae	Synbranchus_sp.		
OR884955.1			SYMBRANCHIFORMES	Synbranchidae	Synbranchus_sp.		

**Tabela 5:** Dados referentes ao marcador **COI**. A coluna "catalogNumber" inclui o número de campo das amostras de tecido do presente e os identificados nas amostras em bancos públicos. A coluna "dnaNumber" inclui o número de tombo do tecido na Coleção de Recursos Genéticos do INPA. A coluna "voucher" inclui o número de tombo nas coleções científicas. A coluna "collectionPoint" inclui o local de coleta das amostras. "margin" refere-se à presença das espécies nas margens da região de estudo, sendo "ME" correspondente a margem esquerda e "MD" margem direita.

catalogNumber	dnaNumber	voucher	order	family	scientificName	collectionPoint	margin
A5092	P37502	INPA-ICT 060477	ATHERINIFORMES	Fluviophylacidae	Fluviophylax_cf._pygmaeus	Igarapé Maria Gerônimo	ME
A5093	P37503	INPA-ICT 060477	ATHERINIFORMES	Fluviophylacidae	Fluviophylax_cf._pygmaeus	Igarapé Maria Gerônimo	ME
A5094	P37504	INPA-ICT 060477	ATHERINIFORMES	Fluviophylacidae	Fluviophylax_cf._pygmaeus	Igarapé Maria Gerônimo	ME
MG451925.1		UFRJ_9199	ATHERINIFORMES	Fluviophylacidae	Fluviophylax_obscurus	Bacia do rio Amazonas	
OR732909.1		1067TOC	ATHERINIFORMES	Fluviophylacidae	Fluviophylax_palikur	Rio Tocantins	
MG451923.1		UFRJ_9200	ATHERINIFORMES	Fluviophylacidae	Fluviophylax_pygmaeus	Bacia do rio Amazonas	
A4006	P37456	INPA-ICT 060542	ATHERINIFORMES	Fluviophylacidae	Fluviophylax_sp.	Igarapé do Japiim	MD
GU701518.1		LBP-31954	ATHERINIFORMES	Rivulidae	Melanorivulus_apiamici	Bacia do rio Paraná	
A4033	P37483	INPA-ICT 060309	ATHERINIFORMES	Rivulidae	Melanorivulus_sp.	Igarapé do Chororó	ME
A3986	P37436	INPA-ICT 060456	BLENNIIFORMES	Cichlidae	Apistogramma_agassizii	Igarapé Brasil	MD
A4000	P37450	INPA-ICT 060496	BLENNIIFORMES	Cichlidae	Apistogramma_agassizii	Igarapé do Treze	ME
A5279	P37590	INPA-ICT 060534	BLENNIIFORMES	Cichlidae	Apistogramma_agassizii	Igarapé do Japiim	MD
A3953	P37410	INPA-ICT 060566	BLENNIIFORMES	Cichlidae	Apistogramma_agassizii	Igarapé da Trilha 4	ME

KU568754.1		KW11T031	BLENNIIFORMES	Cichlidae	Apistogramma_cacatuoides	UN	
A5260	P37571	INPA-ICT 060408	BLENNIIFORMES	Cichlidae	Apistogramma_cf_agassizi	Igarapé do Mingau	ME
A5098	P37508	INPA-ICT 060466	BLENNIIFORMES	Cichlidae	Apistogramma_cf_agassizi	Igarapé Maria Gerônimo	ME
A5278	P37589	INPA-ICT 060534	BLENNIIFORMES	Cichlidae	Apistogramma_sp.	Igarapé do Japiim	MD
A3952_2	P37409	INPA-ICT 060566	BLENNIIFORMES	Cichlidae	Apistogramma_sp.	Igarapé da Trilha 4	ME
A3953_2	P37410	INPA-ICT 060566	BLENNIIFORMES	Cichlidae	Apistogramma_sp.	Igarapé da Trilha 4	ME
KR233975.1			BLENNIIFORMES	Cichlidae	Dicrossus_filamentosus	Não ocorre no Brasil	
AY662753.1			BLENNIIFORMES	Polycentridae	Monocirrhus_polyacanthus	UN	
A5219	P37530	INPA-ICT 060291	BLENNIIFORMES	Polycentridae	Monocirrhus_polyacanthus	Igarapé da Trilha 1	MD
A5234	P37545	INPA-ICT 060283	CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hemigrammus_cf_bellotti	Igarapé da Trilha 1	MD
A5235	P37546	INPA-ICT 060283	CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hemigrammus_cf_bellotti	Igarapé da Trilha 1	MD
A5237	P37548	INPA-ICT 060283	CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hemigrammus_cf_bellotti	Igarapé da Trilha 1	MD
OR733028.1		558TOC	CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hemigrammus_collettii	Rio Tocantins	
A4026	P37476	INPA-ICT 060460	CHARACIFORMES	Acestrorhamphidae	Hemigrammus_hyanuary	Igarapé Brasil	MD

A4022	P37472	INPA-ICT 060549	CHARACIFORMES	Acestrorhamphi dae	Hemigrammus_hyanuary	Igarapé do Japiim	MD
OR732934.1		1012TOC	CHARACIFORMES	Acestrorhamphi dae	Hemigrammus_levis	Rio Tocantins	
HM906017.1		DCC01369	CHARACIFORMES	Acestrorhamphi dae	Hemigrammus_marginatus	Bacia do rio São Francisco	
OR732933.1		1059TOC	CHARACIFORMES	Acestrorhamphi dae	Hemigrammus_sp.	Rio Tocantins	
A3987	P37437	INPA-ICT 060458	CHARACIFORMES	Acestrorhamphi dae	Hemigrammus_sp.	Igarapé Brasil	MD
A4001	P37451	INPA-ICT 060505	CHARACIFORMES	Acestrorhamphi dae	Hyphessobrycon_ericae	Igarapé do Treze	ME
A4002	P37452	INPA-ICT 060505	CHARACIFORMES	Acestrorhamphi dae	Hyphessobrycon_ericae	Igarapé do Treze	ME
A5275	P37586	INPA-ICT 060546	CHARACIFORMES	Acestrorhamphi dae	Hyphessobrycon_gr_heter orhabdus	Igarapé do Japiim	MD
A5276	P37587	INPA-ICT 060546	CHARACIFORMES	Acestrorhamphi dae	Hyphessobrycon_gr_heter orhabdus	Igarapé do Japiim	MD
NC080887.1		complete_genome	CHARACIFORMES	Acestrorhamphi dae	Hyphessobrycon_heterorh abdus	UN	
A4012	P37462	INPA-ICT 060366	CHARACIFORMES	Acestrorhamphi dae	Hyphessobrycon_sp.	Igarapé do Escondido	MD
A3998	P37448	INPA-ICT 060325	CHARACIFORMES	Crenuchidae	Ammocryptocharax_sp.	Igarapé do Saranzal	MD
A3728	P37379	INPA-ICT 060358	CHARACIFORMES	Crenuchidae	Elachocharax_junki	Igarapé do Escondido	MD
A5245	P37556	INPA-ICT 060501	CHARACIFORMES	Crenuchidae	Elachocharax_junki	Igarapé do Treze	ME

A5248	P37559	INPA-ICT 060501	CHARACIFORMES	Crenuchidae	Elachocharax_junki	Igarapé do Treze	ME
A5280	P37591	INPA-ICT 060540	CHARACIFORMES	Crenuchidae	Elachocharax_junki	Igarapé do Japiim	MD
MZ051949.1		GFSU14e-1530 -2	CHARACIFORMES	Crenuchidae	Microcharacidium_eleotrioides	Bacia do rio Maroni (Guiana/Suriname)	
A4015	P37465	INPA-ICT 060548	CHARACIFORMES	Crenuchidae	Odontocharacidium_aphanes	Igarapé do Japiim	MD
A5296	P37607	INPA-ICT 060301	CHARACIFORMES	Curimatidae	Curimatopsis_cf_evelynae	Igarapé da Onça	ME
A5297	P37608	INPA-ICT 060301	CHARACIFORMES	Curimatidae	Curimatopsis_cf_evelynae	Igarapé da Onça	ME
A5298	P37609	INPA-ICT 060301	CHARACIFORMES	Curimatidae	Curimatopsis_cf_evelynae	Igarapé da Onça	ME
A5104	P37515	INPA-ICT 060475	CHARACIFORMES	Curimatidae	Curimatopsis_cf_evelynae	Igarapé Maria Gerônimo	ME
A4010	P37460	INPA-ICT 060539	CHARACIFORMES	Curimatidae	Curimatopsis_cf_evelynae	Igarapé do Japiim	MD
KU519340.1		LBP_4453_243 60	CHARACIFORMES	Curimatidae	Curimatopsis_evelynae	Bacia do rio Amazonas	
KU519339.1		LBP_4453_243 62	CHARACIFORMES	Curimatidae	Curimatopsis_evelynae	Bacia do rio Amazonas	
MZ051086.1		GFSU14e1534	CHARACIFORMES	Erythrinidae	Erythrinus_erythrinus	UN	
A5262	P37573	INPA-ICT 060541	CHARACIFORMES	Erythrinidae	Erythrinus_erythrinus	Igarapé do Japiim	MD
JN988858.1		LBPV-31956	CHARACIFORMES	Erythrinidae	Erythrinus_erythrinus	Bacia do rio Paraná	
MZ051124.1		SU08561	CHARACIFORMES	Erythrinidae	Erythrinus_erythrinus	UN	
OR732947.1		420TOC	CHARACIFORMES	Erythrinidae	Hoplías_malabaricus	Rio Tocantins	

OR732946.1		738TOC	CHARACIFORMES	Erythrinidae	Hoplias_malabaricus	Rio Tocantins	
A5226	P37537	INPA-ICT 060286	CHARACIFORMES	Erythrinidae	Hoplias_malabaricus	Igarapé da Trilha 1	MD
A5238	P37549	INPA-ICT 060504	CHARACIFORMES	Erythrinidae	Hoplias_malabaricus	Igarapé do Treze	ME
A5261	P37572	INPA-ICT 060544	CHARACIFORMES	Erythrinidae	Hoplias_malabaricus	Igarapé do Japiim	MD
A3673	P37333	INPA-ICT 060572	CHARACIFORMES	Erythrinidae	Hoplias_malabaricus	Igarapé do Coatá	ME
JN988909.1		LBPV-32186	CHARACIFORMES	Erythrinidae	Hoplias_malabaricus	Bacia do rio Paraná	
KU288876.1		MG_ZV-P_163 -2	CHARACIFORMES	Erythrinidae	Hoplias_malabaricus	Rio Paraná	
KU288881.1		MG_ZV-P_175 -1	CHARACIFORMES	Erythrinidae	Hoplias_malabaricus	Rio Paraná	
MG825034.1		MNLM184	CHARACIFORMES	Erythrinidae	Hoplias_malabaricus	Pará, Brasil	
JX112689.1		UFOPA_HMJU A13Hp28	CHARACIFORMES	Erythrinidae	Hoplias_malabaricus	Santarém, Pará	
JX112672.1		UFOPA_HMM A138Hp15	CHARACIFORMES	Erythrinidae	Hoplias_malabaricus	Santarém, Pará	
A5090	P37500	INPA-ICT 060469	CHARACIFORMES	Gasteropelecida e	Carnegiella_marthae	Igarapé Maria Gerônimo	ME
A5222	P37533	INPA-ICT 060278	CHARACIFORMES	Gasteropelecida e	Carnegiella_strigata	Igarapé da Trilha 1	MD
A5257	P37568	INPA-ICT 060409	CHARACIFORMES	Gasteropelecida e	Carnegiella_strigata	Igarapé do Mingau	ME
A5088	P37498	INPA-ICT 060468	CHARACIFORMES	Gasteropelecida e	Carnegiella_strigata	Igarapé Maria Gerônimo	ME

A5089	P37499	INPA-ICT 060468	CHARACIFORMES	Gasteropelecida e	Carnegiella_strigata	Igarapé Maria Gerônimo	ME
A5264	P37575	INPA-ICT 060536	CHARACIFORMES	Gasteropelecida e	Carnegiella_strigata	Igarapé do Japiim	MD
HM405073.1		DCC01211	CHARACIFORMES	Iguanodectidae	Bryconops_affinis	Bacia do rio São Francisco	
MZ051892.1		SU08218	CHARACIFORMES	Iguanodectidae	Bryconops_affinis	UN	
OR732819.1		492TOC	CHARACIFORMES	Iguanodectidae	Bryconops_alburnoides	Rio Tocantins	
MZ052047.1		GFSU14e1576	CHARACIFORMES	Iguanodectidae	Bryconops_caudomaculatu s	UN	
A5232	P37543	INPA-ICT 060277	CHARACIFORMES	Iguanodectidae	Bryconops_sp.	Igarapé da Trilha 1	MD
OR732820.1		788TOC	CHARACIFORMES	Iguanodectidae	Bryconops_tocantinensis	Rio Tocantins	
A5228	P37539	INPA-ICT 060288	CHARACIFORMES	Iguanodectidae	Iguanodectes_geisleri	Igarapé da Trilha 1	MD
A5274	P37585	INPA-ICT 060547	CHARACIFORMES	Iguanodectidae	Iguanodectes_geisleri	Igarapé do Japiim	MD
A5255	P37566	INPA-ICT 060410	CHARACIFORMES	Lebiasinidae	Copella_nattereri	Igarapé do Mingau	ME
A5243	P37554	INPA-ICT 060499	CHARACIFORMES	Lebiasinidae	Copella_nattereri	Igarapé do Treze	ME
A5268	P37579	INPA-ICT 060537	CHARACIFORMES	Lebiasinidae	Copella_nattereri	Igarapé do Japiim	MD
JN989187.1		LBPV-32191	CHARACIFORMES	Lebiasinidae	Pyrrhulina_australis	Bacia do rio Paraná	
A3985	P37435	INPA-ICT 060465	CHARACIFORMES	Lebiasinidae	Pyrrhulina_brevis	Igarapé Brasil	MD
A4029	P37479	INPA-ICT 060571	CHARACIFORMES	Lebiasinidae	Pyrrhulina_brevis	Igarapé da Trilha 3	MD

A5239	P37550	INPA-ICT 060508	CHARACIFORMES	Lebiasinidae	Pyrrhulina_cf_beni	Igarapé do Treze	ME
A5240	P37551	INPA-ICT 060508	CHARACIFORMES	Lebiasinidae	Pyrrhulina_cf_beni	Igarapé do Treze	ME
A4032	P37482	INPA-ICT 060310	CHARACIFORMES	Lebiasinidae	Pyrrhulina_sp.	Igarapé do Chororó	ME
HM405114.1		DCC01062	GYMNOTIFORMES	Gymnotidae	Gymnotus_carapo	Bacia do rio São Francisco	
KT166881.1		MUSM35859	GYMNOTIFORMES	Gymnotidae	Gymnotus_carapo	UN	
MZ051782.1		SU08450	GYMNOTIFORMES	Gymnotidae	Gymnotus_carapo	UN	
A3878	P37386	INPA-ICT 060393	GYMNOTIFORMES	Gymnotidae	Gymnotus_cf_coropinae	Igarapé do Coatá	ME
A4034	P37484	INPA-ICT 060308	GYMNOTIFORMES	Gymnotidae	Gymnotus_coropinae	Igarapé do Chororó	ME
A3664	P37324	INPA-ICT 060391	GYMNOTIFORMES	Gymnotidae	Gymnotus_gr_carapo	Igarapé do Coatá	ME
A3665	P37325	INPA-ICT 060391	GYMNOTIFORMES	Gymnotidae	Gymnotus_gr_carapo	Igarapé do Coatá	ME
A3691	P37351	INPA-ICT 060497	GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Brachyhypopomus_breviro stris	Igarapé do Treze	ME
KR491613.1		isolate_16705	GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Brachyhypopomus_breviro stris	UN	
KF533324.1		isolate2617	GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Brachyhypopomus_breviro stris	Rio Mazaruni (Escudo da Guiana)	
KF533325.1		isolate7019	GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Brachyhypopomus_breviro stris	Rio Mazaruni (Escudo da Guiana)	
A3973	P37423	INPA-ICT 060326	GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Brachyhypopomus_sp.	Igarapé do Saranzal	MD

A3974	P37424	INPA-ICT 060326	GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Brachyhypopomus_sp.	Igarapé do Saranzal	MD
KR491622.1		isolate34063	GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Microsternarchus_bilineatus	UN	
KR491623.1		isolate50417	GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Microsternarchus_bilineatus	UN	
KT166885.1		LBP_4450_243 43	GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Microsternarchus_bilineatus	Bacia do rio Negro (próximo à Barcelos)	
PQ356961.1		6307QUI	GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Microsternarchus_brevis	Rio Negro, Iaha	
PQ356970.1		6316QUI	GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Microsternarchus_brevis	Rio Negro, Quimicuri	
PQ356964.1		6342IAH	GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Microsternarchus_brevis	Rio Negro, Iaha	
A3682	P37342	INPA-ICT 060397	GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Microsternarchus_cf._bilineatus	Igarapé do Coatá	ME
A3684	P37344	INPA-ICT 060397	GYMNOTIFORMES	Hypopomidae	Microsternarchus_cf._bilineatus	Igarapé do Coatá	ME
A5284	P37595	INPA-ICT 060305	GYMNOTIFORMES	Rhamphichthyidae	Hypopygus_lepturus	Igarapé da Onça	ME
A3677	P37337	INPA-ICT 060395	GYMNOTIFORMES	Rhamphichthyidae	Hypopygus_lepturus	Igarapé do Coatá	ME
A3678	P37338	INPA-ICT 060395	GYMNOTIFORMES	Rhamphichthyidae	Hypopygus_lepturus	Igarapé do Coatá	ME
KR491575.1		isolate_43739	GYMNOTIFORMES	Rhamphichthyidae	Hypopygus_lepturus	UN	
KF533334.1		isolate8799	GYMNOTIFORMES	Rhamphichthyidae	Hypopygus_lepturus	Xingu-Tapajós	
MZ051172.1		SU08-1295-1	GYMNOTIFORMES	Rhamphichthyidae	Hypopygus_lepturus	Bacia do rio Maroni (Guiana/Suriname)	

KT166877.1		UFRGS_14842	GYMNOTIFORMES	Rhamphichthyidae	Hypopygus_lepturus	Igarapé Tarumã (bacia do rio Negro)	
OR733167.1		818TOC	GYMNOTIFORMES	Rhamphichthyidae	Steatogenys_uida	Rio Tocantins	
A3583	P37265	INPA-ICT060343	GYMNOTIFORMES	Rhamphichthyidae	Steatogenys_uida	Igarapé do Saranzal	MD
A3690	P37350	INPA-ICT060509	GYMNOTIFORMES	Rhamphichthyidae	Steatogenys_uida	Igarapé do Treze	ME
KR491579.1		isolate34068	GYMNOTIFORMES	Rhamphichthyidae	Steatogenys_uida	UN	
KT166878.1		LBP_7007_34068	GYMNOTIFORMES	Rhamphichthyidae	Steatogenys_uida	Rio Negro	
OR733168.1		815TOC	GYMNOTIFORMES	Rhamphichthyidae	Sternopygus_macrurus	Rio Tocantins	
HM405239.1		DCC00635	GYMNOTIFORMES	Rhamphichthyidae	Sternopygus_macrurus	Bacia do rio São Francisco	
A3676	P37336	INPA-ICT060402	GYMNOTIFORMES	Rhamphichthyidae	Sternopygus_macrurus	Igarapé do Coatá	ME
KF533349.1		isolate9054	GYMNOTIFORMES	Rhamphichthyidae	Sternopygus_macrurus	UN	
GU701939.1		LBP-40270	GYMNOTIFORMES	Rhamphichthyidae	Sternopygus_macrurus	Bacia do rio Paraná	
MK464165.1		CIUnB862_1	SILURIFORMES	Callichthyidae	Aspidoras_eurycephalus	Bacia do rio Paraná (DF)	
MK464058.1		CIUnB914_1	SILURIFORMES	Callichthyidae	Aspidoras_fuscoguttatus	Bacia do rio Paraná (DF)	
JN988689.1		LBPV-10916	SILURIFORMES	Callichthyidae	Aspidoras_fuscoguttatus	Bacia do rio Paraná (SP)	
BCORY018.12		LBPV 12308	SILURIFORMES	Callichthyidae	Aspidoras_poecilus	Rio Araguaia (MT)	

BCORY732.13		LBPV 69101	SILURIFORMES	Callichthyidae	Aspidoras_psammatides	Rio Lapao (BH)	
BCORY737.13		LBPV 69106	SILURIFORMES	Callichthyidae	Aspidoras_raimundi	Rio Parnaiba (PI)	
A3882	P37390	INPA-ICT 060384	SILURIFORMES	Callichthyidae	Aspidoras_sp.	Igarapé do Coatá	ME
KT874580.1		MNLM1354	SILURIFORMES	Callichthyidae	Aspidoras_sp.	Bacia do rio São Francisco (MG)	
A3881	P37389	INPA-ICT 060386	SILURIFORMES	Callichthyidae	Callichthys_callichthys	Igarapé do Coatá	ME
JN988766.1		LBPV-32362	SILURIFORMES	Callichthyidae	Callichthys_callichthys	Bacia do rio Paraná (SP)	
MG825017.1		MNLM6141	SILURIFORMES	Callichthyidae	Callichthys_callichthys	Rio Santissimo (RJ)	
MZ051783.1		SU08-546	SILURIFORMES	Callichthyidae	Callichthys_callichthys	Rio Paloemeu (Suriname)	
A3969	P37419	INPA-ICT 060333	SILURIFORMES	Heptapteridae	Gladioglanis_conquistador	Igarapé do Saranzal	MD
A3970	P37420	INPA-ICT 060333	SILURIFORMES	Heptapteridae	Gladioglanis_conquistador	Igarapé do Saranzal	MD
A3988	P37438	INPA-ICT 060457	SILURIFORMES	Heptapteridae	Gladioglanis_conquistador	Igarapé Brasil	MD
A3700	P37360	INPA-ICT 060502	SILURIFORMES	Heptapteridae	Gladioglanis_conquistador	Igarapé do Treze	ME
A5211	P37522	INPA-ICT 060280	SILURIFORMES	Heptapteridae	Gladioglanis_sp._n.	Igarapé da Trilha 1	MD
A5212	P37523	INPA-ICT 060280	SILURIFORMES	Heptapteridae	Gladioglanis_sp._n.	Igarapé da Trilha 1	MD
A5213	P37524	INPA-ICT 060280	SILURIFORMES	Heptapteridae	Gladioglanis_sp._n.	Igarapé da Trilha 1	MD
A5214	P37525	INPA-ICT 060280	SILURIFORMES	Heptapteridae	Gladioglanis_sp._n.	Igarapé da Trilha 1	MD

EU359400.1			SILURIFORMES	Loricariidae	Acestridium_gymnogaster	Rio Madeira	
EU359398.1		ANSP:FISH:18 2901	SILURIFORMES	Loricariidae	Acestridium_martini	UN	
EU359399.1		ANSP:FISH:18 2901	SILURIFORMES	Loricariidae	Acestridium_martini	Rio Negro	
EU359401.1			SILURIFORMES	Loricariidae	Acestridium_scutatum	Rio Madeira	
A3687	P37347	INPA-ICT 060403	SILURIFORMES	Loricariidae	Acestridium_scutatum	Igarapé do Mingau	ME
A3688	P37348	INPA-ICT 060403	SILURIFORMES	Loricariidae	Acestridium_scutatum	Igarapé do Mingau	ME
EU359431.1			SILURIFORMES	Loricariidae	Otocinclus_affinis	UN	
EU370983.1		MCP_25234	SILURIFORMES	Loricariidae	Otocinclus_arnoldi	UN	
EU359432.1			SILURIFORMES	Loricariidae	Otocinclus_cocama	UN	
EU370984.1		MCP41907	SILURIFORMES	Loricariidae	Otocinclus_flexilis	UN	
KM104503.1		LBP5310 26831	SILURIFORMES	Loricariidae	Otocinclus_hoppei	Igarapé Uiratapura (AP)	
KM104504.1		MHNG2613.05 7	SILURIFORMES	Loricariidae	Otocinclus_hoppei	Arroio Huangana (Peru)	
A3966	P37416	INPA-ICT 060339	SILURIFORMES	Loricariidae	Otocinclus_mura	Igarapé do Saranzal	MD
A3722	P37373	INPA-ICT 060372	SILURIFORMES	Loricariidae	Otocinclus_mura	Igarapé do Escondido	MD
EU359433.1		MCP 35848	SILURIFORMES	Loricariidae	Otocinclus_vittatus	UN	
PQ049773.1		STRI-4664	SILURIFORMES	Loricariidae	Otocinclus_vittatus	Rio Panamá (Argentina)	

GQ225413.1		ANSP:FISH:18 0689	SILURIFORMES	Loricariidae	Otocinclus_xakriaba	UN	
A3977	P37427	INPA-ICT 060341	SILURIFORMES	Trichomycterid ae	Potamoglanis_anhanga	Igarapé do Saranzal	MD
OR714233.1		UFRJ_11156	SILURIFORMES	Trichomycterid ae	Potamoglanis_anhanga	UN	
A5209	P37520	INPA-ICT 060292	SILURIFORMES	Trichomycterid ae	Potamoglanis_cf._anhanga	Igarapé da Trilha 1	MD
A5281	P37592	INPA-ICT 060307	SILURIFORMES	Trichomycterid ae	Potamoglanis_hasemani	Igarapé da Onça	ME
KY857975.1		LBPV-23792	SILURIFORMES	Trichomycterid ae	Potamoglanis_hasemani	Rio Negro	
OR714232.1		UFRJ 9712.1	SILURIFORMES	Trichomycterid ae	Potamoglanis_hasemani	UN	
AP004439.1		complete_genome	SYMBRANCHIFORMES	Synbranchidae	Synbranchus_marmoratus	UN	
HM405241.1		DCC01363	SYMBRANCHIFORMES	Synbranchidae	Synbranchus_marmoratus	Bacia do rio São Francisco	
A5223	P37534	INPA-ICT 060294	SYMBRANCHIFORMES	Synbranchidae	Synbranchus_marmoratus	Igarapé da Trilha 1	MD
A3975	P37425	INPA-ICT 060345	SYMBRANCHIFORMES	Synbranchidae	Synbranchus_marmoratus	Igarapé do Saranzal	MD
A3694	P37354	INPA-ICT 060510	SYMBRANCHIFORMES	Synbranchidae	Synbranchus_marmoratus	Igarapé do Treze	ME
MG825045.1		MNLM203	SYMBRANCHIFORMES	Synbranchidae	Synbranchus_marmoratus	Paraná, Brasil	
JX111854.1		UNMDPT0376	SYMBRANCHIFORMES	Synbranchidae	Synbranchus_marmoratus	UN	

**Tabela 6:** Dados para compor a matriz de abundância utilizada nas análises de índices ecológicos.

collectionPoint	Espécie	Quantidade
Igarapé Brasil	Acestrorhynchus_isalinae	1
Igarapé Brasil	Apistogramma_sp.	1
Igarapé Brasil	Gladioglanis_conquistador	1
Igarapé Brasil	Hemigrammus_hyanuary	1
Igarapé Brasil	Hemigrammus_levis	1
Igarapé Brasil	Hemigrammus_sp.	1
Igarapé Brasil	Hoplias_malabaricus	1
Igarapé Brasil	Hypopygus_lepturus	7
Igarapé Brasil	Microcharacidium_sp._n.	2
Igarapé Brasil	Microsternarchus_sp.	1
Igarapé Brasil	Pyrrhulina_brevis	1
Igarapé da Cachoeira	Agoniatas_anchovia	1
Igarapé da Cachoeira	Auchenipterichthys_sp.	1
Igarapé da Cachoeira	Bryconops_sp.	1
Igarapé da Cachoeira	Copella_callolepis	2
Igarapé da Cachoeira	Erythrinus_erythrinus	1
Igarapé da Cachoeira	Helogenes_marmoratus	1
Igarapé da Cachoeira	Hyphessobrycon_ericae	1
Igarapé da Cachoeira	Megalechis_picta	1
Igarapé da Cachoeira	Microcharacidium_sp._n.	1
Igarapé da Cachoeira	Myloplus_asterias	1
Igarapé da Cachoeira	Myloplus_nigrolineatus	1
Igarapé da Cachoeira	Triporthus_auritus	3
Igarapé da Onça	Anostomidae_sp.	1
Igarapé da Onça	Apistogramma_sp.	7
Igarapé da Onça	Brachyhypopomus_sp.	1
Igarapé da Onça	Copella_nattereri	1
Igarapé da Onça	Curimatopsis_cf._evelynae	21
Igarapé da Onça	Elachocharax_sp.	15
Igarapé da Onça	Hemigrammus_aff._vorderwinkleri	3
Igarapé da Onça	Hemigrammus_coeruleus	2
Igarapé da Onça	Hypopygus_lepturus	3
Igarapé da Onça	Microsternarchus_sp.	1
Igarapé da Onça	Potamoglanis_hasemani	3
Igarapé da Trilha 1	Apistogramma_sp.	9
Igarapé da Trilha 1	Axelrodia_cf._riesei	3
Igarapé da Trilha 1	Bryconops_sp.	2
Igarapé da Trilha 1	Carnegiella_strigata	3
Igarapé da Trilha 1	Gladioglanis_conquistador	1
Igarapé da Trilha 1	Gladioglanis_sp._n.	40
Igarapé da Trilha 1	Gymnotus_sp.	1
Igarapé da Trilha 1	Hemigrammus_cf._bellottii	7
Igarapé da Trilha 1	Hemigrammus_cf._hyanuari	1

Igarapé da Trilha 1	<i>Hemigrammus_coeruleus</i>	1
Igarapé da Trilha 1	<i>Hoplias_malabaricus</i>	1
Igarapé da Trilha 1	<i>Hyphessobrycon_ericae</i>	2
Igarapé da Trilha 1	<i>Hyphessobrycon_sp.</i>	4
Igarapé da Trilha 1	<i>Iguanodectes_geisleri</i>	12
Igarapé da Trilha 1	<i>Microcharacidium_sp._n.</i>	8
Igarapé da Trilha 1	<i>Microsternarchus_cf._bilineatus</i>	8
Igarapé da Trilha 1	<i>Monocirrhus_polyacanthus</i>	1
Igarapé da Trilha 1	<i>Potamoglanis_sp._n.</i>	8
Igarapé da Trilha 1	<i>Scoloplax_baskini</i>	1
Igarapé da Trilha 1	<i>Symbranchus_sp.</i>	1
Igarapé da Trilha 4	<i>Apistogramma_sp.</i>	3
Igarapé da Trilha 4	<i>Copella_callolepis</i>	4
Igarapé da Trilha 4	<i>Hyphessobrycon_heterorhabdus</i>	9
Igarapé da Trilha 4	<i>Microsternarchus_brevis</i>	2
Igarapé da Visagem	<i>Apistogramma_sp.</i>	7
Igarapé da Visagem	<i>Copella_callolepis</i>	8
Igarapé da Visagem	<i>Elachocharax_sp._n.</i>	3
Igarapé da Visagem	<i>Helogenes_marmoratus</i>	1
Igarapé da Visagem	<i>Hoplias_malabaricus</i>	1
Igarapé da Visagem	<i>Hypopygus_lepturus</i>	5
Igarapé da Visagem	<i>Pyrrhulina_brevis</i>	1
Igarapé da Visagem	<i>Synbranchus_marmoratus</i>	3
Igarapé do Aracu	<i>Agoniatas_anchovia</i>	5
Igarapé do Aracu	<i>Apistogramma_sp..1</i>	6
Igarapé do Aracu	<i>Auchenipterichthys_longinamus</i>	2
Igarapé do Aracu	<i>Brachyhypopomus_sp.</i>	2
Igarapé do Aracu	<i>Brycon_amazonicus</i>	1
Igarapé do Aracu	<i>Brycon_melanopterus</i>	1
Igarapé do Aracu	<i>Caenotropus_maculosus</i>	1
Igarapé do Aracu	<i>Carnegiella_strigata</i>	2
Igarapé do Aracu	<i>Copella_callolepis</i>	9
Igarapé do Aracu	<i>Dicrossus_sp.</i>	4
Igarapé do Aracu	<i>Elachocharax_sp._n.</i>	1
Igarapé do Aracu	<i>Gnathocharax_steindachneri</i>	2
Igarapé do Aracu	<i>Hemigrammus_cf._vorderwinkleri</i>	4
Igarapé do Aracu	<i>Hemiodus_orinocensis</i>	1
Igarapé do Aracu	<i>Hoplias_malabaricus</i>	2
Igarapé do Aracu	<i>Hoplocharax_goethei</i>	4
Igarapé do Aracu	<i>Hypopygus_lepturus</i>	1
Igarapé do Aracu	<i>Microsternarchus_sp.</i>	3
Igarapé do Aracu	<i>Pellona_flavipinnis</i>	1
Igarapé do Aracu	<i>Rhaphiodon_vulpinus</i>	1
Igarapé do Aracu	<i>Semaprochilodus_insignis</i>	1
Igarapé do Aracu	<i>Serrasalmus_rhombeus</i>	1
Igarapé do Chororó	<i>Gymnotus_sp.</i>	1

Igarapé do Chororó	Melanorivulus_sp.	1
Igarapé do Chororó	Pirulina_sp.	3
Igarapé do Coatá	Acestridium_dichromum	1
Igarapé do Coatá	Apistogramma_sp.	12
Igarapé do Coatá	Aspidoras_sp.	1
Igarapé do Coatá	Brachyhypopomus_cf._cunia	1
Igarapé do Coatá	Callichthys_callichthys	1
Igarapé do Coatá	Cetopsidium_cf._orientale	1
Igarapé do Coatá	Copella_callolepis	1
Igarapé do Coatá	Elachocharax_pulcher	1
Igarapé do Coatá	Gladioglanis_sp.	27
Igarapé do Coatá	Gymnotus_cf._coropinae	1
Igarapé do Coatá	Gymnotus_gr._carapo	3
Igarapé do Coatá	Gymnotus_sp.	4
Igarapé do Coatá	Hemigrammus_coeruleus	1
Igarapé do Coatá	Hypopygus_lepturus	20
Igarapé do Coatá	Melanorivulus_sp.	1
Igarapé do Coatá	Microsternarchus_cf._bilineatus	18
Igarapé do Coatá	Physopyxis_lyra	4
Igarapé do Coatá	Pyrrhulina_brevis	1
Igarapé do Coatá	Steatogenys_duidae	2
Igarapé do Coatá	Steatogenys_sp.	2
Igarapé do Escondido	Acaronia_nassa	1
Igarapé do Escondido	Apistogramma_cf._agassizi	5
Igarapé do Escondido	Copella_cf._callolepis	8
Igarapé do Escondido	Copella_sp.	1
Igarapé do Escondido	Crenuchus_spilurus	2
Igarapé do Escondido	Dicrossus_warzeli	7
Igarapé do Escondido	Elachocharax_junki	25
Igarapé do Escondido	Elachocharax_pulcher	3
Igarapé do Escondido	Fluviphylax_sp.	1
Igarapé do Escondido	Gladioglanis_sp.	2
Igarapé do Escondido	Gymnotus_inaequilabiatus	1
Igarapé do Escondido	Hemigrammus_coeruleus	6
Igarapé do Escondido	Hemigrammus_sp.	1
Igarapé do Escondido	Hyphessobrycon_ericae	2
Igarapé do Escondido	Hyphessobrycon_sp.	10
Igarapé do Escondido	Hypopygus_lepturus	6
Igarapé do Escondido	Microcharacidium_sp.	1
Igarapé do Escondido	Microsternarchus_bilineatus	4
Igarapé do Escondido	Nannostomus_unifasciatus	1
Igarapé do Escondido	Otocinclus_sp.	5
Igarapé do Escondido	Physopyxis_lyra	3
Igarapé do Escondido	Potamoglanis_anhanga	2
Igarapé do Escondido	Potamoglanis_hasemani	12
Igarapé do Escondido	Symbranchus_sp.	1

Igarapé do Japiim	<i>Apistogramma</i> _sp.	2
Igarapé do Japiim	<i>Brachyhypopomus</i> _sp.	1
Igarapé do Japiim	<i>Carnegiella</i> _strigata	2
Igarapé do Japiim	<i>Copella</i> _callolepis	13
Igarapé do Japiim	<i>Copella</i> _nattereri	7
Igarapé do Japiim	<i>Curimatopsis</i> _cf._evelynae	3
Igarapé do Japiim	<i>Elachocharax</i> _junki	1
Igarapé do Japiim	<i>Erythrinus</i> _erythrinus	1
Igarapé do Japiim	<i>Fluviphylax</i> _sp.	8
Igarapé do Japiim	<i>Hemigrammus</i> _coeruleus	2
Igarapé do Japiim	<i>Hemigrammus</i> _hyanuary	2
Igarapé do Japiim	<i>Hoplías</i> _malabaricus	1
Igarapé do Japiim	<i>Hyphessobrycon</i> _aff._vorderwinkleri	5
Igarapé do Japiim	<i>Hyphessobrycon</i> _gr._ericae	28
Igarapé do Japiim	<i>Hyphessobrycon</i> _gr._heterorhabdus	12
Igarapé do Japiim	<i>Iguanodectes</i> _geisleri	1
Igarapé do Japiim	<i>Ilisha</i> _amazonica	1
Igarapé do Japiim	<i>Myloplus</i> _lobatus	3
Igarapé do Japiim	<i>Myloplus</i> _rubripinnis	1
Igarapé do Japiim	<i>Odontocharacidium</i> _aphanes	2
Igarapé do Japiim	<i>Pellona</i> _castelneana	1
Igarapé do Japiim	<i>Pinirampus</i> _pirinampu	1
Igarapé do Japiim	<i>Plagioscion</i> _squamosissimus	1
Igarapé do Japiim	<i>Serrasalmus</i> _sp.	1
Igarapé do Mingau	<i>Acestridium</i> _dichromum	27
Igarapé do Mingau	<i>Apistogramma</i> _cf._agassizi	5
Igarapé do Mingau	<i>Astyanax</i> _sp.	1
Igarapé do Mingau	<i>Carnegiella</i> _strigata	2
Igarapé do Mingau	<i>Copella</i> _nattereri	13
Igarapé do Mingau	<i>Crenicichla</i> _regani	1
Igarapé do Mingau	<i>Elachocharax</i> _pulcher	6
Igarapé do Mingau	<i>Erythrinus</i> _erythrinus	1
Igarapé do Mingau	<i>Gladioglanis</i> _sp._n.	17
Igarapé do Mingau	<i>Gnathocharax</i> _steindachneri	1
Igarapé do Mingau	<i>Helogenes</i> _marmoratus	6
Igarapé do Mingau	<i>Hemigrammus</i> _bellotti	1
Igarapé do Mingau	<i>Hemigrammus</i> _sp.	5
Igarapé do Mingau	<i>Hoplías</i> _malabaricus	1
Igarapé do Mingau	<i>Hypopygus</i> _lepturus	1
Igarapé do Mingau	<i>Microcharacidium</i> _sp._n.	5
Igarapé do Mingau	<i>Microsternarchus</i> _cf._bilineatus	13
Igarapé do Mingau	<i>Pyrrhulina</i> _brevis	3
Igarapé do Mingau	<i>Synbranchus</i> _marmoratus	1
Igarapé do Mingau	<i>Taeniacara</i> _candidi	1
Igarapé do Saranzal	<i>Acaronia</i> _nassa	1
Igarapé do Saranzal	<i>Ammocryptocharax</i> _sp.	1

Igarapé do Saranzal	Brachyhypopomus_sp.	27
Igarapé do Saranzal	Copella_cf._callolepis	1
Igarapé do Saranzal	Dicrossus_maculatus	1
Igarapé do Saranzal	Elachocharax_junki	4
Igarapé do Saranzal	Elachocharax_pulcher	25
Igarapé do Saranzal	Elachocharax_sp._n.	2
Igarapé do Saranzal	Gladioglanis_conquistador	6
Igarapé do Saranzal	Helogenes_marmoratus	1
Igarapé do Saranzal	Hyphessobrycon_sp.	9
Igarapé do Saranzal	Hypopygus_lepturus	2
Igarapé do Saranzal	Microcharacidium_sp._n.	5
Igarapé do Saranzal	Microsternarchus_cf._brevis	2
Igarapé do Saranzal	Otocinclus_cf._mura	12
Igarapé do Saranzal	Physopyxis_lyra	61
Igarapé do Saranzal	Potamoglanis_anhanga	25
Igarapé do Saranzal	Potamoglanis_hasemani	1
Igarapé do Saranzal	Steatogenys_duidae	1
Igarapé do Saranzal	Synbranchus_sp.	1
Igarapé do Treze	Acestrorhynchus_microlepis	1
Igarapé do Treze	Ageneiosus_lineatus	1
Igarapé do Treze	Agoniates_anchovia	2
Igarapé do Treze	Anodus_orinocensis	3
Igarapé do Treze	Apistogramma_sp.	10
Igarapé do Treze	Astyanax_sp.	1
Igarapé do Treze	Brachyhypopomus_cf._brevirostre	3
Igarapé do Treze	Brachyhypopomus_sp._2	6
Igarapé do Treze	Brycon_melanopterus	1
Igarapé do Treze	Cichla_temensis	1
Igarapé do Treze	Copella_nattereri	8
Igarapé do Treze	Crenuchus_spilurus	2
Igarapé do Treze	Elachocharax_sp._n.	7
Igarapé do Treze	Gladioglanis_conquistador	18
Igarapé do Treze	Gladioglanis_sp._n.	1
Igarapé do Treze	Hemiodus_immaculatus	3
Igarapé do Treze	Hoplias_malabaricus	3
Igarapé do Treze	Hyphessobrycon_ericae	19
Igarapé do Treze	Hypopygus_lepturus	2
Igarapé do Treze	Microsternarchus_bilineatus	7
Igarapé do Treze	Pyrrhulina_cf._beni	2
Igarapé do Treze	Rhaphiodon_vulpinus	2
Igarapé do Treze	Steatogenys_duidae	1
Igarapé do Treze	Symbranchus_marmoratus	2
Igarapé Maria Gerônimo	Apistogramma_sp.	14
Igarapé Maria Gerônimo	Axelrodia_cf._riesei	1
Igarapé Maria Gerônimo	Carnegiella_marthae	7
Igarapé Maria Gerônimo	Carnegiella_strigata	4

Igarapé Maria Gerônimo	<i>Copella_cf._callolepis</i>	2
Igarapé Maria Gerônimo	<i>Copella_nattereri</i>	8
Igarapé Maria Gerônimo	<i>Copella_sp._n.</i>	1
Igarapé Maria Gerônimo	<i>Crenicichla_regani</i>	3
Igarapé Maria Gerônimo	<i>Crenuchus_spilurus</i>	1
Igarapé Maria Gerônimo	<i>Curimatopsis_cf._evelynae</i>	28
Igarapé Maria Gerônimo	<i>Dicrossus_warzeli</i>	1
Igarapé Maria Gerônimo	<i>Fluviphylax_cf._pygmaeus</i>	11
Igarapé Maria Gerônimo	<i>Gladioglanis_sp._n.</i>	2
Igarapé Maria Gerônimo	<i>Gnathocharax_steindachneri</i>	4
Igarapé Maria Gerônimo	<i>Hemigrammus_bellotti</i>	2
Igarapé Maria Gerônimo	<i>Hemigrammus_coeruleus</i>	5
Igarapé Maria Gerônimo	<i>Hemigrammus_vorderwinkleri</i>	8
Igarapé Maria Gerônimo	<i>Hoplias_malabaricus</i>	3
Igarapé Maria Gerônimo	<i>Hyphessobrycon_gr._copelandi</i>	1
Igarapé Maria Gerônimo	<i>Microsternarchus_sp.</i>	6
Igarapé Maria Gerônimo	<i>Nannostomus_eques</i>	1
Igarapé Maria Gerônimo	<i>Nannostomus_trifasciatus</i>	1
Igarapé Maria Gerônimo	<i>Physopyxis_lyra</i>	2
Igarapé Santo Antônio	<i>Astyanax_sp.</i>	3
Igarapé Santo Antônio	<i>Brachyhypopomus_sp.1</i>	6
Igarapé Santo Antônio	<i>Elachocharax_junki</i>	1
Igarapé Santo Antônio	<i>Erythrinus_erythrinus</i>	1
Igarapé Santo Antônio	<i>Gladioglanis_conquistador</i>	4
Igarapé Santo Antônio	<i>Hoplias_malabaricus</i>	1
Igarapé Santo Antônio	<i>Hyphessobrycon_ericae</i>	5
Igarapé Santo Antônio	<i>Hypopygus_lepturus</i>	3
Igarapé Santo Antônio	<i>Microcharacidium_sp._n.</i>	2
Igarapé Santo Antônio	<i>Microsternarchus_sp.</i>	5
Igarapé Santo Antônio	<i>Physopyxis_lyra</i>	1
Igarapé Santo Antônio	<i>Pyrrhulina_brevis</i>	1