

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS -CAMPUS DE BOTUCATU
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ESTRUTURAL E FUNCIONAL

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(ZOOLOGIA)

**Uso do DNA *barcoding* na identificação e monitoramento da
ictiofauna e do ictioplâncton em lagos de proteção, manejo e
exploração na região do baixo rio Purus**

Bruno Ferezim Morales

BOTUCATU-SP

2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS -CAMPUS DE BOTUCATU
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ESTRUTURAL E FUNCIONAL

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(ZOOLOGIA)

Uso do DNA *barcoding* na identificação e monitoramento da ictiofauna e do ictioplâncton em lagos de proteção, manejo e exploração na região do baixo rio Purus

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia) do Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor.

Proponente: Me. Bruno Ferezim Morales

Orientador: Prof. Dr. Claudio de Oliveira

BOTUCATU-SP

2023

M828u

Morales, Bruno Ferezim

Uso do DNA barcoding na identificação e monitoramento da ictiofauna e do ictioplâncton em lagos de proteção, manejo e exploração na região do baixo rio Purus / Bruno Ferezim Morales. -- Botucatu, 2023

179 f. : il., tabs., fotos, mapas

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Botucatu

Orientador: Cláudio de Oliveira

1. Zoologia. 2. Conservação. 3. Ictiologia. 4. Peixes Neotropicais. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Resumo

A categorização de áreas protegidas é um importante instrumento para balizar o uso dos recursos pesqueiros. No entanto, a delimitação dessas áreas normalmente é pautada no conhecimento tradicional e levantamentos pontuais da ictiofauna. Nesse contexto a ferramenta molecular DNA *barcoding* pode atuar como instrumento de monitoramento, gerando informações robustas para o enquadramento das áreas protegidas nas diversas categorias, bem como no auxílio da implementação de estratégias de conservação. Diante disso, o presente estudo objetivou verificar a eficiência do DNA *barcoding* na identificação de ovos, larvas e adultos de espécies-alvo de peixes da região do baixo rio Purus na Reserva de Desenvolvimento Sustentável Piagaçu Purus (RDS-PP) e Reserva Biológica (Rebio) Abufari, bem como a efetividade das diferentes categorias dos lagos para o manejo e conservação da ictiofauna. As amostragens ocorreram em 13 locais, oito fixos e 12 variáveis, categorizados como proteção, aberto ou de manejo. O estudo foi composto pelas etapas experimentais: (i) coleta de material biológico; (ii) extração do DNA; (iii) sequenciamento de DNA *barcoding*; (iv) alinhamento de sequências de DNA de espécies-alvo *versus* ictioplâncton; e (v) identificação dos exemplares de espécies-alvo. Através do cruzamento e alinhamento de sequências de DNA do banco de dados de espécies alvo e das sequências de ictioplâncton, foi possível identificar quais espécies demonstram comportamento reprodutivo no ambiente amostrado, e em qual período do ciclo hidrológico e categoria de uso dos lagos cada espécie-alvo ocorre. Dessa forma foi possível compor um banco de dados abrangente e lastreado por material testemunho depositado em coleção biológica, avaliar os padrões reprodutivos das espécies-alvo identificadas pelo DNA *barcoding*, validar a categorização dos lagos e propor ações de manejo e conservação dos recursos pesqueiros.

Palavras-chave: Conservação, Áreas Protegidas, Sequenciamento Sanger, Peixes Neotropicais.

Abstract

The categorization of protected areas is an important tool to drive exploitation of fisheries. However, the delimitation of these areas is usually based on traditional knowledge and on specific surveys of fish communities. In this context, the molecular tool DNA *barcoding* can act as monitoring tools, generating robust information for classifying areas into different categories, as well as helping to implement conservation strategies. Thus, this present study aims to verify the efficiency of DNA *barcoding* in the identification of eggs, larvae, and adults of target species of fish from the lower Purus River region in the RDS-PP and Rebio Abufari, and the effectivity of different lakes categories to management and conservation of ichthyofauna. Sampling was taken in 13 locations, eight fixed and 12 variables, categorized as protection, open access or management. The study gathered the experimental steps: (i) biological sampling; (ii) DNA extraction; (iii) DNA barcoding sequencing; (iv) alignment of DNA sequences of target species versus ichthyoplankton; and (v) identification specimens of target species. The ichthyofauna was sampled with gillnet, macrophyte encirclement, beach trawl, sieve and benthic trawl. The ichthyoplankton was collected with a conical plankton net. The fish species were framed as target species based on legal restriction criteria, commercial and ornamental importance, and conservation status, forming the DNA *barcoding* database of fishes and ichthyoplankton sequences. By crossing and aligning DNA sequences from the genomic library of the target species and the ichthyoplankton sequences, the potential species that reproduces in the sampled environment were identified, and which category of the lakes and hydrological period they used during reproduction. In this way, it was possible to compose a comprehensive database backed by testimonial material deposited in a biological collection, evaluate the reproductive patterns of the target species identified by DNA barcoding, validate the categorization of lakes and propose management and conservation actions for fishing resources.

Keywords: Conservation, Protected Areas, Sanger Sequencing, Neotropical Fishes.

Agradecimentos

Ao meu orientador Prof.º Dr. Cláudio de Oliveira, pela confiança e oportunidade oferecida para desenvolver este trabalho.

Aos amigos do Laboratório de Biologia e Genética de Peixes - LBP/UNESP.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Zoologia) e à Seção Técnica de Pós Graduação.

Ao Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia e à Universidade Federal do Amazonas pelo afastamento para capacitação em nível de Doutorado.

A Fundação de Amparo à pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) pela concessão da bolsa de estudos (Programa de Apoio a Pós Graduandos fora do Estado do Amazonas POSGFE/ FAPEAM, Edital N.º 012/2021).

Ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Água Doce e Pesca Interior do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia pelo suporte logístico no âmbito do Programa Ecológico de Longa Duração PELD-DIVA, em especial ao amigo, Dr. Jansen Alfredo Sampaio Zuanon.

A minha esposa Rafaela Priscila Ota, pela dedicação, suporte e parceria incondicional.

Ao meu filho Francisco Ota Morales pela inspiração.

Aos meus pais e irmãos por todo o suporte durante os momentos de maior dificuldade ao longo de todo o processo.

A todos os demais familiares que consistiram no imprescindível grupo de apoio quando necessário.

As colegas de laboratório Mariana, Letícia, Gabriela e Larissa pelo auxílio nos procedimentos laboratoriais.

As colegas de laboratório Mariana, Jeferson e Tiago pelo auxílio nos procedimentos de coleta de material biológico no rio Purus.

Aos amigos do grupo de discussão de artigos do LBP/UNESP, que desempenharam um papel importante na construção do pensamento crítico sobre diversos aspectos da taxonomia e sistemática de peixes.

E a todos que direta e indiretamente fizeram parte da realização deste trabalho.

Muito obrigado!

Lista de Figuras, Quadros e Tabelas

Parte Geral

- Figura 1.** Localização geográfica e limites territoriais da Reserva de Desenvolvimento Sustentável Piagaçu-Purus (RDS-PP) e Reserva Biológica de Abufari, no trecho baixo do rio Purus, Amazonas, Brasil..... 12
- Tabela 1.** Locais de coleta nas áreas de influência da RDS Piagaçu-Purus e Rebio Abufari, com informações sobre localização geográfica, nome da unidade de conservação que estão inserido e respectivo setor administrativo, categorização quanto ao uso dos recursos naturais e tipo de amostragem. 13
- Figura 2.** Localização geográfica e distribuição espacial dos locais de coleta na Reserva de Desenvolvimento Sustentável Piagaçu-Purus e Reserva Biológica de Abufari, no trecho baixo do rio Purus, Amazonas, Brasil (numeração na cor branca representa locais com amostragem fixa e numeração na cor amarela locais com amostragem variável). 14

Capítulo 1

- Quadro 1.** Conjuntos de *primers* utilizados para amplificação e sequenciamento do gene mitocondrial Citocromo oxidase subunidade I (COI) das espécies de peixes coletadas em áreas protegidas do baixo rio Purus, Estado do Amazonas.29
- Quadro 2.** Critérios, premissas e decisões para cada cenários de tomada de decisão frente as comparações da identificação original da espécie com a identificação da espécie com maior similaridade genética de DNA *barcoding* depositada nos bancos de dados BOLD e Genbank. ... 33
- Figura 1.** Gráfico do tipo PieDonut com ordens e famílias de peixes neotropicais registradas nos locais de coleta fixos e variáveis da RDS-PP e Rebio Abufari, com representação da participação de cada ordem em relação número de famílias (área Pie do gráfico) e famílias por ordem (área donut do gráfico). 35
- Figura 2.** Dados comparativos entre os principais banco de dados de espécies publicados para a bacia do rio Purus ou para o seu trecho inferior (baixo rio Purus), com informações sobre número total de espécies listadas em cada estudo (riqueza), espécies comuns nos trabalhos e no presente estudo (sobreposição) e número de espécies coletadas que não constavam nas listas publicadas (incremento). 36
- Tabela 1.** Lista das espécies de peixes capturadas na Reserva de Desenvolvimento Sustentável Piagaçu-Purus (RDS-PP) e Reserva Biológica de Abufari (Rebio Abufari), no baixo rio Purus, entre 2020 e 2022.As referências para a classificação utilizada estão listadas na seção Material e Métodos. (Voucher LBP: número da amostra de tecido na coleção genética do Laboratório de Biologica e Genética de Peixes da Unesp-Botucatu; N° LBP: número de identificação de cada lote na coleção ictiológica do Laboratório de Biologica e Genética de Peixes da Unesp-Botucatu; Local: 1.Lago Caraipé; 2.Lago Tendalzinho ; 3.Lago Peauzinho; 4.Lago Apuí; 5.Lago Itapurú Mirim; 6.Lago Xaviana; 7.Rio Purus (RDS-PP); 8.Lago Furrielzinho; 9.Lago Assoalhador; 10.Lago Mosca 11.Igarapé do Chapéu; 12.Rio Purus (Rebio) e 13.Lago Japa;ECE: Enquadramento quanto aos critérios de elegibilidade: Restrição Legal: PLA - Portaria IBAMA nº 48 de 05 de novembro de 2007; PLB - Instrução Normativa Nº 35 de 29 de setembro de 2005; PLC - Instrução Normativa IBAMA Nº 34 de 18 de junho de 2004; PLD - Instrução Normativa IBAMA Nº 1 de 1 de junho de 2005; PLF - Portaria SAP/MAPA Nº 1.082 de 22 de junho de 2022; Importância Econômica: IC - Santos et al., (2009); Importância para aquariofilia ou uso ornamental: AO - Instrução Normativa Interministerial MAPA/MMA Nº1 de 3 de janeiro de 2012; AO2 - Resolução CEMAM Nº 24 de 18 de agosto de 2017; Categoria na Lista Nacional de Espécies Ameaçadas de Extinção: AE - Portaria MMA nº 148, de 07 de junho de 2022; BOLD (Ident. Engine): nome da espécie referente a sequência com maior similaridade obtida pela ferramenta Identification Engine em pesquisa na base de dados genéticos BOLD; Similar.: percentagem de similaridade (%); BOLD BIN: número único de identificação de cada sequência no banco de dados BOLD; Genbank (Blast): nome da espécie referente a sequência com maior identidade obtida pela ferramenta Blast em pesquisa na base de dados genéticos Genbank; Perc. Ident.: percentagem de identidade (%); Genbank ID: número único de identificação de cada

sequência no banco de dados Genbank; número em negrito: correspondência entre Voucher LBP e N° LBP); *: COI da espécie inexistente apenas no Genbank; **: COI da espécie inexistente apenas no BOLD; ***: COI da espécie inexistente no Genbank e BOLD . As cores verde, laranja e em branco representam respectivamente os cenários 1, 2 e 3 descritos no Quadro 2.	39
Figura 3. Numero de espécies enquadradas por cenários do Quadro 2, com destaque para existência/inexistência de registros de espécies nos bancos de dados genéticos em cada um dos cenários.	81
Tabela 2. Pares de espécies de peixes de água doce que apresentaram divergência genética menores que 2%, calculado com base no modelo de substituição nucleotídica Kimura-2-parâmetros (K2P)	82
Figura 4. Número de espécies de peixes registradas por local de amostragem de acordo com a categorização quanto ao uso/apropriação dos recursos naturais (aberto, proteção e manejo) na RDS-PP e Rebio Abufari, com base nas espécies enquadradas como espécies-alvo e nas categorias de enquadramento presença de restrição legal (PL), importância comercial (IC) e importância para aquariofilia ou uso ornamental (AO).	83
Figura 5. Número total e número de espécies exclusivas por local fixo de amostragem de acordo com a categorização quanto ao uso/apropriação dos recursos naturais (aberto, proteção e manejo) na RDS-PP e Rebio Abufari, distribuídos por período do ano (evento de coleta).	85
Figura 6. Número de espécies de peixes registradas por local fixo de amostragem de acordo com a categorização quanto ao uso/apropriação dos recursos naturais (aberto, proteção e manejo) na RDS-PP e Rebio Abufari, com ênfase na dinâmica temporal de captura considerando os períodos hidrológicos abrangidos pelas amostragens.	87

Capítulo 2

Quadro 1. Conjuntos de <i>primers</i> utilizados para amplificação e sequenciamento do gene mitocondrial Citocromo oxidase subunidade I (COI) das espécies de peixes coletadas em áreas protegidas do baixo rio Purus, Estado do Amazonas.	119
Figura 1. Morfotipos de ictioplâncton amostrados na RDS-PP e Rebio Abufari entre os anos de 2020 e 2022 nos locais fixos de amostragem (M: Morfotipo).....	123
Figura 2. Gráfico do tipo PieDonut com ordens e famílias de larvas e ovos de peixes neotropicais identificadas nos locais de coleta fixos da RDS-PP e Rebio Abufari, com representação de ordens (área Pie do gráfico) e famílias com respectivo morfotipo identificado por ordem (área donut do gráfico).	124
Tabela 2. Lista dos morfotipos de ictioplâncton, com descrição do estágio ontogenético, identificação proposta com base em caracteres morfológicos, identificação molecular com base na comparação das sequências obtidas com a base de dados (ver Resultados, Capítulo 1), espécies de peixes capturadas na Reserva de Desenvolvimento Sustentável Piagaçu-Purus (RDS-PP) e Reserva Biológica de Abufari (Rebio Abufari), e distância genética em com base no método Kimura-2-parâmetros (K2P), obtido a partir de 1000 repetições pelo método Bootstrap.ECE: Enquadramento quanto aos critérios de elegibilidade: Restrição Legal: PLA - Portaria IBAMA nº 48 de 05 de novembro de 2007; ; Importância Econômica: IC - Santos et al., (2009); Importância para aquariofilia ou uso ornamental: AO - Instrução Normativa Interministerial MAPA/MMA Nº1 de 3 de janeiro de 2012. Os dendrogramas representativos dos valores de distância genética entre os morfotipos e as espécies definidas pela identificação molecular são apresentados no Material Suplementar 4.	125
Tabela 3. Relação de espécies identificadas (recuperadas) por amostras de ictioplâncton pela técnica de DNA barcoding, a partir dos morfotipos de ovos e larvas coletadas no baixo rio Purus, área de influência da RDS Piagaçu-Purus e Rebio Abufaria. Também são apresentadas informações sobre abundância do ictioplâncton, período e local de coleta, categoria do lago e nome da unidade de conservação, além da porcentagem de espécies recuperadas pelo DNA barcoding por amostra.	127
Figura 3. Abundância de ovos e larvas de peixes coletados na RDS-PP e Rebio Abufari entre os anos de 2020 e 2022 nos locais fixos de amostragem, distribuídos por evento de coleta e por categoria de uso/apropriação dos recursos naturais	129
Figura 4. Número de pools de larvas de peixes coletados na RDS-PP e Rebio Abufari entre os anos	

de 2020 e 2022 nos locais fixos de amostragem, distribuídos por evento de coleta, por categoria de uso/apropriação dos recursos naturais e por Unidade de Conservação.	130
Tabela 4. Número de <i>pools</i> de ovos de peixes coletados na RDS-PP e Rebio Abufari entre os anos de 2020 e 2022 nos locais fixos de amostragem, distribuídos por evento de coleta, por categoria de uso/apropriação dos recursos naturais e por Unidade de Conservação.	131

Material Suplementar 1

Figura 1. Dendrograma das famílias Pristigasteridae e Engraulidae (Clupeiformes), gerada pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).	148
Figura 2. Dendrograma da família Acestrorhynchidae (Characiformes), gerada pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).	148
Figura 3. Dendrograma da família Anostomidae (Characiformes), gerada pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).	149
Figura 4. Dendrograma da família Characidae(Characiformes), excetuando-se a sub-família Stethaprioninae, gerada pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).	149
Figura 5. Dendrograma da sub-família Stethaprioninae (Characidae; Characiformes), gerada pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).	150
Figura 6. Dendrograma da família Curimatidae (Characiformes), gerada pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).	150
Figura 7. Dendrograma da família Cynodontidae (Characiformes), gerada pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).	151
Figura 8. Dendrograma da família Hemiodontidae (Characiformes), gerada pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).	151
Figura 9. Dendrograma da família Lebiasinidae (Characiformes), gerada pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).	152
Figura 10. Dendrograma da família Serrasalmidae (Characiformes), gerada pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).	152
Figura 11. Dendrograma da família Triportheidae (Characiformes), gerada pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).	153
Figura 12. Dendrograma da família Apterontidae (Gymnotiformes), gerada pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).	153

Figura 13. Dendrograma da família Hypopomidae (Gymnotiformes), gerada pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).	154
Figura 14. Dendrograma da família Rhamphichthyidae (Gymnotiformes), gerada pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).	154
Figura 15. Dendrograma da família Sternopygidae (Gymnotiformes), gerada pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).	155
Figura 16. Dendrograma da família Auchenipteridae (Siluriformes), gerada pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).	155
Figura 17. Dendrograma da família Callichthyidae (Siluriformes), gerada pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).	156
Figura 18. Dendrograma da família Doradidae (Siluriformes), gerada pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).	156
Figura 19. Dendrograma da família Loricariidae (Siluriformes), gerada pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).	157
Figura 20. Dendrograma da família Pimelodidae (Siluriformes), gerada pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).	157
Figura 21. Dendrograma da família Synbranchidae (Synbranchiformes), gerada pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).	158
Figura 22. Dendrograma da família Cichlidae (Cichliformes), gerada pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).	158
Figura 23. Dendrograma das famílias Scianidae (<i>Incertae sedis</i> em nível de ordem em Eupercaria) e Polycentridae (<i>Incertae sedis</i> em nível de ordem em Ovalentaria), gerada pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).	159

Material Suplementar 3

Figura 1. Dendrograma do morfotipo larval 1 (M1) e espécies mais similares, gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).	164
Figura 2. Dendrograma dos morfotipos larvais 3 e 4 (M3 e M4) e espécies mais similares, gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).	164

- Figura 3.** Dendrograma do morfotipo larval 5 (M5) e espécies mais similares, gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P). 165
- Figura 4.** Dendrograma do morfotipo larval 6 (M6) e espécies mais similares, gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P). 165
- Figura 5.** Dendrograma do morfotipo larval 7 (M7) e espécies mais similares, gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P). 166
- Figura 6.** Dendrograma do morfotipo larval 8 (M8) e espécies mais similares, gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P). 166
- Figura 7.** Dendrograma do morfotipo larval 9 (M9) e espécies mais similares, gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P). 167
- Figura 8.** Dendrograma do morfotipos larvais 12 e 21 (M12 e M21) e espécies mais similares, gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P). 167
- Figura 9.** Dendrograma do morfotipo larval 22 (M22) e espécies mais similares, gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P). 168
- Figura 10.** Dendrograma do morfotipo larval 24 (M24) e espécies mais similares, gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P). 168

Sumário

Prefácio	1
Introdução geral	2
Justificativa	7
Área de estudo	9
Objetivos geral	15
Objetivos específicos - Capítulo 1	15
Objetivos específicos - Capítulo 2	15
Estrutura da tese	16
Capítulo 1 - Construção de um banco de dados abrangente de DNA <i>barcoding</i> de peixes de áreas protegidas no baixo rio Purus, Amazonas e definição de espécies-alvo para fins de conservação e manejo.	16
Capítulo 2 - Monitoramento de espécies-alvo de peixes de interesse para conservação e manejo em lagos de diferentes categorias inseridos em áreas protegidas no baixo rio Purus: aplicação do DNA <i>barcoding</i> em amostras de ictioplâncton.	16
Referências bibliográficas	16
Capítulo 1. Construção de um banco de dados abrangente de DNA <i>barcoding</i> de peixes de áreas protegidas no baixo rio Purus, Amazonas e definição de espécies-alvo para fins de conservação e manejo.	24
Resumo:	24
Introdução	25
Material e Métodos	27
Amostragens de material biológico	27
Extração, amplificação e sequenciamento do DNA	29
Banco de dados de DNA <i>barcoding</i> e delimitação de espécies-alvo	30
Análise de dados	31
Resultados	34
Discussão	87
Considerações finais	99
Referências bibliográficas	100
Capítulo 2. Monitoramento de espécies-alvo de peixes de interesse para conservação e manejo em lagos de diferentes categorias inseridos em áreas protegidas no baixo rio Purus: aplicação do DNA <i>barcoding</i> em amostras de ictioplâncton	113
Resumo:	113
Palavras-chave: Peixes Neotropicais, Ovos e Larvas, Categorização de Lagos, Amazônia.	113
Introdução	114
Material e métodos	118
Amostragens de material biológico	118
Extração, amplificação e sequenciamento do DNA	119
Análise de dados	120
Resultados	121
Discussão	131
Considerações finais	138
Referências bibliográficas	138
Material Suplementar 1	148
Material Suplementar 2	160
Material Suplementar 3	164

Prefácio

O estudo do uso do DNA barcoding na identificação e monitoramento da ictiofauna e do ictioplâncton em lagos de proteção, manejo e exploração na região do baixo rio Purus é apresentado aqui em dois capítulos. O primeiro é intitulado: Construção de um banco de dados abrangente de DNA *barcoding* de peixes de áreas protegidas no baixo rio Purus, Amazonas e definição de espécies-alvo para fins de conservação e manejo. Este capítulo apresenta um banco de dados genético baseado no marcador mitocondrial Citocromo Oxidase Subunidade I (COI) das espécies de peixes do baixo rio Purus, na área de influência da Reserva de Desenvolvimento Sustentável Piagaçu-Purus e Reserva Biológica de Abufari, além de definir a partir de critérios de elegibilidade o conjunto de espécies-alvo, de interesse para ações de conservação e manejo. O segundo capítulo é intitulado: Monitoramento de espécies-alvo de peixes de interesse para conservação e manejo em lagos de diferentes categorias inseridos em áreas protegidas no baixo rio Purus: aplicação do DNA *barcoding* em amostras de ictioplâncton. Este capítulo busca identificar os morfotipos de ovos e larvas por meio da técnica DNA *barcoding* e discutir os padrões reprodutivos das espécies-alvo nos diferentes tipos de lago (proteção, manejo e aberto) e diferentes períodos do ciclo hidrológico. Este estudo, representa um grande avanço no conhecimento da diversidade de peixes de água doce do baixo rio Purus, e ressalta a importância de ferramentas moleculares no monitoramento, validação e proposição de ações e estratégias de conservação e manejo dos recursos pesqueiros em áreas protegidas inseridas em planícies de inundação amazônicas.

Introdução geral

O planejamento de ações direcionadas a conservação da biodiversidade deve considerar, dentre outros fatores, a distribuição dos seres vivos no espaço através do tempo. Do ponto de vista biogeográfico a distribuição de muitas espécies de plantas e animais terrestres corrobora com a geografia do sistema do rio principal (Wallace, 1876). Da mesma forma, as divisões entre bacias hidrográficas podem circunscrever a distribuição geográfica de táxons aquáticos como peixes de água doce (Lundberg *et al.*, 1998).

Assim, pela distribuição geográfica dos organismos, pode-se diagnosticar as áreas e assim classificá-las adequadamente por meio dos padrões de organização espacial e os processos que resultaram em tais padrões (Humphries, 1999). Para isso é necessário ampliar a capacidade de medir a biodiversidade de maneira abrangente, confiável, repetida e em diferentes escalas (Yu *et al.*, 2012), e dessa forma delimitar a unidade geoespacial focal de atuação para monitoramento e conservação da biodiversidade.

Em escala global, a superfície terrestre foi inicialmente dividida em regiões zoogeográficas com base na distribuição de táxons de aves (Sclater, 1858), e posteriormente ampliada por Wallace (1876) para outros táxons de vertebrados. No entanto, as regiões biogeográficas são grandes demais para o planejamento de ações de conservação (Abell *et al.*, 2008), e sua aplicabilidade para a maioria dos táxons de água doce torna-se imprecisa devido a elevada magnitude e heterogeneidade espacial (Berra, 2001; Vinson e Hawkins, 2003).

Nesse contexto, as regiões biogeográficas foram subdivididas em ecorregiões, que consistem em grandes áreas (unidades geoespaciais) que englobam um ou mais sistemas de água doce com uma assembleia distinta de comunidades e espécies (Dinerstein *et al.*, 1995), com marcada aplicabilidade para ações de conservação, pois representam os padrões de variáveis ambientais e ecológicas conhecidos por influenciar distribuição de características da biodiversidade em larga escala (Groves *et al.*, 2002).

Entretanto, os dados que descrevem as espécies de água doce e os processos ecológicos são caracterizados por lacunas acentuadas e variação de qualidade e consistência. A qualidade dos dados é geralmente considerada alta para a América do Norte, Austrália, Nova Zelândia, Japão, Europa Ocidental e Rússia; moderado para a América Central, o cone sul da América do Sul, a África meridional e ocidental, a Oceania e o Oriente Médio; e pobre para grande parte sudeste da Ásia, África Central e Oriental e América do Sul ao norte da bacia do rio Paraná (Abell *et al.*, 2008).

A atribuição de dados de espécies de água doce a ecorregiões é um primeiro passo importante para regiões com poucos dados. Organizações ou agências com mandatos regionais podem optar por comparar valores de biodiversidade entre ecorregiões no processo de estabelecimento de prioridades em ações de conservação em escala continental (Thieme *et al.*, 2005; Abell *et al.*, 2008). Na escala de bacia hidrográfica, as ecorregiões podem ajudar a introduzir informações sobre a biodiversidade em atividades de gestão de recursos hídricos ou de bacias integradas (Gilman *et al.*, 2004), atuando como unidades fundamentais para a conservação da biodiversidade e manutenção de serviços ambientais.

Os projetos atuais que realizam avaliações da biodiversidade de água doce concentram-se principalmente em grupos mais conhecidos, como peixes e moluscos, ou em identificar espécies-chave e/ou sistemas de água doce endêmicos para fins de conservação (Lévêque *et al.*, 2005). Nesse contexto, a definição das ecorregiões de água doce foi realizada com base no conjunto de informações disponíveis nas bases de dados e na literatura, a partir da distribuição e composição da ictiofauna de água doce, considerando também os padrões evolutivos e ecológicos (Abell *et al.*, 2008).

A região biogeográfica Neotropical compreende grande parte da América do Sul, América Central e chega ao norte até o centro do México (Sclater, 1858; Wallace, 1876). Destaca-se por abrigar a mais diversa fauna de peixes de água doce do planeta, com estimativas que excedem de 8.000 espécies (Schaefer, 1998) a 9.000 espécies (Reis *et al.*, 2016). A América do Sul, com domínio das bacias hidrográficas da Amazônia, Orinoco e Paraná-Paraguai, agrega cerca de 67% das ecorregiões biogeográficas neotropicais propostas por Abell *et al.* (2008) e a maior parte da diversidade de peixes neotropicais, com mais de 5.500 espécies de água doce formalmente descritas (Cassemiro *et al.*, 2023).

A bacia amazônica é formada por múltiplas fisionomias e possui a maior e mais diversificada hidrografia do planeta (Goulding *et al.*, 2003; Venticinque *et al.*, 2016), formada por 25.000 km de rios navegáveis, cobrindo uma área superior a 8.000.000 km² (Sioli, 1984, IBGE, 2010) e dez ecorregiões biogeográficas (Abell *et al.*, 2008). É constituída por um grande domínio de terras baixas florestadas, enclausuradas entre as barreiras impostas pelas terras cisandinas e pelas bordas dos planaltos brasileiro e guianense (Ab' Sáber, 2003), compreendendo cerca de 17% do total de água doce água do mundo (Reis *et al.*, 2016).

Todo o sistema do rio Amazonas exhibe água branca, embora receba outros tipos de água de vários afluentes. A diversidade ambiental na Amazônia é ampliada pelos diferentes tipos de água, como as águas pretas do rio Negro, as brancas do rio Amazonas e as claras do rio Tapajós. Os corpos d'água de todas as formas e origens criam um plano topográfico singular com um extensivo conjunto de áreas de transição entre o ambiente aquático e a terra

firme (Sioli, 1984), denominadas áreas alagáveis (várzeas ou igapós). As áreas alagáveis amazônicas associadas aos grandes rios são definidas como ambientes que recebem, periodicamente, o aporte lateral de águas desses rios devido à flutuação anual de seus níveis e nesse contexto mais de 20 % da região Amazônica pode ser considerada área úmida (Junk, 2000).

Os rios amazônicos de água branca têm altas cargas importantes e nutricionais e pH neutro, drenando uma faixa andina relativamente jovem (Dagosta e de Pinna, 2019). Os principais tributários de águas brancas incluem o Marañón, Purus, Madeira, Juruá, Putumayo, Japurá e Rios Napo. A Amazônia Ocidental, composta pelos estados do Amazonas, Acre, Rondônia e Roraima, detém 42,97% da extensão territorial da Amazônia Legal (IBGE, 2010). Compõem sua drenagem os rios de águas barrentas com cabeceiras nos Andes (Solimões, Madeira e Japurá) e afluentes que drenam as planícies ocidentais como Purus e Juruá (Lima e Ribeiro, 2011), formando as áreas alagáveis popularmente conhecido como várzeas (Sioli 1984).

A fauna de peixes de água doce que habita a bacia amazônica compreende 60 famílias, cerca de 530 gêneros e 2.716 espécies de peixes descritas, das quais mais de 60% são endêmicas da bacia (Dagosta e de Pinna, 2019). Tais números, apesar de expressivos, podem ser subestimados, visto que estimativas indicam a existência de 8.000 a 9.000 espécies apenas na América do Sul (Reis et al., 2016), e novas descrições de espécies têm aumentado abruptamente a riqueza de espécies de peixes (Hoorn e Wesselingh, 2010; Dagosta e de Pinna, 2017). No ano de 2020 foram descritas 218 novas espécies de peixes de água doce, 208 espécies em 2021 e 199 em 2022, totalizando 18.427 espécies de peixes de água doce válidas (Fricke *et al.*, 2023).

Os peixes de água doce são particularmente sensíveis às mudanças e perturbações ambientais (Brander, 2007; Dudgeon 2010; Frederico *et al.*, 2015) e muitos taxa estão em declínio global (Bruton, 1995; Stuart *et al.*, 2004). As principais ameaças aos sistemas hídricos da Amazônia são construção de barragens (Kahn *et al.*, 2014; Lees *et al.*, 2016; Forsberg *et al.*, 2017; Latrubesse *et al.*, 2017), exploração de petróleo e gás natural (Finer *et al.*, 2008), sobrepesca (Petreter *et al.*, 2004; Campos *et al.*, 2015), desmatamento (Lobón-Cerviá *et al.*, 2015) e secas e cheias extremas causadas por mudanças climáticas e intensificadas por desmatamento local (Castello *et al.*, 2013; Freitas *et al.*, 2013). Assim, conservar os notáveis habitats aquáticos e peixes da América do Sul é um desafio crescente diante das rápidas mudanças antropogênicas do século 21 (Reis *et al.*, 2016), especialmente a bacia Amazônica (Jézéquel *et al.*, 2020).

A biodiversidade é um componente chave ecossistema e desempenha um papel importante no bom funcionamento do ecossistema (Sala *et al.*, 2000). Os peixes de água doce fornecem serviços ecossistêmicos vitais para a população humana, incluindo proteínas, recreação (McIntyre *et al.*, 2016) e regulação da cadeia alimentar (Holmlund e Hammer, 1999).

Ações de conservação *in situ* de ecossistemas e fauna aquáticos definem-se como estratégias para manutenção das funções ecossistêmicas de habitat e de produção conforme proposto por De Groot *et al.* (2000). As funções de habitat visam fornecer espaço adequado para espécies em seu ambiente natural, atuando como refúgio (espaço para manutenção) e berçário (espaço adequado para reprodução) das espécies. As funções de produção visam o fornecimento de recursos naturais como alimentos, recursos genéticos e recursos ornamentais (de Groot, 1992; Costanza *et al.*, 1997; de Groot *et al.*, 2000).

Nesse sentido, o zoneamento de áreas naturais para múltiplos fins (manejo, proteção, exploração comercial, exploração ornamental, subsistência etc.) possibilita concatenar em uma mesma matriz espacial a presença de populações tradicionais, a manutenção de serviços ambientais e a conservação de espécies ameaçadas, sobreexploradas ou potencialmente utilizáveis em uma matriz sustentável (ou seja, manejáveis). Todavia, apesar da importância socioambiental, e da combinação de riqueza extraordinária, alto endemismo e ameaça excepcional, poucos esforços de planejamento de conservação em larga escala têm como alvo os sistemas de água doce e suas espécies dependentes (Abell *et al.*, 2008) e essa lacuna se amplifica em âmbito regional e local.

As agências de gestão frequentemente usam conselhos da biodiversidade aquática para priorizar as ações de gestão e medir a eficácia dos esforços de gestão (Bailey *et al.*, 2004; Hubert e Quist, 2010). Como resultado disso, a avaliação o status da diversidade de peixes locais e regionais é um indicador útil de mudanças na biodiversidade regional total e na saúde do ecossistema (Sala *et al.*, 2005; Xenopoulos *et al.*, 2005; Abell *et al.*, 2008).

No entanto, esse conhecimento ainda permanece limitado devido a escassez de informações sobre as relações filogenéticas dentro e entre os muitos grupos de peixes destas áreas, pela fragmentação de informações quanto a diversidade ao nível específico da maior parte dos táxons habitantes da região Neotropical (Vari e Malabarba, 1998). Adicionalmente, o emprego usual de técnicas seletivas de avaliação aquática baseadas na captura ou observação de organismos com redes de espera, armadilhas ou equipamento de pesca (Murphy e Willis, 1996; Bonar *et al.*, 2009), juntamente com a mobilidade de organismos, diminuem as probabilidades de detecção de espécies raras em ambientes aquáticos (Bayley e Peterson, 2001; Mackenzie e Royle, 2005). A precisão desses métodos depende muito sobre

a intensidade dos esforços de amostragem e a suscetibilidade de espécies e indivíduos a capturar (Bonar *et al.*, 2009; Evans *et al.*, 2016).

Esta limitação pode levar a conclusões incorretas de que espécies raras estão ausentes quando estão realmente presentes (Gu e Swihart, 2004). Devido ao fato de que as espécies raras podem contribuir para toda a riqueza da comunidade (Williams, 1964; Cao *et al.*, 2001), o potencial para subestimar a verdadeira riqueza de espécies é frequentemente alto, a menos que o esforço de amostragem seja mais extenso do que o normalmente viável (McDonald, 2004; MacKenzie *et al.*, 2005).

Além disso, várias espécies são difíceis de detectar e de identificar, especialmente durante determinados períodos ou fases de desenvolvimento (ovos e larvas), gerando potenciais influências nos resultados dos estudos (Gotelli e Colwell, 2001; MacKenzie *et al.*, 2005) e contribuindo para a existência de lacunas do conhecimento biológico. Nesse contexto, o aprimoramento e desenvolvimento de técnicas e metodologias voltadas ao incremento do conhecimento da diversidade de peixes é importante, 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; Allan *et al.*, 2005; Barletta *et al.*, 2010).

As técnicas morfométricas e merísticas de avaliação da biodiversidade demandam profissionais altamente qualificados e especializados na identificação de determinados grupos taxonômicos, gerando limitações na identificação de espécies em ambientes de elevada biodiversidade. Diante dessas dificuldades, o uso do DNA *barcoding* como método de identificação resolutivo, tanto para ovos e larvas, quanto para peixes juvenis e adultos, surge como alternativa efetiva para essa problemática.

Com a invenção de amplificação de DNA baseada em PCR (Mullis e Faloona, 1987; Saiki *et al.*, 1988) e o design de *primers* universais (Kocher *et al.*, 1989; Taberlet *et al.*, 1991), a identificação de espécies passou a ser possível por meio do sequenciamento direto de produtos de PCR (Cronin *et al.*, 1991), considerando a existência de abrangentes bibliotecas genéticas de referência. Inicialmente, diferentes regiões nucleares e organelares de DNA foram alvo de amplificação e sequenciamento de DNA, mas a abordagem foi padronizada e passou a ter a designação de DNA *barcoding* (Hebert *et al.* 2003a,b, 2004a,b).

Esta iniciativa é apoiada pelo Consórcio para o Código de Barras da Vida (CBoL; <http://www.barcodeoflife.org/>). Os códigos de barras de DNA (DNA *barcoding*) padronizados são uma região de cerca de 650 pb gene citocromo mitocondrial citocromo oxidase subunidade I (COI) para animais (Hebert *et al.*, 2003). O DNA *barcoding* utiliza genes taxonomicamente informativos para delimitar espécies e designar genes barcodes para

os distintos grupos de seres vivos. Essa abordagem resultou na criação de enormes bancos de dados de referência que incluem sequências de DNA *barcoding*, sendo as principais o GenBank (Benson *et al.*, 2013) e o BOLD (Ratnasingham e Hebert, 2007). Esses bancos de dados de sequências de genes de referência são úteis na atribuição de táxon a uma amostra desconhecida comparando a similaridade de sequências de gene do DNA *barcoding* da amostra com banco de dados de referência.

Alguns pesquisadores usaram fragmentos curtos dos marcadores nucleares ribossômicos 18S e 28S para metazoários (Fonseca *et al.*, 2011, Machida e Knowlton, 2012), mas essas regiões podem subestimar a diversidade de espécies devido à sua lenta taxa de evolução em comparação com outros marcadores mitocondriais (Hillis e Dixon, 1991; Derycke *et al.*, 2010). Fragmentos curtos do gene ribossomal mitocondrial 12S foram utilizados com sucesso para delinear metazoários, no entanto, os bancos de dados de referência taxonômica são limitados para esse marcador em comparação com o gene citocromo c oxidase subunidade I (COI) (Machida e Knowlton, 2012). O COI foi adotado como o gene padrão do barcode para a maioria dos grupos de animais (Schoch *et al.*, 2012) e para gene há o banco de dados taxonômico de referência mais representado em domínio público.

O presente trabalho tem como intuito propor uma metodologia para avaliação rápida da biodiversidade visando o monitoramento de espécies-alvo de peixes de água doce e definição/validação de áreas prioritárias para conservação. Tal proposta embasa-se no cruzamento de sequências obtidas por DNA *barcoding* de amostras de ictioplâncton e da ictiofauna de lagos de várzea com diferentes níveis de uso/apropriação dos recursos naturais no trecho do baixo rio Purus, na área de influência da Reserva de Desenvolvimento Sustentável Piagaçu-Purus e Reserva Biológica de Abufari. O presente estudo envolverá, como questões norteadoras: (i) qual a capacidade de recuperação de informações taxonômicas de espécies-alvo da ictiofauna pela técnica DNA *barcoding* aplicada ao ictioplâncton?; (ii) quais espécies de peixes apresentam ovos ou larvas nos ambientes estudados?; (iii) a relação entre presença presença do ictioplâncton no ambiente pode ser utilizada para definição do tipo de uso do ambiente aquático (i.e. lago)?; (iv) o DNA *barcoding* pode ser utilizado como uma ferramenta rápida para o monitoramento de espécies-alvo de peixes e definição/validação de áreas categorizadas como proteção, manejo e uso aberto dos recursos pesqueiros?

Justificativa

O aspecto mais generalista concernente à realização do presente estudo é atribuir dados de diversidade de espécies do baixo rio Purus, na ecorregião *Áreas Alagadas da Amazônia*, contribuindo assim para o aumento das informações sobre esta área, reconhecidamente pobre ou com lacunas informacionais acerca da biodiversidade aquática (Abell *et al.*, 2008). Complementarmente, o presente estudo visa agregar informações em nível de bacia hidrográfica, contribuindo para o conhecimento da fauna de peixes do rio Purus, marcadamente reconhecido e importante em relação à biodiversidade (Dagosta e de Pinna, 2019) e recursos pesqueiros (Barthem e Fabré, 2003).

Com a investigação concomitante de aspectos biológicos da ictiofauna em diferentes estágios de desenvolvimento (ovos, larvas, juvenis e adultos) será possível ampliar o entendimento do funcionamento e da importância do ecossistema em escala local e dessa forma subsidiar estudos desta natureza como indicadores do *status* regional da biodiversidade, tendo em vista a importância dos tributários (no caso o rio Purus) para o canal principal (rio Solimões) no enriquecimento da diversidade pelo oferecimento de refúgio e áreas de alimentação nas fases iniciais de vida (Fernandes *et al.*, 2004). Dessa forma será possível direcionar ações de conservação ou instrumentos de gestão para áreas de importância ecológica e socioambiental.

Por meio do emprego de técnicas rápidas de investigação da biodiversidade a partir da utilização ferramentas moleculares (DNA *barcoding*) pretende-se validar informações em escala local a fim de propor um modelo de monitoramento de espécies ameaçadas, protegidas, sobreexploradas, de interesse comercial ou ornamental, que poderá ser expandido para outras regiões de várzea da Amazônia, similarmente passíveis de uso sustentável dos recursos naturais, considerando a ampla distribuição e abrangência em larga escala dos critérios de elegibilidade das espécies-alvo. Este modelo pressupõe a identificação de espécie a partir de amostras de ictioplâncton, diminuindo assim a pressão por captura de indivíduos adultos e juvenis para fins científicos e tornando mais objetivos levantamento faunísticos e monitoramentos de médio e longo prazo.

Por fim, a proposta metodológica aqui apresentada poderá ser utilizada como um mecanismo de tomada de decisão para definição e validação de áreas para proteção, manejo e utilização dos recursos naturais (com ênfase nos recursos pesqueiros), visto que a escolha das espécies-alvos para o monitoramento e a recuperação destas espécies pela análise de DNA *barcoding* poderá direcionar qual ambiente apresenta espécies que atendam às especificidades ecológicas e reprodutivas para a finalidade de enquadramento do ambiente a ser categorizado.

Área de estudo

O presente estudo está inserido nas atividades do Programa de Pesquisa Ecológica de Longa Duração – PELD “Diversidade de peixes em resposta a diferentes tipos de manejo em áreas alagáveis da Amazônia: aspectos ecológicos e socioeconômicos - DIVA”, com amostragens de dados já executadas no ciclo quadrienal 2017-2020 (Processos n° 441668/2016-0) e amostragem em andamento no ciclo 2021-2024 (Processos n° 441953/2020-4) em ambientes aquáticos de várzea da Amazônia Central.

O sítio PELD compreende o trecho inferior do rio Purus, e o trecho inferior do rio Solimões entre a foz do rio Purus e a confluência com o rio Negro. Nessa região foram estabelecidos quatro áreas de estudo: (1) Lago Catalão, na confluência dos rios Solimões e Negro, incluído na Área de Proteção Ambiental (APA) municipal Encontro das Águas (Iranduba, AM) sem estratégias formais de manejo pesqueiro; (2) Ilha da Paciência, entre a foz do rio Purus e a confluência Solimões-Negro, também integrante da APA Encontro das Águas, mas que possui um acordo de pesca, implementado pelo Governo do Estado do Amazonas através da IN no 2 de 18 de abril de 2011, onde é realizado o manejo de lagos e manejo do pirarucu, um predador de topo de cadeia trófica; (3) Reserva de Desenvolvimento Sustentável (RDS) Piagaçu-Purus, no baixo rio Purus, uma unidade de conservação estadual onde também há manejo de lagos e de pirarucu; e (4) Reserva Biológica (Rebio) Abufari, no baixo Purus, onde a pesca é formalmente proibida e não há manejo de lagos ou de pirarucu, mas ocorre alguma pesca de subsistência por parte de moradores da região.

As amostragens de dados biológicos do presente estudo abrangem as áreas de estudo do sítio Peld-DIVA Reserva de Desenvolvimento Sustentável Piagaçu-Purus (RDS-PP) e Reserva Biológica Abufari (Rebio Abufari) entre os anos de 2020 e 2022, contemplando sempre duas fases do ciclo hidrológico amazônico (enchente e seca). Nesse período foi possível realizar amostragens em apenas dois períodos de enchente (fevereiro de 2020 e fevereiro de 2022) e dois períodos de seca (outubro de 2021 e outubro de 2022) devido às restrições de acesso aos locais de estudo impostas pela pandemia global de Covid-19. Para fins de padronização do período de amostragem o período de enchente corresponde às cotas fluviométricas entre 23 e 24 metros ascendente (normalmente entre os meses de fevereiro e março) o período de seca corresponde à menor cota operacionalmente viável (entre setembro e outubro).

A RDS-PP (Figura 1) é uma Unidade de Conservação de governança em nível estadual, enquadrada na categoria Uso Sustentável pelo Sistema Estadual de Unidades de Conservação do Estado do Amazonas (SEUC/AM, 2007). Criada pelo Governo do Estado do

Amazonas, por meio do Decreto nº 23.723 de 5 de setembro de 2003, a RDS-PP está localizada na região do baixo rio Purus, entre as coordenadas geográficas 4° 05' e 5° 35'S e 61°73' e 63°35'O (Figura 1), entre os interflúvios Purus-Madeira e Purus-Juruá. Esta região compreende mais de 600 lagos comunicados por canais e paranãs que sofrem influência das inundações periódicas dos rios Purus e Solimões (Plano de Gestão da RDS Piagaçu Purus, 2010).

A RDS-PP está inserida num mosaico de áreas protegidas de aproximadamente 2 milhões de hectares. Com área total de 1.008.167,00 hectares a reserva abrange quatro municípios: Beruri, Anori, Tapauá e Coari (SEMA/AM, 2019). Sua fisionomia é composta por 40% de áreas periodicamente alagáveis e o restante por terra firme e limites diretos com a Reserva Biológica do Abufari e com o Parque Nacional Nascentes do Lago Jari, ambas Unidades de Conservação de Proteção Integral, além de fazer limites diretos também com a Terra Indígena (TI) Itixi-Mitari, da etnia Apurinã e a TI Lago Ayapuá, da etnia Mura (Albernaz e Venticinque, 2003).

À área da RDS-PP, subtrai-se o tamanho da Itixi-Mitari (180.850 ha), descontando-se a área da TI Lago Ayapuá (6.928 ha) já excluída dos limites da RDS-PP. A RDS-PP passa, assim a contar com 834.245 hectares (Plano de Gestão da RDS Piagaçu Purus, 2010). A RDS-PP é uma área natural que abriga populações tradicionais, cuja existência baseia-se em sistemas sustentáveis de exploração dos recursos naturais, desenvolvidos ao longo de gerações e adaptados às condições ecológicas locais e que desempenham um papel fundamental na proteção da natureza e na manutenção da diversidade biológica (SEUC/AM, 2007).

A várzea na RDS-PP está sob a influência da enchente dos rios Purus e Solimões possuindo alta heterogeneidade de ambientes e sendo caracterizada por uma grande quantidade de canais, paranãs, lagos, chavascas e floresta ombrófila (RADAM, 1977).

Devido a grande heterogeneidade ambiental da área de abrangência da reserva, foram definidos, para fins administrativos, sete setores dentro dos limites da RDS-PP. A divisão da área de unidade de conservação em setores, seguida de seu zoneamento como parte do plano de gestão, permite uma caracterização mais minuciosa das peculiaridades de cada sistema permitindo que se adotem formas de manejo mais adequadas e próprias para cada área. Nesse contexto, foram delimitados os setores administrativos Caua-Cuianã, Itapuru, Uauaçú, Ayapuá, Supia Três Bocas e Paraná do Jari (Plano de Gestão da RDS-Piagaçu-Purus, 2010).

A Reserva Biológica do Abufari (Figura 1) é uma unidade de conservação federal de proteção integral, criada pelo Decreto Nº 87.585, de 20 de setembro de 1982, com área de 223.864,64 hectares, o que corresponde a 2,49% da área do município de Tapauá e 0,19% do

estado do Amazonas (Plano de Manejo da Reserva Biológica do Abufari, 2018). A Rebio-Abufari está inserida em uma área total de 223.500,96 hectares, com altitudes que variam desde 4 metros (nível de base local) até 75 metros acima do nível do mar. O Território abrange o município de Tapauá-AM (ICMBio, 2022) e está localizada entre a conexão dos rios Purus-Madeira ao norte, no limite com a Reserva de Desenvolvimento Sustentável Estadual Piagaçu-Purus e com a Terra Indígena do Igarapé de São João, entre as coordenadas geográficas 05°11'02,69" S/ 63°02'39,84" O (Figura 3).

A vegetação predominante da Rebio do Abufari é composta por floresta ombrófila densa e a região sofre com inundações periódicas. Entre as espécies identificadas, muitas são consideradas como ameaçadas de extinção, quase ameaçadas e vulneráveis por ações antrópicas, como sobrepesca, caça ilegal, modificações antrópicas em ambientes originais e mudanças climáticas (ICMBio, 2022). A Rebio do Abufari é a unidade de proteção integral mais antiga da região do Interflúvio Purus-Madeira. É cortada pelo rio Purus e afluentes, possuindo importante complexo lagunar em seu interior e um dos maiores tabuleiros de desova de quelônios de água doce da Amazônia, além de diversas áreas de extrema diversidade e riqueza biológica.

Reserva Biológica (Rebio) é uma categoria de Unidade de Preservação integral de uma área natural e de todos os seres vivos daquele ambiente, assim como seus recursos ambientais. Os territórios são definidos de acordo com uma certa finalidade pelo poder público. Essa categoria de Unidade de Conservação possui o maior grau restritivo referente às ações humanas, onde não é permitido interferência antrópica direta ou modificações ambientais (ICMBio, 2022). Além disso, a visitação pública é proibida, exceto quando houver objetivo educacional. As pesquisas científicas precisam de autorização prévia e estão sujeitas a seguir o plano de manejo de cada Rebio e às restrições do órgão responsável por administrá-la (ICMBio, 2022). Intervenções podem ocorrer somente para manejo, recuperação de ecossistemas alterados e preservação da biodiversidade (ICMBio, 2022).

Apesar das restrições legais definidas pela categorização da Rebio Abufari como unidade de conservação de proteção integral pela SNUC, há um contexto de ocasional e por vezes conflitual de pesca de subsistência na área de abrangência da reserva, devido principalmente a existência de comunidades ribeirinhas dotadas de uma cultura de apropriação dos recursos naturais que antecede a criação desta unidade de conservação.

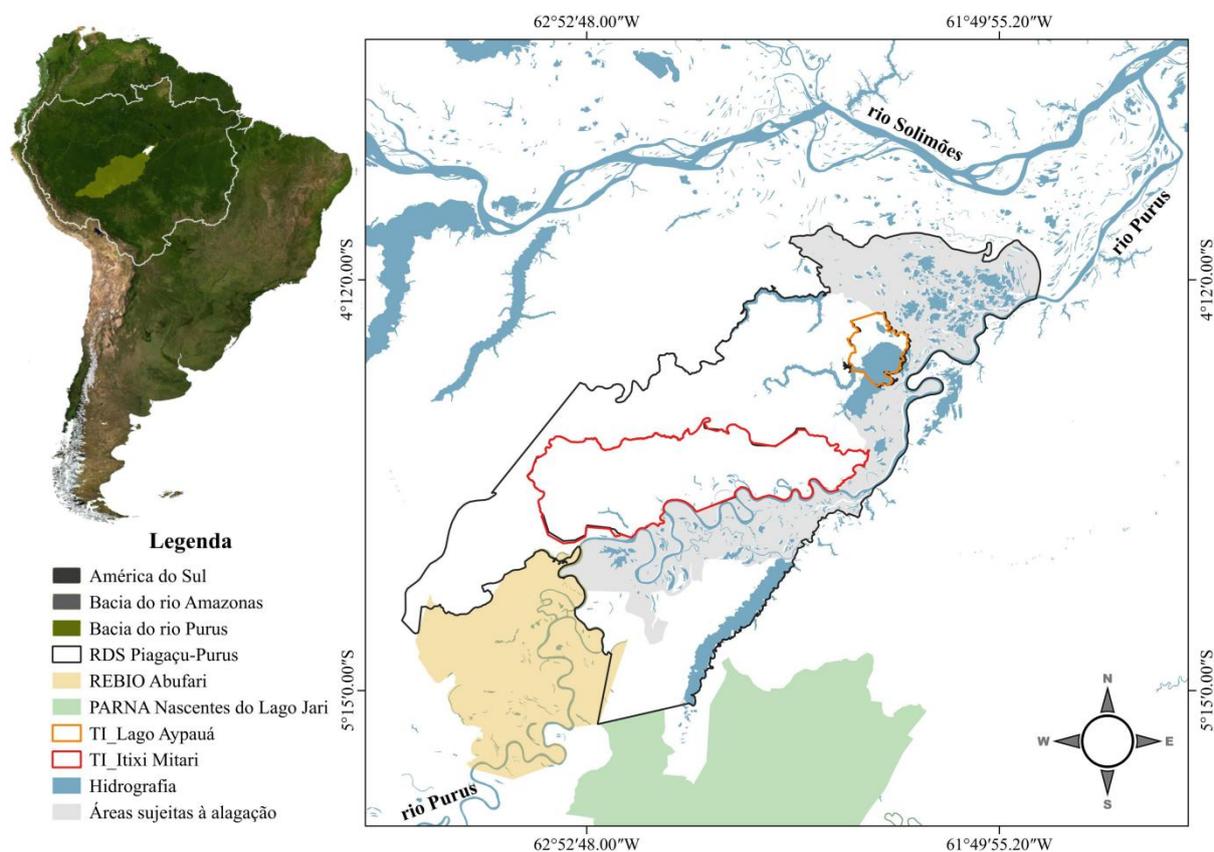


Figura 1. Localização geográfica e limites territoriais da Reserva de Desenvolvimento Sustentável Piagaçu-Purus (RDS-PP) e Reserva Biológica de Abufari, no trecho baixo do rio Purus, Amazonas, Brasil.

Com a finalidade de compreender os objetivos do programa Peld-DIVA e os objetivos deste estudo, foram definidas as categorias de amostragem fixa e variável quanto a abrangência espacial e temporal. As amostragens fixas funcionam como medidas espaciais repetidas, sendo sempre os mesmos locais amostrados nas duas fases do ciclo hidrológico (enchente e seca), permitindo assim comparações espaciais e temporais a longo prazo e inferências sobre ecologia e conservação. Por sua vez, a amostragem variável contempla coletas eventuais em locais diferentes dos pontos fixos de coleta, como medida para substituição destes em condições de inaccessibilidade (*i.e.* secas extremas), ou para ampliação do esforço amostral para levantamento da ictiofauna.

Considerando que as áreas de coleta RDS-PP e Rebio Abufari, que contemplam os locais de amostragem, são unidades de conservação de diferentes categorias (uso sustentável e proteção integral respectivamente), os locais de amostragem apresentam diferentes categorizações quanto ao potencial de uso/apropriação dos recursos naturais com base na delimitação dos respectivos planos de manejo. Nesse contexto os locais de amostragem

enquadram-se nas categorias: (i) proteção, onde a pesca ou o manejo do pirarucu não é permitido; (ii) aberto, onde a pesca de subsistência é permitida e (iii) manejo em que os ambientes aquáticos são destinados à proteção e ao manejo do pirarucu, sendo a captura controlada e realizada conforme licenças anuais de cotas para abate, emitidas pelo IBAMA, desde 2009 (notadamente na RDS-PP). Na RDS-PP o enquadramento dos lagos nas diferentes categorias foi balizado por critérios intrínsecos do contexto de utilização dos territórios e respectivas territorialidades pelas populações tradicionais que habitam a reserva, a partir de um processo participativo de mapeamento das áreas a partir da adoção de um modelo de utilização sustentável dos recursos naturais que atenda prioritariamente ao interesse coletivo. Na Rebio Abufari a proteção integral dos ambientes é definida legalmente pelo decreto de criação da unidade de conservação.

Assim, as amostragens de dados biológicos foram realizadas em oito pontos de coleta fixos, sendo seis lagos na RDS-PP e dois lagos na Rebio Abufari; e cinco pontos de coleta variável, sendo dois na RDS-PP e três na Rebio Abufari, totalizando 13 locais de amostragem (Tabela 1; Figura 2). Para fins de comparação dos resultados e inferências sobre conservação, nos locais de amostragem fixos as coletas foram realizadas em dois lagos de cada uma das categorias supracitadas, distribuídos nos setores administrativos Caua-Cuianá e Itapuru da RDS-PP e na Reserva Biológica de Abufari (Tabela 1).

Tabela 1. Locais de coleta nas áreas de influência da RDS Piagaçu-Purus e Rebio Abufari, com informações sobre localização geográfica, nome da unidade de conservação que estão inserido e respectivo setor administrativo, categorização quanto ao uso dos recursos naturais e tipo de amostragem.

Nº	Local de coleta	Coordenada (Lat; Long)	Unidade de Conservação	Categoria	Tipo de amostragem
1	Lago Caraipé	4°11'39.02"S; 62°0'54.86"O	RDS Piagaçu-Purus (Setor Caua-Cuianá)	Proteção	Fixo
2	Lago Tendalzinho	4°11'53.41"S; 61°59'28.32"O	RDS Piagaçu-Purus (Setor Caua-Cuianá)	Manejo	Fixo
3	Lago Peauzinho	4°11'29.47"S; 61°46'7.94"O	RDS Piagaçu-Purus (Setor Caua-Cuianá)	Aberto	Fixo
4	Lago Apuí	4°16'40.78"S; 61°50'7.28"O	RDS Piagaçu-Purus (Setor Itapuru)	Manejo	Fixo
5	Lago Itapuru Mirim	4°16'28.98"S; 61°52'43.39"O	RDS Piagaçu-Purus (Setor Itapuru)	Proteção	Fixo
6	Lago Xaviana	4°20'18.70"S; 61°49'43.20"O	RDS Piagaçu-Purus (Setor Itapuru)	Aberto	Fixo
7	Rio Purus (RDS-PP)	4°14'48.10"S; 61°45'13.13"O	RDS Piagaçu-Purus	Aberto	Variável
8	Lago Furrielzinho	4°12'55.7"S; 61°56'28.0"O	RDS Piagaçu-Purus (Setor Caua-Cuianá)	Aberto	Variável

9	Lago Assoalhador	5°16'58"S; 63°00'11.2"O	Rebio Abufari	Proteção	Fixo
10	Lago Mosca	5°17'21.84"S; 62°57'32.82"O	Rebio Abufari	Proteção	Fixo
11	Igarapé do Chapéu	5°14'27.1"S; 62°57'07.4"O	Rebio Abufari	Proteção	Variável
12	Rio Purus (Rebio)	5°14'24.77"S; 62°56'59.88"O	Rebio Abufari	Aberto	Variável
13	Lago Japa	5° 10' 00.6"S; 62° 58' 05.5"O	Rebio Abufari	Proteção	Variável

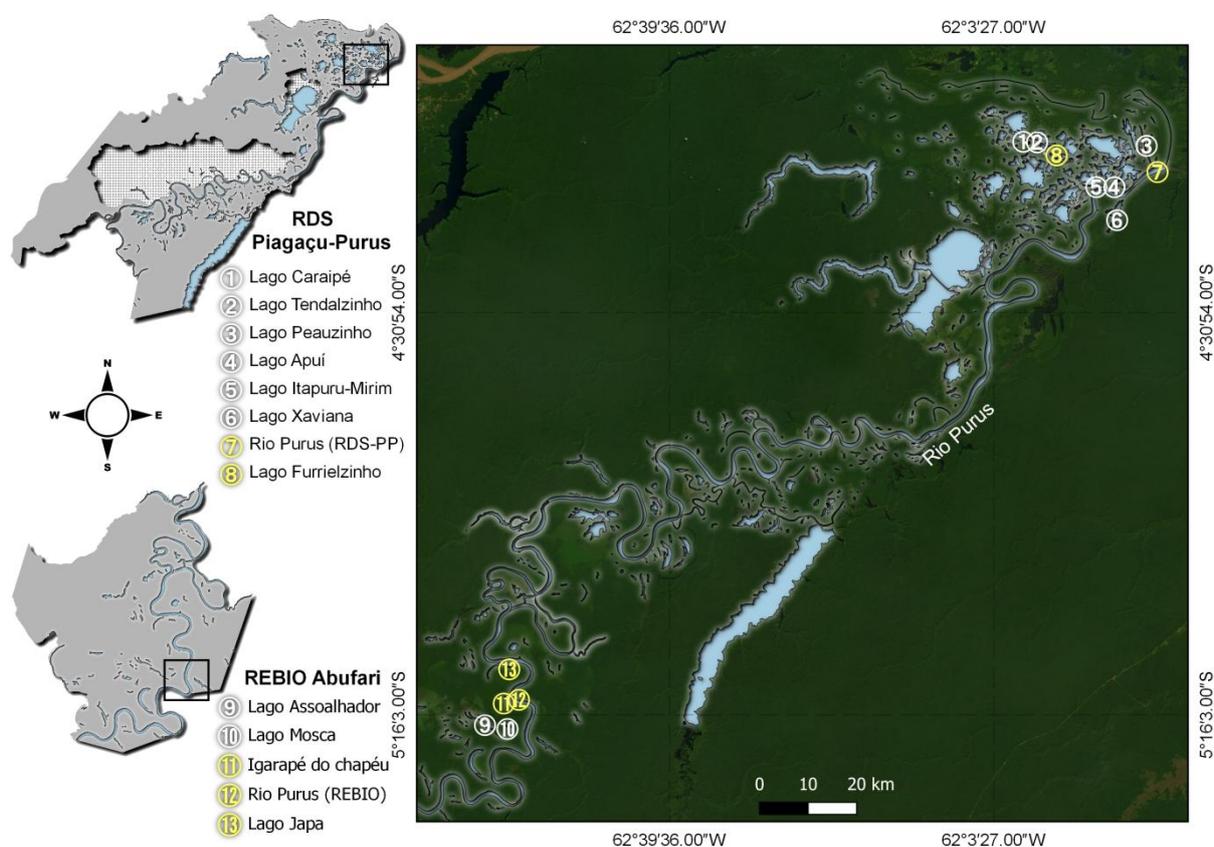


Figura 2. Localização geográfica e distribuição espacial dos locais de coleta na Reserva de Desenvolvimento Sustentável Piagaçu-Purus e Reserva Biológica de Abufari, no trecho baixo do rio Purus, Amazonas, Brasil (numeração na cor branca representa locais com amostragem fixa e numeração na cor amarela locais com amostragem variável).

Portanto para composição do banco de dados da ictiofauna do baixo rio Purus, na área de abrangência da RDS-PP e Rebio Abufari foram utilizadas as informações obtidas pelas amostragens de pontos fixos e variáveis, considerando como estratégias complementares a coleta sistemática, diversificação e ampliação do esforço amostral. As comparações entre

locais de coleta, tanto para ictiofauna como para o ictioplâncton e posteriores inferências sobre ecologia e conservação ficaram restritas aos resultados obtidos nos pontos fixos de amostragem.

Objetivos geral

Subsidiar a identificação de ovos, larvas, juvenis e adultos de espécies de peixes de interesse para o manejo e conservação em áreas protegidas no baixo rio Purus, a partir do marcador mitocondrial citocromo c oxidase subunidade I (COI)

Objetivos específicos - Capítulo 1

- Criar um banco de dados com sequências de DNA *barcoding* das espécies de peixes coletadas no baixo rio Purus, na área de influência da RDS-PP e Rebio Abufari.

- Selecionar, a partir do banco de dados, as espécies-alvo de peixes de elevado interesse para o manejo e/ou conservação.

- Descrever os padrões de riqueza de espécies da ictiofauna nas diferentes categorias de lagos e diferentes períodos hidrológicos, considerando as espécies-alvo e o total de espécies.

Objetivos específicos - Capítulo 2

- Identificar os morfotipos de ovos e larvas e através do cruzamento das sequências obtidas com os bancos de dados genéticos da ictiofauna do baixo rio Purus, na área de influência da RDS-PP e Rebio Abufari, com foco nas espécies-alvo.

- Verificar quais espécies-alvo de peixes realizam sua reprodução nos diferentes períodos hidrológicos e categorias de lagos de várzea localizados do baixo rio Purus na área de influência da RDS-PP e Rebio Abufari.

- Descrever os padrões de riqueza de espécies e abundância do ictioplâncton nas diferentes categorias de lagos e diferentes períodos hidrológicos, considerando as espécies alvo e o total de espécies.

- Avaliar a eficiência do mecanismo de escolha dos lagos para os múltiplos fins (proteção, manejo ou exploração “abertos”), através do cruzamento dos dados obtidos com a técnica de DNA *barcoding* de peixes adultos e juvenis e as sequências de DNA *barcoding* de ovos e larvas.

Estrutura da tese

A presente Tese de Doutorado, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia), do Instituto de Biociências da UNESP de Botucatu - SP, está estruturada em dois capítulos como segue:

Capítulo 1 - Construção de um banco de dados abrangente de DNA *barcoding* de peixes de áreas protegidas no baixo rio Purus, Amazonas e definição de espécies-alvo para fins de conservação e manejo.

Capítulo 2 - Monitoramento de espécies-alvo de peixes de interesse para conservação e manejo em lagos de diferentes categorias inseridos em áreas protegidas no baixo rio Purus: aplicação do DNA *barcoding* em amostras de ictioplâncton.

Referências bibliográficas

- Ab'Sáber AN. 2003. Os domínios de natureza no Brasil: potencialidades paisagísticas. São Paulo: Ateliê Editorial.
- Abell R, Thieme ML, Revenga C, Bryer M, Kottelat M, Bogutskaya N, Coad B, Mandrak N, Balderas SC, Bussing W, Stiassny MLJ, Skelton P, Allen GR, Unmack P, Naseka A, NG R, Sindorf N, Robertson J, Armijo E, Higgins JV, Heibel TJ, Wikramanayake E, Olson D, López HL, Reis RE, Lundberg JG, Sabaj-Peres MH, Petry P. 2008. Freshwater Ecoregions of the World: A New Map of Biogeographic Units for Freshwater Biodiversity Conservation. *BioScience*, 8(5): 403–414.
- Albernaz A, Venticinque EM. 2003. Reserva de Desenvolvimento Piagaçu-Purus: Características e Limites Geográficos. Pp.: 3–12. In: Deus CP, Da Silveira R, Rapp Py-Daniel, LH (Eds) Piagaçu-Purus: Bases científicas para a Criação de uma Reserva de Desenvolvimento Sustentável. Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá. Manaus, Amazonas, Brasil.
- Allan JD, Abell R, Hogan Z, Revenga C, Taylor BW, Welcomme RL, Winemiller K. 2005. Overfishing of inland waters. *Bioscience*, 55: 1041–1051.
- Bailey RC, Norris RH, Reynoldson TB. 2004. Bioassessment of Freshwater Ecosystems. Kluwer Academic Publisher, New York, New York.
- Barletta M, Jaureguizar AJ, Baigun C, Fontoura NF, Agostinho AA, Almeida-Val VMF, Corrêa MFM. 2010. Fish and aquatic habitat conservation in South America: a

- continental overview with emphasis on Neotropical systems. *Journal of Fish Biology*, 76: 2118–2176.
- Bayley PB, Peterson JT. 2001. An Approach to Estimate Probability of Presence and Richness of Fish Species. *Transactions of the American Fisheries Society*, 130: 620–633.
- Benson DA, Cavanaugh M, Clark K, Karsch-Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J, Sayers EW. 2013. GenBank. *Nucleic Acids Research*, 41: 36–42.
- Berra TM. 2001. *Freshwater Fish Distribution*. San Diego: Academic Press.
- Bonar SA, Hubert WA, Willis DW. 2009. *Standard methods for sampling North American freshwater fishes*. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland.
- Brander K. 2007. Global Fish Production and Climate Change. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(50): 19709–19714.
- Bruton MN. 1995 Have fishes had their chips—the dilemma of threatened fishes. *Environmental Biology of Fishes*, 43: 1–27.
- Campos CP, Garcez RS, Catarino MF, Costa GA, Freitas CEC. 2015. Population dynamics and stock assessment of *Colossoma macropomum* caught in the Manacapuru lake system (Amazon Basin, Brazil). *Fisheries Management and Ecology*, 22: 400–406.
- Cao Y, Larsen DP, Thorne RS-J. 2001. Rare species in multivariate analysis for bioassessment: some considerations. *Journal of the North American Benthological Society*, 20: 144–153.
- Casemiro FAS, Albert JS, Antonelli A, Menegotto A, Wüest RO, Cerezer F, Coelho MTP, Reis RE, Tan M, Tagliacollo V, Bailly D, da Silva VFB, Frota A, da Graça WJ, Ré R, Ramos T, Oliveira AG, Dias MS, Colwell RK, Rangel TF, Graham CH. 2023. Landscape dynamics and diversification of the megadiverse South American freshwater fish fauna. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 120(2):e2211974120.
- Castello L, McGrath DG, Hess LL, Coe MT, Lefevre PA, Petry P, Macedo MN, Renó VF, Arantes CC. 2013. The vulnerability of Amazon freshwater ecosystems. *Conservation Letters*, 6: 217–229.
- Costanza R, d’Arge R, de Groot RS, Farber S, Grasso M, Hannon B, Limburg K, Naeem S, O’Neill RV, Paruelo J, Raskin RG, Sutton P, van den Belt M, 1997. The value of the world’s ecosystem services and natural capital. *Nature*, 387: 253–260.
- Cronin MA, Palmisciano DA, Vyse ER, Cameron DG. 1991. Mitochondrial DNA in wildlife forensic science: species identification of tissues. *Wildlife Society Bulletin*, 19: 94–105.
- Dagosta FCP, de Pinna M. 2017. Biogeography of Amazonian fishes: deconstructing river

- basins as biogeographic units. *Neotropical Ichthyology*, 15(3): e170034 [1-24].
- Dagosta FCP, de Pinna M. 2019. The fishes of the Amazon: distribution and biogeographical patterns, with a comprehensive list of species. *Bulletin of American Museum of Natural History*, 431: 1–163.
- Derycke S, Vanaverbeke J, Rigaux A, Backeljau T, Moens T. 2010. Exploring the use of Cytochrome Oxidase c Subunit 1 (COI) for DNA *barcoding* of free living marine nematodes. *Plos One*, 5: e13716.
- Dinerstein E, Olson DM, Graham DJ, Webster AL, Primm SA, Bookbinder MP, Ledec G. 1995. A Conservation Assessment of the Terrestrial Ecoregions of Latin America and the Carribean. Washington (DC): World Bank.
- Dudgeon D. 2010. Prospects for sustaining freshwater biodiversity in the 21st century: linking ecosystem structure and function. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 2: 422–430.
- Evans NT, Olds BP, Renshaw MA, Turner CR, Li Y, Jerde CL, Mahon AR, Pfrender ME, Lamberti GA, Lodge DM. 2016. Quantification of mesocosm fish and amphibian species diversity via environmental DNA *metabarcoding*. *Molecular Ecology Resources*, 16: 29–41.
- Fernandes C, Podos J, Lundberg JG. 2004. Amazonian Ecology: Tributaries Enhance the Diversity of Electric Fishes. *Science*, 305: 1960–1962.
- Finer M, Jenkins CN, Pimm SL, Keane B, Ross C. 2008. Oil and gas projects in the Western Amazon: Threats to wilderness, biodiversity, and indigenous peoples. *Plos One*, 3(8): e2932.
- Fonseca VG, Carvalho GR, Sung W, Johnson HF, Power DM, Neill SP, Packer M, Blaxter ML, Lamshead PJD, Thomas WK, Creer S. 2011. Second-generation environmental sequencing unmaskes marine metazoan biodiversity. *Nature Communications*, 1: 98.
- Forsberg BR, Melack JM, Dunne T, Barthem RB, Goulding M, Paiva RCD, Sorribas MV, Silva Jr. UL, Weisser S. 2017. The potential impact of new Andean dams on Amazon fluvial ecosystems. *Plos One*, 12(8): e0182254.
- Frederico RG, Olden JD, Zuanon JAS. 2016. Climate change sensitivity of threatened, and largely unprotected, Amazonian fishes. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 26(Suppl. 1): 91–102.
- Freitas CEC, Siqueira-Souza FK, Humston R, Hurd LE. 2013. An initial assessment of drought sensitivity in Amazonian fish communities. *Hydrobiologia*, 705: 159–171.
- Fricke R, Eschmeyer WN, van der Laan R (Eds). 2023. *Eschmeyer's Catalog of Fishes: Genera, Species, References*. Disponível em:

<<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>>.

Versão eletrônica. Acessado em: maio de 2023.

- Gilman RT, Abell RA, William CE. 2004. How can conservation biology inform the practice of integrated river basin management? *International Journal of River Basin Management*, 2(2): 1–14.
- Goulding M, Barthem R, Ferreira EJG. 2003. *The Smithsonian Atlas of the Amazon*. Washington: Smithsonian Books, London.
- Groves CR, Jensen DB, Valutis LL, Redford KH, Shaffer ML, Scott JM, Baumgartner JV, Higgins JV, Beck MW, Anderson MG. 2002. Planning for biodiversity conservation: Putting conservation science into practice. *BioScience*, 52: 499–512.
- de Groot RS. 1992. *Functions of Nature: Evaluation of Nature in Environmental Planning, Management and Decision Making*. Wolters-Noordhoff, Groningen.
- de Groot RS, van der Perk J, Chiesura A, Marguliew S. 2000. Ecological functions and socio-economic values of critical natural capital as a measure for ecological integrity and environmental health. Pp. 191–214. In: Crabbe P, Holland A, Ryszkowski L, Westra L (Eds). *Implementing Ecological Integrity: Restoring Regional and Global Environmental and Human Health*. NATO-Science Series, IV. Earth and Environmental Sciences, vol. 1. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/Boston/London.
- Gotelli NJ, Colwell RK. 2011. Estimating species richness. *Biological Diversity: Frontiers in Measurement and Assessment*, 12: 39–54.
- Gu W, Swihart RK. 2004. Absent or undetected? Effects of non-detection of species occurrence on wildlife–habitat models. *Biological Conservation*, 116: 195–203.
- Hebert P.D.N., Cywinska A., Ball S.L. & de Waard J.R. 2003a. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B* 270 (1512): 313–321.
- Hebert P.D.N., Ratnasingham S. & de Waard J.R. 2003b. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society B* 270 (1): 96–99.
- Hebert P.D.N., Penton E.H., Burns J.M., Janzen D.H. & Hallwachs W. 2004a. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101 (41): 14812–14817.
- Hebert P.D.N., Stoeckle M.Y., Zemplak T.S. & Francis C.M. 2004b. Identification of birds through DNA barcodes. *PLoS Biology* 2 (10): e312.
- Hillis D, Dixon M. 1991. Ribosomal DNA - molecular evolution and phylogenetic inference. *The Quarterly Review of Biology*, 66(4): 411–453.

- Holmlund CM, Hammer M. 1999. Ecosystem services generated by fish populations. *Ecological Economics*, 29(2): 253–268.
- Hoorn C, Wesselingh FP. 2010. Introduction: Amazonia, landscape and species evolution. Pp. 1–6. In: Hoorn C, Wesselingh FP (Eds). *Amazonia, landscape and species evolution: A look into the past*. Oxford, Blackwell Publishing.
- Hubert WA, Quist MC (Eds). 2010 *Inland Fisheries Management in North America*, Ed. 3. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland.
- Humphries P, King AJ, Koehn JD. 1999. Fish, flows and flood plains: links between freshwater fishes and their environment in the Murray-Darling river system, Australia. *Environmental Biology of Fishes*, 56: 129–151.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. 2010. Informações dos municípios brasileiros – População 2010. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Brasília. Disponível em: <<http://cidades.ibge.gov.br/xtras/home.php>>. Acesso em: agosto de 2019.
- Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio. 2022. Unidades de Conservação no Brasil. Disponível em: < <https://nossosparques.org.br/en/arp/617>>. Acesso em: outubro de 2022.
- Junk WJ. 2000. The Central Amazon River Floodplain: Concepts for the Sustainable Use of its Resources. Pp. 76–94. In: Junk WJ, Ohly JJ, Piedade MTF, Soares MGM (Eds). *The Central Amazon Floodplain: actual use and options for a sustainable management*. Blackhuys Publishers, Leiden.
- Kahn JA, Freitas CEC, Petrere Jr. M. 2014. False shades of green: the case of Brazilian Amazonian hydropower. *Energies*, 7: 6063–6082.
- Kocher TD, Thomas WK, Meyer A, Edwards SV, Pääbo S, Villablanca FX, Wilson AC. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals : amplification and sequencing with conserved *primers*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 86(16): 6196–6200.
- Latrubesse EM, Arima EY, Dunne T, Park E, Baker VR, d’Horta FM, Wight C, Wittmann F, Zuanon JAS, Baker PA, Ribas CC, Norgaard RB, Filizola N, Ansar A, Flyvbjerg B, Stevaux JC. 2017. Damming the rivers of the Amazon basin. *Nature*, 546(7658): 363–369.
- Lees AC, Peres CA, Fearnside PM, Schneider M, Zuanon JAS. 2016. Hydropower and the future of Amazonian biodiversity. *Biodiversity Conservation*, 25: 451–466.
- Lévêque C, Balian EV, Martens K. 2005. An assessment of animal species diversity in continental waters. *Hydrobiologia*, 542: 39–67.

- Lima FCT, Ribeiro AC. 2011. Continental-scale tectonic controls of biogeography and ecology. Pp. 145–64. In: Alberts JS, Reis RE (Eds.). Historical biogeography of Neotropical freshwater fishes. Los Angeles, University of California Press.
- Lobón-Cerviá J, Hess LH, Melack J, Araújo-Lima CARM. 2015. The importance of forest cover for fish richness and abundance on the Amazon floodplain. *Hydrobiologia*, 750(1): 245–255.
- Lundberg JG, Marshall LG, Guerrero J, Horton B, Malabarba MC, Wesselingh F. 1998. The stage for Neotropical fish diversification: a history of tropical South American rivers. 13–48. In: Malabarba LR, Reis RE, Vari RP, Lucena ZMS, Lucena CAS. (Eds). *Phylogeny and classification of neotropical fishes*. Porto Alegre, Brasil: Edipucrs.
- Machida RJ, Knowlton N. 2012. PCR *primers* for metazoan nuclear 18S and 28S ribosomal DNA sequences. *Plos One*, 7:e46180.
- MacKenzie DI, Nichols JD, Sutton N, Kawanishi K, Bailey LL. 2005. Improving inferences in population studies of rare species that are detected imperfectly. *Ecology*, 86: 1101–1113.
- McDonald LL. 2004. Sampling rare populations. Pp. 11–42. In: Thompson WL. (Ed.). *Sampling Rare or Elusive Species*. Island Press, Washington, District of Columbia.
- McIntyre PB, Liermann CAR, Revenga C. 2016. Linking freshwater fishery management to global food security and biodiversity conservation. *PNAS*, 113(45): 12880–12885.
- Mullis KB, Faloona F. 1987. Specific synthesis of dna in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology*, 155: 335–350.
- Murphy BR, Willis DW. 1996. *Fisheries Techniques*. 2nd Edition, American Fisheries Society, Bethesda.
- Petrere Jr M, Barthem RB, Córdoba EA, Gómez BC. 2004. Review of the large catfish fisheries in the Upper Amazon and the stock depletion of piraíba (*Brachyplatystoma filamentosum* Lichtenstein). *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 14(4): 403–414.
- Plano de Gestão Reserva de Desenvolvimento Sustentável Piagaçu-Purus. 2010. Volume 2. (<http://www.ceuc.sds.am.gov.br/downloads/category/9-planosdegestao.html>).
- Radar da Amazônia - RADAM. 1978. Projeto RADAMBRASIL: Programa de Integração Nacional. Levantamento de recursos naturais. Volume 17. Ministério das Minas e Energia. Departamento Nacional da Produção Mineral.
- Ratnasingham S, Hebert PDN. 2007. BOLD: The barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). *Molecular Ecology Notes*, 7: 355–364.
- Reis RE, Kullander SO, Ferraris Júnior CJ. 2003. *Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America*. Porto Alegre.

- Reis RE, Albert JS, Di Dario F, Mincarone MM, Petry P, Rocha LA. 2016. Fish biodiversity and conservation in South America. *Journal of Fish Biology*, 89(1): 12–47.
- Sala OE, Chapin FS, Armesto JJ, Berlow E, Bloomfield J, Dirzo R, Huber-Sanwald E, Huenneke LF, Jackson RB, Kinzig A, Leemans R, Lodge DM, Mooney HA, Oesterheld M, Poff NL, Sykes MT, Walker BH, Walker M, Wall DH. 2000. Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science*, 287: 1770–1774.
- Sala OE, Vuuren VD, Pereira HM, Lodge D, Alder J, Cumming G, Dobson A, Wolters V, Xenopoulos MA. 2005. Biodiversity across scenarios. Pp. 375–410. In: Carpenter SR, Pingali PL, Bennett EM, Zurek MB (Eds). *Ecosystems and Human Well Being: Scenarios, Volume 2, Millennium Ecosystem Assessment*, Island Press, Washington, District of Columbia.
- Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, Mullis KB, Erlich HA. 1988. *primer*-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 239: 487.
- Schaefer SA. 1998. Conflict and resolution impact of new taxa on phylogenetic studies of Neotropical cascudinhos (Siluriformes: Loricariidae). Pp. 375–400. In: Malabarba LR, Reis RE, Vari RP, Lucena ZMS, Lucena CAS. (Eds.). *Phylogeny and classification of Neotropical fishes*. Porto Alegre, Brasil: Edipucrs.
- Schoch CL, Seifert KA, Huhndorf S, Robert V, Spouge JL, *et al.* 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA *barcoding* marker for Fungi. *PNAS*, 109(16): 6241–6246.
- Sclater PL. 1858. On the general geographic distribution of the members of the class Aves. *Proceedings of the Linnean Society of London, Zoology*, 2: 130–145.
- Secretaria de Estado de Meio Ambiente do Amazonas – SEMA/AM. 2019. Unidades de conservação. Disponível em: <<http://meioambiente.am.gov.br/unidade-de-conservacao/>>. Acesso em: agosto de 2019.
- Sioli H. 1984 The Amazon and its main affluents: Hydrography, morphology of the river courses, and river types. Pp. 127–165. In: Sioli H (Ed.). *The Amazon: Limnology and landscape ecology of a mighty tropical river and its basin*. Dordrecht.
- Sistema Estadual de Unidades de Conservação do Estado do Amazonas – SEUC/AM. 2007. Lei Complementar nº 53 de 5 de junho de 2007. Institui o Sistema Estadual de Unidades de Conservação e dispõe sobre infrações e penalidades e estabelecendo outras providências.
- Stuart SN, Chanson JS, Cox NA, Young BE, Rodrigues ASL, Fischman DL, Waller RW. 2004. Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science*,

306(5702): 1783–1786.

- Taberlet P, Gielly L, Pautou G, Bouvet J. 1991. Universal *primers* for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology*, 17(5): 1105–1109.
- Thieme ML, Abell R, Stiassny MLJ, Skelton P, Lehner B, Teugels GG, Dinerstein E, Kamdem-Toham A, Burgess N, Olson D. 2005. *Freshwater Ecoregions of Africa and Madagascar: A Conservation Assessment*. Washington (DC), Island Press.
- Vari RP, Malabarba LR. 1998. Neotropical ichthyology: an overview. Pp. 1–11. In: Malabarba LR, Reis RE, Vari RP, Lucena ZMS, Lucena CAS (Eds). *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes*. Porto Alegre, Edipucrs.
- Venticinque E, Forsberg B, Barthem R, Petry P, Hess L, Mercado A, Canas C, Montoya M, Durigan C, Goulding M. 2016. An explicit GIS-based river basin framework for aquatic ecosystem conservation in the Amazon. *Earth System Science Data* 8:651–661.
- Vinson MR, Hawkins CP. 2003. Broad-scale geographical patterns in local stream insect genera richness. *Ecography*, 26: 751–767.
- Wallace AR. 1876. *The Geographical Distribution of Animals*. New York: Harper.
- Williams CB. 1964. *Patterns in the Balance of Nature and Related Problems in Quantitative Ecology*. Academic Press, London.
- Xenopoulos MA, Lodge DM, Alcamo J, Märker M, Schulze K, Van Vuuren DP. 2005. Scenarios of freshwater fish extinctions from climate change and water withdrawal. *Global Change Biology*, 11: 1557–1564.
- Yu DW, Ji Y, Emerson BC, Wang X, Ye C, Yang C, Ding Z. 2012. Biodiversity soup: *metabarcoding* of arthropods for rapid biodiversity assessment and biomonitoring. *Methods in Ecology and Evolution*, 3: 613–623.

Capítulo 1 - Construção de um banco de dados abrangente de DNA *barcoding* de peixes de áreas protegidas no baixo rio Purus, Amazonas e definição de espécies-alvo para fins de conservação e manejo.

Resumo: A categorização de áreas protegidas é um importante instrumento para balizar o uso dos recursos pesqueiros. No entanto, a delimitação dessas áreas normalmente é pautada no conhecimento tradicional e levantamentos pontuais da ictiofauna. O rio Purus é um importante tributário de água branca do sistema Solimões-Amazonas, com uma grande extensão de planícies de inundação, elevada cobertura de áreas protegidas, elevada produtividade pesqueira e reconhecida diversidade ictiofaunística. Isto pressupõe a necessidade de monitoramento da diversidade de peixes para fins de consolidação e investigação de ações de manejo e conservação dos recursos naturais, com base nos recursos pesqueiros e sua importância socioecológica. Diante disso, o presente capítulo tem como objetivo construir um banco de dados abrangente com sequências de COI das espécies de peixes coletadas no baixo rio Purus, na área de influência da RDS-PP e Rebio Abufari, bem como selecionar, a partir do banco de dados, as espécies-alvo de peixes de elevado interesse para o manejo e/ou conservação, e por fim descrever os padrões de riqueza de espécies da ictiofauna nas diferentes categorias de lagos e diferentes períodos hidrológicos, considerando as espécies-alvo e o total de espécies. Foram coletados 7.495 espécimes de peixes de água doce, enquadrados taxonomicamente em 272 espécies, 165 gêneros, 48 famílias e 14 ordens. Foram depositados 1.433 tecidos na coleção genética do Laboratório de Biologia e Genética de Peixes (LBP) da Unesp, *campus* de Botucatu. Characiformes e Siluriformes foram as ordens de peixes mais representativas, seguidas de Gymnotiformes e Cichliformes. Os exemplares-testemunho de cada espécie foram depositados na coleção ictiológica LBP-UNESP em 779 lotes. As espécies mais abundantes foram *Moenkhausia gracilima*, *Mesonauta festivus*, *Ctenobrycon spilurus*, *Anchoviella jamesi* e *Acarichthys heckelii* (n=305), enquanto 78 espécies foram consideradas raras nas amostragens, sendo representadas por lotes únicos com apenas 1 ou 2 espécimes. O banco de dados de referência de sequências COI é composto por 272 espécies no total e destas foram definidas 143 espécies-alvo. Considerando-se que algumas espécies-alvo foram enquadradas em mais de um critério, foram obtidos 102 registros para interesse ornamental ou aquariofilia, 60 registros para interesse comercial e 19 registros para existência de restrição legal. As espécies-alvo foram prioritariamente submetidas ao cruzamento de informações com os resultados do *barcoding* para inferências sobre as propostas de tomada de decisão acerca da categorização dos lagos. Este procedimento será posteriormente expandido a todas as espécies do banco de dados para complementar ou corroborar as propostas. Do banco de dados total, 239 espécies foram sequenciadas e para 71,5% destas a identificação morfológica foi congruente com a identificação molecular. Sessenta e oito espécies tiveram incongruências entre as classificações, sendo mantida a partir de critérios técnicos a identificação morfológica. Não foi obtido êxito nas tentativas de sequenciamento de 33 espécies. A inclusão das sequências obtidas em bancos de dados genéticos resultará na adição de um total 81 registros de espécies ainda inexistentes (não registradas), sendo 34 apenas no Genbank ou BOLD e 47 no Genbank e BOLD. Foi verificada maior riqueza de espécies em lagos de proteção, e a importância complementar dos lagos de manejo, considerando todos os níveis de análises realizados. Assim, ratifica-se a categorização atual dos lagos baseada na riqueza ictiofaunística e no papel que esses ambientes exercem no modo de vida das populações ribeirinhas. Também impõe-se a necessidade de consolidação dos requisitos necessários para garantir a eficácia das categorias propostas para garantir o objetivo de cada categoria de lago.

Palavras-chave: Peixes Neotropicais, RDS Piagaçu-Purus, Rebio Abufari, COI.

Introdução

A região Neotropical abriga a maior diversidade de peixes do planeta, sendo as bacias hidrográficas de terras baixas (*lowlands*) do norte da América do Sul reconhecidas como o âmago da diversidade de peixes de água doce neotropicais (Albert *et al.*, 2020).

A bacia hidrográfica do rio Purus, localizada desde a porção sul-ocidental amazônica até a Amazônia Central, apresenta área total de 370.000 km² e abrange territórios no Peru, Bolívia e Brasil, com área aproximada em território brasileiro correspondente a 354.000 Km² distribuídos em 32 municípios nos estados do Acre, Amazonas e Rondônia (ANA, 2011). As áreas de maior concentração populacional situam-se entre o alto e médio curso da bacia, onde se desenvolvem a exploração madeireira e atividades comerciais. No baixo curso predomina uma dinâmica econômica ainda mais diretamente atrelada ao rio (*e.g.* pesca e plantios sazonais em áreas de várzea), e concentra-se a maior parte das 23 Unidades de Conservação e 39 Terras Indígenas existentes na bacia, que somadas ocupam cerca de 50% da área total da bacia (Souza Jr *et al.*, 2012; INCRA, 2013; MMA, 2013).

O rio Purus, desde suas nascentes no Peru até sua confluência no rio Solimões no estado do Amazonas, é um dos maiores afluentes do rio Solimões com uma extensão de 2.765,65 km (Melo, 2012). Está inserido na ecorregião biogeográfica denominada Planícies do Amazonas (*Amazon lowlands*), que apresenta como característica dominante da paisagem a extensa e diversificada planície aluvial que se estende ao longo dos canais do rio, que contém milhares de meandros e lagos, assim como extensas áreas de florestas inundadas e prados flutuantes (WWF/TNC, 2018). Segundo dados do Programa Ecorregiões de Água Doce do Mundo (www.feow.org) a ecorregião biogeográfica Planícies do Amazonas contém o conjunto mais diversificado de espécies de peixes da América do Sul.

Além da expressiva diversidade, mesmo considerando diferentes métodos e estruturas de banco de dados, com o número registrado variando de 379 espécies (Dagosta e de Pinna, 2019) a 909 espécies (Jézéquel *et al.*, 2020 - dados atualizados), e graus moderados de endemismo (Oberdorff *et al.*, 2019), o rio Purus representa a maior produtividade pesqueira da bacia amazônica em comparação com outros grandes afluentes de águas brancas (Petreire 1978; Batista, 1998; Soares e Junk, 2000; Batista, 2003). Porém, os esforços concentram-se em poucas espécies, das quais apenas 12 representam 80% do pescado desembarcado nos principais portos do Estado do Amazonas (Barthem e Fabré, 2003).

Além do montante que é comercializado nos centros urbanos, existe outra quantidade expressiva que é consumida pela população ribeirinha, que tem no pescado a principal fonte de proteína animal (McGrath *et al.*, 1999) e de renda, principalmente para aquelas que

residem em áreas afastadas dos centros urbanos, onde a criação de animais domésticos é dificultada (Queiroz e Crampton, 1999). Nesse sentido, o manejo dos recursos pesqueiros se faz necessário tanto pela conservação dos ambientes aquáticos, quanto pela manutenção de uma atividade de destacada importância socioeconômica para a população tradicional amazônica (Barthem e Fabré, 2003).

A carência de estudos científicos e manutenção de séries de dados de longo prazo representa um desafio adicional para o manejo dos recursos pesqueiros ambientes tropicais, que geralmente carecem de monitoramento de curto prazo da pesca de pequena escala (Saenz-Arroyo et al., 2005). Ainda que numa visão mais ampla os ecossistemas aquáticos e a ictiofauna amazônica ainda possam estar relativamente bem preservados, algumas espécies-alvo de peixes já apresentam tendências de superexploração e redução nos tamanhos populacionais, especialmente perto de cidades maiores (Castello et al., 2013; Keppeler et al., 2018).

Atualmente, a principal estratégia conservacionista para proteger a biodiversidade na Amazônia é por meio da criação de áreas protegidas (Unidades de Conservação), que podem ou não permitir a presença de populações locais (Lopes *et al.* 2011). Assim é imprescindível o conhecimento, identificação precisa e monitoramento efetivo e abrangente da biodiversidade para a consolidação de ações e proposição de estratégias de conservação e manejo condizentes com as características e potencialidades de cada região.

Devido as limitações impostas pelos métodos de avaliação da biodiversidade baseados na captura de indivíduos, principalmente em ambientes megadiversos como a bacia amazônica, o uso de ferramentas moleculares, principalmente pelo uso da técnica de DNA *barcoding*, pode ser utilizado como método de identificação de peixes resolutivo em ambientes aquático neotropicais.

Como apenas amostras representativas (alíquotas) dos indivíduos de um ambiente são necessárias para a análise do DNA *barcoding*, essa abordagem é eficiente em termos de tempo, com baixos índices de impactos ambientais e pode fornecer informações sobre espécies dificilmente capturadas com métodos tradicionais (Jerde *et al.*, 2011; Lodge *et al.*, 2012; Deiner *et al.*, 2017; Evans *et al.*, 2017). Além disso, essa técnica pode ser importante para o monitoramento de ações proteção e manejo em ambientes aquáticos, evitando a captura de indivíduos de espécies sobrepescadas, protegidas ou ameaçadas de extinção (Mariac *et al.*, 2021).

A campanha Fish barcode of Life (FISH-BOL) é uma colaboração internacional de pesquisa que está reunindo uma biblioteca padronizada de sequências de DNA de referência para todos os peixes (Ward *et al.* 2009). As sequências de DNA barcode são muito curtas em

relação ao genoma inteiro, e podem ser obtidas de forma razoavelmente rápida e de baixo custo, sendo também aplicadas para conservação e manejo de peixes de interesse comercial (Ardura *et al.*, 2010).

No entanto poucos trabalhos têm sido realizados com o objetivo de construir uma biblioteca robusta e abrangente das espécies de peixes de água doce das principais bacias hidrográficas neotropicais, principalmente na região amazônica. Pereira *et al.* (2013) foram os primeiros a compor um banco de dados moleculares robusto do gene COI de espécies de peixes neotropicais, com a identificação de 252 espécies (99,2%) da bacia do alto rio Paraná. Dias *et al.* (2016) geraram uma biblioteca de referência baseada no COI com 79 espécies da bacia do alto rio Paraná. Para a região amazônica, Guimarães *et al.* (2018) obtiveram as sequências DNA barcode de 29 espécies de peixes de riachos do baixo rio Tapajós, com 89,7% das espécies com identificação morfológica congruente com a identificação molecular. Papa *et al.* (2021) obtiveram uma base dados de sequências de DNA barcode de 199 espécies do rio Maroni, das Guianas. Entretanto, até o momento nenhum estudo se propôs a compor uma biblioteca genética de referência com base no marcador mitocondrial citocromo oxidase subunidade I (COI) para os principais tributários de água branca da bacia amazônica.

O presente capítulo tem como objetivo realizar a construção de um banco de dados abrangente com sequências de COI das espécies de peixes coletadas no baixo rio Purus, na área de influência da RDS-PP e Rebio Abufari, bem como, a partir do banco de dados, selecionar as espécies-alvo de peixes de elevado interesse para o manejo e/ou conservação e por fim descrever os padrões de riqueza de espécies da ictiofauna nas diferentes categorias de lagos e diferentes períodos hidrológicos, considerando as espécies-alvo e o total de espécies.

Material e Métodos

Amostragens de material biológico

Para a amostragem da ictiofauna, os peixes foram capturados por meio de procedimentos padronizados de coleta em água aberta para os oito locais fixos de amostragem; enquanto nos cinco locais de amostragem variável foi empregado o maior esforço amostral possível com foco exclusivo em elevar a capacidade de captura, sem necessidade de obedecer a qualquer padronização amostral pré-estabelecida.

Para os procedimentos padronizados de coleta foram utilizados os apetrechos de pesca redes de espera simples (“malhadeiras”) e redes de cerco em banco de macrófitas (“redinha”). Em cada lago foi utilizada uma bateria de malhadeiras composta por dez redes de emalhar variando de 30 a 120 mm entre nós opostos, com 10 m de comprimento cada e

altura entre 1,5 a 3,5 m que permaneceram imersas por 24 horas consecutivas, com despescas a cada 6 horas. Em cada lago foram realizados cercos em três diferentes bancos de macrófitas, por meio de uma rede de arrasto com malha de 15 mm entre nós opostos, com 10 m de comprimento cada e 2 m de altura.

Para os demais procedimentos de captura da ictiofauna foram utilizados, além de redes de espera simples e redes de cerco em banco de macrófitas com as características supracitadas, foram incluídos como apetrechos um conjunto de três peneiras retangulares de 50 cm por 80cm, 80 por 100 cm e 100 por 150 cm; uma rede de arrasto de praia com malha de 15 mm entre nós opostos, com 15 m de comprimento cada e 2 m de altura; e uma rede para arrasto de fundo do tipo “trawl net” com malha de 15 mm entre nós opostos.

Independente do apetrecho e da metodologia utilizada, imediatamente após a coleta todos os indivíduos foram triados, identificados com número de campo e enquadrados no menor nível taxonômico possível (geralmente em nível específico), considerando as limitações de acesso a bibliografia especializada e uso de equipamentos em campo.

Ainda em campo, amostras de músculo da região látero-dorsal do lado direito do corpo (para que não prejudique análises taxonômicas posteriores) foram retiradas dos indivíduos de médio e grande porte de cada espécie de peixe coletada e armazenadas em recipiente isotérmico com gelo, sendo os respectivos materiais-testemunho fixados em formaldeído 10% e acondicionados em tambores plásticos. Os indivíduos de menor porte foram acondicionados em tambores com álcool 96% e suas respectivas amostras de tecido retiradas em laboratório, buscando sempre obter no mínimo cinco amostras de tecido por espécie para ambos os casos.

Todo o material coletado foi transportado para o Laboratório de Biologia e Genética de Peixes – UNESP/Botucatu (LBP-UNESP) onde foram submetidos a revisão da identificação taxonômica, separação em lotes, acondicionamento em álcool 70% para conservação e depósito no acervo ictiológico do LBP-UNESP. As amostras de tecido receberam números únicos de identificação (vouchers) e foram depositadas na coleção genética do LBP-UNESP.

A classificação das ordens e famílias de peixes seguiu Betancur-R. *et al.* (2017) e das subfamílias Van der Laan e Fricke (2022). As espécies foram apresentadas em ordem alfabética devido a incongruência entre propostas filogenéticas morfológicas e moleculares, ou devido a falta de resolução entre elas. Arranjos nomenclaturais estão de acordo com Fricke *et al.* (2023). As identificações seguiram Rössel (1963), Kullander (1983), Menezes (1992), Menezes e Lucena (2004), Mago-Lecia (1994), Toledo-Piza (2000), Benine *et al.* (2004), Malabarba (2004), Correa *et al.* (2006), Lundberg e Cox-Fernandes (2007), Rocha *et*

al. (2007), Santos *et al.* (2009), Mendonça e Wosiacki (2011), Lundberg *et al.* (2013), Queiroz *et al.* (2013), Sullivan *et al.* (2013), Britzke *et al.* (2014), Carvalho e Albert (2015), Oliveira *et al.* (2015), Ota (2015), Ota *et al.* (2015), Walsh *et al.* (2015), Melo e Oliveira (2017), Ramirez *et al.* (2017), Ribeiro *et al.* (2017), Mateussi *et al.* (2018), Silvano *et al.* (2020), Soares *et al.* (2020), Littmann *et al.* (2021), Mattox *et al.* (2021) e Sabaj e Arce (2021).

Extração, amplificação e sequenciamento do DNA

Para a extração do DNA total das amostras a partir de fragmentos do tecido muscular preservado em álcool 96% foram utilizados o kit Wizard® Genomic DNA Purification (Promega, EUA), segundo as instruções do fabricante e o protocolo proposto por Ivanova *et al.* (2006) e adotado para tecidos de peixes por Nobile *et al.* (2019). As sequências parciais do gene mitocondrial citocromo c oxidase subunidade I (COI) foram amplificadas por reação em cadeia polimerase (PCR) com cinco conjunto de *primers* (Quadro 1).

Quadro 1. Conjuntos de *primers* utilizados para amplificação e sequenciamento do gene mitocondrial citocromo c oxidase subunidade I (COI) das espécies de peixes coletadas em áreas protegidas do baixo rio Purus, Amazonas.

Conjunto	Identificação	Sequências	Referências
1	FISH-F1	5'-CA ACC AAC CAC AAA GAC ATT GGC AC-3'	Ward <i>et al.</i> (2005)
	FISH R1	5'-TAG ACT TCT GGG TGG CCA AAG AAT CA-'	Ward <i>et al.</i> (2005)
2	FISH-F2	5'-CG ACT AAT CAT AAA GAT ATC GGC AC-'	Ward <i>et al.</i> (2005)
	FISH-R2	3'-CT TCA GGG TGA CCG AAG AAT CAG AA -'	Ward <i>et al.</i> (2005)
3	FISH-F6	5'-CY AAY CAC AAA GAY ATT GGC A-'	Jennings <i>et al.</i> (2019)
	FISH-R7	5'-AR ACT TCT GGR TGD CCR AAG AAY CA-'	Jennings <i>et al.</i> (2019)
4	L5698-ASN	5'-GG CCT CGA TCC TAC AAA GKT TTA GTT AAC-'	Inoue <i>et al.</i> (2001)
	H7271-COI	5'-TG GTG GGC TCA TAC AAT AAA-'	Melo <i>et al.</i> (2011)
5	COX1-F	5'-AT AAA GAY ATY GGC ACC CTY-'	Costa e Amorim (2011)
	COX1-R	5'-GY TCT TCR AAR GTG TGA TAS G-'	Costa e Amorim (2011)

As reações foram realizadas em um volume de reação de 12,5 µL por amostra, contendo 1,25 µL de 10× PCR buffer, 0,50 µL MgCl₂ (50 mM), 0,50 µL dNTPs (2 mM), 0,25 µL de cada *primer* F(foward) e R(reverse) (10 mM), 0,20 µL de PHT Taq DNA polimerase (Phoneutria Biotecnologia e Serviços Ltda, Brasil; 5 U/µl), 2 µL de DNA (50ng a 100ng) e 7,55 µL de ddH₂O. A reação de PCR consistiu em uma desnaturação inicial (3 min a 95°C), seguida por 30 ciclos de desnaturação da cadeia (20 s a 94°C), hibridização do *primer* (45 s a 52°C ou 45 s a 50°C), extensão do nucleotídeo (1 min a 68°C), e uma extensão final (7 min a

68°C). Todos os produtos de PCR foram visualizados em gel de agarose a 1% para verificação da amplificação do produto em forma de banda através de um corante revelado em transiluminador (Griffiths et al., 2016) e purificados com ExoSap-IT (USB Corporation) seguindo as instruções do manual. O produto purificado de PCR foi submetido a reação de sequenciamento por meio do kit Big Dye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Applied Biosystems, Austins, USA), sendo purificado por precipitação em EDTA/Acetato de sódio/etanol e analisado em sequenciador de DNA automático, modelo ABI 3130-Genetic Analyzer (Applied Biosystems) no Instituto de Biotecnologia - IBTEC, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, câmpus de Botucatu, SP.

Banco de dados de DNA barcoding e delimitação de espécies-alvo

As informações biológicas referentes a ictiofauna foram utilizadas para compor uma coleção de tecidos das áreas amostradas e gerar um banco de dados composto de sequências de fragmentos do gene COI de todas as espécies de peixes coletados, com ênfase em espécies-alvo definidas por critérios de elegibilidade aplicáveis ao manejo e conservação. Para a seleção das espécies-alvo foram adotados os seguintes critérios de elegibilidade: (i) estado de conservação EC; (ii) existência de restrição legal, temporária ou anual, para captura e/ou comercialização da espécie (PL); (iii) grau de importância econômica da espécie (IC); e (iv) previsão legal de potencial captura e utilização da espécie para fins ornamentais ou para aquarofilia (AO). Dentre as espécies de peixes coletadas, foram enquadradas como espécies-alvo as espécies que enquadradas em pelo menos um (01) dos critérios de elegibilidade propostos.

O enquadramento das espécies quanto ao estado de conservação foi baseado na Lista Nacional de Espécies de Peixes Ameaçadas de Extinção, definida pela Portaria MMA nº 148, de 7 de junho de 2022 (MMA, 2022). Para este critério foram adotadas as categorias: Criticamente em Perigo (CR), Em Perigo (EN), Vulnerável (VU), Quase Ameaçada (NT), Dados Insuficientes (DD), Menos Preocupante (LC) e Não Aplicável (NA), sendo as três primeiras categorias condições para definição da espécie como espécie-alvo do presente estudo.

Para fins de enquadramento das espécies no critério de restrição legal foram adotadas: PL^A: Portaria IBAMA nº 48 de 5 de novembro de 2007 (IBAMA, 2007), que proíbe a captura e utilização de determinadas espécies no estado do Amazonas período de defeso; PL^B: Instrução Normativa Nº 35 de 29 de setembro de 2005 (MEMA, 2005), que define o período anual de defeso do tambaqui (*Colossoma macropomum*) na bacia hidrográfica do rio

Amazonas; PL^C: Instrução Normativa IBAMA N° 34 de 18 de junho de 2004 (IBAMA, 2004) e PL^D: Instrução Normativa IBAMA N° 1 de 1 de junho de 2005 (IBAMA, 2005), que complementarmente proíbem a captura e comercialização do pirarucu (*Arapaima gigas*) em qualquer período do ano; PL^E: Instrução Normativa IBAMA N°, 204 de 22 de outubro de 2008 (IBAMA, 2008), que estabelece normas, critérios e padrões para a exploração com finalidade ornamental e de aquariofilia de exemplares vivos de raias nativas de água continental, família Potamotrygonidae; e PL^F: Portaria SAP/MAPA N° 1.082 de 22 de junho de 2022 (SAP/MAPA, 2022), que dispõe sobre a moratória da pesca e comercialização da piracatinga (*Calophysus macropterus*) em águas jurisdicionais brasileiras e em todo território nacional.

Para o enquadramento das espécies no critério grau de importância econômica (IC), foi adotada a classificação proposta por Santos *et al.* (2009), que classificou as espécies nas categorias de importância: destacada (superior a 20%), moderada (entre 20% e 5%) e insignificante (inferior a 5%), tendo como referência o desembarque realizado em Manaus, reconhecidamente o principal porto de comercialização de pescado no Estado do Amazonas. As espécies pertencentes a qualquer uma destas categoria foi enquadrada dentro dos critérios de elegibilidade.

Para a seleção das espécies quanto à existência de previsão legal captura e utilização da espécie para fins ornamentais ou para aquariofilia, foi adotada: (1) a AO: Instrução Normativa Interministerial MEPA/MEMA N°1 de 3 de janeiro de 2012 (MEPA/MEMA, 2012), que estabelece normas, critérios e padrões para a exploração de peixes nativos ou exóticos de águas continentais com finalidade ornamental ou de aquariofilia (espécies previstas no Anexo I) e (2) AO2: Resolução CEMAM N° 24 de 18 de agosto de 2017 (CEMAAM, 2017), que estabelece procedimentos para pesca manejada de larvas e alevinos de aruanã branco (*Osteoglossum bicirrhosum*) e de aruanã preto (*Osteoglossum ferreirai*) no Estado do Amazonas.

Análise de dados

Para verificar os padrões de riqueza de espécies e abundância de ovos e larvas entre lagos de uso, proteção e manejo os dados foram considerados apenas os locais fixos de amostragem, agrupados por local, e período hidrológico. Para fins de apresentação dos resultados merecem destaque as seguintes situações: (1) no período de outubro de 2021 foi ampliado o esforço amostral para o levantamento da ictiofauna, com a inclusão de locais de amostragem variável e apetrechos de pesca não incluídos nas amostragens padronizadas.

Essas dados foram adicionados aos obtidos pelas amostragens padronizadas para compor o banco de dados de espécies, no entanto não foram incluídos nas análises comparativas da ictiofauna; (2) no período de outubro de 2022 houve dificuldade de acesso a alguns locais de amostragem, devido a intensidade da seca na região, condição prevista para a bacia do rio Purus pelo Boletim de Monitoramento Hidrometeorológico da Amazônia Ocidental do CPRM Nº 40 de 7 de outubro de 2022, haja visto o registro do menor nível da série histórica do rio Acre, um dos principais afluentes da margem direita do rio Purus, no dia 28/09/2022, chegando à cota de 1,24m. A tendência de níveis abaixo do esperado foi mantida pelos boletins subsequentes de 14 de outubro de 2022 (Boletim Nº 41) e 21 de outubro de 2022 (Boletim Nº 42), período que incluiu a data de realização das amostragens. Dessa forma, foi necessária a inclusão de pontos de amostragem variável para suprir o déficit espacial resultante da inacessibilidade à alguns locais de coleta.

Com base no banco de dados de espécies gerado, as sequências *Forward* e *Reverse* de DNA *barcoding* obtidas para cada espécie de peixe foram editadas e submetidas a função “*Align/Assemble* → *De Novo Assemble*” para obtenção do consenso no programa Geneious 7.1.4 (Kearse *et al.*, 2012) e verificação da presença de inserções, deleções e/ou códon de parada (stop codons). Cada uma das sequências consenso foi comparada com os bancos de dados genéticos BOLD e Genbank por meio das ferramentas *Identification engine* (https://www.boldsystems.org/index.php/IDS_OpenIdEngine) e BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), respectivamente, que realizam a busca de regiões de similaridade entre sequências biológicas (Tatusova e Madden, 1999).

Para a busca das sequências no BOLD foi selecionado os parâmetro “*Animal identification COP*” e o sub-parâmetro “*Species Level barcode Records*”, enquanto que as buscas no Genbank foram realizadas pelo parâmetro “*blastn (Nucleotide BLAST)*” com seleção do algoritmo “*megablast*”, que realiza a busca por sequências altamente semelhantes. Para ambos os casos foi considerado como resultado de cada busca a sequência com o maior valor de percentagem de similaridade (BOLD) e/ou identidade (Genbank), tendo como referência valores iguais ou superiores a 97%. Este valor foi adotado para preservar a distância genética hipotética de 2% para separar as espécies, considerando as potenciais variações inerentes ao processo de cruzamento das sequências nos bancos de dados genéticos nas ferramentas utilizadas. Para cada resultado obtido foram anotadas na tabela de espécies informações obtidas sobre nome da espécie, similaridade e/ou identidade em percentagem e BOLD BIN e/ou Genbank ID.

Com base nos resultados das comparações da identificação original (baseada na morfologia) da espécie, com a identificação da espécie com maior similaridade genética de

DNA *barcoding* depositada nos bancos de dados BOLD e Genbank, foram realizadas inferências caso a caso em cada um dos cenários, a partir de quatro critérios para a tomada de decisão (Quadro 2).

Quadro 2. Critérios, premissas e decisões para cada cenários de tomada de decisão frente as comparações da identificação original da espécie com a identificação da espécie com maior similaridade genética de DNA *barcoding* depositada nos bancos de dados BOLD e Genbank.

Cenário	Critério	Premissa	Coloração de referência
(1) Identificação Morfológica = Identificação Molecular	Similaridade $\geq 97\%$ *	Valores de similaridade iguais ou superiores a 97% indicam alta similaridade entre as sequências, sendo considerada a condição ideal; Valores de similaridade menores que 97% foram aceitos com a premissa de baixa qualidade da sequência depositada, sendo a decisão suportada pela identificação congruente em nível específico.	Verde
(2) Situação 1: Identificação Morfológica \neq Identificação Molecular; Situação 2: Identificação morfológica = identificação molecular	Situação 1: Similaridade $< 97\%$ ou $\geq 97\%$; Situação 2: Similaridade $< 97\%$	Incongruência na identificação em nível específico ou genérico em situação de valores de similaridade menores que 97% ; ou congruência na identificação porém com similaridade inferior a 97% pressupõem a investigação pormenorizada da identificação taxonômica, repetição do sequenciamento, cálculo e análise de distância genética e análise das árvores filogenéticas para tomada de decisão realizada a partir de critérios técnicos, com consulta a especialistas e lastreada por material testemunho depositado na coleção do LBP-UNESP	Laranja
(3) Identificação molecular indisponível	Similaridade indisponível	Resultados das comparações com bancos genéticos indisponíveis devido a insucesso na obtenção das sequências ou obtenção de sequências curtas ou de baixa qualidade	Sem preenchimento

* em alguns casos, espécies com identificação morfológica igual a molecular e similaridade inferior a 97% também foram enquadradas no cenário 1.

Após o enquadramento, como método complementar para tomadas de decisão para as espécies enquadradas no cenário 2, dentro de cada ordem as sequências foram alinhadas por família usando-se o editor MUSCLE acoplado ao *software* MEGA v. 11.0.3 (Tamura *et al.*, 2021).

Ainda no *software* MEGA foram calculadas as distâncias genéticas dos pares de espécies dentro de cada família pela ferramenta “*Compute pairwise distances*” e construídos dendrogramas baseados no método de Neighbor-Joining (NJ) para se obter uma representação gráfica do padrão de distribuição da divergência genética pelo modelo Kimura-2-parâmetros (K2P), com base 1000 repetições por meio do método Bootstrap. Para os ordens e/ou famílias que apresentaram apenas uma espécie, a metodologia supracitada não pôde ser aplicada; na presença de apenas duas espécies por família foi apresentado apenas o valor de distância genética da dupla de espécies; na presença de 3 espécies foram apresentados os valores de distância genética e dendrograma, sem os resultados de Bootstrap pela necessidade de no mínimo quatro espécies para que as análises sejam executadas; nos

casos em que o número de espécie por família foi igual ou superior a quatro, foram apresentados os valores de distância genética de todos os possíveis pares de espécies e os respectivos dendrogramas com valores de Bootstrap. Pares de espécies que apresentaram valores de distância genética (K2P) menores que 2% foram objeto de análise e discussão, com foco nas espécies enquadradas no cenário 2.

Portanto, para tomada de decisão sobre a proposta de identificação das espécies apresentada no presente estudo, foram considerados os seguintes critérios: (i) enquadramento das espécies com base na similaridade entre a sequência obtida e as sequências disponíveis nos bancos de dados genéticos; (ii) revisão taxonômica exaustiva e repetição do sequenciamento com diferentes *vouchers* das espécies enquadradas no cenário 1 com similaridade menor 97% e de todas as espécies enquadradas no cenário 2; (iii) análise dos padrões de distribuição conhecidos das espécies enquadradas no cenário 2; (iv) presença ou ausência de registros das espécies em bancos de dados genéticos; e (v) análises dos valores de distância genética (K2P).

As representações gráficas para apresentação dos resultados foram realizadas no software RStudio versão 2022.07.2 (RStudio Team, 2022) e pacotes “*vegan*” (Oksanen *et al.*, 2013), “*ggplot2*” (Wickham, 2016), “*dplyr*” (Wickham *et al.*, 2022) e “*tidyr*” (Wickham e Girlich, 2022). Os mapas foram elaborados no *software* QGIS versão 3.14.1-Pi (QGIS, 2020).

Resultados

Nas amostragens de ictiofauna foram coletados 7.495 espécimes de peixes de água doce, enquadrados taxonomicamente em 272 espécies, 165 gêneros, 48 famílias e 14 ordens. Foram depositados 1.433 tecidos na coleção genética do Laboratório de Biologia e Genética de Peixes (LBP) da UNESP, *campus* de Botucatu. Characiformes e Siluriformes foram os ordens de peixes mais representativas com 111 e 89 espécies e 18 e nove famílias respectivamente. Com número menor, porém considerável de espécies, aparecem os ordens Gymnotiformes (32 espécies) e Cichliformes (29 espécies). As demais ordens são representadas por poucas ou uma única espécie, sendo estas Clupeiformes (4 espécies), Perciformes (representado pela nomenclatura *Incertae sedis* em nível de ordem em Eupercaria para Scianidae e Ovalentaria para Polycentridae na tabela 2) e Synbranchiformes (três espécies), Osteoglossiformes, Myliobatiformes e Cyprinodontiformes (duas espécies), Tetraodontiformes, Gobiiformes, Beloniformes e Pleuronectiformes com uma única espécie cada (Figura 1).

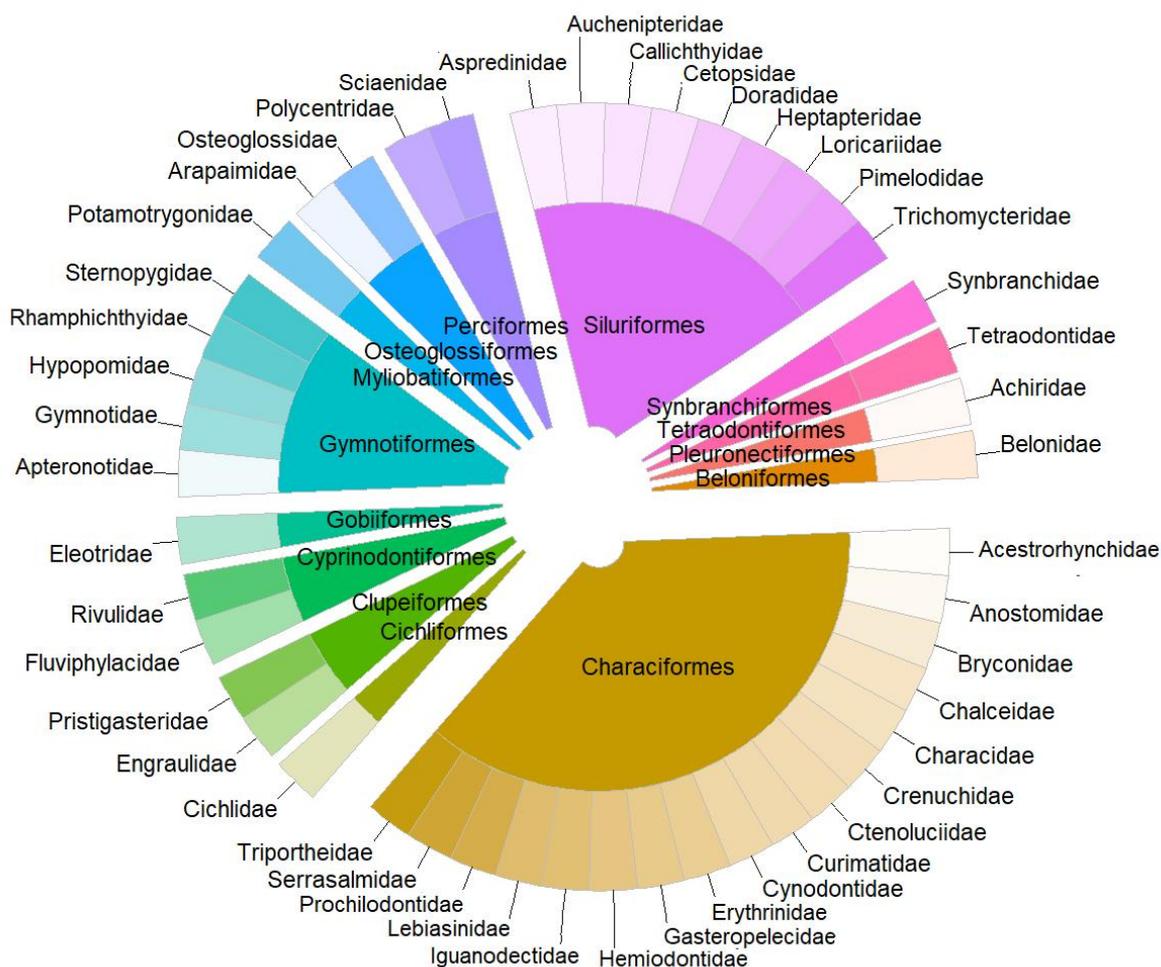


Figura 1. Gráfico do tipo PieDonut com ordens e famílias de peixes neotropicais registradas nos locais de coleta fixos e variáveis da RDS-PP e Rebio Abufari, com representação da participação de cada ordem em relação número de famílias (área Pie do gráfico) e famílias por ordem (área donut do gráfico).

Com exceção da família Cichlidae (Cichliformes), com registro de 29 espécies, as famílias mais representativas pertencem às ordens Characiformes e Siluriformes. Dentre os Characiformes destacam-se Characidae (32 espécies), Serrasalminidae (17 espécies) e Curimatidae (14 espécies); e dentre os Siluriformes: Loricariidae (22 espécies), Doradidae (21 espécies), Pimelodidae (19 espécies) e Auchenipteridae (15 espécies).

Em comparação com as principais compilações publicadas sobre a diversidade de peixes da bacia do rio Purus, os dados apresentados no presente estudo representam o equivalente em números totais a 75% do número de espécies listados por Dagosta e De Pinna (2019) e 30,9% do proposto por Jézequel *et al.* (2020). Em relação às espécies listadas por este último estudo para a sub drenagem Purus 1, que agrega a região do baixo rio Purus onde

estão inseridas a RDS-PP e a Rebio Abufari, foram registradas nas amostragens realizadas entre 2020 e 2022, cerca de 43% do número total de espécies para essa região. A delimitação da sub drenagem Purus 1 foi baseada na estrutura HydroBASINS (www.hydrosheds.org/page/hydrobasins), que é um subconjunto da base de dados HydroSHEDS (Lehner e Grill, 2013). Nas amostragens do presente estudo foram coletadas 208 espécies a mais do que o número total de espécies de peixes inventariado por Morales *et al.* (2019) nos lagos de várzea da mesma região do baixo rio Purus (Figura 5).

Considerando a sobreposição de espécies entre os bancos de dados de espécies publicados e o presente estudo, verificou-se que as amostragens nos locais de coletas fixos e variáveis incrementaram todas as listas de espécies disponíveis para a bacia ou para a região, com novos registros de 138 espécies para a lista de Dagosta e de Pinna (2019), 62 para Jézequel *et al.* (2020) considerando toda a bacia, 71 espécies para a região Purus 1 desse mesmo estudo e 224 para Morales *et al.* (2019). Maior sobreposição é identificada com Jézequel *et al.* (2020), com destaque para a elevada sobreposição em relação ao número total de espécies para a região Purus 1 (Figura 2).

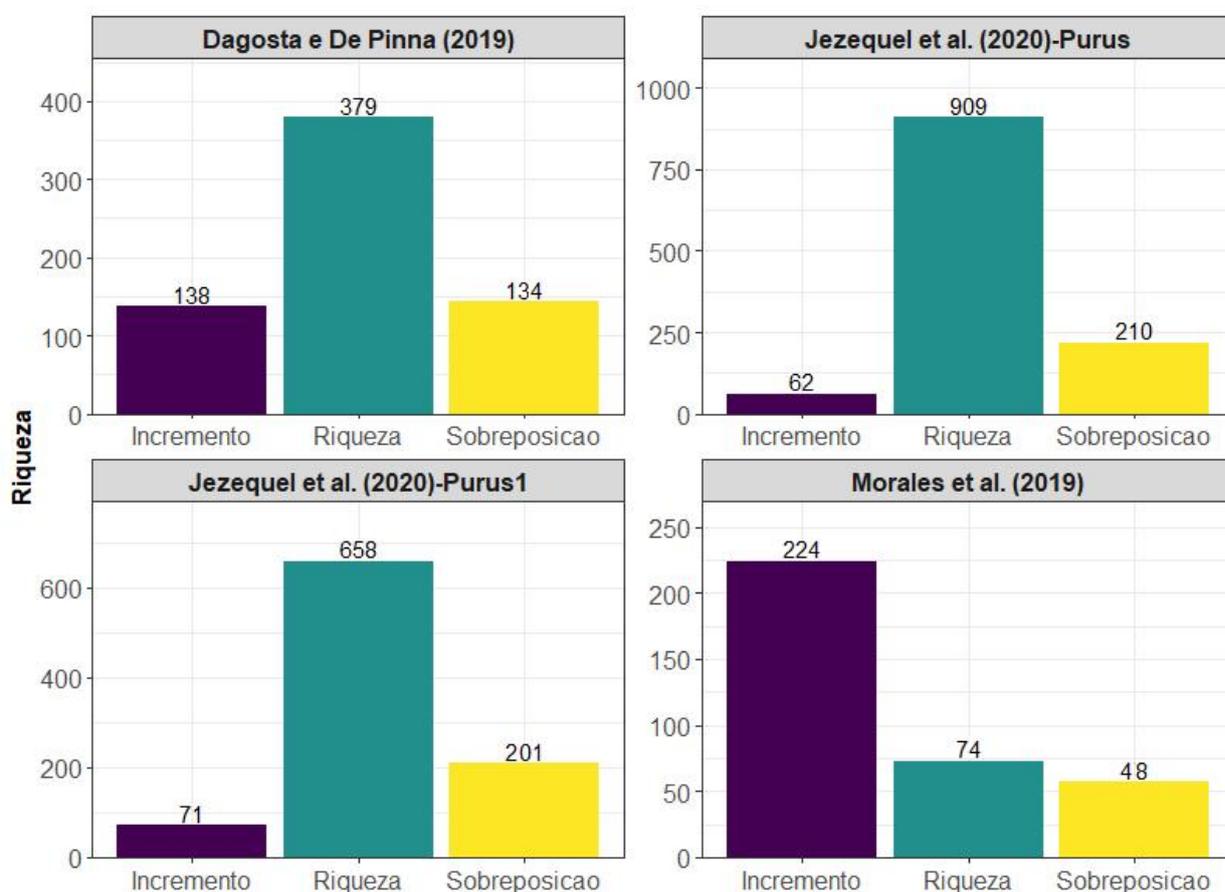


Figura 2. Dados comparativos entre os principais banco de dados de espécies publicados para a bacia do rio Purus ou para o seu trecho inferior (baixo rio Purus), com informações

sobre número total de espécies listadas em cada estudo (riqueza), espécies comuns nos trabalhos e no presente estudo (sobreposição) e número de espécies coletadas que não constavam nas listas publicadas (incremento).

Os exemplares-testemunho de cada espécie foram depositados na coleção ictiológica LBP-UNESP em 779 lotes, o que representa 99,3% das espécies coletadas. Apenas as espécies, representadas por seis amostras de tecido, *Potamotrygon motoro* (vouchers: 106059 e 106060) e *Potamotrygon scobina* (vouchers: 103389, 103390, 103391 e 103392), não possuem material-testemunho depositado na coleção LBP-UNESP pois os exemplares eram muito grandes para o transporte, sendo estes indivíduos liberados na natureza após a identificação taxonômica, registro fotográfico, realização de medidas e retirada das alíquotas de tecido.

As espécies mais abundantes foram *Moenkhausia gracilima*, com 1.707 espécimes capturadas, seguida por *Mesonauta festivus* (n=842), *Ctenobrycon spilurus* (n=393), *Anchoviella jamesi* (n=371) e *Acarichthys heckelii* (n=305). Por outro lado, 78 espécies foram consideradas raras nas amostragens, sendo representadas por lotes únicos com apenas 1 ou 2 espécimes.

Ressalta-se a amostragem de espécies de destacado interesse comercial: *Astronotus crassipinnis*, *Schizodon fasciatus*, *Potamorhina altamazonica*, *Semaprochilodus insignis*, *Hypophthalmus edentatus*, *Hypophthalmus marginatus*, *Plagioscion squamosissimus*, *Pygocentrus nattereri*, *Colossoma macropomum*, *Cichla monoculus*, *Hemiodus immaculatus*, *Hemiodus microlepis*, *Hemiodus* sp. “rabo de fogo”, *Crenicichla cincta*, *Crenicichla cyanonotus*, *Crenicichla inpa*, *Crenicichla johanna* (Santos *et al.*, 2009), *Arapaima gigas* e *Osteoglossum bicirrhosum* (Bayley e Petrere, 1989).

As espécies de notório interesse ornamental registradas foram o acará-disco (*Symphysodon aequifasciatus*), peixe-folha (*Monocirrhus polyacanthus*), linguado (*Hypoclinemus mentalis*), baiacu (*Colomesus asellus*), coridora ou limpa-vidro (*Corydoras schwartzi*), acará-açú (*Astronotus crassipinnis* e *Astronotus ocellatus*); banjo (*Bunocephalus coracoideus*), jacundá (*Crenicichla* spp.), acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) e apistograma (*Apistogramma agassizii*), piranha-caju (*Pygocentrus nattereri*), acará-cupido (*Biotodoma cupido*), guaru (*Fluviphylax simplex*), dianema (*Dianema urostriatum*), uaru (*Uaru amphiacanthoides*) dentre outras (Tribuzy-Neto *et al.*, 2020).

Dentre as espécies registradas, as que apresentam algum tipo de restrição legal para captura, comercialização ou transporte são *Potamotrygon motoro* (IBAMA, 2008) , *Arapaima gigas* (IBAMA, 2004; IBAMA, 2005), *Colossoma macropomum* (MEMA, 2005),

Calophysus macropterus (SAP/MAPA, 2022), *Osteoglossum bicirrhosum*, *Brycon amazonicus*, *Brycon melanopterus*, *Mylossoma albiscopum*, *Mylossoma aureum*, *Piaractus brachypomus*, *Tripottheus albus*, *Tripottheus angulatus*, *Tripottheus auritus*, *Tripottheus culter*, *Tripottheus rotundatus*, *Hypophthalmus celiae*, *Hypophthalmus donascimientoi*, *Hypophthalmus edentatus*, *Hypophthalmus marginatus* e *Pseudoplatystoma tigrinum* (IBAMA, 2007).

Do ponto de vista do *status* de conservação, nenhuma das espécies registradas está atualmente categorizada como Criticamente em Perigo (CR), Em Perigo (EN) ou Vulnerável (VU) na Lista Nacional de Espécies Ameaçadas de Extinção (MMA, 2022).

Portanto, a partir dos critérios de elegibilidade propostos, 143 espécies foram definidas como espécies-alvo do presente estudo. Considerando-se que algumas espécies foram enquadradas em mais de um critério, foram obtidos 102 registros para interesse ornamental ou aquariofilia, 60 registros para interesse comercial e 19 registros para existência de restrição legal. As espécies-alvo foram prioritariamente submetidas ao cruzamento de informações com os resultados do *barcoding* para inferências sobre as propostas de tomada de decisão acerca da categorização dos lagos. Este procedimento foi posteriormente expandido a todas as espécies do banco de dados para complementar ou corroborar as propostas.

O banco de dados de referência de sequências de DNA *barcoding* é composto por 272 espécies no total e destas foram definidas 143 espécies-alvo (Tabela 1). Do banco de dados total, 239 espécies foram sequenciadas e 71,5% destas (171 espécies) foram enquadradas no cenário 1 do Quadro 2. No cenário 2 foram enquadradas 68 espécies. Não foi obtido êxito nas tentativas de sequenciamento de 33 espécies (cenário 3).

Tabela 1. Lista das espécies de peixes capturadas na Reserva de Desenvolvimento Sustentável Piagaçu-Purus (RDS-PP) e Reserva Biológica de Abufari (Rebio Abufari), no baixo rio Purus, entre 2020 e 2022. As referências para a classificação utilizada estão listadas na seção Material e Métodos. (Voucher LBP: número da amostra de tecido na coleção genética do LBP-UNESP; N° LBP: número de identificação de cada lote na coleção ictiológica do LBP-UNESP; Local: 1.Lago Caraipé; 2.Lago Tendalzinho ; 3.Lago Peauzinho; 4.Lago Apuí; 5.Lago Itapuru Mirim; 6.Lago Xaviana; 7.Rio Purus (RDS-PP); 8.Lago Furrielzinho; 9.Lago Assoalhador; 10.Lago Mosca 11.Igarapé do Chapéu; 12.Rio Purus (Rebio) e 13.Lago Japa; ECE: Enquadramento quanto aos critérios de elegibilidade: Restrição Legal: PLA - Portaria IBAMA nº 48 de 05 de novembro de 2007; PLB - Instrução Normativa Nº 35 de 29 de setembro de 2005; PLC - Instrução Normativa IBAMA Nº 34 de 18 de junho de 2004; PLD - Instrução Normativa IBAMA Nº 1 de 1 de junho de 2005; PLF - Portaria SAP/MAPA Nº 1.082 de 22 de junho de 2022; Importância Econômica: IC - Santos et al., (2009); Importância para aquarofilia ou uso ornamental: AO - Instrução Normativa Interministerial MAPA/MMA Nº1 de 3 de janeiro de 2012; AO2 - Resolução CEMAM Nº 24 de 18 de agosto de 2017; Categoria na Lista Nacional de Espécies Ameaçadas de Extinção: AE - Portaria MMA nº 148, de 07 de junho de 2022; BOLD (Ident. Engine): nome da espécie referente a sequência com maior similaridade na base de dados genéticos BOLD; Similar.: percentagem de similaridade (%); BOLD BIN: número único de identificação de cada sequência no banco de dados BOLD; Genbank (Blast): nome da espécie referente a sequência com maior identidade na base de dados genéticos Genbank; Perc. Ident.: percentagem de identidade (%); Genbank ID: número único de identificação de cada sequência no banco de dados Genbank; número em negrito: correspondência entre Voucher LBP e N° LBP); *: COI da espécie ausente apenas no Genbank; **: COI da espécie ausente apenas no BOLD; ***: COI da espécie inexistente no Genbank e BOLD . As cores verde, laranja e em branco representam respectivamente os cenários 1, 2 e 3 descritos no Quadro 2.

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/A no	ECE	BOLD (<i>Ident. Engine</i>)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (<i>Blast</i>)	Perc. Ident.	GenBank ID
CHONDRICHTHYES											
Myliobatiformes											
Potamotrygonidae											
<i>Potamotrygon motoro</i> (Müller e Henle 1841)	106059; 106060	Sem voucher	10	out/21	PL ^E	<i>P. cf. motoro</i>	100%	AEK8224	<i>P. motoro</i>	99,22%	MW04 1606.1

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/Ano	ECE	BOLD (<i>Ident. Engine</i>)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (<i>Blast</i>)	Perc. Ident.	GenBank ID
<i>Potamotrygon scobina</i> Garman 1913	103389; 103390 ; 103391; 103392	Sem voucher	11	fev/20		<i>P. scobina</i>	100%	AEK8224	<i>P. scobina</i>	100%	MW475886.1
OSTEICHTHYES											
Osteoglossiformes											
Arapaimidae											
<i>Arapaima gigas</i> (Schinz 1822)	106017; 106109 ; 106110; 106112; 106113; 106114	31415 ; 31505	3; 6; 10	out/21	PL ^C ; D; IC	<i>A. gigas</i>	100%	Private	<i>A. gigas</i>	99,05%	FJ418765.1
Osteoglossidae											
<i>Osteoglossum bicirrhosum</i> (Cuvier 1829)	103261; 103459 ; 103576	29346 29379 29471	3; 5; 10	fev/20	PL ^A ; IC; AO ²	<i>O. bicirrhosum</i>	100%	AAF2199	<i>O. bicirrhosum</i>	100%	KX832893.1
Clupeiformes											
Engraulidae											
<i>Anchoviella jamesi</i> (Jordan e Seale 1926) ***	108601; 108602; 108603; 108604; 108605; 108832 ; 108833; 108834; 108920; 108921; 108922	31212 31294 31396	6	out/21		<i>Lycengraulis sp.</i>	91,54%	Private	<i>Lycengraulis grossidens</i>	91,51%	JX124803.1
<i>Anchoviella juruasanga</i> Loeb 2012 ***	103461	29395	5	fev/20					<i>Anchoviella sp.</i>	94,71%	NC_014269.1
Pristigasteridae											
<i>Ilisha amazonica</i> (Miranda Ribeiro 1920) ***	106163; 106164 ; 106165; 111165	31087 32846	7; 12	out/21 out/22					<i>I. elongata</i>	86,47%	HM030767.1
<i>Pellona flavipinnis</i> (Valenciennes 1837)	111188 ; 111189	32858	4	out/22	IC	<i>P. flavipinnis</i>	99,82%	ACK2556	<i>P. flavipinnis</i>	98,80%	ON911713.1

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/Ano	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
<i>Pristigaster whiteheadi</i> Menezes e de Pinna 2000 ***	103334; 108783 ; 106178; 106183	29294 31249 31096	4; 7; 11	fev/20 out/21 out/22					<i>Ilisha striatula</i>	84,54%	JQ9281 90.1
Characiformes											
Acestrorhynchidae											
Acestrorhynchinae											
<i>Acestrorhynchus abbreviatus</i> (Cope 1878) **	106041 ; 111129	31440 32825	10	out/21 out/22					<i>A. lacustris</i>	89,37%	JN9886 64.1
<i>Acestrorhynchus falcirostris</i> (Cuvier 1819) **	103237; 103350; 103597; 108386 ; 108387; 108388	29370 29257 29476 31185	2; 6; 10	fev/20	AO; IC	<i>Acestrorhynchus</i> sp.	97,62%	Private	<i>Acestrorhynchus</i> sp.	93,80%	JF8009 35.1
<i>Acestrorhynchus microlepis</i> (Jardine 1841)	103349 ; 111166; 111167; 111168; 111169	29258 32847	6	fev/20 out/20	AO	<i>Acestrorhynchus</i> sp.	97,28%	Private	<i>A. microlepis</i>	84,67%	MZ052 059.1
Heterocharacinae											
<i>Priocharax</i> sp. n. ***	108401; 108402; 108403; 108404	31205	6	out/21					<i>Priocharax</i> <i>sp</i>	92,80%	OP257 286.1
Anostomidae											
<i>Laemolyta proxima</i> (Garman 1890)	103345 ; 108372; 111141; 111142; 111143	29261	1; 6; 9	fev/20 out/21 out/22		<i>L. proxima</i>	100%	ACL3459	<i>L. aff.</i> <i>proxima</i>	99,36%	KP864 697.1
<i>Leporinus fasciatus</i> (Bloch 1794)	103338 ; 103436; 103565; 111170; 111171;	29265 29411 29463	3; 5; 11	fev/20	AO; IC	<i>L. fasciatus</i>	100%	ACA0985	<i>L. fasciatus</i>	99,68%	KY524 541.1

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/Ano	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
<i>Leporinus friderici</i> (Bloch 1794)	103205; 103404	29355 32848	2; 6	fev/20 out/22	IC	<i>Leporinus friderici</i>	99,69%	ACJ1323	<i>Leporinus</i> <i>cf. friderici</i>	99,70%	MF664 234.1
<i>Pseudanos trimaculatus</i> (Kner 1858)	111187	32857	4	out/22	AO	<i>P. trimaculatus</i>	98,55%	Private	<i>P.</i> <i>trimaculatus</i>	98,42%	MH411 356.1
<i>Rhytidus argenteofuscus</i> Kner 1858	103486; 103566; 106028; 103395; 103396; 103397; 103398	29438 29464 31426 29484	4; 9; 10	fev/20 out/21	IC						
<i>Rhytidus microlepis</i> Kner 1858	103239; 103354; 103392; 106005; 108373; 108743; 103501; 103502; 103503; 103504; 103505; 103553; 103554; 103555; 103556; 103557 103393; 103647; 103418; 103419; 103420; 103679; 103449; 103450; 103483; 103484; 103485; 103589; 103590; 103360;	29372 29254 29483 31176 31225 31403 29437 29456	1; 2; 4; 6; 9; 10; 11	fev/20 out/21	IC	<i>R. microlepis</i>	100%	Private	<i>R. microlepis</i>	100%	MG911 750.1
<i>Schizodon fasciatus</i> Spix e Agassiz 1829	103420; 103679; 103449; 103450; 103483; 103484; 103485; 103589; 103590; 103360;	29389 29436 29466 29247 31465 31466 31306 31174	3;4;5; 6; 9; 10; 11	fev/20 out/21	IC	<i>Schizodon fasciatus</i>	100%	AAO7433	<i>Schizodon</i> <i>fasciatus</i>	99,98%	MZ051 441.1

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/Ano	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
	106070; 106071; 108846 ; 108370 108371										
Bryconidae											
Bryconinae											
<i>Brycon amazonicus</i> (Agassiz 1829)	106068	31463	5	out/21	PL ^A ; IC	<i>B. amazonicus</i>	100%	AAO8744	<i>B. melanopterus</i>	99,84%	FJ9780 40.1
<i>Brycon melanopterus</i> (Cope 1872)	106072	31467	5	out/21	PL ^A ; IC	<i>B. melanopterus</i>	100%	ADZ2795	<i>B. melanopterus</i>	100%	MG911 752.1
Chalceidae											
<i>Chalceus erythrurus</i> (Cope 1870) *	103241 ; 103643; 106004; 106011	29328 29481 31402 31409	3; 10	fev/20 out/21	AO; IC	<i>C. erythrurus</i>	99,85%	AAW6548	<i>C. macrolepidotus</i>	91,14%	MZ050 908.1
Characidae											
Aphyocharacinae											
<i>Aphyocharax</i> sp. **	103327; 108793; 108627 ; 108628; 108708; 108709; 108847; 108848; 108923; 108924	31256 31275 31206 31307 31393	3; 4; 6; 11; 13	fev/20 out/21					<i>A. dentatus</i>	93,29%	JN9886 81.1
Characinae											
<i>Charax macrolepis</i> (Kner 1858) ***	108747 ; 108748; 108749; 108750; 108751	31228	11	out/21		<i>C. niger</i>	96,92%	Private	<i>C. gibbosus</i>	90,84%	MZ051 814.1
<i>Phenacogaster pectinata</i> (Cope 1870) **	108773	31237	11	out/21					<i>P. wayana</i>	90,48%	MZ051 880.1
<i>Roebooides myersii</i> Gill 1870	103268; 103525; 103587; 103644;	29308 29447 29467 29485	4; 10; 11	fev/20 out/21							

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/A no	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
	103645; 103646; 108767; 108768; 108769; 108770; 108771	31235									
Cheirodontinae											
<i>Serrapinnus micropterus</i> (Eigenmann 1907) ***	108635; 108615; 108616; 108617; 108618; 108619 ; 108686; 108687; 108688; 108689; 108690	31284 31251 31390	3; 11; 13;	out/21					<i>Anablepsoides urubuiensis</i>	88,56%	ON098 498.1
<i>Serrapinnus</i> sp. **	103428 ; 108642	29413 31302	3; 4	fev/20 out/21		<i>S. kriegi</i>	98%	Private	<i>S. kriegi</i>	97,36%	HM422 471.1
Incertae sedis											
<i>Oxybrycon parvulus</i> Géry 1964 ***	108606 ; 108607	31213	6	out/21					<i>Gymnocorymbus ternetzi</i>	82,28%	JN9888 76.1
Stethaprioninae											
<i>Astyanax bimaculatus</i> (Linnaeus 1758)	103427; 106174; 108385 ; 108901; 103517; 103518; 103519; 103520; 108817; 108818; 108863; 108864	29412 31093 31184 31366 29443 31278 31321	1; 2; 3; 5; 7	fev/20 out/21	AO	<i>A. bimaculatus</i>	99,84%	ABU7524	<i>A. bimaculatus</i>	99,12%	KY267 448.1
<i>Ctenobrycon hauxwellianus</i> (Cope 1870) *	103435	29416	3	fev/20		<i>C. hauxwellianus</i>	100%	Private	<i>C. spilurus</i>	96,99%	KY348 903.1

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/A no	ECE	BOLD (<i>Ident. Engine</i>)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (<i>Blast</i>)	Perc. Ident.	GenBank ID	
<i>Ctenobrycon spilurus</i> (Valenciennes 1850)	103440;											
	103466;											
	108648;											
	108655;											
	108695;											
	108710;											
	108823;											
	108862;											
	108916;											
	103414;											
	103415;	29376										
	103416;	29390										
	103487;	31318										
	103488;	31346										
	103489;	31361										
	103490;	31209										
	103491;	31286		1; 2;								
	103514;	31319		3; 4;	fev/20		<i>Ctenobrycon sp.</i>	99,68%	Private	<i>C. spilurus</i>	97,20%	KY348
	103515;	31386		5; 6;	out/21							903.1
	103516;	29396		9; 10;								
	103549;	29435		11; 13								
	103550;	29451										
	103551;	29475										
	103552;	31182										
	103598;	31263										
	103599;	31265										
	108545;	31279										
	108546;											
	108547;											
	108548;											
	108549;											
	108623;											
	108624;											
108625;												
108632;												
108633												

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/Ano	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
<i>Gymnocorymbus thayeri</i> Eigenmann 1908 ***	103426; 103444 ; 103460; 106118; 108811; 108858; 108859; 111225; 111226; 111227	29397 29387 29391 31509 31268 31320; 32876	1; 2; 3; 5; 6; 8	fev/20 out/21 out/22	AO				<i>G. ternetzi</i>	94,88%	JN9888 76.1
<i>Hemigrammus analis</i> Durbin 1909	108564; 108565; 108566; 108567; 108568	31194	6	out/21	AO						
<i>Hemigrammus diagonicus</i> Mendonça e Wosiacki 2011 ***	103567; 103568 ; 103569; 103570; 103571; 103617; 103618; 103619; 103620; 103621	29469 29498	4; 6	fev/20		<i>H. erythrozonus</i>	94,82%	AAX1437	<i>H. marginatus</i>	91,28%	JN9888 94.1
<i>Hemigrammus durbiniae</i> Ota, Lima e Pavanelli 2015	103642; 108838	29499 31299	4; 6	fev/20 out/21							
<i>Hemigrammus geisleri</i> Zarske e Géry 2007 ***	108917	31387	13	out/21					<i>Aphyocharacidium melandetum</i>	92,78%	MZ051 965.1
<i>Hemigrammus haraldi</i> Géry 1961	108647; 108884; 108899; 108640; 108641	31310 31339 31359 31300	4; 5; 10	out/21							
<i>Hemigrammus levis</i> Durbin 1908 ***	108594; 108639; 108889 ; 108908; 108636; 108637; 108638	31208 31298 31344 31370 31287	3; 4; 5; 6; 10	out/21	AO	<i>H. ocellifer</i>	98,31%	Private	<i>H. ocellifer</i>	89,83%	KU568 850.1

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/Ano	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
<i>Hemigrammus lunatus</i> Durbin 1918	108801; 108902	31260 31363	5; 11	out/21							
<i>Hemigrammus ocellifer</i> (Steindachner 1882)	108705 ; 108890	31200 31345	6; 10	out/21	AO	<i>H. sp.</i>	99,5%	Private	<i>H. guyanensis</i>	86,78%	MZ051 489.1
<i>Hemigrammus unilineatus</i> (Gill 1858)	108631	31277	3	out/21	AO						
<i>Hemigrammus</i> sp.	111218; 111219; 111220; 111221; 111222	32873	8	out/22							
<i>Hyphessobrycon diancistrus</i> Weitzman 1977	103500; 108595; 108596; 108681; 108682; 108683; 108684; 108685	29439 31210 31389	6; 9; 13	fev/20 out/21	AO						
<i>Moenkhausia bonita</i> Benine, Castro e Sabino 2004	103532	29449	11	fev/20					<i>M. intermedia</i>	92,08%	GU701 944.1
<i>Moenkhausia collettii</i> (Steindachner 1882)	108918	31388	13	out/21							
<i>Moenkhausia chrysargyrea</i> *	108919 ; 108775; 108822; 108892; 103377; 103378; 103379;	31391 31239 31285 31348	13	out/21	AO	<i>Moenkhausia chrysargyrea</i>	99,69%	Private	<i>M. collettii</i>	85,41%	MZ051 443.1
<i>Moenkhausia dichrourea</i> (Kner 1858) *	103380; 103381; 103411; 103412; 103413; 103457; 103458; 103649; 103650;	29474 29398 29393 29495 31173 31313	1; 2; 3; 4; 5; 6; 10; 11	fev/20 out/21	AO	<i>M. dichrourea</i>	97,16%	Private	<i>M. intermedia</i>	96,41%	JN9890 45.1

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/A no	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
	103651; 103652; 103653; 108365; 108366; 108367; 108368; 108369; 108852; 108853; 108854										
<i>Moenkhausia gracilima</i> Eigenmann 1908	103328 ; 108696; 108774; 103451; 103452; 103635; 103636; 103637; 103638; 103639; 108589; 108590; 108591; 108592; 108593; 108672; 108673; 108674; 108675; 108676; 108677; 108692; 108693	29291 31375 31238 29392 29496 31207 31379 31380 31395	4; 5; 6; 11; 13	fev/20 out/21	AO			<i>M. bonita</i>	84,89%	MK928 340.1	
<i>Moenkhausia jamesi</i> Eigenmann 1908 ***	103456 ; 103622; 108912; 103533; 103534; 103535; 103536; 108840; 108841	29394 29486 31378 29450 31303	4; 5; 10; 13	fev/20 out/21	AO			<i>Astyanax serratus</i>	89,43%	KY267 957.1	

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/Ano	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
<i>Moenkhausia melogramma</i> Eigenmann 1908 ***	108797	31258	11	out/21		<i>M. aff. collettii</i>	97,52%	Private	<i>M. oligolepis</i>	82,43%	MN172491.1
<i>Stethaprion crenatum</i> Eigenmann 1916 ***	108942; 108943	31261	11	out/21		<i>Brachyhalcinus copei</i>	97,74%	Early-Release	<i>Moenkhausia inrai</i>	90,30%	MZ050975.1
<i>Stethaprion erythroops</i> Cope 1870 *	111135; 111136	32830	12	out/22		<i>S. erythroops</i>	97,04%	Private	<i>Poptella brevispina</i>	89,30%	MZ051207.1
Stevardiinae											
<i>Cyanogaster</i> sp. n. ***	108569; 108570; 108571; 108572; 108573	31195	6	out/21					<i>Knodus aff. megalops</i>	85,20%	KT248109.1
Tetragonopterinae											
<i>Tetragonopterus argenteus</i> Cuvier 1816	103467; 103389; 103390	29383 29487	5; 10	fev/20	AO	<i>T. argenteus</i>	100%	ACB4044	<i>T. argenteus</i>	99,61%	KX058279.1
<i>Tetragonopterus chalceus</i> Spix e Agassiz 1829	106095, 106096	31490, 31491	4	out/21	AO	<i>T. chalceus</i>	99,83%	Private	<i>T. argenteus</i>	98,65%	HM070395.1
Crenuchidae											
Crenuchinae											
<i>Crenuchus spilurus</i> Günther 1863	108516; 108517; 108518; 108519; 108520	31141	13	out/21	AO						
Ctenoluciidae											
<i>Boulengerella cuvieri</i> (Spix e Agassiz 1829)	106074; 106075 103480;	31469 31470 29419	5	out/21		<i>B. cuvieri</i>	99,85%	Private	<i>B. cuvieri</i>	99,80%	MH411352.1
<i>Boulengerella maculata</i> (Valenciennes 1850)	106019; 106020; 111180; 111181	31417 31418 32853	6; 10	fev/20 out/21 out/22	AO	<i>B. maculata</i>	98,04%	ACH2853	<i>B. maculata</i>	96,02%	AB070207.1
Curimatidae											
<i>Curimata inornata</i> Vari 1989	103218; 103238	29362; 29371	2	fev/20	IC	<i>C. cyprinoides</i>	98,73%	ADW2817	<i>C. inonata</i>	90,89%	MH537235.1

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/Ano	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
<i>Curimata knerii</i> Steindachner 1876 **	103275	29314	10	fev/20		<i>C. cyprinoides</i>	98,43%	ADW2817	<i>C. knerii</i>	98,31%	MH537238.1
<i>Curimata vittata</i> (Kner 1858)	103219 ; 111172; 111173; 103248; 106097	29363 32849 29334 31492	2; 3; 4; 6	fev/20 out/21 out/22	AO				<i>C. vittata</i>	100%	MG911799.1
<i>Curimatella dorsalis</i> (Eigenmann e Eigenmann 1889)	106012; 106031; 106032; 106033; 106034; 106035	31410 31429 31430 31431 31432 31433	10	out/21							
<i>Curimatella meyeri</i> (Steindachner 1882)	103326	29290	4	fev/20		<i>C. meyeri</i>	99,33%	Private	<i>C. meyeri</i>	99,50%	MH537251.1
<i>Curimatopsis cryptica</i> Vari 1982	108669; 108820; 108665; 108666	31374 31282 31371	3; 5	out/21							
<i>Curimatopsis evelynae</i> Géry 1964	108597; 108598; 108599; 108600; 108608; 108609; 108610; 108611; 108629; 108630 ; 108656; 108657; 108658	31211 31241 31276 31350	3; 6; 10; 11	out/21	AO				<i>C. macrolepis</i>	95,45%	KU519385.1
<i>Potamorhina altamazonica</i> (Cope 1878)	103405 ; 103406; 103407; 103506; 103507; 103508; 103509; 103510	29409 29428	3; 9	fev/20	IC	<i>P. altamazonica</i>	98,7%	ACK2803	<i>P. altamazonica</i>	98,59%	MN551008.1

Classificação	Voucher LBP	Nº LBP	Local	Mês/Ano	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
<i>Potamorhina latior</i> (Spix e Agassiz 1829)	103611; 103229 ; 103230; 103437; 103438; 103439; 103526; 103527; 103528; 103529; 103530; 103673; 103674; 103675; 103676; 103677	29482 29368 29410 29448 29429	2; 3; 4; 9; 10	fev/20	IC	<i>P. latior</i>	99,82%	ACK3092	<i>P. latior</i>	99,69%	MH537 302.1
<i>Potamorhina pristigaster</i> (Steindachner 1876)	103231 ; 103356; 103227; 111174; 111175	29369 29252 29348 32850	1; 2; 6	fev/20 out/22	IC	<i>P. pristigaster</i>	99,82%	AED9683	<i>P. pristigaster</i>	99,66%	MN551 006.1
<i>Psectrogaster amazonica</i> Eigenmann e Eigenmann 1889	103217; 103316 ; 103355	29361 29273 29253	2; 5; 6	fev/20	IC	<i>P. amazonica</i>	100%	Private	<i>P. amazonica</i>	98,12%	KX086 792.1
<i>Psectrogaster rutiloides</i> (Kner 1858)	103220 ; 103512; 103215; 103216; 103408; 103409	29374 29440 29360 29414	2; 3; 9	fev/20		<i>P. rutiloides</i>	99,94%	ACK2471	<i>P. rutiloides</i>	96,61%	MG911 820.1
<i>Steindachnerina bimaculata</i> (Steindachner 1876) **	106029; 106030	31427 31428	10	out/21					<i>S. bimaculata</i>	99,37%	MH537 329.1
Cynodontidae											
<i>Cynodon gibbus</i> (Spix e Agassiz 1829) *	103294 106062	29323	9	fev/20	IC	<i>C. gibbus</i>	99,60%	Private	<i>C. meionactis</i>	98,96%	MZ050 858.1
<i>Cynodon septenarius</i> Toledo-Piza 2000 ***	106102	31497	4	out/21		<i>C. gibbus</i>	99,38%	Private	<i>C. meionactis</i>	99,22%	MZ050 858.1
<i>Hydrolycus scomberoides</i> (Cuvier 1819)	111190; 111191; 111192;	32859	4	out/22	IC						

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/Ano	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
	111193										
<i>Raphiodon vulpinus</i> Spix e Agassiz 1829	103283	29299	10	fev/20		<i>R. vulpinus</i>	100%	AAD5188	<i>R. vulpinus</i>	99,85%	KU288 926.1
Erythrinidae											
<i>Hoplerythrinus unitaeniatus</i> (Spix e Agassiz 1829)	103243; 103263 103258; 103337; 103521; 103591; 103660; 106050; 108707; 108825; 108903; 103468; 103469; 103481; 103482; 103572; 103573; 103574; 103575; 103654 ; 103655; 103656; 108745; 108746	29330	3	fev/20	IC	<i>H. unitaeniatus</i>	99,85%	Private	<i>H. unitaeniatus</i>	99,81 %	MG911 833.1
<i>Hoplias malabaricus</i> (Bloch 1794)		29343 29296 29444 29468 29382 31448 31204 31289 31364 29423 29427 29470 29492 31227	2; 3; 4; 5; 6; 9; 10; 11	fev/20 out/21	AO; IC	<i>H. malabaricus</i>	99,39%	ABZ3047	<i>H. malabaricus</i>	99,54%	MG699 565.1
Gasteropelecidae											
<i>Thoracocharax</i> sp. ***	111101; 111104 ; 111105	32810 ; 32811	12	out/22					<i>Astyanax bimaculatus</i>	91,94%	KY267 414.1
Hemiodontidae											
<i>Anodus elongatus</i> Agassiz 1829	103232; 103352; 103346 ; 103276	29350 29255 ; 29315	1; 6; 10	fev/20	AO, IC	<i>A. elongatus</i>	100%	Private	<i>A. elongatus</i>	100%	MG953 609.1
<i>Anodus orinocencis</i> (Steindachner 1887)	103351	29256	6	fev/20		<i>A. orinocencis</i>	100%	ACL3482	<i>A. orinocencis</i>	100%	MW37 7180.1
<i>Hemiodus immaculatus</i> Kner 1858	103344	29245	6	fev/20		<i>H. immaculatus</i>	100%	ADN9385	<i>H. immaculatus</i>	100%	MT949

Classificação	Voucher LBP	Nº LBP	Local	Mês/Ano	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
									s		001.1
<i>Hemiodus microlepis</i> Kner 1858	103336; 103353; 103403; 106052;	29295 29263 29459 31450	4; 6; 10	fev/20 out/21		<i>H. microlepis</i>	98,25%	AEG9174)	<i>H. microlepis</i>	98,26%	MT949 006.1
<i>Hemiodus</i> sp. “rabo de fogo” ***	103347; 103361	29244	6	fev/20					<i>Hemiodus</i> sp.	94,56%	MT949 038.1
Iguanodectidae											
<i>Bryconops alburnoides</i> Kner 1858 ***	103524	29446	4	fev/20					<i>Bryconops</i> sp.	81,75%	HM562 854.1
<i>Iguanodectes purusii</i> (Steindachner 1908)	108678; 108701; 108702; 108803; 108804; 108805; 108806	31383 31196 31264	6; 11; 13	out/21	AO				<i>I. aff. purusii</i>	89,97%	MZ050 996.1
Lebiasinidae											
Pyrrhulininae											
<i>Nannostomus eques</i> Steindachner 1876	108613; 108911; 108556; 108557; 108697; 108698; 108699; 108700	31243 31376 31191 31392	5; 6; 11; 13	out/21	AO	<i>N. eques</i>	97,06%	Private	<i>N. eques</i>	93,53%	KU568 936.1
<i>Nannostomus unifasciatus</i> Steindachner 1876 ***	108626; 108895; 108551; 108552; 108553; 108554; 108555	31273 31353 31190	3; 5; 6	out/21	AO				<i>Laemolyta taeniata</i>	83,59%	KP864 698.1

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/Ano	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
<i>Pyrrhulina australis</i> Eigenmann e Kennedy 1903	103648;	29500 31325 31271 29377 31181 31203 31308 31309 31340 108645; 108646; 108652; 108653; 108654; 108663; 108664	1; 2; 3; 4; 5; 6; 10	fev/20 out/21	AO	<i>P. australis</i>	95,32%	AAD9948	<i>P. australis</i>	95,54%	JN9891 84.1
	108650;										
	108814;										
	103445;										
	103446;										
	108541;										
	108542;										
	108543;										
	108544;										
	108584;										
	108585;										
	108586;										
	108587;										
	108588;										
	108643;										
	108644;										
	108645;										
108646;											
108652;											
108653;											
108654;											
108663;											
108664											
<i>Pyrrhulina brevis</i> Steindachner 1876 *	103331	31367	5	fev/20		<i>P. brevis</i>	97,4%	Private	<i>P. australis</i>	94,99%	JN9891 84.1
Prochilodontidae											
<i>Prochilodus nigricans</i> Spix e Agassiz 1829	111124; 111119; 111121; 111122; 111123	32820; 32822	9; 10	out/22	IC						
<i>Semaprochilodus insignis</i> (Jardine 1841)	103252; 111117; 111118	29338	3	fev/20	IC	<i>S. insignis</i>	100%	AAO9420	<i>S. insignis</i>	99,53%	KX086 754.1
<i>Semaprochilodus taeniurus</i> (Valenciennes 1821)	103244	29331	3	fev/20		<i>S. taeniurus</i>	100%	ADW1182	<i>S. taeniurus</i>	100%	KX086 750.1
Serrasalminae											
Colossomatinae											
<i>Colossoma macropomum</i> (Cuvier 1816)	106013; 106099; 106115; 111108;	31411 31494 31506 32814	2; 5; 9; 10	out/21 out/22	PL ^B ; IC	<i>C. macropomum</i>	100%	AAR9990	<i>C. macropomu m</i>	100%	FJ4187 67.1

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/A no	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID	
<i>Mylossoma albiscopum</i> (Cope 1872)	111217	32872										
	103224;											
	103228;											
	103255 ;											
	103310;											
	103499;											
	103640;											
	108791;	29367										
	108849;	29349										
	103373;	29340										
	103374;	29284										
	103375;	29434										
	103376;	29494		1; 2;								
	103600;	31254		3; 4;	fev/20	PL ^A	<i>M. albiscopum</i>	97,56%	Private	<i>M. albiscopum</i>	93,70%	OM453
	103433;	31311		5; 6;	out/21							710.1
	103434;	29461		9; 10;								
	103454;	29406		11								
	103455;	29385										
	103542;	29455										
	103543;	29477										
	103628;	31326										
	103629;											
	103630;											
103631;												
103632;												
108866;												
108867												
<i>Mylossoma aureum</i> (Spix e Agassiz 1829)	108888;											
	103447 ;											
	103448;											
	103592;											
	103593;	31343										
	103594;	29384		5; 4;	fev/20	PL ^A ;	<i>M. aureum</i>	100%	ACK2720	<i>M. aureum</i>	99,10%	KR070
	103595;	29462		10	out/21	IC						900.1
	103596;	29478										
	103623;											
	103624;											
	103625;											
	103626;											
	103627											

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/Ano	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
<i>Piaractus brachipomus</i> (Cuvier 1818)	106061; 111130	31456 32826	10	out/21 out/22	PLA; IC				<i>P. brachipomus</i>	98,84%	MH822 829.1
Serrasalminae											
<i>Metynnis altidorsalis</i> Ahl 1923 **	106007; 106010; 106016; 108886; 108887	31405 31408 31414 31342	10	out/21		<i>M. hypsauchen</i>	99,81%	AAZ3821	<i>M. altidorsalis</i>	97,45%	MG751 953.1
<i>Metynnis hypsauchen</i> (Müller e Troschel 1844)	103358; 103362; 103363; 103364; 103365	29243	6	fev/20	AO				<i>N. hypsauchen</i>	99,84%	MG752 004.1
<i>Metynnis lippincottianus</i> (Cope 1870)	103612; 103613; 103614; 103615; 103616	29497	6	fev/20	AO; IC	<i>M. lippincottianus</i>	92,86%	AAE7443	<i>Metynnis</i> sp.	99,44%	MG752 102.1
<i>Metynnis luna</i> Cope 1878	103279; 103313; 108777; 103308; 103309	29319 29276 31245 29283	4; 5; 9; 11	fev/20 out/21		<i>Myloplus asterias</i>	100%	Private	<i>M. hypsauchen</i>	100%	MG752 018.1
<i>Metynnis maculatus</i> (Kner 1858)	103282; 103280; 103281	29298 29320	9; 10	fev/20	AO	<i>M. altidorsalis</i>	99,83%	AAZ3821	<i>M. maculatus</i>	97,58%	MG752 067.1
<i>Pygocentrus nattereri</i> Kner 1858	103659; 103678; 108612; 108634; 108816; 103201; 103202; 103203; 103204; 103383;	29380 29415 31242 31281 31274 29354 29405 29430 29454 29473	1; 2; 3; 4; 5; 6; 9; 10; 11	fev/20 out/21	AO; IC	<i>P. nattereri</i>	100%	ABZ7351	<i>P. nattereri</i>	100%	MG752 561.1

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/Ano	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
	103431; 103432; 103492; 103493; 103494; 103495; 103496; 103537; 103538; 103539; 103540; 103541; 103582; 103583; 103584; 103585; 103586; 103606; 103607; 103608; 103609; 103610	29493									
<i>Serrasalmus compressus</i> Jégu, Leão e Santos 1991 **	103319; 106101; 108878	29286 31496 31335	4; 10	fev/20 out/21		<i>Serrasalmus rhombeus</i>	99,8%	AAC7587	<i>Serrasalmus sp.</i>	98,39%	MG752698.1
<i>Serrasalmus elongatus</i> Kner 1858	103312; 103324; 103401	29277 29288	4; 5	fev/20	AO	<i>S. elongatus</i>	100%	AAG9212	<i>S. elongatus</i>	99,84%	MG752621.1
<i>Serrasalmus hollandi</i> Eigenmann 1915 ***	103320; 103321	29287	4	fev/20	AO	<i>S. serrulatus</i>	99,83%	ADL9730	<i>S. serrulatus</i>	97,74%	MG752808.1
<i>Serrasalmus maculatus</i> Kner 1858	103323; 103359; 103497; 108876; 108905; 103325; 103388; 103442; 103443	29270 29248 29431 31333 31368 29289 29408	1; 4; 5; 6; 9; 10	fev/20 out/21		<i>S. maculatus</i>	99,69%	ADD4840	<i>S. maculatus</i>	99,69%	JX111853.1

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/Ano	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
<i>Serrasalmus rhombeus</i> (Linnaeus 1766)	103223; 103285; 108819; 103299 ; 103300	29366 29301 31280 29327	2; 3; 9; 10	fev/20 out/21	AO; IC	<i>S. rhombeus</i>	99,83%	AAC7587	<i>S. rhombeus</i>	98,48%	GU701507.1
<i>Serrasalmus spilopleura</i> Kner 1858	103222	29365	2	fev/20	AO; IC	<i>S. maculatus</i>	100%	ADD4840	<i>S. maculatus</i>	98,16%	GU701512.1
<i>Serrasalmus</i> sp. “2n=58” **	103221; 103286; 103288 ; 103370; 108782; 103297; 103298	29364 29302 29321 29249 31248 29326	2; 6; 9; 10; 11	fev/20 out/21		<i>S. rhombeus</i>	100%	AAC7587	<i>Serrasalmus</i> sp.	99,35%	MG752698.1

Triporthidae

Triporthinae

<i>Triporthus albus</i> Cope 1872	103233; 103256 ; 103366 108900; 108850; 108851 103208; 103209; 103212; 103213. 103214; 103663; 103664;	29246 29351 29341 31360 31312	1; 3; 5; 6	fev/20 out/21	PL ^A ; AO	<i>T. albus</i>	100%	ABZ3768	<i>T. albus</i>	99,70%	MF182363.1
<i>Triporthus angulatus</i> (Spix e Agassiz 1829)	103665; 103666; 103667; 103511; 108375 ; 108376; 108377; 108378; 108379; 108704	29358 29399 29433 31178 31199	1; 2; 3; 6; 9	fev/20 out/21	PL ^A ; AO; IC	<i>T. angulatus</i>	99,6%	Private	<i>T. angulatus</i>	100%	MG911790.1

Classificação	Voucher LBP	Nº LBP	Local	Mês/A no	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
<i>Triportheus auritus</i> (Valenciennes 1850)	103318; 108812; 103210; 103211; 103225 ; 103226	29271 31269 29359 29347	1; 2; 3; 5		PL ^A	<i>T. auritus</i>	98,48%	AAO6740	<i>T. auritus</i>	97,20%	MF182 364.1
<i>Triportheus culter</i> (Cope 1872)	111209	32867	5	out/22	PL ^A						
<i>Triportheus rotundatus</i> (Jardine 1841)	103259; 111110 ; 111111; 111112; 111113	29344 32816	3; 9	fev/20 out/22	PL ^A	<i>T. rotundatus</i>	98%	Private	<i>T. angulatus</i>	94,96%	GU060 427.1
Gymnotiformes											
Apterotonidae											
Apterotoninae											
<i>Adontosternarchus balaenops</i> (Cope 1878)	108232 ; 108233; 108234; 108235; 108236 106187; 106188; 106189; 106190;	31115	12	out/21	AO	<i>A. balaenops</i>	100%	ACC5073	<i>A. balaenops</i>	100%	KT932 130.1
<i>Adontosternarchus clarkae</i> Mago-Leccia, Lundberg e Baskin 1985	106191; 108270 ; 108271; 108272; 108273; 108274 108237 ; 108238; 108239; 108240; 108241; 108277; 108278; 108279; 108280; 108281	31102 31125	12	out/21	AO	<i>A. clarkae</i>	99,68%	Private	<i>A. clarkae</i>	99,59%	KT932 133.1
<i>Adontosternarchus sachsi</i> (Peters 1877)	108241; 108277; 108278; 108279; 108280; 108281	31116 31127	12	out/21	AO	<i>A. sachsi</i>	99,05%	Private	<i>A. sachsi</i>	98,64%	MK401 938.1

Classificação	Voucher LBP	Nº LBP	Local	Mês/Ano	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
<i>Apteronotus</i> sp. **	103661	29404	6	fev/20		<i>Apteronotus</i> sp.	99,84%	Private	<i>Parapteronotus hasemani</i>	97,82%	ON303421.1
<i>Compsaraia compsa</i> (Mago-Leccia 1994)	106199; 106200; 108206; 108207; 108208	31105	12	out/21		<i>C. compsa</i>	98,87%	Private			
<i>Parapteronotus hasemani</i> (Ellis 1913)	103332	29292	4	fev/20		<i>P. hasemani</i>	99,20%	ACC5243	<i>P.s hasemani</i>	99,80%	KT932166.1
<i>Porotergus gimbeli</i> Ellis 1912	106148; 108222	31081 31110	7; 12	out/21		<i>P. gimbeli</i>	99,35%	ADL3970	<i>P. gimbeli</i>	97,77%	MK401961.1
<i>Sternarchella calhamazon</i> Lundberg, Cox Fernandes, Campos-da-Paz e Sullivan 2013	108215; 108216; 108217; 108218; 108219	31108	12	out/21		<i>Sternarchella calhamazon</i>	99,2%	ACC5164	<i>Sternarchella calhamazon</i>	99,20%	MK401923.1
<i>Sternarchella raptor</i> (Lundberg, Cox Fernandes e Albert 1996) **	108242; 108243; 108244	31117	12	out/21		<i>S. orthos</i>	98,72%	ACC5164	<i>S. raptor</i>	99,84%	ON303442.1
<i>Sternarchella schotti</i> (Steindachner 1868)	108260; 108261; 108262; 108263; 108264	31123	12	out/21		<i>S. orthos</i>	99,38%	ACC5164	<i>S. schotti</i>	98,16%	<i>S. orthos</i> (ON303441.1) e <i>S. ducis</i> (ON303440.1)
<i>Sternarchogiton nattereri</i> (Steindachner 1868)	106192; 106193; 106194; 106195; 106196; 108249; 108250; 108251; 108252; 108253	31103 31120	12	out/21		<i>S. nattereri</i>	98,88%	ADL4777	<i>S.nattereri</i>	99,52%	ON303446.1
<i>Sternarchorhynchus oxyrhynchus</i> (Müller e Troschel 1849)	108248; 111156	31119 32840	12	out/21 out/22		<i>S. oxyrhynchus</i>	98,38%	Private	<i>S. oxyrhynchus</i>	98,22%	MH411387.1

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/Ano	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
Sternarchorhamphinae											
<i>Sternarchorhamphus muelleri</i> (Steindachner 1881)	108254; 108255	31121	12	out/21		<i>S. muelleri</i>	99,61%	ADC7970	<i>S. muelleri</i>	99,23%	ON303 448.1
Gymnotidae											
Gymnotinae											
<i>Gymnotus carapo</i> Linnaeus 1758	103293; 103246; 103247	29322 29333	3; 9	fev/20	AO	<i>G. carapo</i>	100%	AAB6212	<i>G. carapo</i>	99,22%	AP011 979.1
Hypopomidae											
<i>Brachyhypopomus brevirostris</i> (Steindachner 1868)	108374; 108831; 108390; 108391; 108729; 108730; 108731; 108732	31177 31293 31187 31220	1; 4; 6	out/21	AO	<i>B. brevirostris</i>	98,78%	ADC8423	<i>B. brevirostris</i>	98,79%	KF533 325.1
<i>Brachyhypopomus pinnicaudatus</i> (Hopkins, Comfort, Bastian e Bass 1990)	108380; 108381; 108382; 108383 103402 108384; 108312;	31179 29426	1; 11	fev/20 out/21	AO	<i>B. pinnicaudatus</i>	99,66%	AAE0588	<i>B. pinnicaudatus</i>	99,5%	KF533 327.1
<i>Brachyhypopomus walteri</i> Sullivan, Zuanon e Cox Fernandes 2013	108313; 108314; 108315; 108316; 108717; 108718; 108719	31180 31137 31217	1; 6; 13	out/21		<i>Brachyhypopomus walteri</i>	97,3%	ADW2208	<i>Brachyhypopomus walteri</i>	97,46%	KT166 891.1
Rhamphichthyidae											
<i>Gymnorhamphichthys hypostomus</i> Ellis 1912	108220; 108221	31109	12	out/21		<i>G. hypostomus</i>	98,56%	Private	<i>G. hypostomus</i>	97,61%	KT166 907.1
<i>Hypopygus lepturus</i> Hoedeman 1962	108925; 111139; 111140; 108778; 108779	31394 32833 31246	9; 11; 13	out/21 out/22	AO	<i>H. lepturus</i>	99,34%	Private	<i>H. lepturus</i>	90,87%	KT166 877.1

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/A no	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
<i>Rhamphichthys heleios</i> Carvalho e Albert 2015	106082	31477	5	out/21		<i>R. heleios</i>	100%	AEX6042	<i>R. heleios</i>	100%	ON303435.1
<i>Rhamphichthys pantherinus</i> Castelnau 1855 ***	106008; 108755; 103399 ; 103400	31406 31230 29502	6; 10; 11	fev/20 out/21		<i>Rhamphichthys hahni</i>	99,84%	AAE3328	<i>Rhamphichthys hahni</i>	99,68%	KT166895.1
<i>Rhamphichthys rostratus</i> (Linnaeus 1766)	111137	32831	12	out/22							
<i>Steatogenys elegans</i> (Steindachner 1880)	108735 ; 108766; 108865; 108756; 108757; 108758; 108759; 1088307; 108308; 108309; 108310; 108311 108225; 108226; 108227; 108228; 108229	31222 31234 31322 31231 31136 31112	2; 6; 11; 12	out/21	AO	<i>S. elegans</i>	99,84%	ACC5300	<i>S. elegans</i>	99,68%	KT166880.1
Sternopygidae											
Eigenmanniinae											
<i>Distocyclus conirostris</i> (Eigenmann e Allen 1942)	108223 ; 108224; 111134; 111155	31111 32829 32839	12	out/21 out/22		<i>D. conirostris</i>	99,68%	Private	<i>D. conirostris</i>	99,84%	ON303367.1
<i>Eigenmannia macrops</i> (Boulenger 1897)	106121 ; 106122; 10123; 106124; 106125	31073	7	out/21	AO	<i>E. macrops</i>	97,53%	ACC5227	<i>E. macrops</i>	97,41%	KR491588.1
<i>Eigenmannia</i> sp.**	108837; 111164; 108839; 108874; 108885;	31297 32845 31301 31331 31341	4; 5; 7; 10; 11	out/21 out/22					<i>Eigenmannia trilineata</i>	95,06%	ON303371.1

Classificação	Voucher LBP	Nº LBP	Local	Mês/A no	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
<i>Rhabdolichops eastwardi</i> Lundberg e Mago-Leccia 1986	108897;	31355									
	108760;	31232									
	108761;	31259									
	108762;	31079									
	108798;										
	108799;										
	108800;										
	103662;										
	106143										
	106173;										
	108296;										
	108297;	31092	7; 12	out/21		<i>R. cf. stewardi</i>	91,38%	ACC5162	<i>R. cf. stewardi</i>	90,94%	KR491585.1
108298;	31133										
108299;											
108300											
<i>Rhabdolichops navalha</i> Correa, Crampton e Albert 2006	111157; 111159; 111160; 111161	32841	12	out/22							
<i>Rhabdolichops nigrimans</i> Correa, Crampton e Albert 2006 *	106158; 111158; 108231	31084 32842 31114	7; 12	out/21 out/22		<i>R. nigrimans</i>	99,84%	Private	<i>R. lundbergi</i>	99,51%	ON303430.1
Sternopyginae											
<i>Sternopygus macrurus</i> (Bloch e Schneider 1801)	106083;										
	106084;										
	106085;	31478									
	106086;	31479									
	106087;	31480	4; 5;	out/21		<i>S. macrurus</i>	99,82%	AAC0974	<i>S. macrurus</i>	99,82%	MN195126.1
	108752;	31481	11								
	108753;	31482									
	108754;	31292									
	108829;										
	108830										
Siluriformes											
Aspredinidae											
Aspredininae											
<i>Bunocephalus coracoideus</i> (Cope 1874)	111144	32835	9	out/22	AO						
Auchenipteridae											
Auchenipterinae											

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/Ano	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
<i>Ageneiosus inermis</i> (Linnaeus 1766)	103277; 103287	29316 29303	10	fev/20	IC	<i>A. inermis</i>	100%	AAC6222	<i>A. inermis</i>	98,91%	FJ4187 55.1
<i>Ageneiosus lineatus</i> Ribeiro, Rapp Py-Daniel e Walsh 2017	103270; 111145; 111147; 111148; 111149; 111150	29310 32836	9; 10	fev/20 out/22		<i>A. lineatus</i>	100%	ADZ9209	<i>A. lineatus</i>	99,67%	MN460 919.1
<i>Ageneiosus intrusus</i> Ribeiro, Rapp Py-Daniel & Walsh 2017	106177	31095	7	out/21		<i>A. intrusus</i>	97,43%	AAC6221	<i>A. intrusus</i>	100%	MN460 882.1
<i>Auchenipterus ambyiacus</i> Fowler 1915	111210	32868	5	out/22							
<i>Auchenipterichthys longimanus</i> (Günther 1864)	108780; 108781; 108879; 108880; 108881; 108882	31247 31336	10; 11	out/21		<i>A. coracoideus</i>	97,59%	AEG3117	<i>A. longimanus</i>	92,59%	MN460 965.1
<i>Trachelyopterichthys taeniatus</i> (Kner 1858)	106073	31468	5	out/21	AO				<i>T. taeniatus</i>	96,47%	MF595 278.1
<i>Trachelyopterus galeatus</i> (Linnaeus 1766)	103240; 111208; 103317 103267; 108396; 108397; 108398; 108399; 108400; 108860; 108861	29373 32866 29272	2; 4; 5	fev/20 out/22	AO	<i>Trachelyopterus</i> sp.	98,12%	AEA2031	<i>T. galeatus</i>	94,29%	KT952 437.1
<i>Trachelyopterus porosus</i> (Eigenmann e Eigenmann 1888)	108398; 108399; 108400; 108860; 108861	29307 31189 31316	2; 6; 10	fev/20 out/21		<i>T. porosus</i>	100%	ADZ8449	<i>T. porosus</i>	100%	MF595 266.1
<i>Trachelyopterus</i> sp. "placa larga" ***	103295	29324	9	fev/20		<i>Trachelyopterus</i> sp.	98,83%	ADZ8449	<i>Trachelyopterus</i> sp.	97,41%	MF595 267.1
<i>Tympanopleura atronasus</i> (Eigenmann e Eigenmann 1888)	103284; 111146; 111224 103314; 106166; 106167; 106168; 106169	29300 32837 32875 29275 31088	5; 7; 8; 10; 12	fev/20 out/21 out/22		<i>T. atronasus</i>	99,83%	ADZ8491	<i>T. atronasus</i>	99,16%	MN460 977.1

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/Ano	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
<i>Tympanopleura brevis</i> Walsh, Ribeiro e Rapp Py-Daniel 2015	108883;	31338	10	out/21		<i>T. brevis</i>	100%	AEA1258	<i>T. brevis</i>	100%	MF595210.1
<i>Tympanopleura longipinna</i> Walsh, Ribeiro e Rapp Py-Daniel 2015	108282; 108283; 108284; 108285; 108286	31128	12	out/21		<i>T. longipinna</i> (100%)	100%	AEA0342	<i>T. longipinna</i> (100%)	99,49%	MN460986.1
<i>Tympanopleura rondoni</i> (Miranda Ribeiro 1914)	108802; 108910	31262 31372	5; 11	out/21		<i>T. rondoni</i>	99,84%	AEA1258	<i>T. rondoni</i>	99,83%	MT712810.1
Centromochlinae											
<i>Centromochlus heckelii</i> (De Filippi 1853)	103333 106131; 106132; 106133 108763; 108764; 108765	29293 31076 31233	4; 7; 11	fev/20 out/21					<i>C. heckelii</i>	94,35%	MT712800.1
Callichthyidae											
Callichthyinae											
<i>Dianema longibarbis</i> Cope 1872 **	103242; 103253; 103417	29329	3	fev/20	AO				<i>D. longibarbis</i>	100%	MG953612.1
<i>Dianema urostriatum</i> (Miranda Ribeiro 1912) ***	103271	29311	10	fev/20	AO				<i>Dianema longibarbis</i>	94,65%	MG953612.1
<i>Hoplosternum littorale</i> (Hancock 1828)	106117; 103235; 103236	31508 29353	1; 6	fev/20 out/21	AO; IC	<i>H. littorale</i>	99,84%	AAB5068	<i>H. littorale</i>	98,61%	KX087170.1
<i>Megalechis picta</i> (Müller e Troschel 1849) **	103250	29336							<i>M. thoracata</i>	86,51%	GU701965.1
Corydoradinae											
<i>Corydoras hastatus</i> Eigenmann e Eigenmann 1888	108891; 111228; 111229; 111230	31347 32877	8; 10	out/21	AO				<i>Oxyropsis wrightiana</i>	81,14%	GQ225416.1
<i>Corydoras schwartzi</i> Rössel 1963*	108794; 108795; 108796	31257	11	out/21 out/22	AO	<i>C. schwartzi</i>	99,61%	Private	<i>C. arcuatus</i>	96,44%	MH411482.1

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/A no	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
Cetopsidae											
Cetopsinae											
<i>Cetopsis candiru</i> Spix e Agassiz 1829	106186	31101	7	out/21					<i>C. candiru</i>	86,43%	FJ418756.1
<i>Cetopsis coecutiens</i> (Lichtenstein 1819)	111120	32821	12	out/22	AO						
Doradidae											
Agamyxinae											
<i>Agamyxis pectinifrons</i> (Cope 1870)	111162	32843	12	out/22	AO						
Astrodoradinae											
<i>Anadoras grypus</i> (Cope 1872)	103391; 108857	29503 31317	2; 6	fev/20 out/21					<i>A. grypus</i>	98,98%	MF595221.1
<i>Astorodoras asterifrons</i> (Kner 1853)	111204, 111205, 111206, 111207 103441 108720; 108721; 108722; 108723 106172	32865 29388 31218 31091	1;4;6	fev/20 out/21 out/22	AO	<i>A. asterifrons</i>	100%	AEE4769	<i>A. asterifrons</i>	94,54%	KP772601.1
<i>Scorpiodoras heckelii</i> (Kner 1855)	108873; 108827; 108828	31330 31291	4; 7; 10	out/21	AO						
Doradinae											
<i>Hemidoras morrisi</i> Eigenmann 1925 ***	103340; 106126; 106127; 108265; 108266; 108267; 108268; 108269	29297 31074 31124	7; 10; 12	fev/20 out/21					<i>Nemadoras elongatus</i>	96,24%	MH411532.1
<i>Leptodoras juruensis</i> Boulenger 1898 ***	108275; 108276	31126	12	out/21					<i>L. linnelli</i>	94,43%	MT712827.1
<i>Leptodoras linnelli</i> Eigenmann 1912	106162; 108230	31086 31113	7; 12	out/21		<i>L. linnelli</i>	97%	Private	<i>L. linnelli</i>	94,59%	MT712825.1

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/A no	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
<i>Megalodoras uranoscopus</i> (Eigenmann e Eigenmann 1888)	103266; 103315; 106180; 106181; 106182	29306 29274 31098	5; 7; 10	fev/20 out/21	AO	<i>M. uranoscopus</i>	99,83%	ADX0243	<i>M. uranoscopus</i>	100%	MH507 465.1
<i>Nemadoras elongatus</i> (Boulenger 1898) **	106185 111151; 111152; 111153; 111154	31100 32838	12	out/21 out/22					<i>Nemadoras elongatus</i>	100%	MH411 532.1
<i>Nemadoras humeralis</i> (Kner 1855)	103249; 103260 103269; 108289; 106144; 106145; 106146; 106147; 108304; 108305; 108306	29335 29345 29309 31130 31080 31135	3; 7; 10; 12	fev/20 out/21	AO	<i>N. humeralis</i>	100%	ADW7940	<i>N. humeralis</i>	98,24%	MF595 251.1
<i>Ossancora fimbriata</i> (Kner 1855) ***	106170; 108209; 108210; 108211; 108212; 108213	31089 31106	7; 12	out/21					<i>Trachydoras steindachneri</i>	89,98%	MF489 363.1
<i>Ossancora punctata</i> (Kner 1855) *	103251	29337	3	fev/20		<i>O. punctata</i>	99,35%	Private	<i>Doradidae</i> sp.	97,26%	HM376 399.1
<i>Platydoras hancockii</i> (Valenciennes 1840)	103265	29305	10	fev/20		<i>P. hancockii</i>	98,79%	Private	<i>P. hancockii</i>	97,16%	MT708 511.1
<i>Pterodoras granulatus</i> (Valenciennes 1821)	103296; 103304; 106139; 106140; 106141; 106142; 108714; 108715; 108716	29325 29278 31078 31216	5; 6; 7; 9	fev/20 out/21		<i>P. granulatus</i>	99,82%	AAD9737	<i>P. granulatus</i>	99,52%	GU701 898.1

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/A no	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
<i>Tenellus ternetzi</i> (Eigenmann 1925) ***	106154; 106155; 106156; 106157; 108290; 108291; 108292; 108293; 108294	31083 31131	7; 12	out/21					<i>Nemadoras elongatus</i>	94,65%	MH411 532.1
<i>Trachydoras microstomus</i> (Eigenmann 1912)	106171; 108301; 108302; 108303	31090 31134	7; 12	out/21					<i>T. steindachneri</i>	93,68%	MF489 363.1
<i>Trachydoras</i> sp. ***	106149; 106150; 106151; 106152; 106153	31082	7	out/21					<i>T. steindachneri</i>	89,43%	MF489 363.1
<i>Oxydoras niger</i> (Valenciennes 1821)	106056; 111114; 111115; 111196; 111197	31453 32817 32861	4; 9; 10	out/21 out/22	IC						
Heptapteridae											
Heptapterinae											
<i>Mastiglanis</i> sp. ***	108332; 108333; 108334; 108335	31155	12	out/21					<i>Mastiglanis</i> sp.	97,43%	MW07 0548.1
Rhamdiinae											
<i>Goeldiella eques</i> (Müller e Troschel 1849)	111201; 111202; 111203	32864	4	out/22							
<i>Pimelodella cristata</i> (Müller e Troschel 1849) **	103254; 108711	29339 31214	3; 6	fev/20 out/21					<i>Pimelodella</i> cf. <i>cristata</i>	91,84%	MZ051 378.1
Loricariidae											
Hypoptopomatinae											
<i>Hypoptopoma incognitum</i> Aquino e Schaefer 2010	103306; 103601;	29281 31252	4; 11	fev/20 out/21					<i>H. incognitum</i>	99,83%	KP772 573.1

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/Ano	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
	103602; 108785 ; 108786; 108787										
<i>Oxyropsis carinata</i> (Steindachner 1879)	108868; 108914; 108869; 108870; 108906; 108907	31324 31382 31327 31369	2; 5; 10; 13	out/21							
<i>Oxyropsis wrightiana</i> Eigenmann e Eigenmann 1889	108836	31296	4	out/21					<i>O. wrightiana</i>	86,25%	GQ225 416.1
<i>Oxyropsis</i> sp.	111212; 111213; 111214	32870	2	out/22							
Hypostominae											
<i>Ancistrus dolichopterus</i> Kner 1854	103339; 106077	29264 31472	5	fev/20 out/21	AO	<i>A. dolichopterus</i>	99,82%	ACW0676	<i>A. dolichopterus</i>	99,65%	KP772 578.1
<i>Aphanotorulus emarginatus</i> (Valenciennes 1840)	106046	31444	10	out/21		<i>A. emarginatus</i>	99,69%	ADR5534	<i>A. emarginatus</i>	99,54%	MN854 505.1
<i>Dekeyseria amazonica</i> Rapp Py-Daniel 1985**	103305 ; 103273; 106063	29280 29312 31458	5; 10	fev/20 out/21	AO				<i>D. amazonica</i>	99,03%	KX087 168.1
<i>Hypostomus hoplonites</i> Rapp Py-Daniel 1988	103274; 106065	29313 31460	10	fev/20 out/21	AO				<i>H. hoplonites</i>	99,69%	MN854 599.1
<i>Hypostomus plecostomus</i> (Linnaeus 1758)	106048; 111125; 106049	31446 32823 31447	10	out/21 out/22					<i>H. plecostomus</i>	97,31%	MN854 486.1
<i>Pterygoplichthys gibbiceps</i> (Kner 1854)	106003; 111126; 111127; 111128; 106027	31401 32824 31425	10	out/21 out/22	AO	<i>Pterygoplichthys</i> sp.	98,22%	Private	<i>P. gibbiceps</i>	91,54%	MN854 562.1
<i>Pterygoplichthys pardalis</i> (Castelnau 1855)	103207; 103234 ; 103605; 111215; 111216	29357 29352 29491 32871	1; 2; 11	fev/20 out/22	AO				<i>P. pardalis</i>	99,25%	MN854 556.1

Loricariinae

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/Ano	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
<i>Farlowella amazonum</i> (Günther 1864)	108875; 108915; 108739; 108740 ; 108741; 108742	31332 31224	10; 11	out/21		<i>F. amazonum</i>	97,08%	Private	<i>F. henriquei</i>	97,14%	KT952 440.1
<i>Hemiodontichthys acipenserinus</i> (Kner 1853)	108736; 108737; 108738; 111102, 111103	31223 32812	11; 12	out/21 out/22	AO				<i>Pterygoplichthys pardalis</i>	98,79%	MN854 556.1
<i>Limatulichthys griseus</i> (Eigenmann 1909) ***	106057	31454	10	out/21					<i>Pseudohemiodon sp.</i>	92,31%	MG777 605.1
<i>Loricaria cataphracta</i> Linnaeus 1758	106039 ; 111116; 106040; 106058;	31437 32818 31438 31455	9; 10	out/21 out/22					<i>L. cataphracta</i>	97,12%	KX087 174.1
<i>Loricariichthys sp.</i> ***	108289; 108826 ; 108894; 108788; 108789; 108790 108744 ;	31186 31290 31351 31253	4; 5; 6; 11	out/21					<i>Pseudohemiodon sp.</i>	88,60%	MG777 605.1
<i>Loricariichthys nudirostris</i> (Valenciennes 1840) ***	111182; 111183; 111198; 111199	31226 32854 32862	4; 6; 11	out/21 out/22					<i>Loricaria sp.</i>	96,90%	KT952 449.1
<i>Planiloricaria cryptodon</i> (Isbrücker 1971)	106184	31099	12	out/21		<i>P. cryptodon</i>	98,09%	AAH8297	<i>P. cryptodon</i>	95,05%	MH411 436.1
<i>Rineloricaria castroi</i> Isbrücker e Nijssen 1984 ***	108824; 108877; 108909; 106197; 106198 ; 108392; 108393; 108394; 108395	31288 31334 31362 31104 31188	4; 5; 6; 10; 13	out/21	AO	<i>R. phoxocephala</i>	96,71%	Private	<i>Rineloricaria sp.</i>	93,01%	KU569 019.1
<i>Rineloricaria phoxocephala</i> (Eigenmann e Eigenmann 1889)	111200	32863	4	out/22		<i>R. phoxocephala</i>	97,47%	Private	<i>Rineloricaria sp.</i>	90,84%	KU569 019.1

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/A no	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
<i>Sturisoma</i> sp. ***	106038	31436	10	out/21					<i>Sturisoma</i> sp.	98,87%	MG777602.1
Rhinelepinac											
<i>Pseudorinelepis genibarbis</i> (Valenciennes 1840)	106066	31461	10	out/21	AO				<i>P. genibarbis</i>	92,02%	MG911868.1
Pimelodidae											
<i>Brachyplatystoma filamentosum</i> (Lichtenstein 1819)	106111	31504	6	out/21	IC	<i>B. filamentosum</i>	97,41%	AAO7853	<i>B. capapretum</i>	97,28%	KT952403.1
<i>Calophysus macropterus</i> (Lichtenstein 1819)	103307; 106128; 106129; 106130	29282 31075	4; 7	fev/20 out/21	PL ^F , IC	<i>Calophysus macropterus</i>	99,65%	ACV7521	<i>Calophysus macropterus</i>	98,98%	KP772598.1
<i>Hemisorubim platyrhynchos</i> (Valenciennes 1840)	106042	31439	10	out/21	IC	<i>H. platyrhynchos</i>	100%	AAE5325	<i>H. platyrhynchos</i>	99,53%	GU570707.1
<i>Hypophthalmus celiae</i> Littman, Lundberg & Rocha 2021 **	106175; 106176; 108287; 108288; 111133	31094 31129 32828	7; 12	out/21 out/22	PL ^A	<i>Hypophthalmus</i> sp. CGD-2016	92,01%	ACK2435	<i>H. celiae</i>	99,80%	P476444.1
<i>Hypophthalmus donascimentoi</i> Littman, Lundberg e Rocha 2021	111211	32869	5	out/22	PL ^A						
<i>Hypophthalmus edentatus</i> Spix e Agassiz 1829	103498	29432	9	fev/20	PL ^A ; IC	<i>H. edentatus</i>	99,69%	AAF4810	<i>H. edentatus</i>	99,78%	KT952413.1
<i>Hypophthalmus marginatus</i> Valenciennes 1840	103394	29488	10	fev/20	PL ^A ; IC	<i>Hypophthalmus</i> sp.	97,98%	AEB5241	<i>H. marginatus</i>	93,79%	KT952412.1
<i>Leiarius pictus</i> (Müller e Troschel 1849)	106108	31503	5	out/21		<i>L. pictus</i>	98,26%	Private	<i>L. pictus</i>	97,63%	MK861717.1
<i>Phractocephalus hemioliopterus</i> (Bloch e Schneider 1801)	103301; 103302; 106018	31416	11; 10	fev/20 out/21	IC	<i>P. hemioliopterus</i>	99,67%	AAY0902	<i>P. hemioliopterus</i>	99,20%	FJ418764.1
<i>Pimelodina flavipinnis</i> Steindachner 1876	108256; 108257; 108258; 108259	31122	12	out/21	AO; IC	<i>P. flavipinnis</i>	100%	ADD5326	<i>P. flavipinnis</i>	100%	MG911917.1
<i>Pimelodus altissimus</i> Eigenmann e Pearson 1942 ***	108245; 108246; 108247	31118	12	out/21					<i>Pimelodus</i> sp.	91,54%	KT952422.1

Classificação	Voucher LBP	Nº LBP	Local	Mês/Ano	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
<i>Pimelodus blochii</i> Valenciennes 1840	103264; 111106; 111107; 106179; 108772	29304 32813 31097 31236	7; 10; 11; 12	fev/20 out/21 out/22	AO; IC	<i>P. blochii</i>	100%	Private	<i>P. blochii</i>	99,52%	KT952 419.1
<i>Propimelodus eigenmanni</i> (van der Stigchel 1946) ***	108295; 111163	31132 32844	12	out/21 out/22	AO				<i>Pimelodus</i> sp.	92,79%	KT952 421.1
<i>Propimelodus</i> sp. ***	106134; 106135; 106136; 106137; 106138; 108336; 108337; 108338	31077 31156	7	out/21					<i>Pimelodus</i> sp.	92,76%	KT952 421.1
<i>Pseudoplatystoma punctifer</i> (Castelnau 1855)	106001 106098 106116	31399 31493 31507	5; 6; 10	out/21	IC				<i>P. punctifer</i>	97,18%	KT952 427.1
<i>Pseudoplatystoma tigrinum</i> (Valenciennes 1840)	103322; 106053	29269	5; 10	fev/20 out/21	PL ^A ; IC				<i>P. tigrinum</i>	99,38%	KT952 428.1
<i>Sorubim elongatus</i> Littmann, Burr, Schmidt e Isern 2001	103348 106002	29259 31400	6; 10	fev/20 out/21					<i>S. elongatus</i>	94,78%	KT952 430.1
<i>Sorubim lima</i> (Bloch e Schneider 1801)	106047; 106064	31445 31459	10	out/21	IC	<i>S. lima</i>	98,84%	Private	<i>S. lima</i>	98,77%	KU288 851.1
<i>Sorubim maniradii</i> Littmann, Burr e Buitrago-Suárez 2001 ***	103343; 111223	29260 32874	6; 8	fev/20 out/22		<i>S. lima</i>	97,16%	ACG7167	<i>S. lima</i>	96,17%	KU288 963.1
Trichomycteridae											
Vandelliinae											
<i>Vandellia sanguinea</i> Eigenmann 1917 ***	108926	31398	13	out/21					<i>V. cirrhosa</i>	87,33%	MN385 797.1
Gobiiformes											
Eleotridae											
Eleotrinae											
<i>Microphilypnus ternetzi</i> Myers 1927	108579; 108580; 108581; 108582; 108583	31201	6	out/21					<i>Vanderhorstia</i> sp.	82,24%	AP019 315.1

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/Ano	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
Synbranchiformes											
Synbranchidae											
<i>Synbranchus</i> sp. "lampreia" ***	106080; 106081 ; 108835	31475 31476 31295	4; 5	out/21					<i>S. marmoratus</i>	92,37%	HM405240.1
<i>Synbranchus</i> sp. "curto" ***	103272 ; 103657	29318 29417	1; 9	fev/20					<i>S. marmoratus</i>	96,73%	KC880228.1
<i>Synbranchus</i> sp. "karipunas" ***	103278 ; 103470	29317 29421	2; 10	fev/20					<i>S. marmoratus</i>	93%	AP004439.1
Pleuronectiformes											
Achiridae											
<i>Hypoclinemus mentalis</i> (Günther 1862)	108913	31381	13	out/21	AO	<i>Hypoclinemus mentalis</i>	98,81%	Private	<i>H. mentalis</i>	97,03%	MH507495.1
Cichliformes											
Cichlidae											
Cichlinae											
<i>Acarichthys heckelii</i> (Müller e Troschel 1849)	103462; 106120 ; 108563; 108691; 108904; 103245; 103410; 103471; 103427; 103473; 103561; 103562; 103563; 108660; 108661; 108662; 108809; 108810	29386 31072 31193 31397 31365 29332 29425 29458 31356 31267	2; 3; 4; 5; 6; 11; 13	fev/20 out/21	AO	<i>A. heckelii</i>	99,53%	AAJ3803	<i>A. heckelii</i>	99,31%	MH931587.1
<i>Acaronia nassa</i> (Heckel 1840)	103330		5		AO	<i>A. nassa</i>	99,60%	Private	<i>A. nassa</i>	95,79%	MH931591.1
<i>Apistogramma agassizii</i> (Steindachner 1875)	103658 ; 108550; 108649;	29504 31183 31323	1; 2; 3; 5; 6; 10;	fev/20 out/21	AO	<i>A. agassizii</i>	97,98%	Private	<i>A. pertensis</i> ou <i>A. agassizii</i>	93,31%	LT617283.1

Classificação	Voucher LBP	Nº LBP	Local	Mês/A no	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
	108651; 108706; 108815; 108893; 108927; 108317; 108679; 108680; 108733; 108734	31337 31202 31272 31349 31358 31138 31385 31221	13								
<i>Apistogramma eunotus</i> Kullander 1981	108511; 108512; 108513; 108514; 108515	31140	13	out/21	AO						
<i>Apistogramma</i> gr. <i>pertensis</i> (Haseman 1911)	108318 ; 108659	31139 31352	5; 13	out/21	AO				<i>A. pulchra</i>	99,31%	MH931 580.1
<i>Apistogramma resticulosa</i> Kullander 1980 **	108776 ; 108872	31240 31329	10; 11	out/21	AO				<i>A. moae</i>	93,33%	LT617 316.1
<i>Astronotus crassipinnis</i> (Heckel 1840)	103479	29418	3	fev/20	AO; IC				<i>A. crassipinnis</i>	98,74% %	GU701 860.1
<i>Astronotus ocellatus</i> (Agassiz 1831)	108214; 108345; 106043; 106044 ; 106045	31107 31161 31441 31442 31443	10	Out/21	AO; IC	<i>A. ocellatus</i>	100%	AAD8258	<i>A. ocellatus</i>	100%	KU568 763.1
<i>Biotodoma cupido</i> (Heckel 1840)	106103 ; 106105 103335; 103513 ; 106104; 103474;	31498 31500 29266	4	out/21	AO				<i>B. cupido</i>	99,80%	MH411 583.1
<i>Chaetobranchopsis orbicularis</i> (Steindachner 1875)	103475; 103476; 103477; 103478; 103558; 103559; 103560; 108842; 108843	29441 31499 29424 29457 31304	2; 4; 5; 9	fev/20 out/21	AO; IC	<i>Acaronia nassa</i>	99,36%	Private	<i>C. orbicularis</i>	100%	AY662 780.1

Classificação	Voucher LBP	Nº LBP	Local	Mês/A no	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
<i>Chaetobranchus flavescens</i> Heckel 1840	106069 ;	31464 31168 31162 31167 31266	3; 4; 5; 10	out/21	AO; IC	<i>C. flavescens</i>	99,23%	Private	<i>C. flavescens</i>	99,26%	EU888 034.1
	108540;										
	108346;										
	108347;										
	108348;										
	108354;										
	108807; 108808										
<i>Chaetobranchus semifasciatus</i> Steindachner 1875	106014 ;	31412 31413 32815	9; 10	out/21 out/22	IC	<i>C. semifasciatus</i>	99,51%	AAW6743	<i>C. semifasciatus</i>	100%	JF9228 58.1
	106015;										
	111109;										
<i>Cichla monoculus</i> Spix e Agassiz 1831	103262;	29375 29490 31449 29445 29472 31171 31172	3; 4; 10; 11	fev/20 out/21	IC	<i>C. monoculus</i>	97,97%	AER2948	<i>C. monoculus</i>	97,98%	KT382 889.1
	103634 ;										
	106051;										
	103522;										
	103523;										
	103577;										
	103578;										
	103579;										
	103580;										
	103581;										
	108360;										
108361;											
108362;											
108363;											
108364											

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/Ano	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
<i>Cichlasoma amazonarum</i> Kullander 1983	108349; 108352; 108353; 108813; 108855; 108871; 108898; 103421 ; 103422; 103423; 103424; 103425; 103668; 103669; 103670; 103671; 103672; 103681; 103682; 103683; 103684; 103685; 108350; 108351	31163 31165 31166 31270 31314 31328 31357 29400 29402 29420 31164	1; 2; 3; 4; 5; 10	fev/20 out/21	AO	<i>Cichlasoma amazonarum</i>	100%	Private	<i>C. amazonarum</i>	99,42%	MH973440.1
<i>Crenicichla cincta</i> Regan 1905	111186	32856	6	out/22	AO; IC						
<i>Crenicichla cyanonotus</i> Cope 1870 ***	103641	29479	10	fev/20					<i>C. alta</i>	93,56%	AY263860.1
<i>Crenicichla inpa</i> Ploeg 1991*	106036 106088; 108844; 108845; 111138	31434 31483 31305 32832	4; 5; 9; 10	out/21 out/22		<i>C. aff. inpa</i>	98,02%	Private	<i>C. alta</i>	96,42%	AY263860.1
<i>Crenicichla johanna</i> Heckel 1840 **	106037 ; 108784	31435 ; 31250	1	out/21	AO				<i>C. johanna</i> <i>C. wallacii</i>	90,00% 90,55%	MG911956.1 MH931656.1
<i>Geophagus proximus</i> (Castelnau 1855)	106022; 106023; 106024 ; 106025;	31420 31421 31422 31423	10	out/21	AO	<i>G. proximus</i>	100%	AEN3044	<i>G. proximus</i>	99,54%	MZ504336.1

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/A no	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
<i>Heros efasciatus</i> Heckel 1840	106026; 106014 ; 103680; 103341; 103342; 103367; 103369; 103371; 103372; 103382; 103429; 103430	31424 29460 29422 29262 29242 29401	2; 3; 4; 6	fev/20	AO; IC	<i>H. efasciatus</i>	99,34%	Private	<i>H. efasciatus</i>	97,62%	MG911 959.1
<i>Heros spurius</i> Heckel 1840 ***	106054; 106055 ; 106067; 108343; 108344; 108359; 108339; 108340; 108341; 108342	31451 31452 31462 31159 31160 31170 31157 31158	3; 4; 5; 6; 10	out/21		<i>H. efasciatus</i>	100%	Private	<i>H. severus</i>	99,39%	JN0267 56.1
<i>Hypselecara temporalis</i> (Günther 1862)	106089 ; 106090 103357; 108524; 108525; 108526; 108539; 108703; 103206; 103603; 103604; 103257; 103384; 103385; 103386; 103387; 103463; 103464; 103465; 103544 ;	31484 29251; 31143 31144 31145 31150 31198 29356 29342 29378 29452 31142 31146 31147 31148 31149 31373	5	out/21	AO; IC	<i>H. temporalis</i>	99,49%	Private	<i>H. temporalis</i>	94,23%	NC_01 1168.1
<i>Mesonauta festivus</i> (Heckel 1840)	103603; 103604; 103257; 103384; 103385; 103386; 103387; 103463; 103464; 103465; 103544 ;	29356 29342 29378 29452 31142 31146 31147 31148 31149 31373	1; 2; 3; 4; 5; 6; 10; 11	fev/20 out/21	AO; IC	<i>M. guyanae</i>	98,56%	Private	<i>M. festivus</i>	99,54%	MH931 715.1

Classificação	Voucher LBP	Nº LBP	Local	Mês/A no	ECE	BOLD (<i>Ident. Engine</i>)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (<i>Blast</i>)	Perc. Ident.	GenBank ID	
<i>Pterophyllum scalare</i> (Schultze 1823)	103545;											
	103546;											
	103547;											
	103548;											
	108319;											
	108320;											
	108321;											
	108322;											
	108323;											
	108521;											
	108522;											
	108523;											
	108527;											
	108528;											
	108529;											
	108530;											
	108531;											
	108532;											
	108533;											
	108534;											
	108535;											
	108536;											
	108537;											
	108538;											
	108667;											
	108668											
		103453;										
		103531;										
		103633;	29381									
		106119;	29453									
		108358;	29489									
		108821;	31071									
		108896;	31169	1; 2;								
	108324;	31283	3; 4;	fev/20	AO	<i>Pterophyllum scalare</i>	98,88%	Private	<i>Pterophyllum scalare</i>	89,60%	KR150	
	108325;	31354	5; 6;	out/21							869.1	
	108326;	31151	10; 11									
	108327;	31152										
	108328;	31153										
	108329;	31154										
	108330;											
	108331											

Classificação	Voucher LBP	N° LBP	Local	Mês/Ano	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
<i>Satanoperca acuticeps</i> (Heckel 1840) ***	103368; 106076; 111178; 111179	29250 31471 32852	5; 6	fev/20 out/21 out/22	AO	<i>S. jurupari</i>	99,84%	AAE9499,	<i>Satanoperca</i> sp.	99,77%	MH931 745.1
<i>Satanoperca jurupari</i> (Heckel 1840)	103329; 106021; 106091; 111176; 111177	29268 31419 31486 32851	5; 6; 10	fev/20 out/21 out/22	AO; IC	<i>S. jurupari</i>	99,19%%	Private	<i>S. jurupari</i>	98,28%	MH931 743.1
<i>Symphysodon aequifasciatus</i> Pellegrin 1904	106078; 106079; 106106	31473; 31474 31501	4; 5	out/21	AO; IC	<i>Symphysodon</i> sp.	100%,	AAE9147	<i>S.</i> <i>aequifasciatus</i>	97,94%	KT362 183.1
<i>Uaru amphiacanthoides</i> Heckel 1840	106092; 106093	31487; 31488	4	out/21	AO; IC	<i>U.</i> <i>amphiacanthoides</i>	99,19%	AAW8426	<i>U.</i> <i>amphiacantho</i> <i>ides</i>	98,73%	DQ119 220.1
Beloniformes											
Belonidae											
<i>Potamorhaphis guianensis</i> (Jardine 1843)	106094; 106100; 106107;	31489 31495 31502	4; 5	out/21	AO						
Cyprinodontiformes											
Fluviphylacidae											
<i>Fluviphylax simplex</i> Costa 1996 **	108574; 108575; 108576; 108577; 108578	31197	6	out/21	AO				<i>Fluviphylax</i> <i>simplex</i>	99,09%	MF497 420.1
Rivulidae											
Rivulinae											
<i>Anablepsoides ornatus</i> (Garman 1895) **	108614; 108856; 108558; 108559; 108560; 108561; 108562	31244 31315 31192	2; 6; 11	out/21					<i>A. urubuiensis</i>	89,02%	ON098 498.1

Incertae sedis em nível de ordem em Eupercaria
("Perciformes")

Classificação	Voucher LBP	Nº LBP	Local	Mês/Ano	ECE	BOLD (Ident. Engine)	Similar.	BOLD BIN	GenBank (Blast)	Perc. Ident.	GenBank ID
Scianidae											
<i>Plagioscion montei</i> Soares e Casatti 2000	103303; 106006 ; 106009; 111194; 111195	29279 31404 31407 32860	4; 5; 10	fev/20 out/21 out/22					<i>P. montei</i>	96,15%	MT879 838.1
	<i>Plagioscion squamosissimus</i> (Heckel 1840)	103311 ; 108792; 106159; 106160; 106161	29285 31255 31085	4; 7; 11	fev/20 out/21	IC			<i>P. squamosissimus</i>	91,16%	MW40 5532.1
Incertae sedis em nível de ordem em Ovalentaria (“Perciformes”)											
Polycentridae											
<i>Monocirrhus polyacanthus</i> Heckel 1840	108712 ; 108713	31215	6	out/21	AO				<i>M. polyacanthus</i>	94,53%	AY662 753.1
Tetraodontiformes											
Tetraodontidae											
<i>Colomesus asellus</i> (Müller e Troschel 1849)	108670; 108671; 108724; 108725; 108726 ; 108727; 108728	31377 31219	13; 6	out/21	AO				<i>C.asellus</i>	96,17%	KC959 908.1

A inclusão das sequências obtidas resultará na adição de 81 registros de espécies ainda inexistentes em banco de dados genéticos, sendo 34 apenas no Genbank ou BOLD e 47 no Genbank e BOLD. Sob a ótica dos cenários, verifica-se que as adições de registro representam 16,47% e 77,94% do rol de espécies que enquadradas nos cenários 1 e 2 respectivamente (Figura 3).

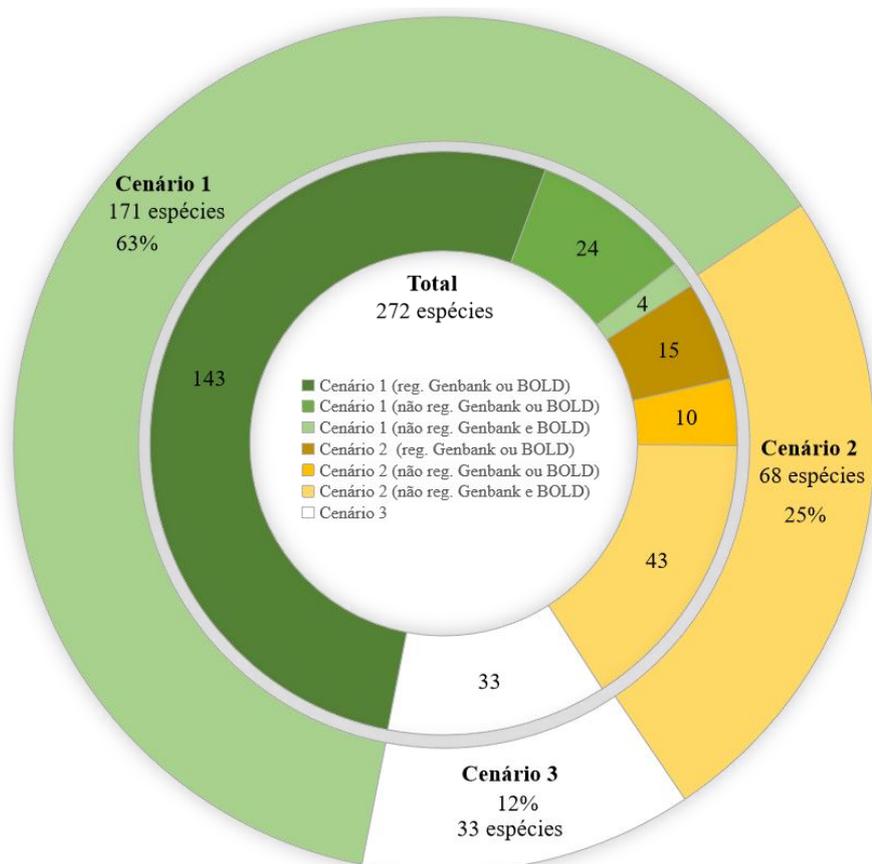


Figura 3. Número de espécies enquadradas por cenários do Quadro 2, com destaque para existência/inexistência de registros de espécies nos bancos de dados genéticos em cada um dos cenários.

Dentre as espécies-alvo, 123 foram sequenciadas e para 71,32% destas (102 espécies) é apresentada uma proposta de identificação, pautada na integração das abordagens morfológica e molecular (Quadro 2, cenário 1). Vinte espécies-alvo foram enquadradas no cenário 2 (Quadro 2), recaindo sobre estas as decisões com base nos critérios estabelecidos. Não foi obtido êxito nas tentativas de sequenciamento de 21 espécies-alvo (14,38%). Portanto 85,31% do banco de dados de espécies-alvo está representado por sequências de DNA *barcoding*.

As sequências COI obtidas apresentaram tamanhos que variaram de 292 a a 706 pb, com valor médio de 632 pb. Das 239 sequências obtidas, apenas 14 tiveram um tamanho final menor que 500 pb, o qual é exigido para a validação da sequência barcode pelo BOLD,

sendo que destas *Oxybrycon parvulus*, *Thoracocharax* sp., *Loricariichthys* sp., *Bryconops alburnoides*, *Propimelodus eigenmanni*, *Crenicichla cyanonotus* não possuem registro nos bancos de dados genéticos Genbank e BOLD, tendo sido todas enquadradas no cenário 2 (Quadro 2); enquanto que *Mylossoma albiscopum*, *Centromochlus heckelii*, *Oxyropsis wrightiana*, *Planiloricaria cryptodon*, *Pseudorinelepis genibarbis*, *Leiarius pictus*, , *Biotodoma cupido*, *Pterophyllum scalare* e *Hemigrammus ocellifer* já constam nas bases de dados genéticas, todas enquadradas no cenário 1 com exceção de *O. wrightiana*. Como a exigência de tamanho mínimo da sequência barcode recai apenas para a base de dados genéticos BOLD, todas as sequências obtidas serão depositadas no Genbank, que compartilhará com o BOLD as 225 sequências com valor ≥ 500 pb.

As divergências genéticas entre espécies, considerando as famílias de peixes de água doce, variaram de 0 a 97% (média = 20%). Aproximadamente 1,6% dos valores de divergência genética foram menores que 1%, e 2% foram menores que 2% (Tabela 2). Os dendrogramas com representação da distância genética das espécies de cada família estão apresentados no Material Suplementar 1.

Tabela 2. Pares de espécies de peixes de água doce que apresentaram divergência genética menores que 2%, calculado com base no modelo de substituição nucleotídica Kimura-2-parâmetros (K2P) .

Pares de Espécies		Divergência (%)
<i>Potamotrygon motoro</i> LBP106059	<i>Potamotrygon scobina</i> LBP103390	1,2
<i>Acestrorhynchus falcistrostris</i> LBP108386	<i>Acestrorhynchus microlepis</i> LBP103349	0,4
<i>Tetragonopterus chalceus</i> 106095	<i>Tetragonopterus argenteus</i> LBP103467	0,0
<i>Ctenobrycon hauxwellianus</i> LBP103435	<i>Ctenobrycon spilurus</i> LBP103440	0,2
<i>Moenkhausia bonita</i> LBP103532	<i>Moenkhausia dichrourea</i> LBP103588	0,4
<i>Stethaprion crenatum</i> LBP108942	<i>Stethaprion erythroptis</i> LBP111135	0,2
<i>Curimata inornata</i> LBP103218	<i>Curimata knerii</i> LBP103275	0,5
<i>Potamorhina pristigaster</i> LBP103231	<i>Psectrogaster rutiloides</i> LBP103220	0,1
<i>Cynodon gibbus</i> LBP103294	<i>Cynodon septenarius</i> LBP106102	0,1
<i>Pyrrhulina australis</i> LBP103445	<i>Pyrrhulina brevis</i> LBP103331	0,0
<i>Metynnis hypsauchen</i> LBP103364	<i>Metynnis luna</i> LBP103313	0,0
<i>Serrasalmus compressus</i> LBP103319	<i>Serrasalmus rhombeus</i> LBP103299	0,0
<i>Serrasalmus maculatus</i> LBP103497	<i>Serrasalmus spilopleura</i> LBP103222	0,6
<i>Serrasalmus compressus</i> LBP103319	<i>Serrasalmus</i> sp. "2n=58" LBP103288	0,0
<i>Serrasalmus rhombeus</i> LBP103299	<i>Serrasalmus</i> sp. "2n=58" LBP103288	0,0
<i>Apteronotus</i> sp. LBP103661	<i>Parapteronotus hasemani</i> LBP103332	0,8
<i>Sternarchella raptor</i> LBP108242	<i>Sternarchella schotti</i> LBP108260	1,2
<i>Trachelyopterus porosus</i> LBP103267	<i>Trachelyopterus</i> sp. "placa larga" LBP103295	0,0
<i>Tympanopleura brevis</i> LBP108883	<i>Tympanopleura rondoni</i> LBP108802	0,3
<i>Trachydoras microstomus</i> LBP106171	<i>Trachydoras</i> sp. LBP106149	1,5
<i>Rineloricaria phoxocephala</i> LBP111200	<i>Rineloricaria castroi</i> LBP106198	0,6
<i>Loricariichthys nudirostris</i> LBP108744	<i>Loricaria cataphracta</i> LBP106039	0,3
<i>Pterygoplichthys gibbiceps</i> LBP106027	<i>Hypostomus hoplonites</i> LBP106065	1,3
<i>Hypostomus hoplonites</i> LBP106065	<i>Aphanotorulus emarginatus</i> LBP106046	1,2
<i>Acaronia nassa</i> LBP103330	<i>Chaetobranchopsis orbicularis</i> LBP103513	0,4
<i>Crenicichla cyanonotus</i> LBP103641	<i>Crenicichla inpa</i> LBP106036	1,4
<i>Heros efasciatus</i> LBP103564	<i>Heros spurius</i> LBP106055	0,3
<i>Plagioscion montei</i> LBP106006	<i>Plagioscion squamosissimus</i> LBP103311	0,8

Considerando as espécies-alvo e todos os locais de amostragem (fixos e variáveis) e suas respectivas categorias (aberto, manejo e proteção), observa-se que locais protegidos agregam o maior número de espécies exclusivas, ou seja, que foram registradas apenas nesta categoria de local de amostragem (Figura 4). Locais abertos apresentam a segunda maior representatividade em todas os enquadramentos apresentados.

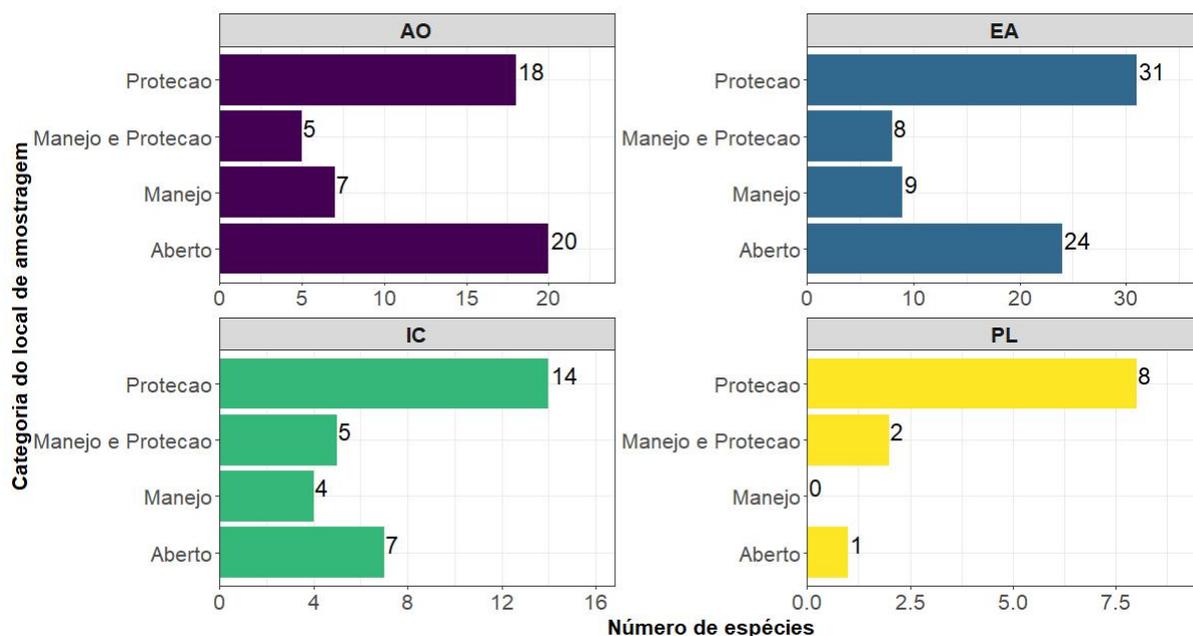


Figura 4. Número de espécies de peixes registradas por local de amostragem de acordo com a categorização quanto ao uso/apropriação dos recursos naturais (aberto, proteção e manejo) na RDS-PP e Rebio Abufari, com base nas espécies enquadradas como espécies-alvo (EA) e nas categorias de enquadramento presença de restrição legal (PL), importância comercial (IC) e importância para aquariorfilia ou uso ornamental (AO).

Do montante total de espécies enquadradas na categoria presença de restrição legal (PL), 10 espécies (50%) foram registradas exclusivamente em ambientes protegidos (*Potamotrygon motoro*, *Brycon amazonicus*, *Brycon melanopterus*, *Calophysus macropterus*, *Triporthus culter*, *Hypophthalmus donascimientoi*, *Hypophthalmus edentatus*, *Hypophthalmus marginatus*, *Pseudoplatystoma tigrinum*) ou protegidos e manejados (*Colossoma macropomum* e *Mylossoma aureum*). Apenas uma espécie inclusa nesta categoria (*Hypophthalmus celiae*) foi registrada exclusivamente na categoria aberto. O pirarucu (*Arapaima gigas*) e o aruanã (*Osteoglossum bicirrhosum*) foram coletados em lagos abertos e protegidos. As demais espécies foram registradas em locais de todas as categorias (aberto, manejo e proteção).

A tendência de maior número de registros de espécies nas categorias proteção e manejo se mantém para espécies de importância comercial (IC) e importância para aquariofilia ou uso ornamental (AO) se as categorias forem consideradas de forma conjunta, visto que ambas pressupõem um elevado nível de restrição a atividade pesqueira tradicional. Isoladamente os locais em que ocorre o manejo apresentam menor número de espécies registradas em todos os enquadramentos apresentados na Figura 5.

Com base em todas as espécies coletadas, e na presença de espécies exclusivas (que ocorreram em apenas um lago) por período de coleta, foram verificadas duas tendências em relação a participação, expressa em percentagem, destas espécies em relação ao número total de espécies capturadas por lago no período (Figura 5).

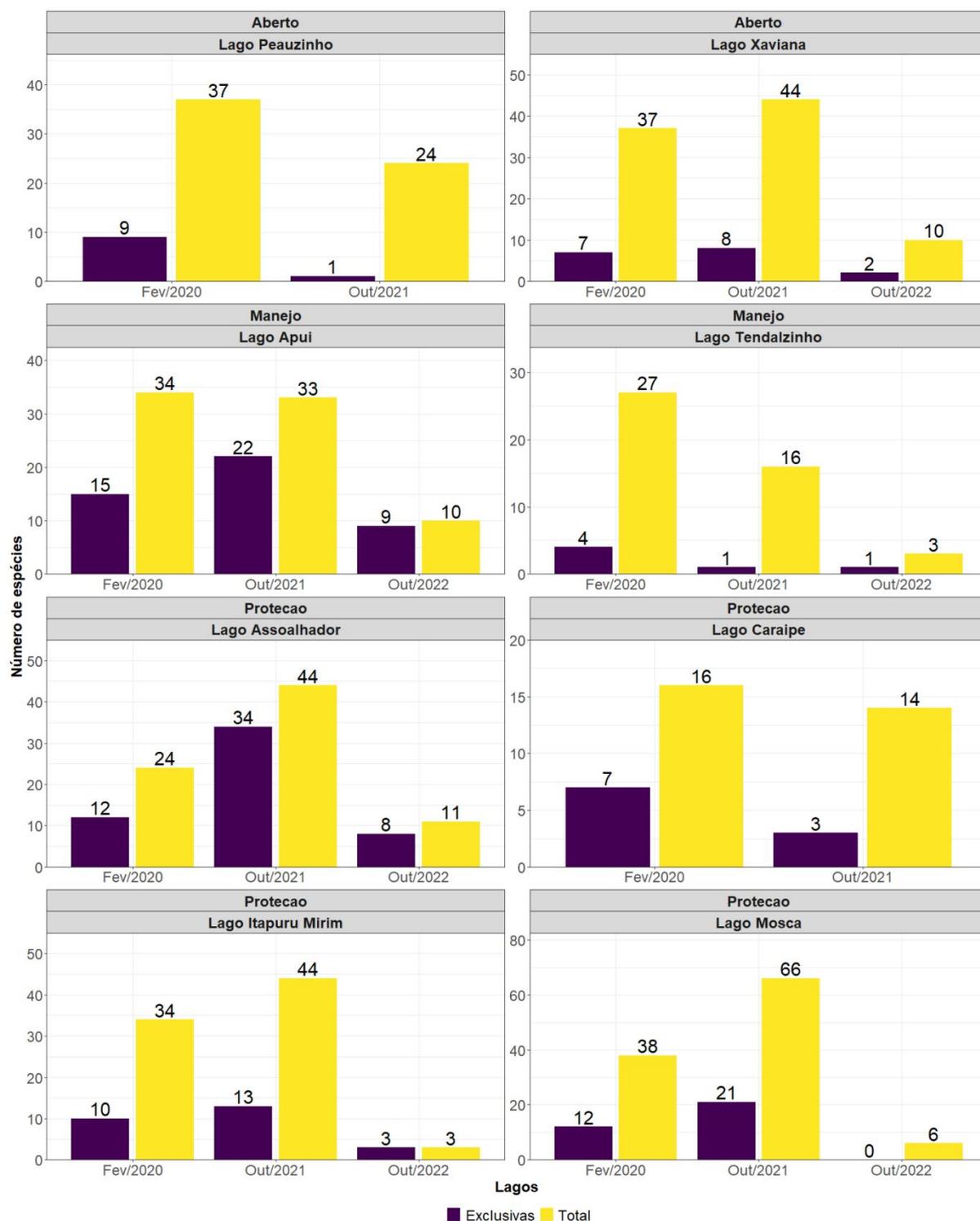


Figura 5. Número total e número de espécies exclusivas por local fixo de amostragem de acordo com a categorização quanto ao uso/apropriação dos recursos naturais (aberto, proteção e manejo) na RDS-PP e Rebio Abufari, distribuídos por período do ano (evento de coleta).

A primeira tendência constatada foi que nos lagos Assoalhador (proteção) e Apuí (manejo) mais de 70% das espécies foram exclusivamente coletadas nestes locais no período

de seca dos anos de 2021 e 2022, com diminuição no período de enchente. A segunda tendência foi que, apesar de inferior em relação aos lagos supracitados, houve participação similar (em %) de espécies exclusivas nos períodos de enchente (fev/2020) e seca (out/2021) no lago aberto Xaviana (cerca de 18%) e nos lagos protegidos Itapuru (cerca de 29%) e Mosca (cerca de 31%). Ressalta-se também que nos lagos Peauzinho (aberto) e Tendalzinho (manejo) foi registrada apenas 1 espécie exclusiva, resultando nos menores valores dentre todos lagos e períodos, sendo estes 4,2% e 6,3% respectivamente.

Considerando todas as espécies registradas e apenas os locais de amostragem fixa nos diversos períodos do ciclo hidrológico, observa-se uma tendência de diminuição do número de espécies com a adição de dados de novos eventos de coleta e do período hidrológico para os lagos Tendalzinho e Apuí (manejo), Caraipé (proteção) e Peauzinho (aberto); enquanto para os lagos Mosca, Assoalhador e Itapuru (proteção), e Xaviana (aberto) há uma inflexão da tendência de diminuição, com aumento do número de espécies no período seca do ano de 2021 e novamente diminuição na seca de 2022 (Figura 6).

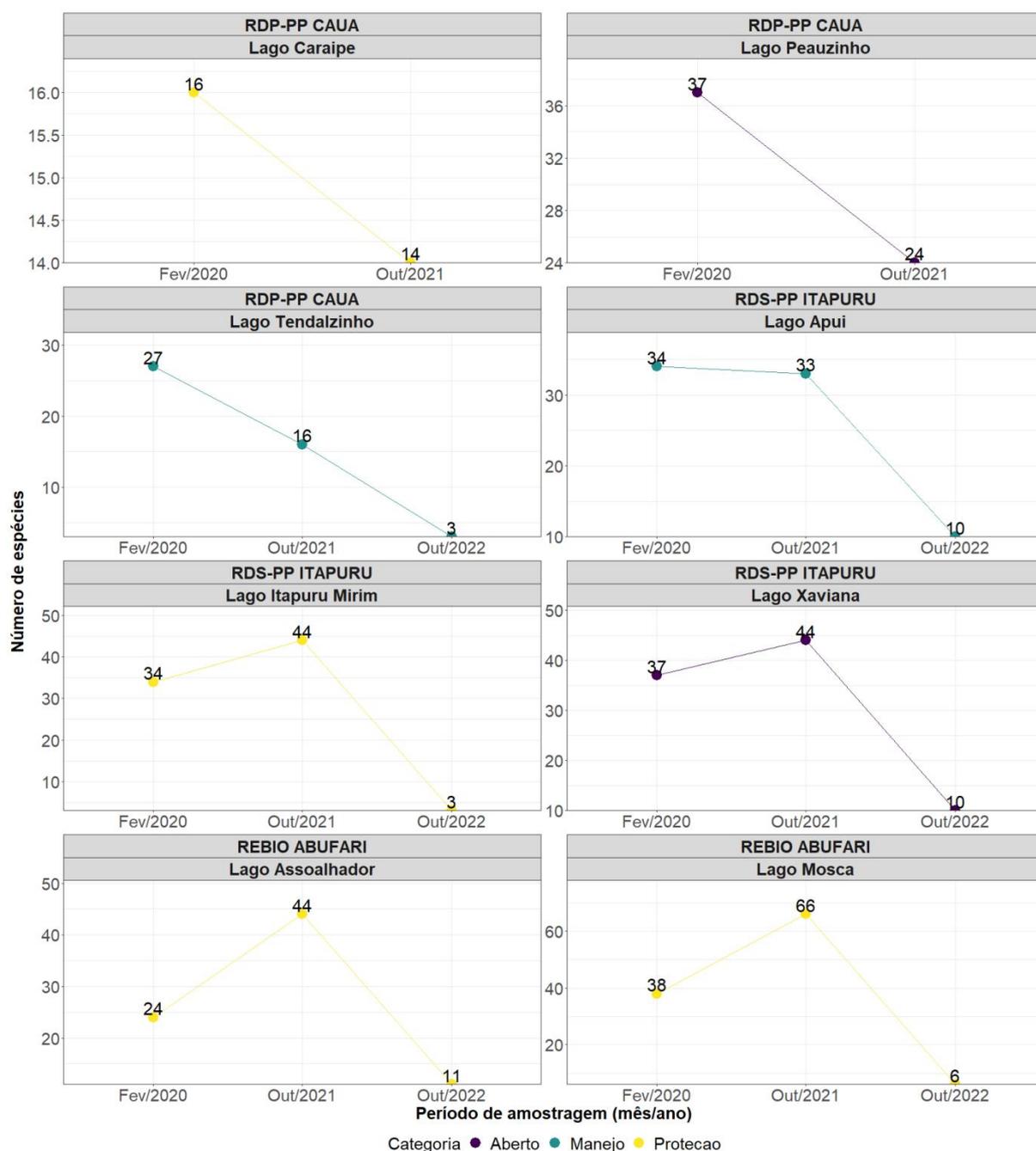


Figura 6. Número de espécies de peixes registradas por local fixo de amostragem de acordo com a categorização quanto ao uso/apropriação dos recursos naturais (aberto, proteção e manejo) na RDS-PP e Rebio Abufari, com ênfase na dinâmica temporal de captura considerando os períodos hidrológicos abrangidos pelas amostragens.

Discussão

A ictiofauna do baixo rio Purus, nas áreas de influência da RDS-PP e Rebio Abufari, é composta principalmente por Ostariophysi, representando 82,6% da riqueza total, padrão similar ao verificado por Morales *et al.* (2019) na mesma região e para toda a bacia amazônica (Dagosta e de Pinna, 2019). A maior representatividade em termos de riqueza de

espécies e abundância das ordens Characiformes e Siluriformes na região neotropical proposta descrita por Lowe-McConnell (1999) e Reis *et al.* (2003), e reafirmada para a região do baixo rio Purus por Rapp Py-Daniel e Deus (2003), Duarte *et al.* (2010) e Morales *et al.* (2019), foi corroborada pelos resultados obtidos. Gymnotiformes foi a terceira ordem mais representativa em termos de número de espécies devido ao emprego da metodologia de coleta arrasto de fundo (*trawl net*), que potencializa a captura de indivíduos dessa ordem. Por fim, o elevado registro de espécies da ordem Cichliformes condiz com o padrão verificado por Dagosta e de Pinna (2019) para a bacia Amazônica.

A maior riqueza de espécies verificada em Characidae (Characiformes) deve-se ao fato desta família possuir o maior número de espécies válidas para esta ordem (Fricke *et al.*, 2023), com 1251 atualmente válidas e apresentar grande diversidade morfológica incluindo alguns dos maiores e menores Characiformes neotropicais (Lima *et al.*, 2013). As praias arenosas (Goulding *et al.*, 1988; Rapp Py-Daniel *et al.*, 2007) e os bancos de macrófitas apresentam elevada riqueza de espécies (Lowe-McConnell, 1999, Agostinho *et al.*, 2013), especialmente em relação aos Characiformes (Jepsen, 1997; Stewart *et al.*, 2002). Devido as características supracitadas, a maior captura de espécies de Characidae foi respaldada pela diversificação de métodos e apetrechos de amostragem e aumento da abrangência espacial cobrindo variados tipos de ambientes aquáticos (lagos, igarapés, praias arenosas, bancos de macrófitas e canal principal do rio).

Loricariidae, segunda família em número de espécies registradas nas amostragens e maior família da ordem Siluriformes, com 1041 espécies válidas (Fricke *et al.*, 2023), tem maior parte das espécies com ampla distribuição na Amazônia central e América do Sul e elevada associação com o substrato, podendo estar presentes em diferentes habitats aquáticos (Rubert *et al.*, 2011). A maior parte das espécies dessa família foi coletada por metodologias de pesca ou apetrechos que exploram os diferentes substratos sendo: peneira, rede de cerco em banco de macrófita, arrasto de praia e arrasto de fundo, confirmando a efetividade das capturas frente aos padrões de dominância conhecidos das famílias mais representativas.

Apesar de apresentar menor número de espécies em relação aos trabalhos que compilaram dados para proposição de um banco de dados das espécies de peixes da bacia do rio Purus (Dagosta e de Pinna, 2019; Jézequel *et al.*, 2020), o presente estudo destaca-se por apresentar um banco de dados de espécies robusto, de fonte primária por ter sido gerado a partir de coletas sistemáticas e periódicas, identificação taxonômica realizada por especialistas, representatividade integral de material testemunho das espécies coletadas depositado em coleção ictiológica, correspondência integral das espécies coletas com amostras de tecidos depositados em coleção genética e proposta de sequenciamento e

depósito da sequência de fragmentos de COI (DNA *barcoding*) de cada espécie em banco de dados genéticos. Tais condições estão em alinhamento com o proposto por de Santana *et al.* (2021) para otimizar a utilização de ferramentas moleculares nos estudos sobre a biodiversidade, sendo estas a expansão e melhoria do banco de tecidos, com grande representatividade da ictiofauna do rio Purus; depósito das amostras de DNA sequenciados em bancos de dados genéticos, com precisão em nível específico da identificação dos vouchers; e criação de uma biblioteca genética de referência para o baixo rio Purus.

Os trabalhos de Dagosta e de Pinna (2019) e Jézequel *et al.* (2020), cada um com critérios e métricas próprias, apresentam listas de espécies baseadas em informações extraídas da literatura (artigos publicados, livros, literatura cinza), dados de bancos de dados de biodiversidade online (GBIF e outros), dados de coleções ictiológicas de museus e universidades, além de outras fontes secundárias de dados mantidos ou compilados pelos parceiros do projeto e oriundos eventuais campanhas de amostragem.

A importância de inventários sistemáticos e com ampliação do esforço amostral e tipos de apetrechos de pesca é respaldada pelo incremento significativo de espécies para todos os bancos de dados mencionados. A ausência dessas espécies nos bancos de dados já existentes revela que ambientes amazônicos, mesmo em regiões historicamente amostradas, ainda possuem lacunas de conhecimento que devem ser preenchidas. Quando comparado com Morales *et al.* (2019) - 74 spp. e trabalho atual 272 spp., os resultados reforçam a necessidade de estudos ecológicos de longa duração, com abrangência entre as diferentes fases do ciclo hidrológico; inclusão de metodologias ou apetrechos de coleta e diversificação dos ambientes amostrados, que possibilita a captura do maior número possível de espécies.

As espécies do gênero *Moenkhausia* e *Mesonauta festivus* são reconhecidamente abundantes em associação a vegetação aquática (Agostinho *et al.*, 2013; Soares *et al.*, 2014), enquanto espécies do gênero *Anchoviella* associadas a praias arenosas ou bancos de areia. A presença de vegetação aquática (Duarte *et al.*, 2010), resulta em aumento da complexidade estrutural com efeitos nas interações biológicas e diversidade de espécies, funcionando como refúgio, área de forrageamento e desova para diversas espécies de espécies (Agostinho *et al.*, 2013), com prevalência de espécies de pequeno porte ou juvenis de espécies de maior porte como em macrófitas (Junk, 1973) como *M. gracilima*, *M. festivus*, *A. jamesi* e *A. heckelii*. Por outro lado, diversas espécies adaptadas a ambientes arenosos possuem corpos translúcidos quase sem coloração, pequenas manchas escuras imitando o substrato arenoso, ou superfícies brilhantes para confundir predadores (Goulding, 1997; Zuanon *et al.*, 2006), como é o caso de *A. jamesi*. Dessa forma, as elevadas abundâncias das espécies supracitadas são decorrentes ao esforço amostral empregado nestes habitats.

A presença da maioria das espécies de destacado interesse comercial mencionadas por Santos *et al.* (2009), além de *A. gigas* e *O. bicirrhosum*, reforçam a importância do rio Purus no contexto de produtividade pesqueira em comparação com outras grandes afluentes de água branca (Petrere, 1978; Batista, 1998; 2003). No entanto a concentração da captura em poucas espécies, com tendências de sobrexploração descrita por Barthem e Fabre (2003), reforçam a importância da categorização de ambientes aquáticos da região quanto ao uso/apropriação dos recursos naturais e investigações sobre o comportamento reprodutivo destas espécies tendo em vista manutenção dos estoques pesqueiros e conseqüentemente a conservação genética da diversidade de peixes.

A captura de 102 espécies (36,2% do total) de interesse para aquarofilia ou para uso ornamental, muitas descritas como de destacado interesse, sinaliza para o potencial deste tipo de atividade comercial para a região, principalmente de espécies de pequeno porte, com formas exóticas e colorido exuberante (Rossoni *et al.*, 2014). Os mesmos autores destacam a importância da utilização, em sistemas de manejo, do acará-disco (*S. aequifasciatus*) na região do baixo rio Purus, por tratar-se de uma das espécies mais conhecidas mundialmente no mercado de ornamentais (Leite e Zuanon, 1991; Chao, 2001). Nestes termos, verifica-se o potencial de exploração comercial de todas as espécies enquadradas na categoria AO, desde que seja considerada, conforme proposto por Rossoni *et al.* (2014), a indissociabilidade entre o conhecimento tradicional dos pescadores com informações técnicas a respeito das espécies e do potencial de comercialização em um contexto de exploração sustentável do ponto de vista social, econômico e ecológico.

O registro das principais espécies que possuem restrição legal para captura, transporte, armazenamento ou comercialização nos locais amostrados evidencia a delicada relação entre a presença de comunidades tradicionais e seus modos de vida em áreas protegidas. A existência de restrição legal juntamente com a presença de unidades de conservação e categorização dos locais impõe padrões de exploração da ictiofauna limitados do ponto de vista espacial e temporal.

Dentre o total de espécies e as espécies alvo que compõem o banco de dados de espécies do trecho baixo no rio Purus na área de influência da RDS-PP e Rebio Abufari, as sequências obtidas para as espécies enquadradas nos cenários 1 e 2 (Quadro 2), serão depositadas no Genbank, com manutenção da identificação proposta na Tabela 2.

A maior parte das espécies enquadradas no cenário 2 (63,2%) não possuem sequências COI depositadas nos bancos de dados genéticos Genbank e BOLD. Assim, a inexistência destes registros resultou necessariamente em alinhamentos inespecíficos, o que justifica o enquadramento nesses casos e respalda a identificação proposta com base em

caracteres morfológicos. Por exemplo, todas as espécies coletadas da ordem Clupeiformes foram sequenciadas (*A. jamesi*, *A. juruasanga*, *I. amazônica*, *P. whiteheadi* e *P. flavipinnis*) e nenhuma delas constam nos registros dos bancos de dados genéticos, tornando impossível o processo de verificação/validação da identificação com base no cruzamento das sequências obtidas.

O presente estudo representa, portanto, uma grande e importante contribuição para a para a biblioteca global de DNA *barcoding*, da mesma forma que constitui o primeiro arcabouço representativo da fauna de peixes de um importante tributário de águas brancas do rio Amazonas. A importância pesqueira e ecológica do rio Purus, notadamente no seu trecho baixo, que contempla a maior parte das áreas periodicamente alagáveis e áreas protegidas da bacia, reforça a importância e aplicabilidade dos resultados aqui obtidos para fins de monitoramento e conservação da diversidade de peixes. Com a existência de um banco de dados genético robusto e representativo da região, será possível realizar estudos rápidos e de baixo custo como DNA ambiental, DNA metabarcoding visando, de acordo com as variações hidrológicas, diagnosticar a estrutura e composição das comunidades de peixes, situação de espécies-alvo e dinâmica reprodutiva, além de avanços no entendimento das relações entre as populações tradicionais ribeirinhas e a dinâmica de exploração dos recursos pesqueiros

Ainda sobre espécies enquadradas no cenário 2, na família Characidae, os indivíduos de coletados identificados como *Serrapinnus* sp. e *Aphyocharax* sp. são juvenis de pequeno porte e/ou a preservação do material dificultou a visualização dos caracteres morfológicos diagnósticos, e conseqüentemente uma identificação precisa em nível de espécie. O cruzamento da sequência de *Serrapinnus* sp. com as sequências depositadas nos bancos de dados resultou em alinhamento com similaridade maior que 97% com *Serrapinnus kriegi*. No entanto, pela distribuição conhecida esta espécie deve ser restrita às bacias do Paraná e Paraguai (Fricke *et al.* 2023). Para *Aphyocharax* sp. foi obtida similaridade menor que 97% com *Aphyocharax dentatus*, cuja ocorrência conhecida também é restrita às bacias do Paraná e Paraguai (Fricke *et al.* 2023).

No par de espécies *Moenkhausia bonita* e *Moenkhausia dichroua*, apesar da distância genética de 0,4% a diferenciação morfológica baseou-se no corpo relativamente alto e na presença de uma mancha escura se estendendo do pedúnculo caudal aos raios medianos da nadadeira caudal em *M. bonita*, enquanto os indivíduos identificados como *M. dichroua* apresentaram a mancha umeral muito pouco conspícua (Queiroz *et al.*, 2013).

No par de espécies *Stethaprion crenatum* e *Stethaprion erythroptus*, cuja divergência genética foi de 0,2%, as espécies foram distinguidas morfológicamente por *S. crenatum* possuir escamas pequenas e crenadas, presença de uma quilha serrada no abdômen e

pequenas escamas que cobrem um terço da nadadeira adiposa, enquanto os indivíduos de *S. erythroptus* apresentaram escamas pequenas lisas, sem quilha serrada no abdômen e pequenas escamas que cobrem dois terço da nadadeira adiposa (Ayala, 2018).

Apesar dos valores de distância genética inferiores a 2% para os pares de espécies *Tetragonopterus chalceus* e *Tetragonopterus argenteus*, *Ctenobrycon hauxwellianus* e *Ctenobrycon spilurus*, ambas espécies se enquadraram no cenário 1 (Quadro 2). De acordo com Melo *et al.* (2022) Characidae é uma das linhagens com elevada riqueza de espécies e diversidade ecomorfológica que experimentou eventos recentes de rápida diversificação, o que gera baixos valores de similaridade com o marcador molecular COI, sendo necessário nesses casos abordagens mais robustas, como os elementos ultraconservados utilizados pelos autores, para diferenciar as espécies. Dessa forma a identificação morfológica foi mantida para todas as espécies de Characidae supracitadas, pela comparação das sequências obtidas com as sequências depositadas nos bancos de dados genéticos, pelos padrões de distribuição e pelos caracteres morfológicos diagnósticos.

Nas famílias Iguanodectidae e Lebiasinidae (Characiformes) a similaridade entre as respectivas sequências de *Iguanodectes purusii* e *Pyrrhulina australis* foi menor que 97%, sendo a identificação molecular condizente com a identificação morfológica para ambas as espécies. Em *I. purusii*, a baixa similaridade obtida pode estar relacionada com as características da única sequência disponível nas bases de dados genéticas, que possui 838 pb e é proveniente do Rio Maroni, na Guiana Francesa (Genbank ID MZ050996.1). Como a sequência apresentada no presente estudo possui 695pb pode ter ocorrido um erro de identificação da espécie já depositada no Genbank ou determinada incompatibilidade no alinhamento durante as comparações com a ferramenta BLAST devidos as diferenças do tamanho das sequências. Apesar da congruência entre a classificação morfológica e molecular em *Pyrrhulina australis* e *P. brevis*, o valor da distância genética deste par de espécies foi 0%. Estas espécies foram diferenciadas morfológicamente pela presença de uma faixa escura estendendo-se posteriormente ao opérculo em *P. brevis*, enquanto *P. australis* apresentou colorido em forma de zigue-zague inconspícuo nos flancos e lobo superior da nadadeira caudal com nove raios principais (vs. 10 em *P. brevis*) (Queiroz *et al.*, 2013). Ferreira *et al.* (2022) verificaram que a diferenciação genética das espécies do gênero *Pyrrhulina* é influenciada pela distribuição geográfica e por arranjos cromossômicos, devido a resultados que indicaram uma clara diferença entre todas as espécies, ao mesmo tempo em que mostraram uma relação mais próxima daquelas localizadas na mesma região geográfica. Com base no disposto, a identificação baseada em caracteres morfológicos foi mantida para ambas as espécies.

Na família Serrasalminidae (Characiformes), *Serrasalmus compressus* e *Serrasalmus spilopleura* apresentaram similaridade maior que 97% com *S. rhombeus* e *S. maculatus* respectivamente nas comparações com os bancos de dados genéticos. Esses pares de espécies apresentaram divergência genética inferior a 2%, no entanto, *Serrasalmus compressus* foi morfológicamente distinguida de *Serrasalmus rhombeus* por apresentar corpo muito comprimido lateralmente e com manchas escuras pequenas formando faixas verticais curtas dispostas na região dorso-lateral enquanto *S. rhombeus* apresentou padrão de pigmentação do corpo com manchas escuras alongadas verticalmente na porção mais dorsal dos lados do corpo (Queiroz *et al.*, 2013). *Serrasalmus maculatus* foi distinguida de *S. spilopleura* por possuir nadadeira caudal com sua maior parte clara e faixa subterminal preta constituindo o padrão de colorido principal enquanto *S. spilopleura* apresenta bainha de escamas na nadadeira anal cobrindo no máximo um terço do comprimento dos raios (*vs.* cerca da metade em *S. maculatus*) (Queiroz *et al.*, 2013). No par de espécies *Serrasalmus compressus* e *Serrasalmus* sp. "2n=58", cuja distância genética foi de 0%, a espécies foram distinguidas morfológicamente pela padrão de pigmentação do corpo com manchas arredondadas grandes e espaçadas, localizadas principalmente na porção dorsal do corpo e presença de quatro supraneurais em *Serrasalmus* sp. "2n=58", enquanto *S. compressus* apresentou corpo com manchas escuras pequenas formando faixas verticais curtas dispostas na região dorso-lateral (Queiroz *et al.*, 2013). Machado *et al.* (2018) recuperou por meio de sequências DNA barcode um grande número de linhagens do gênero *Serrasalmus* Lacepède 1803 na bacia Amazônica, revelando que a taxonomia do gênero é bastante incipiente e que existem espécies que precisam ser descritas e melhor investigadas dentro da família.

A comparação da sequência de *Metynnis luna* com as sequências depositadas nos bancos de dados genéticos resultou em 100% de similaridade com *Myloplus asterias* (BOLD) e *Metynnis hypsauchen* (Genbank). Essa situação evidencia a complexidade taxonômica do grupo e o grande potencial de erros de identificação de grupos muito diversos com elevada variação morfológica nos diferentes estágios ontogenéticos como gênero *Metynnis*. As espécies *Metynnis hypsauchen* e *Metynnis luna* apresentaram distância genética de 0%, no entanto estas espécies foram distinguidas morfológicamente pela presença de 14 a 18 rastros branquiais no ramo superior em *M. hypsauchen* (*vs.* 24-38 em *M. luna*). Além disso, os indivíduos de *M. luna* analisado apresentaram um total de 50-71 rastros branquiais muito longos, que diferencia essa espécie das demais congêneres (Ota, 2015). Com base nisso foi corroborada a identificação baseada em caracteres morfológicos de *M. luna* e diferenciação desta de *M. hypsauchen*. A distância genética menor que 2% entre estes pares de espécies confirma baixa eficiência do marcador COI para distinguir espécies de grupo complexos como

Serrasalmidae, que tem sido objetivo de abordagens filogenéticas multilocus (Thompson *et al.*, 2004) e elementos ultraconservados - UCEs (Mateussi *et al.* 2020). Segundo Melo *et al.* (2022), Serrasalmidae é uma das famílias de Characiformes rica em número de espécies e com elevada variação morfológica que experimentou eventos recentes de rápida diversificação, resultando em valores baixos de distância genética pelo marcador COI. Em todos os casos de Serrasalmidae, a identificação morfológica foi mantida.

Na família Curimatidae (Characiformes), *Curimata inornata* apresentou similaridade maior que 97% com *C. cyprinoides* na comparação com os bancos de dados genéticos. Apesar de Melo *et al.* (2021) descreverem a distribuição de *C. inornata*, *C. cyprinoides* e *C. knerii* para terras baixas amazônicas (*lowlands*), os registros de *C. cyprinoides* nos bancos de dados genéticos são restritos a regiões de terras altas amazônicas (*uplands*) nas Guianas. *Curimata inornata* e *C. knerii* apresentaram distância genética de 0.5%, no entanto *C. knerii* foi distinguida morfológicamente de *C. inornata* pela presença de raios anteriores da nadadeira dorsal filamentosos (ausente em *C. inornata*), além da ausência de barras verticais escuras na região dorsal do corpo em *C. inornata*. (Queiroz *et al.*, 2013). Em ambos os casos, optou-se por manter a identificação com base nos caracteres morfológicos diagnósticos.

Os indivíduos identificados como *Eigenmannia* sp. são juvenis de pequeno porte e/ou a preservação do material dificultou a visualização dos caracteres morfológicos diagnósticos e consequentemente uma identificação precisa em nível de espécie. *Eigenmannia* sp. apresentou similaridade menor que 97% com *Eigenmannia trilineata* que possui distribuição conhecida restrita às bacias do Prata e baixo Paraná (Fricke *et al.* 2023). Portanto, considerando a impossibilidade da identificação a nível específico e a incompatibilidade com os resultados comparativos das informações genéticas, a identificação inicialmente proposta foi mantida.

No par de espécies *Trachydoras microstomus* e *Trachydoras* sp. (distância de 1,5%), as espécies se diferenciaram morfológicamente pela presença de uma mancha escura em cada lobo da nadadeira caudal e forame nugal presente em *Trachydoras* sp., enquanto em *T. microstomus* foi verificada a ausência de manchas escuras na nadadeira caudal e forame nugal ausente (Queiroz *et al.*, 2013).

No par de espécies *Rineloricaria phoxocephala* e *Rineloricaria castroi* (distância de 0,6%) as diferenças morfológicas que distinguiram as espécie foram a presença de grandes faixas alternadas de marrom escuro e claro e focinho curto em *R. castroi* enquanto que *R. phoxocephala* possui focinho longo e pontos escuros nas linhas cefálica e lateral (Queiroz *et al.*, 2013).

No par de espécies *Crenicichla inpa* e *C. cyanonotus* (distância de 1,4%), as espécies

foram distinguidas pela morfologia pois *C. cyanonotus* apresenta corpo robusto e cilíndrico; cabeça deprimida, área interorbital larga e plana e listras horizontais ausentes em *C. cyanonotus* enquanto *C. inpa* possui corpo comprimido lateralmente; cabeça comprimida lateralmente; área interorbital relativamente curta e ligeiramente convexa e mancha umeral situada inteiramente abaixo do ramo anterior da linha lateral (Queiroz *et al.*, 2013).

No par de espécies *Heros spurius* e *Heros efasciatus* (distância de 0,3%), *H. spurius* foi morfologicamente separada de *H. efasciatus* possuir as faixas dois a cinco completas, alcançando a base da nadadeira dorsal (*vs.* incompletas ou ausentes em *H. efasciatus*) (Graça, 2008);

Os valores de divergência menores que 2%, nos casos de espécies congêneres podem estar associados a diversificação ou recente ou a rápida expansão de algumas linhagens nas drenagens da América do Sul, bem como pela baixa eficiência do marcador COI para discriminar estas espécies na presença de apenas uma sequência de cada espécie e ausência de representação das demais congêneres, sendo necessário portanto a complementação das sequências e o uso de vários marcadores (e.g. D-Loop, Citocromo B, abordagem *multilocus*) ou elementos ultraconservados (UCES), podendo representar casos de sinonímia, polimorfismo, etc. No caso de pares de espécies pertencentes a diferentes gêneros, os valores de divergência genética também podem ter sido influenciados pelo fato de que os DNA barcodes não têm sinal filogenético suficiente para resolver essas relações, especialmente em abordagens além de congêneres (Hajibabaei *et al.*, 2007), dessa forma uma análise para estes casos deve levar em consideração múltiplos loci para ter uma resolução adequada e evitar um resultado enviesado pelo comportamento evolutivo de um único gene. Dessa forma, os resultados de divergência genética apresentados juntamente com os critérios morfológicos empregados para separação das espécies respaldam, para fins deste trabalho, apenas a manutenção da identificação taxonômica, sendo necessária a realização de investigações mais aprofundadas para verificar os indicativos de baixa divergência genética nos casos aqui discutidos.

Apesar dos valores de distância genética inferiores a 2% para os pares de espécies de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon scobina*, , *Potamorhina pristigaster* e *Psectrogaster rutiloides*, *Serrasalmus rhombeus* e *Serrasalmus* sp. "2n=58", *Apteronotus* sp. e *Parapteronotus hasemani*, *Sternarchella raptor* e *Sternarchella schotti*, *Trachelyopterus porosus* e *Trachelyopterus* sp. "placa larga" , *Tympanopleura brevis* e *Tympanopleura rondoni*, *Hypostomus hoplonites* e *Aphanotorulus emarginatus*, *Acaronia nassa* e *Chaetobranchopsis orbicularis*, *Plagioscion montei* e *Plagioscion squamosissimus*, em todos esses casos ambas espécies enquadraram-se no cenário 1 (Quadro 2), dessa forma a

identificação morfológica foi validada pela comparação das sequências obtidas com as sequências depositadas nos bancos de dados genéticos.

Nos demais casos com distância genética inferior a 2%, pelo menos uma das espécies do par analisado foi enquadrada no cenário 1 (Quadro 2) e conseqüentemente a outra no cenário 2. No par de espécies *A. falcirostris* e *A. microlepis*, os indivíduos analisados de *A. falcirostris* possuíam 140 a 175 escamas na linha lateral, enquanto *A. microlepis* possuíam 96 a 131 escamas na linha lateral, sendo as espécies satisfatoriamente distinguidas do ponto de vista morfológico (Queiroz *et al.*, 2013).

No par de espécies *Cynodon gibbus* e *C. septenarius*, cuja distância genética foi de 0,1%, as espécies foram separadas morfológicamente pela ausência de mancha ou banda com pigmentação escura cobrindo a base da nadadeira caudal em *C. septenarius* (*vs.* presença em *C. gibbus*) (Toledo-Piza, 2000).

As comparações das sequências obtidas com os bancos de dados genéticos sinalizaram para a necessidade de revisão de alguns lotes e resultou em alteração da identificação morfológica em oito espécies.

A espécie previamente identificada como *Ageneiosus* sp. apresentou similaridade maior que 97% com *Ageneiosus intrusus* em ambos bancos de dados genéticos. Na revisão morfológica foi verificado que os indivíduos possuíam a região dorsal uniformemente escura, espinho da nadadeira peitoral afilando-se distalmente, rígido e pontiagudo, e pré-maxilar projetado anteriormente além do dentário por uma distância maior que diâmetro horizontal do olho (Ribeiro *et al.*, 2017), características que confirmaram a identificação como *A. intrusus*.

A identificação prévia da espécie *Ctenobrycon* sp., que apresentou similaridade >97% com *Ctenobrycon hauxwellianus* e *Ctenobrycon spilurus* foi reavaliada e com base na diferença da altura do corpo, optou-se na identificação com *C. hauxwellianus* que possui o corpo mais baixo.

Em *Pyrrhulina* sp. a comparação resultou em similaridade com *P. australis* (94,98%), no entanto como foi verificada a presença de uma faixa escura estendendo-se posteriormente ao opérculo, ao longo de 4 escamas da terceira série longitudinal e nadadeira caudal com duas a três barras verticais difusas nos exemplares analisados, optou-se pelo enquadramento em *P. brevis* (Queiroz *et al.*, 2013).

Os lotes identificados previamente como *Tympanopleura piperata* foram revisados e reidentificados como *Tympanopleura atronasus* pela presença de lábio superior preto, grande mancha formada por melanóforos difusos nas laterais acima da nadadeira anal, mancha basal

escura ou faixa longitudinal em cada lobo da nadadeira caudal, nadadeiras peitorais, pélvicas e caudais com banda marginal escura (Walsh *et al.*, 2015).

Os lotes identificados previamente como *Geophagus megazema* obtiveram similaridade maior que 97% com *Geophagus proximus*. Após revisão, optou-se pela identificação como *G. proximus* devido a forma da marcação pré-opercular com formato mais próximo ao retangular (*vs.* arredondado em *G. megazema*) (López-Fernandez e Taphorn, 2004)

Para a espécie identificada previamente como *Fluviophylax pygmaeus*, verificou-se similaridade maior que 97% com *F. simplex*. A identificação foi alterada para *F. simplex* pois além da similaridade genética, *F. pygmaeus* é endêmico da bacia do rio Madeira, enquanto que *F. simplex* ocorre na calha principal do rio Amazonas e trecho baixo dos principais afluentes da Amazônia Central (Souza, 2008).

O conjunto de espécies enquadrado no cenário 3 (Quadro 2) inclui as espécies não sequenciadas porque: não foi verificada a presença de bandas em gel de agarose da amplificação do DNA da amostra após a PCR, devido possivelmente a inespecificidade do conjunto de *primers* (F e R) ou temperatura de anelamento inadequada; ou a amostra foi amplificada, no entanto o sequenciamento resultou em sequência muito curta e de baixa qualidade. Ressalta-se que pelo menos duas amostras de tecido de cada espécie foram submetidas à extração e amplificação, e todas as amostras amplificadas foram enviadas para sequenciamento no IBTEC-UNESP. Nesses casos, a identificação taxonômica foi provisoriamente mantida, considerando os critérios técnicos utilizados e eventuais consultas a especialistas para o enquadramento no menor nível taxonômico possível.

Portanto, majoritariamente, as espécies que apresentaram maior discrepância entre identificações morfológicas e moleculares pertencem a gêneros ou famílias com grande número de espécies (*e.g.* *Metynnis* e *Serrasalmus* em Serrasalminidae, *Moenkhausia* e *Hemigrammus* em Characidae, Loricariinae em Loricariidae e Doradidae). Adicionalmente, muitos representantes dessas famílias possuem elevada variação morfológica decorrente da ontogenia e dimorfismo sexual (*e.g.* Jégu, 2003; Ota *et al.*, 2020), dificultando ainda mais sua identificação.

Serrasalmídeos tem sido alvo de estudos moleculares, principalmente envolvendo o DNA *barcoding*, que tem demonstrado grande diversidade ainda não reconhecida na bacia amazônica (*e.g.* Machado *et al.*, 2018). Diversas espécies de serrasalmídeos têm sido descritas utilizando abordagens que integrem DNA barcode a taxonomia tradicional (*e.g.* Escobar *et al.*, 2019; Mateussi *et al.*, 2020; Ota *et al.*, 2020). Characidae, assim como Serrasalminidae experimentou eventos recentes de rápida diversificação (Melo *et al.*, 2022),

gerando linhagens geneticamente muito próximas, o que dificulta a identificação. Assim, apesar dos estudos apontarem diversas linhagens, muitas espécies ainda permanecem sem descrição formal. o que demonstra a necessidade urgente que esses grupos possuem da realização de maior esforço na elucidação dos limites de variação intra e interespecíficas, conciliando diversos conjuntos de dados.

No que diz respeito a presença de espécies exclusivas, ressalta-se a importância de ambientes protegidos, que desempenham um importante papel ecológico por agregar maior número destas espécies, assim como maior parte das espécies com restrição legal (PL) e de interesse comercial (IC), confirmando a maior riqueza verificada em lagos de várzea protegidos do baixo rio Purus (Morales *et al.*, 2019) e a influência da categorização de lagos nos padrões de composição e abundância da ictiofauna da mesma região (Morales e Deus, 2021). Além dos ambientes protegidos, os lagos de manejo assumem uma importante contribuição na agregação de espécies exclusivas em termos das espécies alvo e do total de espécies coletadas. O elevado número de espécies exclusivas nos lagos Assoalhador (proteção) e Apuí (manejo) sinalizam para a importância desses lagos para a diversidade de peixes de suas respectivas Unidades de Conservação. O lago Assoalhador funciona como o centro de um sistema de lagos conectados ao rio Purus pelo igarapé do Chapéu, sendo sua importância para a biodiversidade local destacada no Plano de Manejo da Rebio Abufari (Plano de Manejo da Reserva Biológica do Abufari, 2018), pois ele representa o principal lago do sistema que permanece conectado ao Purus no período de seca, agregando grande parte das espécies de peixe que saem dos lagos antes do isolamento total.

O lago Apuí está localizado de modo adjacente ao canal que dá acesso ao lago protegido Itapuru-Mirim (centro do sistema de lagos da RDS-PP), e sua conexão com esse canal serve como ponto de fiscalização desse sistema pelo grupo de manejadores, sendo um ambiente cuja restrição ao uso e acesso é fortemente exercida. Além disso, o lago Apuí possui formato alongado, com presença de vegetação aquática em praticamente toda a extensão de sua margem, contribuindo para manutenção de um elevado número de espécies que utilizam as macrófitas como refúgio, forrageamento e desova (Agostinho *et al.*, 2013). Em sentido amplo, a prática do manejo subentende a vigilância e restrição da pesca sobre os locais e dessa forma considera-se um efeito guarda-chuva sobre todas as comunidades de peixes dos lagos.

Os valores similares de espécies exclusivas nos lagos Itapuru-Mirim (proteção), Xaviana (aberto) e Mosca (proteção) demonstram estabilidade desses locais em relação a disponibilidade de habitats nas diferentes fases do período hidrológico (seca e enchente), principalmente para os lagos Xaviana e Itapuru-Mirim que são os dois maiores lagos

amostrados com zona litorânea bastante recortada e grande, possuindo teoricamente elevada produtividade (“desenvolvimento de margem” *sensu* Esteves, 1998). Para os lagos Mosca e Itapuru-Mirim, esta estabilidade também pode estar relacionada com a proteção integral do ambiente.

A presença de apenas uma espécie exclusiva nos lagos Peuzinho (aberto) e Tendalzinho (manejo) pode estar associada a localização destes lagos na RDS-PP, visto que ambos pertencem ao setor administrativo Caua-Cuianá, que historicamente apresenta problemas quanto a gestão e a fiscalização de lagos no sistema de manejo. Assim, ratifica-se a categorização dos ambientes com o status de proteção com base na cobertura em riqueza de espécies que esses ambientes proporcionam frente aos fatores que influenciam ou podem influenciar os atributos ecológicos da fauna de peixes e o modo de vida das populações ribeirinhas que vivem na região. Impõe-se também a necessidade de consolidação dos requisitos necessários a efetivação das categorias propostas para garantir o objetivo proposto para cada categoria de lago.

A tendência de diminuição do número de espécies com adição de novos eventos de coleta na maioria dos lagos é esperada, visto que em amostragens nos mesmos locais, a probabilidade de coleta de novas espécies diminui com a repetição ao longo de uma série temporal (“rarefação” *sensu* Gotelli e Colwell, 2011), principalmente se as características do habitat não sofrerem alterações relevantes (Röpke *et al.*, 2014). A tendência de aumento do número de espécies em alguns lagos no período de seca pode estar associada a retração ambiental imposta pela diminuição do volume de água, que diminui a disponibilidade de habitats (Röpke *et al.*, 2014) e aumenta a probabilidade de captura das espécies de peixes. O menor número de espécies no período de outubro de 2022 (seca) pode estar associado ao evento extremo de seca registrado na região no período das amostragens, tornando viável apenas permanência de espécies com adaptações morfológicas e fisiológicas em condições extremas.

Considerações finais

Portanto, evidencia-se, como principais aspectos a serem destacados: uma expressiva representatividade do banco de dados de DNA barcoding (COI) apresentado, tanto em número total como para o recorte das espécies alvo, o que torna viável as comparações com as sequências obtidas a partir do DNA *barcoding* do ictioplâncton; a importância de ambientes protegidos e manejados para composição das comunidades de peixes e do ictioplâncton das diferentes categorias de lagos (proteção, manejo e aberto), com base nos

padrões descritos e características ecológicas analisadas; a importância de inclusão diversificação de métodos e apetrechos de amostragem da ictiofauna, diferentes fases do ciclo hidrológico e análises temporais de longa duração para aumentar a capacidade de captura e a representatividade do conjunto de espécies que compõem a ictiofauna da região do baixo rio Purus.

Ressalta-se a relevância dos dados gerados pois representam uma importante contribuição para o conhecimento da diversidade aquática de ambientes amazônicos, visto que o banco de dados gerados agrega além da identificação das espécies, informações genéticas, dados sobre importância econômica, potencial de uso ornamental/aquariofilia e restrições legais ao uso e apropriação dos recursos pesqueiros.

O banco de dados das espécies de peixes do baixo rio Purus na área de influência da RDS Piagaçu-Purus e Rebio Abufari representa o compêndio mais representativo de sequências DNA barcode (com material testemunho depositado em coleção biológica) de peixes de planícies de inundação dos grandes tributários do sistema Solimões-Amazonas, podendo servir de arcabouço para ações de monitoramento e estudos científicos.

Referências bibliográficas

- Agência Nacional de Águas – ANA. 2011. Plano estratégico de recursos hídricos da bacia Amazônica: afluentes da margem direita. Agência Nacional de Águas, Brasília. Disponível em: <<http://www2.ana.gov.br/Paginas/imprensa/noticias.aspx>>. Acesso em: março de 2013.
- Agostinho AA, Gomes LC, Júlio-Júnior HF. 2013. Relações entre macrófitas aquáticas e fauna de peixes. In: Thomaz SM, Bini M (Ed). Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas. Maringá: EDUEM, 2003. cap.13, p. 261–279.
- Albert JS, Tagliacollo VA, Dagosta, F. 2020. Diversification of Neotropical Freshwater Fishes. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 51:1, 27-53.
- Ayala JRG. 2018. Revisão Taxonômica da Subfamília Stethaprioninae (Teleostei: Characiformes, Characidae). Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências de Botucatu.
- Ardura A, Linde AR, Moreira JC, Garcia-Vazquez E. 2010. DNA barcoding for conservation and management of Amazonian commercial fish. *Biological Conservation*, 143(6): 1438-1443.
- Barthem RB, Fabré NN. 2003. Biologia e diversidade dos recursos pesqueiros da Amazônia.

- Pp. 17–62. In: Ruffino ML (Ed). A pesca e os recursos pesqueiros na Amazônia brasileira. IBAMA/Provárzea.
- Batista VS. 1998. Distribuição, dinâmica da frota e dos recursos pesqueiros da Amazônia Central. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Amazonas, UFAM, Manaus, Amazonas.
- Batista VS. 2003. Caracterização da frota pesqueira de Parintins, Itacoatiara e Manacapuru, estado do Amazonas. *Acta Amazonica* 33(2): 291–302.
- Bayley P, Petrere M. 1989. Amazon fisheries: Assessment methods, current status and management options. *Canadian Special Publications Fisheries and Aquatic Science* 106: 385–398.
- Benine RC, Castro RMC, Sabino J. 2004. *Moenkhausia bonita*: a new small characin fish from the Rio Paraguay basin, southwestern Brazil (Characiformes: Characidae). *Copeia* 2004 (no. 1): 68–73.
- Betancur-R, R, Wiley EO, Arratia G, Acero A, Bailly N, Miya M, Lecointre G, Ortí G. 2017. Phylogenetic classification of bony fishes. *BMC Evolutionary Biology*, 17:162.
- Britzke R, Oliveira C, Kullander SO. 2014. *Apistogramma ortegai* (Teleostei: Cichlidae), a new species of cichlid fish from the Ampyiacu River in the Peruvian Amazon basin. *Zootaxa*, 3869(4): 409–419.
- Carvalho TP, Albert JS. 2015. A new species of *Rhamphichthys* (Gymnotiformes: Rhamphichthyidae) from the Amazon basin. *Copeia*, 103(1): 34–41.
- Castello L, McGrath DG, Hess LL, Coe MT, Lefevre PA, Petry P, Macedo MN, Renó VF, Arantes CC. 2013. The vulnerability of Amazon freshwater ecosystems. *Conservation Letters*, 6: 217–229.
- Chao NL, Prang G, Petry P. 2001. Project Piaba – maintenance and sustainable development of ornamental fisheries in the Rio Negro Basin, Amazonas, Brazil. Pp. 3–6. In: Chao NL, Petry P, Prang G, Sonneschien L, Tlustly M. (Eds). *Conservation and management of ornamental fish resources of the Rio Negro Basin, Amazonia, Brazil – Project Piaba*. Manaus: Editora da Universidade do Amazonas.
- Conselho Estadual de Meio Ambiente do Estado do Amazonas - CEMAAM - Resolução CEMAN n° 24 de 18 de agosto de 2017. Estabelece procedimentos para pesca manejada de larvas e alevinos de aruanã branco (*Osteoglossum bicirrhosum*) e de aruanã preto (*Osteoglossum ferreira*) no Estado do Amazonas e dá outras providências. Publicado no DOE/AM em 14 de setembro de 2017.

- Correa SB, Crampton WGR, Albert JS. 2006. Three new species of the neotropical electric fish *Rhabdolichops* (Gymnotiformes: Sternopygidae) from the central Amazon, with a new diagnosis of the genus. *Copeia*, 2006(1): 27–42.
- Costa WJEM, Amorim PA. 2011. A new annual killifish species of the *Hypsolebias flavicaudatus* complex from the São Francisco River basin, Brazilian Caatinga (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Vertebrate Zoology*, 61: 99–104.
- Dagosta FCP, de Pinna M. 2019. The fishes of the Amazon: distribution and biogeographical patterns, with a comprehensive list of species. *Bulletin of American Museum of Natural History*, 431: 1–163.
- Deiner K, Bik HM, Mächler E, Seymour M, Altermatt F, Lodge DM, de Vere N, Creer S, Bista I, Pfrender ME, Bernatchez L. 2017. Environmental DNA *metabarcoding*: Transforming how we survey animal and plant communities. *Molecular Ecology*, 26: 5872–5895.
- Díaz J, Villanova GV, Brancolini F, del Pazo F, Posner VM. 2016. First DNA barcode Reference Library for the Identification of South American Freshwater Fish from the Lower Paraná River. *PLOS ONE* 11(7): e0157419.
- Duarte C, Rapp Py-Daniel LH, Deus C. 2010. Fish assemblages in two sandy beaches in lower Purus river, Amazonas, Brazil. *Iheringia. Série Zoologia*, 100: 319–328.
- Escobar L MD Ota RP, Machado-Allison A, Andrade-López J, Farias IP, Hrbek T. 2019. A new species of *Piaractus* (Characiformes: Serrasalminidae) from the Orinoco Basin with a redescription of *Piaractus brachypomus*. *Journal of Fish Biology*, 95(2): 411–427.
- Esteves FA. 1988. *Fundamentos de Limnologia*. Rio de Janeiro: Editora Interciência. 574p.
- Evans NT, Lamberti GA. 2017. Freshwater fisheries assessment using environmental DNA: *A primer* on the method, its potential, and shortcomings as a conservation tool. *Fisheries Research*, 197: 60–66.
- Ferreira PHN, Souza FHS, de Moraes RL, Perez MF, Sassi FMC, Viana PF, Feldberg E, Ezaz T, Liehr T, Bertollo LAC, Cioffi MB. 2022. The Genetic Differentiation of Pyrrhulina (Teleostei, Characiformes) Species is Likely Influenced by Both Geographical Distribution and Chromosomal Rearrangements. *Frontiers in Genetics*, 13.
- Fricke R, Eschmeyer WN, van der Laan R (Eds). 2023. *Eschmeyer's Catalog of Fishes: Genera, Species, References*. Disponível em: <<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>>. Versão eletrônica. Acessado em: maio de 2023.
- Gotelli NJ, Colwell RK. 2011. Estimating species richness. *Biological Diversity: Frontiers in Measurement and Assessment*, 12: 39–54.

- Goulding M, Carvalho ML, Ferreira EG. 1988. Rio Negro: rich life in poor water. The Hague, Netherlands, SPB Academic. 200p.
- Goulding M. 1997. História Natural dos Rios Amazônicos. Brasília, Sociedade Civil Mamirauá/CNPq/Rainforest Alliance. 208p.
- Graça WJ. 2008. Sistemática da tribo Heroini Kullander, 1998 (Perciformes, Cichlidae). Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Maringá, Paraná.
- Griffiths AJF, Wessler SR, Carroll SB, Doebley J. 2016. Introdução à genética. Rio de Janeiro- RJ: Ed. Guanabara Koogan, 11ed. 755p.
- Guimarães KLA, de Sousa MPA, Ribeiro FRV, Porto JIR, Rodrigues LRR. 2018. DNA barcoding of fish fauna from low order streams of Tapajó's River basin. PLoS ONE 13(12): e0209430.
- Hajibabaei M; Singer GA, Hebert PD, Hickey DA. 2007. DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. Trends in Genetics, 23 (4): 167–72..
- Inoue JG, Miya M, Tsukamoto K, Nishida M. 2001. A mitogenomic perspective on the basal teleostean phylogeny: resolving higher-level relationships with longer DNA sequences, Molecular Phylogenetic Evolution, 20: 272–285.
- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA. 2004. Instrução Normativa IBAMA Nº 34 de 18 de junho de 2004. Estabelece as normas gerais para o exercício da pesca do pirarucu (*Arapaima gigas*) na Bacia Hidrográfica do Rio Amazonas.
- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA. 2005. Proíbe anualmente a pesca, o transporte, a armazenagem e a comercialização do pirarucu (*Arapaima gigas*) no estado do Amazonas, durante o período de 1º de junho de a 30 de novembro.
- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA. 2007. Portaria IBAMA nº48 de 05 de novembro de 2007. Estabelece normas de pesca para o período de proteção à reprodução natural dos peixes, na bacia hidrográfica do rio Amazonas, nos rios da Ilha do Marajó, e na bacia hidrográfica dos rios Araguari, Flexal, Cassiporé, Calçoene, Cunani e Uaçá no Estado do Amapá. Publicado no DOU em 6 novembro 2007.
- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA. 2008. Instrução Normativa IBAMA Nº, 204 de 22 de outubro de 2008. Estabelece normas, critérios e padrões para a exploração com finalidade ornamental e de aquarofilia de exemplares vivos de raias nativas de água continental, Família Potamotrygonidae.

- Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária - INCRA. 2013. Acervo da malha fundiária do Brasil – Terras Indígenas. Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária, 2013. Disponível em: <<http://acervofundiario.incra.gov.br/i3geo>>. Acessado em: setembro de 2019.
- Jégu M. 2003. Serrasalminae (Pacus and piranhas). Pp. 182-196. In: Reis RE, Kullander SO, Ferraris CJ Jr. (Eds). Checklist of the Freshwater Fishes of South and Central America. Porto Alegre: EDIPUCRS, Brasil.
- Jennings WB, Ruschi PA, Ferraro G, Quijada CC, Silva-Malanski ACG, Prosdocimi F, Backup PA. 2019. Barcoding the Neotropical freshwater fish fauna using a new pair of universal COI primers with a discussion of primer dimers and M13 primer tails. *Genome*, 62(2): 77–83.
- Jepsen DB. 1997. Fish species diversity in sand bank habitats of neotropical river. *Environmental Biology of Fishes*, 49: 449–460.
- Jerde CL, Mahon AR, Chadderton WL, Lodge DM. 2011. Sight-unseen detection of rare aquatic species using environmental DNA. *Conservation Letters*, 4: 150–157.
- Jézéquel C, Tedesco PA, Darwall W, Dias MS, Frederico RG, Hidalgo M, Hugueny B, Maldonado-Ocampo J, Martens K, Ortega H, Torrente-Vilara G, Zuanon JAS, Oberdorff T. 2020. Freshwater fish diversity hotspots for conservation priorities in the Amazon Basin. *Conservation Biology*, 34: 956–965.
- Junk WJ. 1973. Investigations on the ecology and of the “floating meadows” on the Middle Amazon. Part II. The aquatic fauna in the root zone of floating vegetation. *Amazoniana*, Kil, 4(1): 9–102.
- Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, Drummond A. 2012. Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28(12): 1647–1649.
- Keppeler FW, Souza AC, Hallwass G, Begossi, A, Almeida MC, Isaac VJ, Silvano RAM. 2018. Ecological influences of human population size and distance to urban centres on fish communities in tropical lakes. *Aquatic Conservation*, 28: 1030–1043.
- Kullander SO. 1983. A revision of the South American cichlid genus *Cichlasoma* (Teleostei: Cichlidae). *Naturhistoriska Riksmuseet, Stockholm*. I–IV + 1–296, Pls. 1–14.
- Lehner B, Grill G. 2013. Global river hydrography and network routing: Baseline data and new approaches to study the world’s large river systems. *Hydrological Processes*, 27: 2171–2186.
- Leite RG, Zuanon JAS. 1991. Peixes ornamentais – aspectos de comercialização, ecologia, legislação e propostas de ações para um melhor aproveitamento. Pp. 327–331. In: Val A

- L, Fighuolo R, Feldberg E (Eds.). Bases científicas para estratégias de preservação e desenvolvimento da Amazônia: fatos e perspectivas. Manaus: INPA.
- Lima FCT, Pires TH, Ohara WM, Jerep FC, Carvalho F, Marinho MM, Zuanon JAS. 2013. Characidae. In: Queiroz LJ, Torrente-Vilara G, Ohara WM, Zuanon JAS, Pires TH, Dória CRC. Peixes do Rio Madeira. São Paulo: Dialeto Latin American Documentary.
- Littmann MW, Lundberg JG, Rocha MS. 2021. Revision of the South American catfish genus *Hypophthalmus* (Siluriformes, Pimelodidae) with descriptions of two new species from the Amazon and Orinoco Basins. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 167(1): 171–223.
- Lodge DM, Turner CR, Jerde CL, Barnes MA, Chadderton L, Egan SP, Feder JL, Mahon AR, Pfrender ME. 2012. Conservation in a cup of water: estimating biodiversity and population abundance from environmental DNA. *Molecular Ecology*, 21: 2555–2558.
- Lopes PFM, Silvano RAM, Begossi A. 2011. Extractive and sustainable development reserves in Brazil: resilient alternatives to fisheries? *Journal of Environmental Planning and Management*, 54: 421–443.
- López-Fernandez H, Taphorn DC. 2004. *Geophagus abalios*, *G. dicrozoster* and *G. winemilleri* (Perciformes: Cichlidae), three new species from Venezuela. *Zootaxa*, 439: 1–27.
- Lowe-McConnell RH. 1999. Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais, São Paulo: EDUSP: 536p.
- Lundberg JG, Cox Fernandes C. 2007. A new species of South American ghost knifefish (Apteronotidae: *Adontosternarchus*) from the Amazon Basin. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 156: 27–37.
- Lundberg JG, Cox Fernandes C, Campos-da-Paz R, Sullivan JP. 2013. *Sternarchella calhamazon* n. sp., the Amazon's most abundant species of apteronotid electric fish, with a note on the taxonomic status of *Sternarchus capanemae* Steindachner, 1868 (Gymnotiformes, Apteronotidae). *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 162: 157–173.
- Machado VN, Collins RA, Ota RP, Andrade MC, Farias IP, Hrbek T. 2018. One thousand DNA barcodes of piranhas and pacus reveal geographic structure and unrecognised diversity in the Amazon. *Scientific Reports*; 8:83–87.
- Mago-Leccia F. 1994. Electric fishes of the continental waters of America. Caracas, Fundacion para el Desarrollo de las Ciencias Fisicas, Matematicas y Naturales. 1–206, 16 unnumbered tables.

- Malabarba MCSL. 2004. Revision of the neotropical genus *Triportheus* Cope, 1872 (Characiformes: Characidae). *Neotropical Ichthyology*, 2(4): 167–204.
- Mariac C, Renno J-F, Carmen Garcia-Davila, Vigouroux Y, Mejia E, Angulo C, Ruiz DC, Estivals G, Nolorbe C, Vasquez AG, Nuñez J, Cochonneau G, Flores M, Alvarado J, Vertiz J, Chota-Macuyama W, Sánchez H, Miranda G, Duponchelle F. 2021. Species-level ichthyoplankton dynamics for 97 fishes in two major river basins of the Amazon using quantitative *metabarcoding*. *Molecular Ecology*, 31(6): 1627–1648.
- Mateussi NTB, Oliveira C, Pavanelli CS. 2018. Taxonomic revision of the Cis-Andean species of *Mylossoma* Eigenmann & Kennedy, 1903 (Teleostei: Characiformes: Serrasalminidae). *Zootaxa*, 4387(2): 275–309.
- Mateussi NTB, Melo BF, Oliveira C. 2020. Molecular delimitation and taxonomic revision of the wimple piranha *Catoprion* (Characiformes: Serrasalminidae) with the description of a new species. *Journal of Fish Biology*, 97(3): 668–685.
- Mattox GMT, Souza CS, Toledo-Piza M, Oliveira C. 2021. A new miniature species of *Priocharax* (Characiformes: Characidae) from the upper rio Ipixuna, Purus drainage, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 19(2): 1–18.
- Melo BF, Benine RC, Mariguela TC, Oliveira C. 2011. A new species of *Tetragonopterus* Cuvier, 1816 (Characiformes: Characidae: Tetragonopterinae) from the rio Jari, Amapá, northern Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 9: 49–56.
- Melo BF, Oliveira C. 2017. Three new species of *Curimatopsis* (Characiformes: Curimatidae) from the Amazon basin. *Journal of Fish Biology*, 91(2): 528–544.
- Melo BF, Albert JS, Dagosta FC, Tagliacollo VA. 2021. Biogeography of curimatid fishes reveals multiple lowland–upland river transitions and differential diversification in the Neotropics (Teleostei, Curimatidae). *Ecology and Evolution*, 11: 15815–15832.
- Melo BF, Sidlauskas BL, Near TJ, Roxo FF, Ghezelayagh A, Ochoa LE, Stiassny MLJ, Arroyave J, Chang J, Faircloth BC, MacGuigan DJ, Harrington RC, Benine RC, Burns MD, Hoekzema K, Sanches NC, Maldonado-Ocampo JA, Castro RMC, Foresti F, Alfaro ME, Oliveira C. 2021. Accelerated Diversification Explains the Exceptional Species Richness of Tropical Characoid Fishes. *Systematic Biology*, 71(1):78-92.
- Melo EC. 2012. Fatores de controle dos fluxos fluviais de material em suspensão em diferentes cenários climáticos na bacia do rio Solimões. Tese de Doutorado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus.
- Mendonça MB, Wosiacki WB. 2011. A new species of *Hemigrammus* from the Lower Amazon floodplain (Characiformes: Characidae). *Copeia*, 2: 211–215.

- Menezes NA. 1992. Redefinição taxonômica das espécies de *Acestrorhynchus* do grupo *lacustris* com a descrição de uma nova espécie (Osteichthyes, Characiformes, Characidae). Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS, Série Zoologia, 5: 39–54.
- Menezes NA, de Lucena CAS. 2014. A taxonomic review of the species of *Charax* Scopoli, 1777 (Teleostei: Characidae: Characinae) with description of a new species from the rio Negro bearing superficial neuromasts on body scales, Amazon basin, Brazil. Neotropical Ichthyology, 12(2): 193–228.
- McGrath DG, Castro F, Câmara E. 1999. Community management of floodplain lakes and their role in the sustainable development of Amazonian fisheries. Pp. 59–82. In: Padoch C, Ayres M, Pinedo-Vasquez M, Henderson A (Eds). Varzea: Diversity, Development, and Conservation of Amazonia's Whitewater Floodplains (Advances in Economic Botany Vol. 13). New York Botanical Garden, New York, NY, USA.
- Ministério do Meio Ambiente - MMA. 2013. Limites Territoriais das Unidades de Conservação. Brasília: Ministério do Meio Ambiente. Disponível em: <<http://mapas.mma.gov.br/i3geo/datadownload.htm>>. Acesso em: setembro de 2019.
- Ministério do Meio Ambiente - MMA. Portaria MMA nº 148, de 07 de junho de 2022. Altera os Anexos da Portaria nº 443, de 17 de dezembro de 2014, da Portaria nº 444, de 17 de dezembro de 2014, e da Portaria nº 445, de 17 de dezembro de 2014, referentes à atualização da Lista Nacional de Espécies Ameaçadas de Extinção. Publicado no D.O.U. nº 108, de 08 de junho de 2022, Seção 1, página 74.
- Ministra de Estado do Meio Ambiente - MEMA. 2005. Instrução Normativa Nº 35 de 29 de setembro de 2005. Proíbe, anualmente, no período de 1º de outubro a 31 de março, a pesca, o transporte, a armazenagem, o beneficiamento e a comercialização do tambaqui (*Colossoma macropomum*) na bacia hidrográfica do rio Amazonas. Publicado no D.O.U., seção I de 30 de setembro de 2005.
- Ministro de Estado da Pesca e Aquicultura e Ministra de Estado do Meio Ambiente - MEPA/MEMA. 2012. Instrução Normativa Interministerial MAPA/MEMA Nº1 de 3 de janeiro de 2012. Estabelece normas, critérios e padrões para a exploração de peixes nativos ou exóticos de águas continentais com finalidade ornamental ou de aquarofilia. Publicada no D.O.U. em 4 de janeiro de 2012, seção I, nº 3, páginas 26–42.
- Morales BF, Ota RP, Silva VDP, Deus CP. 2019. Ichthyofauna from floodplain lakes of Reserva de Desenvolvimento Sustentável Piagaçu-Purus (RDS-PP), lower rio Purus. Biota Neotropica, 19(4): 1–13.
- Morales BF, Deus CPD. 2021. The role of fishery management and environmental variables

- on the fish fauna in floodplain lakes in the lower Purus River, Amazon Basin, Brazil. *Lakes e Reservoirs: Research e Management*, 26: e12385.
- Nobile AB, Freitas-Souza D, Ruiz-Ruano FJ, Nobile MLMO, Costa GO, Lima FP, Camacho JPM, Foresti F, Oliveira C. 2019. DNA *metabarcoding* of Neotropical ichthyoplankton: Enabling high accuracy with lower cost. *metabarcoding and Metagenomics*, 3: 69–76.
- Oberdorff T, Dias MS, Jézéquel C, Albert JS, Arantes CC, Bigorne R, Carvajal-Valleros FM, De Wever A, Frederico RG, Hidalgo M, Hugueny B, Leprieur F, Maldonado M, Maldonado-Ocampo J, Martens K, Ortega H, Sarmiento J, Tedesco PA, Torrente-Vilara G, Winemiller KO, Zuanon JAS. 2019. Unexpected fish diversity gradients in the Amazon basin. *Science Advances*, 5(9): eaav8681[1–9].
- Oksanen J, Blanchet F, Kindt G, Legendre R, Minchin P, O’Hara P, Simpson RB, Solymos G, Stevens P, Wagner MHH. 2013. *Vegan: Community Ecology Package*. R Package Version. 2.0-10. CRAN.
- Oliveira RR, Zuanon JAS, Zawadzki CH, Rapp Py-Daniel LH. 2015. *Ancistrus maximus*, a new species of red-dotted armored catfish from the rio Branco, Roraima State, Brazilian Amazon (Siluriformes: Loricariidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 26(1): 73–82.
- Ota RP. 2015. Revisão taxonômica e filogenia morfológica de *Metynnis* Cope, 1878 (Characiformes: Serrasalminidae). Tese de doutorado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 478p.
- Ota RP, Lima FCT, Pavanelli CSP. 2015. A new species of *Hemigrammus* Gill, 1858 (Characiformes: Characidae) from the central and western Amazon and rio Paraná-Paraguai basins. *Zootaxa*, 3948(2): 218–232.
- Ota RP, Machado VN, Andrade MC, Collins RA, Farias IP, Hrbek T. 2020. Integrative taxonomy reveals a new species of pacu (Characiformes: Serrasalminidae: *Myloplus*) from the Brazilian Amazon. *Neotropical Ichthyology*, 18(1): e190112.
- Papa Y, Le Bail P-Y, Covain R. 2022. Genetic landscape clustering of a large DNA barcoding data set reveals shared patterns of genetic divergence among freshwater fishes of the Maroni Basin. *Molecular Ecology Resources*, 00: 1–16.
- Pereira LHG, Hanner R, Foresti F, Oliveira C. 2013. Can DNA barcoding accurately discriminate megadiverse Neotropical freshwater fish fauna?. *BMC Genetics*, 14:20.
- Petrere Jr M. 1978. Pesca e esforço de pesca no estado do Amazonas. II. Locais e aparelhos de captura e estatística de desembarque. *Acta Amazonica*, 8(Supl. 2): 1–54.
- Plano de manejo da Reserva Biológica do Abufari, 2018. Volume 1. ([https://www.gov.br > Rebio-do-abufari/arquivos](https://www.gov.br/Rebio-do-abufari/arquivos))

- Queiroz HL, Crampton WGR. 1999. Estratégias para manejo dos recursos pesqueiros em Mamirauá. Brasília, DF.
- Queiroz LJ, Torrente-Vilara G, Ohara WM, Zuanon JAS, Pires TH, Dória CRC. 2013. Peixes do Rio Madeira. Vols. I-III. São Paulo: Diaeto Latin American Documentary.
- Ramirez JL, Birindelli JLO, Galetti PM Jr. 2017. A new genus of Anostomidae (Ostariophysi: Characiformes): Diversity, phylogeny and biogeography based on cytogenetic, molecular and morphological data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 107: 308–323.
- Rapp Py-Daniel LH, Deus CP. 2003. Avaliação preliminar da ictiofauna e comentários sobre a pesca no baixo Rio Purus. In: Piagaçu-Purus: Bases científicas para a criação de uma Reserva de Desenvolvimento Sustentável (C.P de Deus, R. Silveira & L.H. Rapp-Py-Daniel, eds.). Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, Tefé, Amazonas, Brasil, p.31-47.
- Rapp Py-Daniel LH, Deus CP, Ribeiro OM, Sousa LM. 2007. Peixes. In :Rapp Py-Daniel LH, Deus CP, Henriques AL, Pimpão DM, Ribeiro OM (Orgs). Biodiversidade do médio Madeira: bases científicas para propostas de conservação. Série Biodiversidade 29. Manaus, INPA, Brasília, MMA/MCT. p.89-125.
- Reis RE, Kullander SO, Ferraris Júnior CJ. 2003. Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America. Porto Alegre.
- Ribeiro FRV, Rapp Py-Daniel LH, Walsh SJ. 2017. Taxonomic revision of the South American catfish genus *Ageneiosus* (Siluriformes: Auchenipteridae) with the description of four new species. *Journal of Fish Biology*, 1–91.
- Rocha MS, de Oliveira RR, Rapp Py-Daniel LH. 2007. A new species of *Propimelodus* Lundberg & Parisi, 2002 (Siluriformes: Pimelodidae) from rio Araguaia, Mato Grosso, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 5(3): 279–284.
- Röpke CP, Ferreira EG, Zuanon JAS. 2014. Seasonal changes in the use of feeding resources by fish in stands of aquatic macrophytes in an Amazonian floodplain, Brazil. *Environmental Biology of Fishes*, 97: 401–414.
- Rössel F. 1963. Neue und seltene *Corydoras*-Arten aus Brasilien (Pisces, Teleostei, Callichthyidae). *Senckenbergiana Biologica*, 44(5): 359–363.
- Rossoni F, Ferreira E, Zuanon JAS. 2014. A pesca e o conhecimento ecológico local dos pescadores de acará-disco (*Symphysodon aequifasciatus*, Pellegrin 1904: Cichlidae) na Reserva de Desenvolvimento Sustentável Piagaçu-Purus, baixo rio Purus, Brasil. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Humanas*, 9(1): 109–128.
- Rubert M, da Rosa R, Jerep FC, Bertollo LAC, Giulianno Caetano L. 2011. Cytogenetic characterization of four species of the genus *Hypostomus* Lacépède, 1803 (Siluriformes,

- Loricariidae) with comments on its chromosomal diversity. *Comparative Cytogenetics*, 5: 397–410.
- Sabaj MH, Arce HM. 2021. Towards a complete classification of the Neotropical thorny catfishes (Siluriformes: Doradidae). *Neotropical Ichthyology*, 19(4): e210064.
- Saenz-Arroyo, A, Roberts CM, Torre J, Olvera CM. 2005. Using fishers observations and grey literature to reassess marine species at risk: the case of the Gulf grouper in the Gulf of California, Mexico. *Fish Fish*, 6: 121–133.
- Santana CD, Parenti LR, Dillman CB, Coddington JA, Bastos DA, Baldwin CC, Zuanon J, Torrente-Vilara G, Covain R, Menezes NA, Datovo A, Sado T, Miya M. 2021. The critical role of natural history museums in advancing eDNA for biodiversity studies: a case study with Amazonian fishes. *Scientific Reports*, 11(1): 18159 [1–22].
- Santos GM, Ferreira EJG, Zuanon JAS. 2009. Peixes comerciais de Manaus. Manaus: Ibama/AM, ProVárzea 2 ed. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 144p.
- Secretário de Aquicultura e Pesca do Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - SAP/MAPA. 2022. Portaria SAP/MAPA N° 1.082 de 22 de junho de 2022. Altera a Portaria n° 271, de 1° de julho de 2021, da Secretaria de Aquicultura e Pesca do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, que dispõe sobre a moratória da pesca e comercialização da espécie *Calophysus macropterus* em águas jurisdicionais brasileiras e em todo território nacional. Publicado no D.O.U. em 23 de junho de 2022, edição 117, seção 1, página 7.
- Silvano RAM, Nitschke PP, Vieira KC, Nagl P, Martínez ATR, Dutra MCF, Keppeler FW, Chuctaya JA, Oliveira HN, Andrade MC. 2020. Atlas of fish of Tapajós and Negro Rivers III: Gymnotiformes and Siluriformes. Pp. 197– 320. In: Silvano RAM (Ed.). *Fish and fisheries in the Brazilian Amazon*. Springer Nature Switzerland, Cham.
- Soares IM, Ota RP, Lima FCT, Benine RC. 2020. Redescription of *Moenkhausia melogramma* (Characiformes: Characidae), a poorly known tetra from the western Amazon basin. *Neotropical Ichthyology*, 18(3): e200025[1–17].
- Soares MGM, Freitas C, Oliveira A. 2014. Assembléias de peixes associadas aos bancos de macrófitas aquáticas em lagos manejados da Amazonia Central, Amazonas, Brasil. *Acta Amazonica*, 44: 143–152.
- Soares MGM, Junk WJ. 2000. Commercial fishery and fish culture of the State of Amazonas: status and perspectives. Pp. 433–461. In: Junk WJ, Ohly JJ, Piedade MTF, Soares MGM. (Eds.). *The central amazon floodplains: actual use and options for a sustainable management*. Backhuys Publishers, Leiden, Th e Netherlands.
- Souza ER. 2008. Filogeografia do gênero neotropical fluviphylax (cyprinodontiformes:

- poeciliidae) das bacias do Amazonas e do Orinoco. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós Graduação em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva - GCBEv, Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia - INPA.
- Souza Jr W, Waichman A, Sinisgalli P, Angelis C, Romero A. 2012. Rio Purus: águas, território e sociedade na Amazônia sul-ocidental. Goiânia: Libri Mundi, 282p.
- Stewart JD, Ibarra M, Barriga-Salazar R. 2002. Comparison of deep-river and sand-beach fish assemblages in the Napo river basin, eastern Ecuador. *Copeia*, (2): 333–343.
- Sullivan JP, Zuanon JAS, Cox Fernandes C. 2013. Two new species and a new subgenus of toothed *Brachyhypopomus* electric knifefishes (Gymnotiformes, Hypopomidae) from the central Amazon and considerations pertaining to the evolution of a monophasic electric organ discharge. *ZooKeys*, 327: 1–34.
- Tamura K, Stecher G, Kumar S. 2021 MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38:3022–3027.
- Tatusova TA, Madden TL. 1999. BLAST 2 Sequences: a new tool for comparing protein and nucleotide sequences. *FEMS Microbiology Letters*, 174(2): 247–250.
- Thompson AW, Betancur-R R, López-Fernández H, Ortí G. 2014. A time-calibrated, multi-locus phylogeny of piranhas and pacus (Characiformes: Serrasalminidae) and a comparison of species tree methods. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 81: 242–57.
- Toledo-Piza M. 2000. The neotropical fish subfamily Cynodontinae (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes): a phylogenetic study and a revision of *Cynodon* and *Rhaphiodon*. *American Museum Novitate*, 3286: 1–88.
- Tribuzy-Neto I, Beltrão H, Benzaken Z, Yamamoto K. 2021. Analysis of the ornamental fish exports from the Amazon State, Brazil. *Boletim do Instituto de Pesca*. 46p.
- Van der Laan R, Fricke R. 2022. Eschmeyer's Catalog of Fishes: Family-group names. (<http://www.calacademy.org/scientists/catalog-of-fishes-family-group-names/>). Versão eletrônica acessada em 22 de dezembro de 2022.
- Walsh SJ, Ribeiro FRV, Rapp Py-Daniel LH. 2015. Revision of *Tympanopleura* Eigenmann (Siluriformes: Auchenipteridae) with description of two new species. *Neotropical Ichthyology*, 13(1): 1–46.
- Ward RD, Zemplak TS, Innes BH, Last PR, Hebert PD. 2005. DNA barcode Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 29: 1847–1857.
- Ward RD, Hanner R, Hebert PDN. 2009. The campaign to DNA barcode all fishes, FISH-BOL. *Journal of Fish Biology*, 74: 329-356.
- Wickham H. 2016. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York.

ISBN 978-3-319-24277-4, <https://ggplot2.tidyverse.org>.

Wickham H, François R, Henry L, Müller K. 2022. dplyr: A Grammar of Data Manipulation.

<https://dplyr.tidyverse.org>, <https://github.com/tidyverse/dplyr>.

Wickham H, Girlich M. 2022. tidyr: Tidy Messy Data. <https://tidyr.tidyverse.org>,

<https://github.com/tidyverse/tidyr>.

World Wildlife Fund and The Nature Conservancy - WWF/NTC. 2018. Freshwater Ecoregions of the World. Disponível em: <<http://www.feow.org/>>. Acesso em: agosto de 2019.

Zuanon J, Bockman FA, Sazima I. 2006. A remarkable sanddwelling fish assemblage from central Amazonia, with comments on the evolution of psammophily in South American freshwater fishes. *Neotropical Ichthyology*, 4(1): 107–118.

Capítulo 2 - Monitoramento de espécies-alvo de peixes de interesse para conservação e manejo em lagos de diferentes categorias inseridos em áreas protegidas no baixo rio Purus: aplicação do DNA *barcoding* em amostras de ictioplâncton

Resumo: O ictioplâncton é constituído por ovos e larvas de peixes, e representa um grupo de fundamental importância para a compreensão da biologia e ecologia dos peixes, sendo também essenciais para a manutenção, monitoramento e administração de estoques pesqueiros, bem como o estabelecimento de medidas de gestão e sustentabilidade desses recursos. Dessa forma, o presente capítulo teve como objetivo propor o monitoramento de espécies-alvo de peixes de interesse para conservação e manejo em lagos de diferentes categorias inseridos em áreas protegidas no baixo rio Purus, por meio da aplicação da técnica de DNA *barcoding* (COI) em amostras de ictioplâncton (ovos e larvas). As amostragens de ictioplâncton resultaram em 32 amostras, destas nove não apresentaram ovos e/ou larvas. Foram registrados 285 ovos, 5.260 larvas, enquadrados em 24 morfotipos. Dentre os morfotipos, verificou-se a dominância do morfotipo M3, com 31,2% da abundância total, que foi posteriormente identificado pelo DNA *barcoding* como *Triportheus albus*; M8 (12,8%) identificado com *Schizodon fasciatus* e M21 (7,8%) identificado como *Anchoviella jamesi*, que juntos representam 51,8% das larvas coletadas. Dos 24 morfotipos de ictioplâncton, 50% foram identificados a partir da obtenção de sequências DNA *barcode* (COI) em 12 espécies, enquadradas em 10 gêneros, 9 famílias e 5 ordens. Characiformes e Siluriformes foram as ordens mais representativas, seguida por Clupeiformes e Gymnotiformes. Quanto aos enquadramentos nos critérios de elegibilidade que determinaram as espécies-alvo, as identificações dos morfotipos a partir do DNA *barcoding* propiciaram a recuperação de 8 espécies-alvo dentre as 12 identificadas. As espécies recuperadas na categoria interesse comercial (IC) foram *T. rotundatus*, *P. tigrinum*, *S. lima*, *S. fasciatus*, e *H. malabaricus* e *P. squamosissimus*. Quatro espécies foram enquadradas na categoria de interesse ornamental ou para aquarofilia (AO), sendo estas *B. brevirostris*, *T. albus*, *T. rotundatus* e *H. malabaricus*. Na categoria proteção legal (PL) foram enquadradas *T. albus*, *T. rotundatus* e *P. tigrinum*. Verificou-se que os locais de amostragem enquadrados na categoria manejo e proteção apresentaram maior riqueza de morfotipos do ictioplâncton, com destaque para o lago Caraipé (proteção), com oito morfotipos identificados no período de seca de 2021, seguido pelo lago Apuí (manejo), com quatro morfotipos identificados no período de seca de 2021, Itapuru-Mirim (proteção) e Assoalhador (proteção), ambos com três morfotipos no período de seca de 2021 e enchente de 2022 respectivamente. No período de seca na região do baixo rio Purus, houve o registro do maior número de larvas, notadamente nos lagos Apuí com 1691 indivíduos e Caraipé com 1450 indivíduos, lagos de proteção e manejo respectivamente. Ovos foram registrados em maior quantidade em outubro de 2022, principalmente nos lagos Assoalhador, Itapuru-Mirim e Mosca, ambos lagos de proteção. Ovos de peixes não foram coletados em lagos abertos, que também apresentaram as menores quantidades de larvas (2,6% do total). A maioria das larvas foi coletada em lagos de proteção (51,8%), seguido por lagos de manejo (45,5%). Portanto, ainda que restrita a 12 espécies e 24 morfotipos, a utilização do DNA *barcoding* como ferramenta para o monitoramento da diversidade de peixes de água doce amazônicos com foco na dinâmica do ictioplâncton mostrou-se efetiva e importante principalmente quando aplicada a unidades de conservação de diferentes tipologias, e com ambientes submetidos a diferentes categorias de apropriação e uso dos recursos naturais. A importância de lagos protegidos e manejados para o ictioplâncton reforçam a efetividade da escolha destes ambientes para os devidos fins de conservação e manejo.

Palavras-chave: Peixes Neotropicais, Ovos e Larvas, Categorização de Lagos, Amazônia.

Introdução

O monitoramento biológico pressupõe a conjunção de esforços científicos e institucionais para agregar o maior número possível de informações sobre as espécies presentes em uma determinada área ou região geográfica. No entanto a efetividade do monitoramento e de medidas de conservação e manejo sustentável de recursos naturais depende, além da quantidade, da qualidade da informação que é gerada por meio dos estudos científicos (Baird e Hajibabaei, 2012).

No atual cenário de constante alteração e fragmentação dos habitats por ações antropogênicas, um dos maiores desafios para conservação são as lacunas do conhecimento taxonômico e da distribuição das espécies, que formam o arcabouço informacional essencial para o desenvolvimento de estratégias para a conservação (Lewis, 2006). Tais lacunas são denominadas na biogeografia de *déficit linneano*, que representa a quantidade de espécies ainda não descobertas e descritas para que seja possível obter o número real mais provável de espécies que ainda existem; enquanto que o *déficit wallaceano* representa as lacunas de conhecimento sobre a real distribuição das espécies já descritas (Cardoso *et al.*, 2011).

Ambos os *déficits* resultam em um problema central para o planejamento de ações e estratégias de conservação, devido principalmente a incapacidade da maioria dos estudos científicos de mensurarem e diagnosticarem a biodiversidade de forma completa e detalhada pelas limitações impostas pelos métodos de amostragem tradicionais. Com base em um conjunto de informações que sabidamente possuiu tais lacunas, as inferências sobre as espécies que ocorrem em um local e os padrões de distribuição podem incorrer em erros de comissão e omissão. Quando a ocorrência de uma espécie não é descrita para um local, mesmo quando a espécie de fato ocorre neste local, incorre-se no erro da omissão; enquanto quando se descreve a ocorrência de espécie em um determinado local que ela de fato não ocorre trata-se de um erro de comissão (Löwenberg-Neto e Loyola, 2016).

Apesar de inevitável devido a magnitude de áreas, habitats e táxons a serem estudados, tais erros são em grande parte resultado do limitado conteúdo de informação de amostras biológicas processadas por taxonomia tradicional baseada na morfologia, que é um processo lento, focado em grupos restritos de organismos, com abordagem de amostragem limitada em escala local, seguido por um longo período de processamento e identificação de unidades taxonômicas amostrais, o que pode levar meses ou anos (Baird e Hajibabaei, 2012). Ainda com base nesses autores, como resultado, o monitoramento biológico é geralmente constituído por ações pontuais em áreas de maior interesse ou regiões abrangidas por programas de conservação, os resultados gerados são importantes, porém pouco flexionados

no sentido de realizar um efetivo diagnóstico ambiental das áreas monitoradas.

O monitoramento de ambientes aquáticos de água doce torna-se cada vez mais importante no contexto de acelerada degradação dos ambientes e sistemas biológicos por ações antropogênicas. Tais ambientes são particularmente vulneráveis a uma série de estressores antropogênicos, recaindo os efeitos destas perturbações sobre as comunidades aquáticas (Steffen *et al.*, 2011). Muitos bancos de dados de monitoramento biológico existentes poderiam ser facilmente enriquecido com dados adicionais, agregando-se informações adicionais sobre as espécies, como por exemplo informações genéticas baseadas em grandes conjuntos de dados que constituem o cerne da proposta do Biomonitoramento 2.0 (*sensu* Baird e Hajibabaei, 2012).

Os peixes de água doce são comunidades particularmente sensíveis às mudanças e perturbações ambientais (Brander, 2007; Dudgeon, 2010; Frederico *et al.*, 2015) e incluem muitas taxa que estão em declínio global (Bruton, 1995; Stuart *et al.*, 2004). O ictioplâncton é constituído por ovos e larvas de peixes, e representa um grupo de fundamental importância para a compreensão da biologia e ecologia dos peixes (Nakatani *et al.*, 2001). Assim, são essenciais para a manutenção, monitoramento e administração de estoques pesqueiros (Reynalte-Tataje *et al.*, 2013; Zacardi *et al.*, 2014), bem como o estabelecimento de medidas de gestão (King *et al.*, 2003; Suzuki *et al.*, 2013) e sustentabilidade desses recursos (Shuai *et al.*, 2016).

Nas fases iniciais do seu ciclo de vida, os peixes de água doce exploram uma grande variedade de ambientes, desde o rio principal e canais para uma diversidade de habitats de várzea (Humphries *et al.*, 1999; Lima e Araujo-Lima, 2004; Jimenez-Segura *et al.*, 2010; Mounic-Silva e Leite 2013), como canais, lagos, macrófitas, bem como a própria coluna d'água (Araújo-Lima e Oliveira, 1998; Zacardi *et al.*, 2014). Essas áreas de várzea fornecem às larvas uma ampla diversidade de habitats e recursos alimentares para apoiar seus desenvolvimentos (Leite e Araujo-Lima, 2002; Silva e Leite, 2013), e esses ambientes podem constituir áreas-chave de berçário para várias espécies comercialmente importantes, tanto sedentárias quanto migratórias.

Dada a sua importância para a sobrevivência e desenvolvimento dessas espécies, impactos na estrutura desses habitats podem afetar a produtividade da pesca alterando o recrutamento, abundância e, finalmente, composição e distribuição (Lopes *et al.*, 2014; Barzotto *et al.*, 2015). Vários estudos mostraram que a reprodução da fauna de peixes das várzeas é altamente sazonal (Araujo-Lima e Oliveira, 1998; Humphries *et al.*, 1999; Castro *et al.*, 2002; Humphries *et al.*, 2002; King *et al.*, 2003), coincidindo com o início da estação chuvosa e pulso de inundação, período caracterizado pela maior abundância de recursos

alimentares, o que favorece o crescimento e desenvolvimento das larvas e juvenis (Werner, 2002; Araújo-Lima e Ruffino, 2003). Isso garante a sobrevivência, e enfatiza a importância da área de estudo para o recrutamento dessas espécies.

Contudo, conforme já mencionado, os estudos de ovos e larvas de peixes são de difícil execução principalmente devido ao tamanho reduzido e fragilidade desses organismos, o que limita a percepção de suas características diagnósticas e de seu comportamento (Levin, 2006). A identificação do ictioplâncton por caracteres morfológicos na região Neotropical se torna ainda mais complexa, uma vez que as chaves de identificação disponíveis estão aquém da elevada diversidade ictiofaunística conhecida (Reis *et al.*, 2003). Isso influencia de maneira negativa a realização de pesquisas nessa área, tornando a elucidação de processos ecológicos associados a esses organismos um desafio, devido principalmente a carência de especialistas para todos os grupos de peixes e ao elevado custo para amostragens a partir de capturas diretas em áreas remotas ou de difícil acesso.

Estudos com ictioplâncton comumente são desenvolvidos para uma única espécie (ou espécies de um mesmo grupo), e têm a finalidade de usar a distribuição e a abundância dos ovos, para estimar a biomassa da população adulta com capacidade de desova (Ahlstrom e Moser, 1976). As larvas também podem ser monitoradas para fins de compreensão das flutuações na dinâmica populacional das espécies, ou, ainda, para avaliar os recursos pesqueiros em geral e estimar o potencial de renovação e manutenção dos estoques (Nakatani *et al.*, 2001), sendo necessário o desenvolvimento e emprego de novas abordagens metodológicas para ampliar e facilitar a geração de conhecimento científico para as aplicações supracitadas.

Entretanto, os estudos são espacialmente concentrados em poucas localidades, como nas bacias do Amazonas (Araújo-Lima e Oliveira, 1998; Lima e Araujo-Lima, 2004), do Paraná (Baumgartner *et al.*, 1997; Baumgartner *et al.*, 2004; Reynalte-Tataje *et al.*, 2011; Reynalte-Tataje, 2013), do São Francisco (Souza, 2013) e no Pantanal (Severi, 1997). Por outro lado, as pesquisas frequentemente associam a ocorrência das larvas de peixes à atividade reprodutiva dos adultos (Sanchez *et al.*, 2006; Godinho *et al.*, 2010; Suzuki e Pompeu, 2016), correlacionando diferentes padrões de desova com as espécies de ambientes lênticos ou lóticos. Uma conclusão comum dessas pesquisas é que o período de cheias dos rios é o que mais favorece a sobrevivência das larvas (Lowe-McConnell, 1999; Agostinho *et al.*, 2004).

A insuficiência, em algumas áreas, de estudos dos aspectos biológicos, populacionais e ecológicos, sem considerar todas as fases do ciclo de vida de muitas das espécies, acabam por comprometer a precisão nas propostas de planos de manejo, podendo colocar em risco a

sustentabilidade da pesca e conservação destes recursos pesqueiros. Além disso, há uma carência de dados para subsidiar estimativas sobre a manutenção do equilíbrio destes estoques, que dependem da integridade das áreas de desova e do conhecimento sobre a distribuição e dispersão dos ovos e larvas de peixes, que de acordo com Nakatani (1994), constitui-se em dados importantes na racionalização do aproveitamento dos recursos hídricos. Essas informações são valiosas na tomada de medidas efetivas de proteção e manutenção dos estoques pesqueiros (Zacardi *et al.*, 2014).

O período de enchente dos rios amazônicos é fundamental para a atividade reprodutiva de muitas espécies de peixes, principalmente dos Characiformes e Siluriformes (Araújo-Lima, 1984). Nesta fase do ciclo hidrológico, muitas espécies deslocam-se dos tributários até a calha dos rios principais para desovarem. Um modelo bem conhecido de reprodução dos peixes migradores é proposto por Goulding (1980), no qual os peixes saem anualmente dos lagos, igarapés e rios de águas pobres para desovarem em ambientes considerados ricos em nutrientes. Diversos autores como Leite e Araújo-Lima (2002), Leite *et al.* (2006), Mounic-Silva e Leite (2013) comentam que as áreas marginais dos rios de águas brancas, que são alagadas periodicamente pelo pulso de inundação garantem melhores condições de crescimento e aumentam a probabilidade de sobrevivência das espécies.

Embora os rios sejam favoráveis ao desenvolvimento de larvas de peixes, principalmente o rio Amazonas que é muito produtivo, no seu canal principal não há produção biológica suficiente para o sustento das larvas (Fisher, 1978; Forsberg, 1985). Por essa razão, é raro encontrar larvas de Characiformes em atividade alimentar na calha do rio Amazonas (Leite, 2000). Enquanto as larvas possuem o saco vitelínico, elas são conduzidas pelas águas dos rios no seu canal principal até atingirem as áreas de inundação onde adquirem seu primeiro alimento exógeno (Leite e Araújo-Lima, 2002).

Baseado nesse cenário, destaca-se a importância de estudos relacionados ao ictioplâncton, que agregam dados valiosos para o conhecimento da biologia reprodutiva dos peixes (Hempel, 1973), pois podem fornecer o conhecimento de áreas e período reprodutivo preferenciais, possíveis rotas migratórias e sucesso no recrutamento (Baumgartner *et al.*, 2004; Bialezki *et al.*, 2005; Reynalte-Tataje *et al.*, 2011). Essas informações são extremamente importantes para monitoramento ecológico, análises de impactos ambientais e desenvolvimento de planos de conservação e manejo.

A abordagem de DNA *barcoding* usando o método de sequenciamento Sanger pode ser muito útil para identificar amostras de ictioplâncton em nível específico, desde haja abrangência e confiabilidade nas sequências depositadas nos bancos de dados genéticos. No Brasil, são exemplos de estudos para identificação de ictioplâncton a partir do DNA

barcoding para a bacia do alto rio Paraná (Becker *et al.*, 2015) e São Francisco (Almeida *et al.*, 2018) para a região Neotropical. A abordagem de DNA *barcoding* é usada principalmente para documentar/caracterizar a diversidade de espécies no ecossistema e pode ter uma cobertura melhor para identificar táxons raros dentro de um ecossistema (Taberlet *et al.*, 2012). Nesse contexto, uma abordagem alternativa à métodos de pesquisa tradicionais baseados em captura é o uso do DNA *barcoding* para estimar a diversidade de peixes de um determinado local ou região.

Apesar de que qualquer parte do genoma poder ser usada para delimitar as espécies, certas características como taxa de mutação (taxa de evolução molecular), disponibilidade de *primers* universais, sequências curtas com sinal filogenético suficiente e disponibilidade de banco de dados taxonômico abrangentes, são algumas das características importantes a considerar antes de selecionar um fragmento de DNA para estudos moleculares (Pavan-Kumar *et al.*, 2015). Diante disso surgiu o DNA *barcoding* que é a representação de uma determinada espécie por uma região de cerca de 650 pb gene citocromo mitocondrial citocromo oxidase subunidade I (COI) foi definida como padrão para animais (Hebert *et al.*, 2003). O DNA *barcoding* utiliza genes taxonomicamente informativos para delimitar espécies e designar genes barcodes para os distintos grupos de seres vivos. Essa abordagem resultou na criação de enormes bancos de dados de referência que incluem detalhes taxonômicos das espécies junto de sequências de DNA *barcoding*, sendo as principais o GenBank (Benson *et al.*, 2013) e o BOLD (Ratnasingham e Hebert, 2007). Esses bancos de dados de sequências de genes de referência são úteis na atribuição de táxon a uma amostra desconhecida comparando a similaridade de sequências de gene do DNA *barcoding* da amostra com banco de dados de referência.

Diante disso o presente capítulo propõe o monitoramento de espécies-alvo de peixes de interesse para conservação e manejo em lagos de diferentes categorias inseridos em áreas protegidas no baixo rio Purus, por meio da aplicação da técnica de DNA *barcoding* em amostras de ictioplâncton (ovos e larvas) coletadas nos pontos fixos de amostragem do Programa Ecológico de Longa Duração (PELD) - Diva.

Material e métodos

Amostragens de material biológico

Para as amostragens de ictioplâncton, foram utilizadas rede de plâncton do tipo cônico-cilíndrica, com malha de 0,5 mm e área da boca de rede de 0,1104 m². Em cada local de coleta, a rede foi mantida à superfície da água em arrasto horizontal por aproximadamente 10 minutos em dois períodos do dia, em consonância com os horários de revista dos

conjuntos de rede de espera simples. O material obtido em cada amostragem de ictioplâncton foi filtrado em malha de 0,5 mm e imediatamente acondicionado em álcool 96%, armazenado em recipiente isotérmico com gelo e transportado para o do Laboratório de Biologia e Genética de Peixes – UNESP/Botucatu. Em laboratório, o material foi triado em estereomicroscópio, separado em ovos e larvas de peixes, morfotipados e fotografados. Em seguida os materiais foram reintroduzidos em solução de álcool 96% até a aplicação dos protocolos moleculares para obtenção de fragmentos do gene COI.

Quando as características diagnósticas puderam ser visualizadas, os morfotipos foram classificados quanto ao estágio larval e identificados até o menor nível taxonômico possível com base em Nascimento e Araujo-Lima (1993), Nakatani *et al.* (2001); Zacardi *et al.* (2017), Oliveira *et al.* (2022), Cajado *et al.* (2021) e Cajado *et al.* (2023).

Extração, amplificação e sequenciamento do DNA

A extração do DNA total das amostras foi realizada a partir de representantes de larvas ou ovos de cada morfotipo, preservado em álcool 96%, com o kit Wizard® Genomic DNA Purification (Promega, EUA), segundo as instruções do fabricante e o protocolo proposto por Ivanova *et al.* (2006), e adotado para tecidos de peixes por Nobile *et al.* (2019). As sequências parciais do gene mitocondrial Citocromo oxidase subunidade I (COI) foram amplificadas por reação em cadeia polimerase (PCR) com dois conjuntos de *primers* (Quadro 1).

Quadro 1. Conjuntos de *primers* utilizados para amplificação e sequenciamento do gene mitocondrial Citocromo oxidase subunidade I (COI) das espécies de peixes coletadas em áreas protegidas do baixo rio Purus, Estado do Amazonas.

Conjunto	Identificação	Sequências	Descrição
1	FISH-F1	5'-CA ACC AAC CAC AAA GAC ATT GGC AC-3'	Ward <i>et al.</i> (2005)
	FISH R1	5'-TAG ACT TCT GGG TGG CCA AAG AAT CA-'	Ward <i>et al.</i> (2005)
2	FISH-F6	5'-CY AAY CAC AAA GAY ATT GGC A-'	Jennings <i>et al.</i> (2019)
	FISH-R7	5'-AR ACT TCT GGR TGD CCR AAG AAY CA-'	Jennings <i>et al.</i> (2019)

As reações foram realizadas em um volume de reação de 12,5 µL por amostra, contendo 1,25 µL de 10× PCR buffer, 0,50 µL MgCl₂ (50 mM), 0,50 µL dNTPs (2 mM), 0,25 µL de cada *primer* F(foward) e R(reverse) (10 mM), 0,20 µL de PHT Taq DNA polimerase (Phoneutria Biotecnologia e Serviços Ltda, Brasil; 5 U/µl), 2 µL de DNA (50ng a 100ng) e 7,55 µL de ddH₂O. A reação de PCR consistiu em uma desnaturação inicial (3 min a 95°C),

seguida por 30 ciclos de desnaturação da cadeia (20 s a 94°C), hibridização do *primer* (45 s a 52°C ou 45 s a 50°C), extensão do nucleotídeo (1 min a 68°C), e uma extensão final (7 min a 68°C). Todos os produtos de PCR foram visualizados em gel de agarose a 1% para verificação da amplificação do produto em forma de banda através de um corante revelado em transiluminador (Griffiths et al., 2016) e purificados com ExoSap-IT (USB Corporation) seguindo as instruções do manual. O produto purificado de PCR foi submetido a reação de sequenciamento por meio do kit Big Dye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Applied Biosystems, Austins, USA), sendo purificado por precipitação em EDTA/Acetato de sódio/etanol e analisado em sequenciador de DNA automático, modelo ABI 3130-Genetic Analyzer (Applied Biosystems) no Instituto de Biotecnologia - IBTEC, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, campus de Botucatu, SP.

Análise de dados

As sequências *Forward* e *Reverse* de DNA *barcoding* obtidas para cada morfotipo do ictioplâncton foram editadas e submetidas a função “*Align/Assemble → De Novo Assemble*” para obtenção do consenso no programa Geneious 7.1.4 (Kearse et al., 2012) e verificação da presença de inserções, deleções e/ou códons de parada (stop codons). Com o intuito de identificar os morfotipos sequenciados a partir da DNA *barcoding*, cada uma das sequências consenso foi comparada com o banco de dados das sequências DNA *barcode* das espécies de peixes do trecho baixo do rio Purus apresentado no Capítulo 1. Para tal comparação, as sequências de todas as espécies de peixes e todas as sequências referentes aos morfotipos de ictioplâncton foram alinhadas usando-se o editor MUSCLE acoplado ao *software* MEGA v. 11.0.3 (Tamura et al., 2021). Ainda no *software* MEGA foram calculadas, par a par, as distâncias genéticas dos morfotipos com as espécies pela ferramenta “*Compute pairwise distances*” e construídos dendrogramas baseados no método de Neighbor-Joining (NJ) para se obter uma representação gráfica do padrão de distribuição da divergência genética pelo modelo Kimura-2-parâmetros (K2P), com base 1000 repetições por meio do método *bootstrap*. Pares formados por morfotipos e espécies que apresentaram valores de distância genética (K2P) menores que 2% (Ward et al., 2005) foram objeto de análise e discussão, com foco na identificação das espécies pela menor distância genética possível entre cada morfotipo e a espécie candidata para servir de base para identificação.

As amostras de ictioplâncton, por sua vez, serão utilizadas para verificar a presença/ausência de espécies-alvo e inferir sobre a presença destas espécies em estágios de vida que indiquem atividade reprodutiva (ovos e larvas), por meio de sua identificação pela

técnica do DNA *barcoding*. Com informações sobre presença/ausência e identificação de tais espécies nos estágios de ovos e larvas, será possível avaliar se a escolha do nível de proteção e manejo dos lagos corrobora os respectivos objetivos de conservação que definiram as categorias (proteção, manejo ou uso), e entender se as espécies estão usando os lagos para fins de reprodução.

Para avaliar a eficiência do mecanismo de escolha dos lagos para os múltiplos fins (proteção, manejo ou exploração “abertos”) as informações sobre presença/ausência das espécies-alvo em estágios de desenvolvimento reprodutivo (ovos e larvas) nas diferentes categorias de lagos foram obtidas por meio do alinhamento das sequências obtidas pela técnica de DNA *barcoding* da ictiofauna e do ictioplâncton. Os alinhamentos obtidos (espécies identificadas) com o cruzamento das sequências de DNA *barcoding* obtidas indicam que as espécies se encontram nas fases de desenvolvimento de ovos e larvas, ou seja, a espécie está se reproduzindo no ambiente amostrado.

Com bases nas espécies identificadas pelo alinhamento das sequências de DNA *barcoding* será possível confirmar se as espécie-alvo estão utilizando os lagos de várzea para a reprodução e em qual a categoria de uso dos lagos os ovos e larvas cada uma das espécies-alvo foram identificadas. Essas informações representarão um importante subsídio para a tomada de decisão sobre a manutenção (validação da escolha) ou proposta de alteração da categoria do lago (recategorização), na RDS-PP em que tal condição é suportada pela categoria de unidade de conservação.

Resultados

As amostragens de ictioplâncton resultaram em 32 amostras, referentes a quatro períodos hidrológicos (duas secas e duas enchentes) nos oito locais fixos de amostragem. Destas amostras, nove não apresentaram ovos e/ou larvas. No total foram registrados 285 ovos, 5.260 larvas, enquadrados em 24 morfotipos (Figura 1). Dentre os morfotipos larvais, verificou-se a dominância do morfotipos M3 (31,2%) e M8 (12,8%) e M21 (7,8%), que representam 51,8% das larvas coletadas. O morfotipo M22 foi o único morfotipo de ovo fotografado devido a problemas no microscópio estereoscópico digital com câmera acoplada do laboratório.

Dos 24 morfotipos de ictioplâncton, 50% foi identificado a partir da obtenção de sequências de fragmentos do gene COI obtidas por meio de sequenciamento de Sanger, utilizando-se como métrica para tomada de decisão os menores valores de distância genética e o posicionamento na espécie no dendrograma, que indicassem elevada similaridade com determinada espécie (Tabela 2, Material Suplementar 3). Os componentes do ictioplâncton

identificados pertencem a 12 espécies, enquadradas em 10 gêneros, nove famílias e cinco ordens (Figura 2). Characiformes e Siluriformes foram as ordens mais representativas, com cinco e três morfotipos identificados a nível de espécie respectivamente. Em seguida, Clupeiformes com 2 morfotipos, e Gymnotiformes e Perciformes com um único morfotipo identificado pela técnica de DNA barcoding.

Quanto aos enquadramentos nos critérios de elegibilidade que determinaram as espécies-alvo (ver Material e Métodos do Capítulo 1), as identificações dos morfotipos a partir do DNA barcoding propiciaram a recuperação de oito espécies-alvo dentre as 12 identificadas. As espécies recuperadas na categoria interesse comercial (IC) foram *Triportheus rotundatus*, *Pseudoplatystoma tigrinum*, *Sorubim lima*, *Schizodon fasciatus*, e *Hoplias malabaricus*, e *Plagioscion squamosissimus*. Quatro espécies foram enquadradas nas categorias interesse ornamental ou para aquariofilia (AO), sendo estas *Brachyhypopomus brevirostris*, *Triportheus albus*, *Triportheus rotundatus*, e *Hoplias malabaricus*. Na categoria proteção legal (PL) foram enquadradas: *Triportheus albus*, *Triportheus rotundatus* e *Pseudoplatystoma tigrinum*.



Figura 1. Morfotipos de ictioplâncton amostrados na RDS-PP e Rebio Abufari entre os anos de 2020 e 2022 nos locais fixos de amostragem (M: Morfotipo).

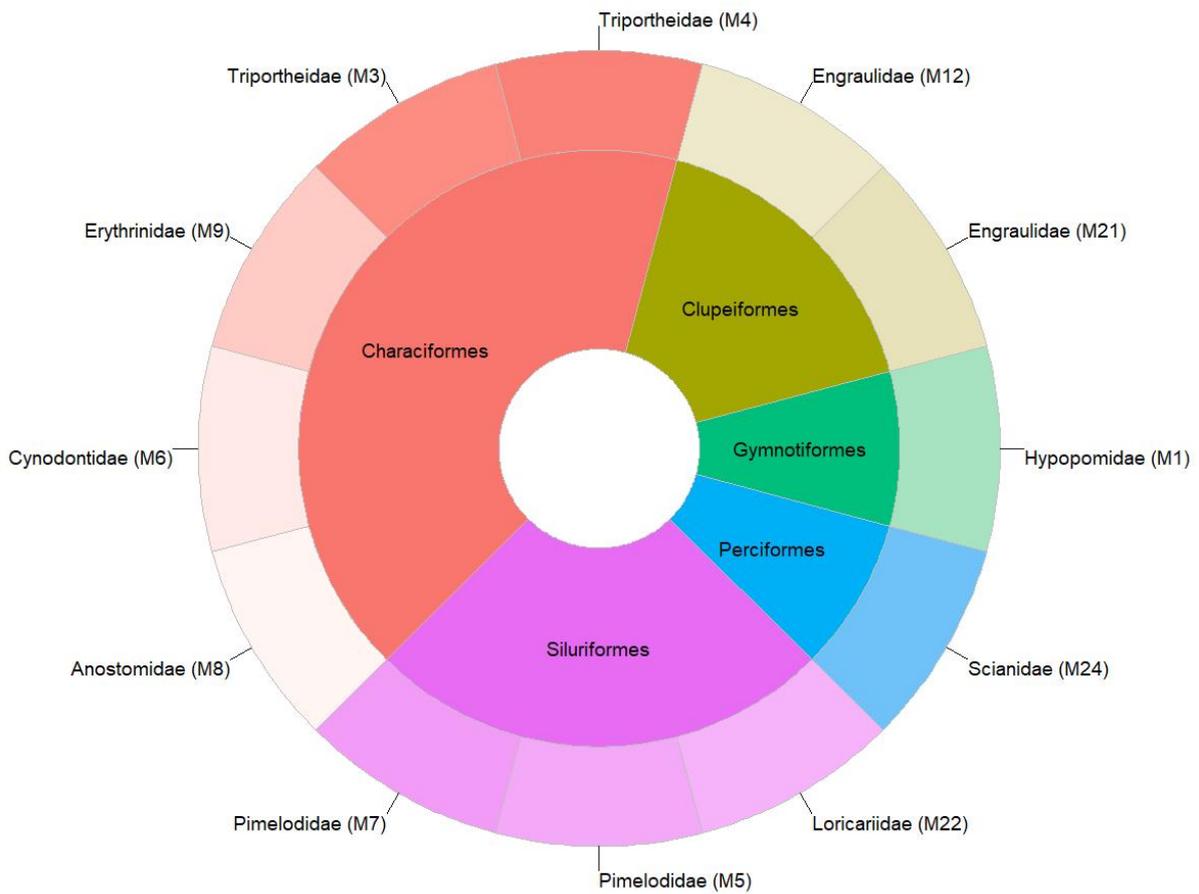


Figura 2. Gráfico do tipo PieDonut com ordens e famílias de larvas e ovos de peixes neotropicais identificadas nos locais de coleta fixos da RDS-PP e Rebio Abufari, com representação de ordens (área Pie do gráfico) e famílias com respectivo morfotipo identificado por ordem (área donut do gráfico).

Tabela 2. Lista dos morfotipos de ictioplâncton, com descrição do estágio ontogenético, identificação proposta com base em caracteres morfológicos, identificação molecular com base na comparação das sequências obtidas com a base de dados (ver Resultados, Capítulo 1), espécies de peixes capturadas na Reserva de Desenvolvimento Sustentável Piagaçu-Purus (RDS-PP) e Reserva Biológica de Abufari (Rebio Abufari), e distância genética com base no método Kimura-2-parâmetros (K2P), obtido a partir de 1000 repetições pelo método Bootstrap. ECE: Enquadramento quanto aos critérios de elegibilidade: Restrição Legal: PLA - Portaria IBAMA nº 48 de 05 de novembro de 2007; ; Importância Econômica: IC - Santos et al., (2009); Importância para aquariorfilia ou uso ornamental: AO - Instrução Normativa Interministerial MAPA/MMA N°1 de 3 de janeiro de 2012. Os dendrogramas representativos dos valores de distância genética entre os morfotipos e as espécies definidas pela identificação molecular são apresentados no Material Suplementar 3.

Morfotipo	Estágio ontogenético	Identificação morfológica	Identificação molecular	Distância genética	ECE
M1	Pré-flexão	Gymnotiformes	<i>Brachyhyopomus brevirostris</i> (Steindachner 1868)	0,00%	AO
M2	Pré-flexão	?	-		
M3	Pós-flexão	<i>Triportheus albus</i>	<i>Triportheus albus</i> Cope 1872	0,00%	PLA; AO
M4	Juvenil	<i>Triportheus angulatus</i>	<i>Triportheus rotundatus</i> (Jardine 1841)	0,00%	PLA; AO; IC
M5	Larval vitelino	Siluriformes	<i>Pseudoplatystoma tigrinum</i> (Valenciennes 1840)	0,00%	PLA; IC
M6	Pós-flexão	<i>Raphiodon vulpinus</i>	<i>Raphiodon vulpinus</i> Spix e Agassiz 1829	0,00%	
M7	Pré-flexão	<i>Sorubim sp.</i>	<i>Sorubim lima</i> (Bloch e Schneider 1801)	0,00%	IC
M8	Pós-flexão	<i>Schizodon sp.</i>	<i>Schizodon fasciatus</i> Spix e Agassiz 1829	0,00%	IC
M9	Pós-flexão	<i>Hoplias malabaricus</i>	<i>Hoplias malabaricus</i> (Bloch 1794)	0,00%	AO; IC
M10	Pré-flexão	?	-		
M11	Pré-flexão	?	-		
M12	Pós-flexão	<i>Anchoviella sp.</i>	<i>Anchoviella juruasanga</i> Loeb 2012	0,00%	
M13	Flexão	?	-		
M14	Flexão	?	-		
M15	Pré-flexão	?	-		
M16	Pré-flexão	?	-		
M17	Flexão	?	-		
M18	Larval vitelino	?	-		
M19	Flexão	?	-		
M20	Flexão	?	-		
M21	Flexão	Engraulidae	<i>Anchoviella jamesi</i> (Jordan e Seale 1926)	0,00%	
M22	Ovo - Embrião final	<i>Loricariichthys sp.</i>	<i>Loricariichthys nudirostris</i> (Valenciennes 1840) <i>Loricaria cataphracta</i> Linnaeus 1758	0,00% 0,34%	
M23	Larval vitelino	<i>Hypoclinemus mentalis</i>	-		
M24	Flexão	<i>Plagioscion sp.</i>	<i>Plagioscion squamosissimus</i> (Heckel 1840) <i>Plagioscion montei</i> Soares e Casatti 2000	0,00% 0,00%	IC

Dos 12 morfotipos em que foi possível a identificação a nível específico pela técnica molecular do DNA barcoding, duas situações merecem destaque por terem gerado duas espécies candidatas a identificação. Nos demais casos obteve-se apenas uma espécie candidata pelos critérios de tomada de decisão adotados (Tabela 3).

Pela identificação molecular do morfotipo 22, identificado morfológicamente como *Loricariichthys* sp., foram recuperados baixos valores de similaridade com *Loricariichthys nudirostris* (0%) e *Loricaria cataphracta* (0,34%), gerando, portanto, duas espécies candidatas a identificação. O morfotipo 24, identificado pelos caracteres morfológicos como *Plagioscion* sp. obteve elevada similaridade de sua sequência de DNA barcode com *Plagioscion squamosissimus* e *P. montei*, ambas com 0% de distância genética, o que gerou também a possibilidade de identificação em duas espécies.

Quanto a distribuição dos morfotipos por unidade amostral (lago) e período de coleta (mês/ano), verificou-se que os locais de amostragem enquadrados na categoria manejo e proteção apresentaram maior riqueza de morfotipos do ictioplâncton, com destaque para o lago Caraipé (proteção) com oito morfotipos identificados no período de seca de 2021, seguido pelo lago Apuí (manejo) com quatro morfotipos identificados no período de seca de 2021, Itapuru-Mirim (proteção) e Assoalhador (proteção) ambos com três morfotipos no períodos de seca de 2021 e enchente de 2022 respectivamente.

Dentre as 23 amostras que continham ictioplâncton (ovos e/ou larvas), nenhum morfotipo larval foi identificado pela técnica de DNA barcoding em dez amostras, enquanto em 11 amostras 100% dos morfotipos foram identificados pela técnica molecular. Em duas amostras houve recuperação parcial, com 75% e 66,7% dos morfotipos identificados pelo DNA barcoding.

Salienta-se que todas as amostras de lagos abertos não tiveram os morfotipos recuperados pela comparação das sequências com o banco de dados de espécies de peixes. Nos lagos de proteção, em cerca de 70% das amostragem obtidas foi possível identificar todos os morfotipos, enquanto que em lagos de manejo a recuperação integral ocorreu em 50% das amostras (Tabela 3).

Tabela 3. Relação de espécies identificadas (recuperadas) por amostras de ictioplâncton pela técnica de DNA barcoding, a partir dos morfotipos de ovos e larvas coletadas no baixo rio Purus, área de influência da RDS Piagaçu-Purus e Rebio Abufaria. Também são apresentadas informações sobre abundância do ictioplâncton, período e local de coleta, categoria do lago e nome da unidade de conservação, além da porcentagem de espécies recuperadas pelo DNA barcoding por amostra.

UC	Categoria	Lago	Coleta	Abundância de larvas	Morfotipo(s) identificado(s)	Espécie(s) recuperada (s)	% de espécies recuperadas
RDS-PP	Aberto	Peauzinho	Fev/2022	1	M10	M10	0%
RDS-PP	Aberto	Xaviana	Fev/2020	17	M19	M19	0%
RDS-PP	Aberto	Xaviana	Fev/2022	1	M13	M13	0%
RDS-PP	Aberto	Xaviana	Out/2021	121	M17; M20	M17; M20	0%
RDS-PP	Manejo	Apuí	Fev/2020	24	M14	M14	0%
RDS-PP	Manejo	Apuí	Fev/2022	138	M15; M16	M15; M16	0%
RDS-PP	Manejo	Apuí	Out/2021	1699	M3; M4; M24; M18	<i>Triportheus albus</i> ; <i>Triportheus rotundatus</i> ; <i>Plagioscion squamosissimus</i> / <i>Plagioscion montei</i> ; M18	75%
RDS-PP	Manejo	Apuí	Out/2022	153	M3; M4	<i>Triportheus albus</i> ; <i>Triportheus rotundatus</i>	100%
RDS-PP	Manejo	Tendalzinho	Out/2021	260	M3	<i>Triportheus albus</i>	100%
RDS-PP	Manejo	Tendalzinho	Out/2022	120	M4	<i>Triportheus rotundatus</i>	100%
RDS-PP	Proteção	Caraipé	Fev/2020	25	M2	M2	0%
RDS-PP	Proteção	Caraipé	Out/2021	1450	M1; M3; M4; M5; M6, M7; M8; M9	<i>Brachyhypopomus brevirostris</i> ; <i>Triportheus albus</i> ; <i>Triportheus rotundatus</i> ; <i>Pseudoplatystoma tigrinum</i> ; <i>Raphiodon vulpinus</i> , <i>Sorubim lima</i> ; <i>Schizodon fasciatus</i> ; <i>Hoplias malabaricus</i>	100%
RDS-PP	Proteção	Itapuru-Mirim	Fev/2020	21	M15; M16	M15; M16	0%
RDS-PP	Proteção	Itapuru-Mirim	Out/2021	197	M12; M21; M23	<i>Anchoviella juruasanga</i> : <i>Anchoviella jamesi</i> ; M23	66,70%
RDS-PP	Proteção	Itapuru-Mirim	Out/2022	143	M12	<i>Anchoviella juruasanga</i>	100%
REBIO ABUFARI	Proteção	Assolhador	Fev/2020	53	M13; M14	M13; M14	0%
REBIO ABUFARI	Proteção	Assolhador	Fev/2022	137	M10; M11; M13	M10; M11; M13	0%
REBIO ABUFARI	Proteção	Assolhador	Out/2021	202	M8; M21	<i>Schizodon fasciatus</i> ; <i>Anchoviella jamesi</i>	100%
REBIO ABUFARI	Proteção	Assolhador	Out/2022	91 + 101 ovos	M21; M22	<i>Anchoviella jamesi</i> ; <i>Loricariichthys nudirostris</i> / <i>Loricaria cataphracta</i>	100%
REBIO ABUFARI	Proteção	Mosca	Fev/2020	1	M8	<i>Schizodon fasciatus</i>	100%
REBIO ABUFARI	Proteção	Mosca	Fev/2022	29	M8	<i>Schizodon fasciatus</i>	100%
REBIO ABUFARI	Proteção	Mosca	Out/2021	268	M4	<i>Triportheus rotundatus</i>	100%
REBIO ABUFARI	Proteção	Mosca	Out/2022	109	M3	<i>Triportheus albus</i>	100%

No período de outubro de 2021, que representa a estação de seca na região do baixo rio Purus, houve o registro do maior número de larvas, notadamente nos lagos Apuí com 1691 indivíduos e Caraipé com 1450 indivíduos (Figura 3), lagos de proteção e manejo respectivamente. Ainda que em menor quantidade, outros lagos de proteção e manejo também apresentaram número relevante de larvas, com destaque para os lagos Itapuru-Mirim e Mosca nos períodos de seca e Assoalhados em ambos os períodos avaliados (seca e enchente). Na categoria manejo o lago Tendalzinho apresentou valores relevantes de abundância de larvas no período de seca enquanto no lago Apuí esses valores foram registrados no período de seca e enchente.

Ovos foram registrados em maior quantidade em outubro de 2022, principalmente nos lagos Assoalhador (n=101), Itapuru-Mirim (n=46) e Mosca (n=42), ambos lagos de proteção (Figura 9). Ovos de peixes não foram coletados em lagos abertos, que também apresentaram as menores quantidades de larvas (2,6% do total), tendo sido obtidas apenas 3 amostras de ictioplâncton para essa categoria de lago. A maioria das larvas foi coletada em lagos de proteção (51,8%) seguido por lagos de manejo (45,5%).

Pelos resultados obtidos, tendo como base as amostragens realizadas é possível afirmar, que o período de seca representa um momento importante para as potenciais espécies de peixes representados pelos ovos e larvas obtidos, assim como a existência de algum tipo de regulação do uso, seja o manejo ou a proteção dos lagos.

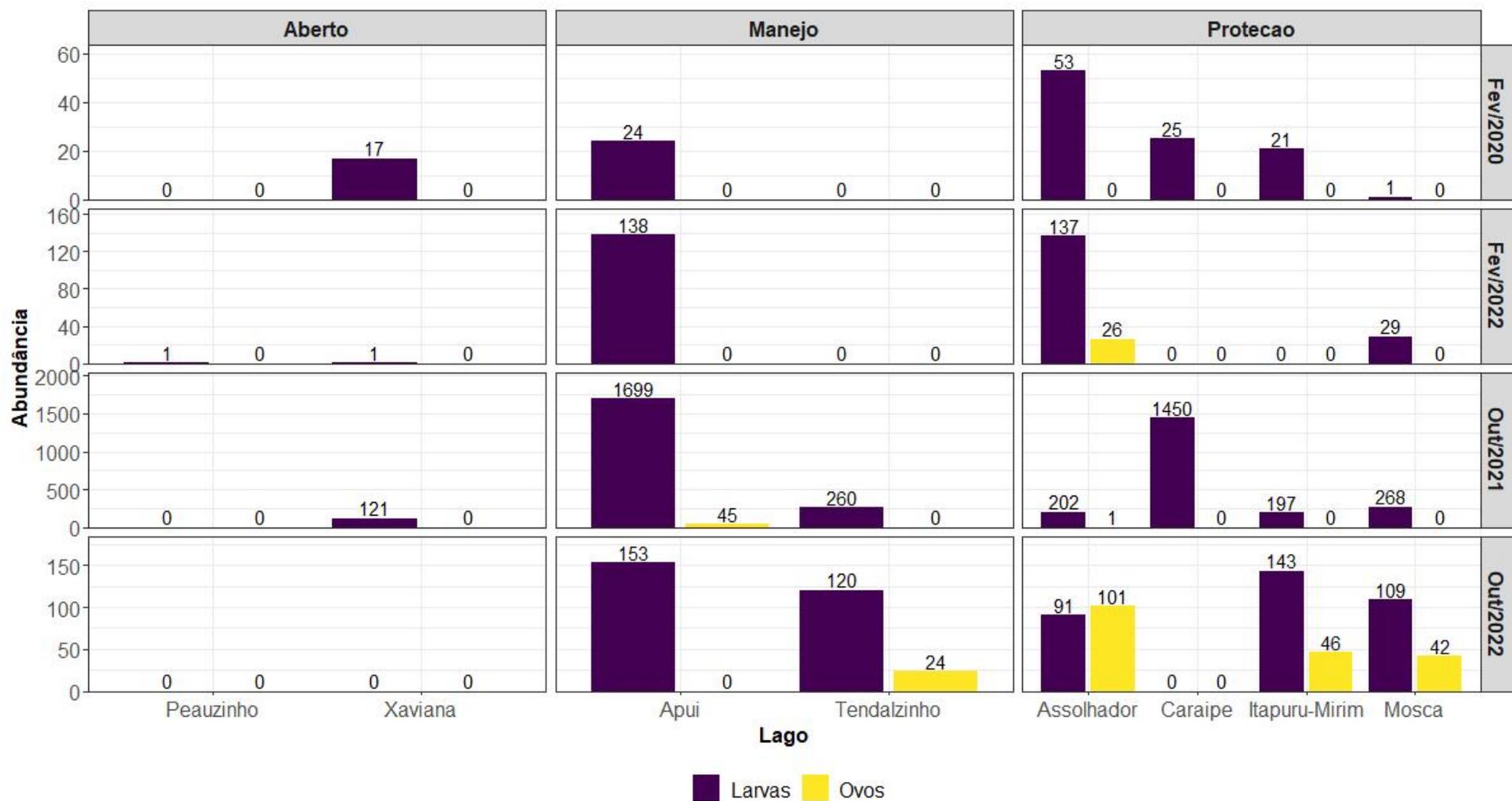


Figura 3. Abundância de ovos e larvas de peixes coletados na RDS-PP e Rebio Abufari entre os anos de 2020 e 2022 nos locais fixos de amostragem, distribuídos por evento de coleta e por categoria de uso/apropriação dos recursos naturais

As 23 amostras de ictioplâncton em que foram identificadas a presença de ovos e/ou larvas de peixes serviram de base para montagem de *pools* para futuras análises por meio da técnica de DNA metabarcoding. Os *pools* foram compostos pela distribuição igualitária dos morfotipos (ovos e/ou larvas) identificados por amostras, sendo todos os *pools* de um mesmo lago e período do ano clones hipotéticos. Com base na abundância de larvas e no comprimento dos morfotipos, o número de pools por local/período variou de 1 a 23. Foram montados 112 pools de larvas no total e destes 65 foram selecionados para as análises futuras de *metabarcoding* com seleção aleatória de no máximo quatro pools por local/período (Figura 4) nos casos em que o número de *pools* excedeu este valor.

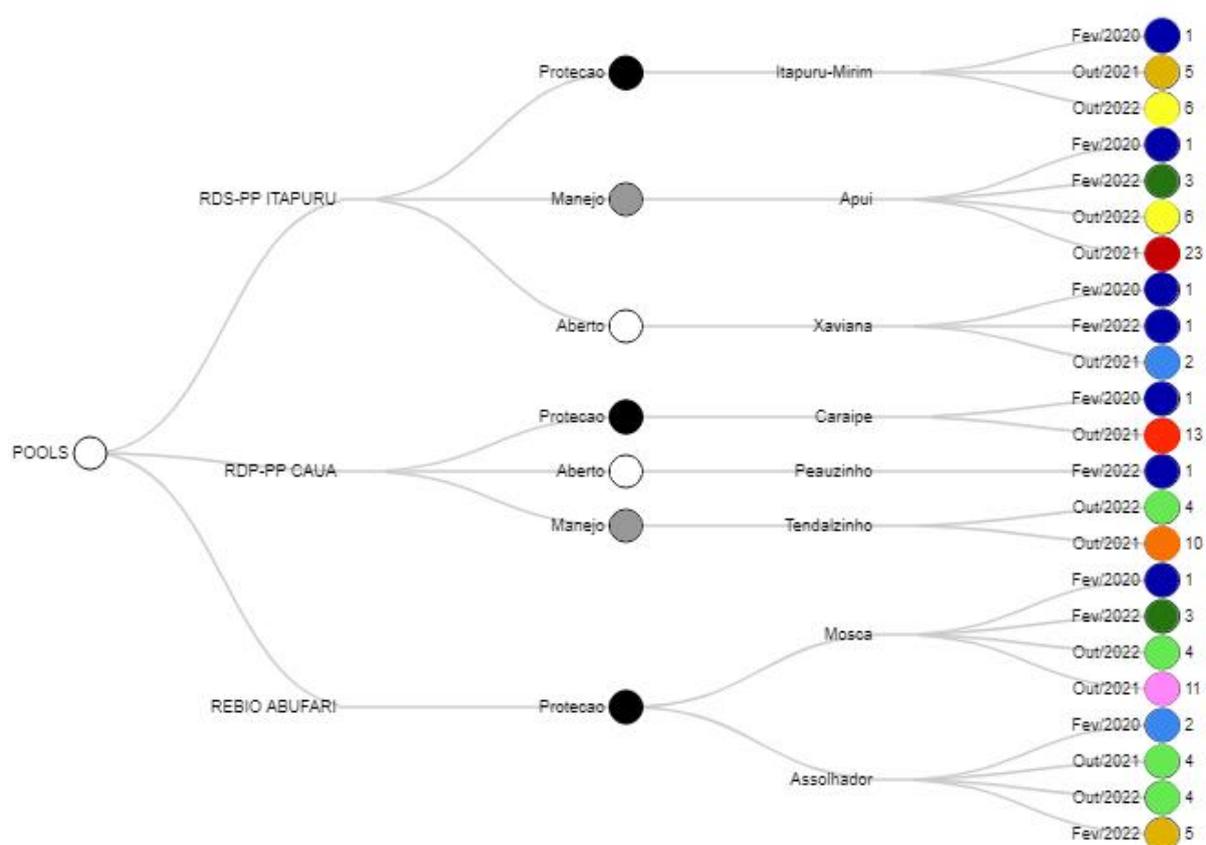


Figura 4. Número de pools de larvas de peixes coletados na RDS-PP e Rebio Abufari entre os anos de 2020 e 2022 nos locais fixos de amostragem, distribuídos por evento de coleta, por categoria de uso/apropriação dos recursos naturais e por Unidade de Conservação.

No total, foram obtidos 16 *pools* de ovos de peixes e todos foram selecionados para as análises moleculares, pois ocorreram em quantidade menor ou igual a quatro (Tabela 4). Portanto os procedimentos para análise de metabarcoding recairão sobre 81 pools em números totais.

Tabela 4. Número de *pools* de ovos de peixes coletados na RDS-PP e Rebio Abufari entre os anos de 2020 e 2022 nos locais fixos de amostragem, distribuídos por evento de coleta, por categoria de uso/apropriação dos recursos naturais e por Unidade de Conservação.

UC	Categoria	Lago	Coleta	Nº de <i>pools</i> de ovos
RDP-PP	Manejo	Tendalzinho	Out/2022	2
RDS-PP	Manejo	Apuí	Out/2021	3
RDS-PP	Proteção	Itapuru-Mirim	Out/2022	2
Rebio Abufari	Proteção	Assolhador	Fev/2022	2
Rebio Abufari	Proteção	Assolhador	Out/2021	1
Rebio Abufari	Proteção	Assolhador	Out/2022	4
Rebio Abufari	Proteção	Mosca	Out/2022	2

Discussão

Na região Neotropical, o principal obstáculo para estudos sobre a composição taxonômica das comunidades ictioplanctônicas é a identificação de ovos e larvas de peixes coletados em ambiente natural (Nakatani *et al.*, 2001; Bialezki *et al.*, 2008; Zacardi *et al.*, 2014), principalmente em nível taxonômico de espécie. Segundo Zacardi (2009), isto deve-se a descrições incompletas e dispersas, incongruências taxonômicas, dificuldade para identificar as formas adultas de alguns grupos e grande similaridade morfológica nos primeiros estágios de desenvolvimento das larvas, o que gera limitações na identificação de áreas de recrutamento. A carência dessas informações contribui para lacunas de conhecimento necessários a propostas de manejo sustentável de pesca e a proposição de estratégias de conservação (Mariac *et al.*, 2021). Considerando-se a limitação técnicas da abordagem tradicional de estudo do ictioplâncton baseada na captura e identificação a partir de características morfológicas de larvas e ovos de peixes de água doce, a identificação de larvas por meio da obtenção de sequências DNA *barcode* usando sequenciamento Sanger individual constitui uma alternativa bastante efetiva. Dessa forma, o presente estudo limitou-se a separar as larvas coletadas em morfotipos quando possível identificá-las pela morfologia, visto que a proposta central é a identificação em menor nível taxonômico a partir da técnica de DNA *barcoding*, tendo como referência o banco de dados obtido pelo sequenciamento do DNA *barcode* dos exemplares adultos e juvenis das espécies de peixes coletados.

O morfotipo M3, que apresentou maior abundância considerando todas as amostragens foi identificado por meio da técnica de DNA *barcoding* como *Triporthus albus*. Os outros dois morfotipos com maior participação em abundância M8 e M21 foram identificados pelo método molecular como *Schizodon fasciatus* e *Anchoviella jamesi*

respectivamente.

O gênero *Triportheus* Cope 1872 é exclusivamente Neotropical, composto por espécies de pequeno e médio porte, sendo distinguidos principalmente por ter o corpo comprimido lateralmente, coracoides expandidos formando uma quilha ântero-ventral proeminente e nadadeiras peitorais alongadas (Malabarba, 2004; Sleen e Albert, 2018). As espécies desse gênero apresentam hábito alimentar onívoro e adaptabilidade a vários ambientes, até lagos com baixa concentração de oxigênio (García-Dávila e outros, 2018; Pereira e Castro, 2014).

Triportheus forma cardumes que se deslocam em direção aos rios de águas brancas para efetuar a desova durante o período de maior nível fluviométrico (Ferreira *et al.*, 1998), contribuindo com elevado número de indivíduos recém-eclodidos derivando na calha dos rios de águas brancas no período de enchente e baixos valores de abundância nos períodos subsequentes (Araújo-Lima *et al.*, 2001), além disso são utilizados como fonte de alimento na pesca comercial e de subsistência das comunidades tradicionais (Ferreira *et al.*, 1998; Doria e Queiroz, 2008). Apesar desta importância socioeconômica, apenas alguns trabalhos estudaram a ecologia larval e o desenvolvimento inicial de espécies deste gênero (*e.g.* Cajado *et al.*, 2021; Ponte *et al.*, 2016).

Em áreas de várzea da Amazônia Central, na área de influência da Reserva de desenvolvimento Sustentável Mamirauá, a elevada densidade de larvas de *Triportheus* no período de enchente e cheia, verificada por Ponte *et al.* (2016), pode estar relacionada com a estratégia reprodutiva destas espécies, já que a maioria das espécies da ordem Characiformes deslocam-se dos diversos lagos e tributários até a calha dos rios principais, durante o período de enchente, para efetuarem a desova (Araújo-Lima *et al.*, 2001). Neste período do ciclo hidrológico, as condições ambientais são favoráveis ao desenvolvimento inicial do ciclo de vida destes peixes, uma vez que há formação de novos habitats e maior disponibilidade de alimentos (Leite *et al.*, 2006; Mounic-Silva & Leite, 2013), sendo favoráveis ao desenvolvimento larval até a fase juvenil. Ponte *et al.* (2016) também verificaram maior presença de larvas de *Triportheus* em lagos de várzea e nas margens, estando esse padrão condicionado às condições favoráveis que essas áreas oferecem ao seu desenvolvimento inicial.

Mariac *et al.* (2021) verificaram também na bacia amazônica, para os rios Marañon e Ucayali, que apesar da maioria das espécies seguirem o padrão de desova descrito para a bacia amazônica sincronizado com o período de águas altas (Lowe-McConnell, 1987; Vazzoler e Menezes, 1992), uma proporção considerável realizou a desova no período de vazante. Segundo os mesmos autores *Triportheus albus* tem um comportamento reprodutivo

associado aos períodos de vazante e águas baixas. Segundo os mesmos autores *Schizodon fasciatus* apresenta padrão reprodutivo sincronizado com águas baixas e enchente, sendo as inferências para estas duas espécies concordantes com os resultados encontrados pelo presente estudo no baixo rio Purus, áreas de influências da RDS Piagaçu-Purus e Rebio Abufari.

Com base na identificação morfológica, Mendonça (2011), registrou a presença de larvas de *Pseudoplatystoma tigrinum*, *Plagioscion* sp. e *P. squamosissimus*, *Rhaphiodon vulpinus*, *Triportheus* spp. e *Schizodon fasciatus* no período de enchente (entre novembro de 2009 e fevereiro de 2010), no interflúvio Madeira-Solimões.

Em ambientes de várzea da Amazônia Central, Bittencourt (2017), detectou a partir da identificação baseada em caracteres morfológicos, a presença de larvas de *Anchoviella* sp. *Triportheus albus*, *Rhaphiodon vulpinus*, *Hoplias malabaricus*, e *Triportheus angulatus* no período de enchente. Larvas de *Plagioscion* sp. foram detectadas pela autora durante todo o ciclo hidrológico. Tais espécies foram recuperadas pela técnica de DNA barcoding nas amostras de ictioplâncton obtidas na área de amostragem do presente estudo, que está inserida no trecho baixo do rio Purus próximo ao interflúvio Purus-Solimões, que apresenta elevada similaridade ictiofaunística com as áreas de estudo dos trabalhos supracitados.

A maioria das larvas do trecho baixo do rio Purus foi amostrada no período de águas baixas (seca), resultado discrepante dos padrões descritos pela maior parte dos estudos, que documentam uma estreita relação reprodutiva das espécies amazônicas com os períodos de inundação (enchente e cheia), no entanto condizente para algumas espécies com outros estudos (e.g. Bittencourt, 2017; Mariac *et al* 2021).

Os resultados aqui apresentados são referentes a uma área de elevada produtividade pesqueira, principalmente devido ao papel das várzeas na riqueza e abundância de espécies, pouco estudada em termos de dinâmica espacial e sazonal do ictioplâncton. Dessa forma os padrões, apesar de discrepantes da maior parte do que é documentado na literatura, merecem ser considerados, visto que uma das vertentes pouca estudadas dos estudos relacionados ao ictioplâncton é a velocidade com que as espécies podem reagir a variações hidrológicas inesperadas.

Dependendo das estratégias reprodutivas (desova única, múltipla ou contínua) as espécies de peixes podem ser capazes de manter o processo de maturação gonadal (recrudescência e vitelogênese) por algumas semanas e retomá-lo quando as condições ambientais adequadas estiverem de volta (Mariac *et al.* 2021). Quando o nível dos rios da Amazônia sobe sem interrupções bruscas, denominadas localmente como “repique” os peixes migradores de pequeno a médio porte entram em atividade reprodutiva. Uma

sequência de eventos acontece com a subida do nível das águas dos rios dentre elas o aumento na oferta de alimentos para as larvas e juvenis iniciais dos peixes (Junk, 1973), podendo servir como gatilho reprodutivo para determinadas espécies. Portanto a identificação de ocorrência de repiquete em todas as coletas do período de seca (águas baixas), indica uma potencial explicação a diferença entre os padrões reprodutivos. Além disso os dados de que uma proporção considerável das espécies amazônicas não sincroniza sua atividade de forrageamento, ao período de inundação, sugere que os comportamentos e padrões reprodutivos podem ser mais complexos e amplamente distribuídos ao longo do ciclo hidrológico do que a descrições existentes tratam, refletindo na necessidade de maior número de estudos com técnicas altamente resolutivas como o DNA metabarcoding pelo sequenciamento de nova geração NGS.

A utilização de DNA metabarcoding tem aumentado de forma expressiva, com cerca de 80 trabalhos publicados na última década, muitos destes estudos ressaltando a dificuldade de obter uma identificação precisa do material coletado (Lira et al., 2022), principalmente devido a problemas com a enquadramento taxonômico de algumas espécies referentes a sequencias em bases de dados genéticos e baixa qualidade de algumas sequências depositadas. Alguns destes estudos utilizaram a mesma abordagem de DNA metabarcoding para identificação de amostras de ictioplâncton (Nobile et al., 2019; Mariac et al., 2021), com elevada porcentagem de recuperação de espécies e inclusão de abordagem quantitativa, porém com sequências de DNA barcoding de referência extraídas de banco de dados genéticos Genbank e/ou BOLD. O presente estudo apresenta uma abordagem diferente dos demais por construir uma biblioteca genômica de DNA barcoding de referência para as espécies do baixo rio Purus, garantindo dessa forma a possibilidade de verificação dos vouchers e materiais testemunho e se necessário revisões taxonômicas.

O presente estudo consolida os resultados de um banco de dados robusto e representativo das espécies de região amostrada, tornando possível estudos futuros com a técnica de DNA metabarcoding do ictioplâncton, considerando que todas as amostras coletadas estão conservadas em álcool 96% e disponíveis para análises moleculares (Capítulo 1).

Com base nas características morfológicas gerais dos morfotipos e identificações baseadas nas sequências DNA barcode, foram confirmados os padrões verificado para ictioplâncton na Amazônia Central, com dominância de Characiformes, Clupeiformes e Perciformes (Araujo-Lima e Oliveira, 1998; Lima e Araujo-Lima, 2004), bem como o encontrado no baixo Amazonas perto de Santarém (Zacardi et al., 2017), onde Characiformes, Clupeiformes e Siluriformes dominaram o ictioplâncton.

Com base em Cajado et al. (2021), sugeriu-se que o morfotipos M3 e M4 foram inicialmente identificados como espécies do gênero *Triportheus* em estágio inicial de pré-flexão e juvenil e tal proposta foi confirmada pela técnica molecular. A maior abundância dos morfotipos M3, M18 e M21, notadamente no lago Apuí e Caraipé reforça a importância ecológica e conservacionista da categoria de proteção, sendo estes locais importantes área para recrutamento de estoque de algumas espécies. Pelos dados de abundância de ovos e larvas evidencia-se que a escolha dos ambientes para imposição de restrições quanto ao uso/apropriação dos recursos naturais (leia-se proteção e manejo) está alinhado com o comportamento reprodutivo de algumas espécies, condição corroborada pela baixa abundância e ausência de ovos em lagos abertos, que pode figurar com ambientes adversos a reprodução das espécies de peixes da região devido a intensa exploração e alteração de habitats em períodos de pesca.

No caso dos morfotipos M22 e M24, cujas comparações das sequências DNA barcode com as sequências dos bancos de dados resultaram em duas possíveis espécies, foi constatada a incapacidade da ferramenta molecular de discriminar qual espécie de fato representa cada um dos morfotipos. Tal condição pauta-se na verificação de baixos valores de distância genética entre indivíduos adultos dos pares de espécies “*Loricariichthys nudirostris* e *Loricaria cataphracta* (0,3%)” e “*Plagioscion squamosissimus* e *P. montei* (0,8%)” (Tabela 3, Capítulo 1). No caso de indivíduos adultos, apesar dos valores que demonstram uma alta similaridade genética entre esses pares espécies, os caracteres morfológicos diagnósticos foram suficientes para distingui-las. No que diz respeito as larvas, como a diferenciação mostrou-se impraticável, os resultados moleculares deixam em aberto uma proposta única de identificação a nível de espécie. Em particular, esses dois casos demonstram que apesar de conclusiva na maioria das situações, a identificação por técnicas moleculares carece que uma análise pormenorizada caso a caso, com base em todas os dados disponíveis para que proposta de identificação em nível específico não seja tendenciada.

Do ponto de vista da utilização comercial e para subsistência, a identificação do morfotipo 24 como *P. squamosissimus* ou *P. montei* é indiferente, apesar de apenas *P. squamosissimus* constar na literatura como importante do ponto de vista comercial (Santos et al. 2009). Pela ótica não científica tais espécies são facilmente confundidas e as características que as distinguem não são determinantes para optar pelo uso de uma em detrimento de outra.

No caso do morfotipo 22, a identificação da espécie com bases nos resultados do DNA barcoding em *L. nudirostris* ou *L. cataphracta* não geram nenhum prejuízo aos resultados e discussões do presente estudo, pois ambas não são enquadradas nos critérios de

elegibilidade que definem as espécies-alvo (IBAMA, 2007, Santos *et al.*, 2009, MEPA/MEMA, 2012). Portanto, as identificações moleculares de todos os morfotipos, particularmente de M22 e M24, não geraram qualquer tipo de prejuízo para as inferências aqui apresentadas.

A identificação total (100% de morfotipos recuperados) ou parcial (75% ou 66,7% de recuperação) dos morfotipos por meio da técnica molecular de DNA barcoding em 54,2% das amostras de ictioplâncton demonstra o potencial dessa técnica para fins de conhecimento das espécies que realizam reprodução nos diferentes locais e ambientes. Ressalta-se que apesar da eficiência, essa técnica pressupõe um grande esforço, principalmente no que tange aos procedimentos metodológicos para obtenção das sequências individuais em laboratório.

No que diz respeito as espécies-alvo (definidas no Capítulo 1), foi observada uma relevante participação destas nas amostras de ictioplâncton, representando cerca de 67% das espécies identificadas, o que demonstra a importância da região do baixo rio Purus para a reprodução e o recrutamento de espécies relevantes do ponto de vista socioambiental. Tais fatores respaldam a necessidade desse tipo de abordagem par afins de implementação/manutenção de medidas de conservação tendo como foco central o papel dos recursos pesqueiros na dinâmica ecológica e da sobrevivência e desenvolvimento das populações tradicionais e fortalecimento de arranjos produtivos locais.

A identificação de espécies de interesse comercial, de interesse para uso ornamental ou para aquariofilia e que possuem algum tipo de restrição legal para captura apenas em lagos de proteção e manejo demonstra claramente o resultado das intervenções realizadas nesses locais como mecanismo precursor e/ou facilitar do mecanismo de reprodução; enquanto que a ausência destas espécies nos lagos abertos (onde a pesca é permitida), as intervenções antrópicas decorrentes da utilização do ambiente para fins comerciais ou de subsistência pode causar alterações nas características limnológicas ou estruturais dos habitats, tornando estes ambientes restritivos para o desencadeamento das estratégias e desenvolvimento reprodutivo de algumas espécies.

Portanto, ainda que restrita a 12 espécies e 24 morfotipos, a utilização do DNA barcoding como ferramenta para o monitoramento da diversidade de peixes de água doce amazônicos com foco na dinâmica do ictioplâncton mostra-se efetiva e importante, principalmente quando aplicada a unidades de conservação de diferentes tipologias e com ambientes submetidos a diferentes categorias de apropriação e uso dos recursos naturais. A importância dos lagos protegidos e manejados para a ictiofauna, espécies-alvo e espécies exclusivas demonstrada no Capítulo 1, somado aos resultados obtidos por meio das ictioplâncton reforçam a efetividade da escolha destes ambientes para os devidos fins de

conservação e manejo. Complementarmente à categorização dos ambientes, deve ser ressaltada a importância das iniciativas e esforços locais (comunidades tradicionais) e institucionais (órgãos de fiscalização e controle) para efetivação espacial e temporal das categorias de lagos de manejo e proteção. A efetividade do processo de escolha da categoria dos lagos verificado por Morales *et al.* (2021) para a RDS-Piagaçu-Purus, tradicionalmente pautado no conhecimento tradicional (experiência dos pescadores locais) sobre a dinâmica e ecologia dos ambientes aquáticos e questões logísticas e operacionais que interferem nas formas de uso dos recursos pesqueiros, deve estar alinhada com ações de gestão e decisões administrativas para que perdurem e gerem benefícios socioambientais. No caso da Rebio Abufari, a categorização da reserva como proteção integral (SNUC, 2000) que pressupõe a proteção integral dos ambientes não descarta a necessidade da avaliação da efetividade dos ambientes protegidos.

Pelos resultados obtidos nesse estudo, a categorização dos lagos para fins de proteção e manejo demonstra efetividade segundo os critérios discutidos para ictiofauna e ictioplâncton. Nossa proposta é que a categorização dos lagos em proteção e manejo sejam mantidas no caso da RDS Piagaçu-Purus, da mesma forma que foi validada a categoria proteção na Rebio Abufari pois lagos abrangidos nessas categorias representam importantes áreas para a sobrevivência, crescimento e reprodução das espécies de peixes de água doce (residentes ou migradoras) que utilizam os habitats e recursos da região do baixo rio Purus nas diferentes fases do seu ciclo de vida.

A partir dos resultados aqui apresentados, propomos que os lagos abertos sejam submetidos a um sistema de alternância de categoria (rodízio) para que se estabeleçam as condições necessárias a presença de um maior número de espécies, com foco no aumento da abundância e riqueza de espécies-alvo, e reestabelecimentos das estratégias reprodutivas das espécies nesses locais. A proposta de alternância pauta-se na transição temporária da categorização do lago de “aberto” para “proteção” por no mínimo dois ciclos hidrológicos completos, acompanhado do monitoramento. Situações similares a esta proposta estão sendo executadas de forma prática e informal nos lagos da RDS Piagaçu-Purus e monitoradas experimentalmente pelo PELD-Diva, no entanto com insuficiência de ciclos hidrológicos continuados dos lagos em diferentes categorias para obtenção de resultados passíveis de análise e discussão.

Além dos pontos levantados pelo presente estudo, propõe-se que a importância das espécies que utilizam os locais amostrados para a reprodução poderá ser ampliada e discutida de forma mais aprofundada com os resultados das comparações das sequências obtidas pela técnica de DNA metabarcoding dos 81 pools de ovos e larvas com o banco de dados de DNA

barcoding.

Considerações finais

Por meio dos resultados foi verificado que a relação entre os padrões reprodutivos das espécies de peixes de planícies de inundação amazônicas e o ciclo sazonal podem ser mais complexos do que o que está documentado e descrito, e não obrigatoriamente associados aos períodos de inundação (águas altas). Foi possível identificar que o período de seca representa um importante momento reprodutivo para diversas espécies de interesse para conservação e manejo (espécies-alvo).

A categorização dos lagos mostrou-se efetiva para os lagos de proteção e manejo, pois representam áreas que agregam condições favoráveis a presença de ovos e larvas, principalmente de espécies-alvo. Propõe-se a manutenção dos lagos nas categorias proteção e manejo devido a importância desses ambientes para espécies-alvo de peixes e para a dinâmica do ictioplâncton.

Ações de manejo devem incluir, além do emblemático pirarucu *Arapaima gigas* (Schinz 1822), outras espécies de interesse comercial ou ornamental, propiciando assim o desenvolvimento das populações tradicionais a partir da consolidação de arranjos produtivos e da cadeia logística para tais atividades. A implementação de ações de manejo focadas também em outras espécies importantes socioecologicamente deve ser precedida e embasada por estudos científicos e decisões de gestão orientadas por decisões participativas.

Os lagos abertos representam ambientes restritivos para a presença de formas larvais e ovos de peixes no trecho do baixo rio Purus, área de influência da RDS Piagaçu-Purus e da Rebio Abufari, sendo proposta a alternância temporária da categoria aberto para proteção para o reestabelecimento das condições necessárias a sobrevivência, crescimento e reprodução das espécies, com foco na manutenção das populações de espécies de interesse para conservação e manejo (espécies-alvo).

Referências bibliográficas

- Agostinho AA, Thomaz SM, Gomes LC. 2004. Threats for biodiversity in the floodplain of the Upper Paraná River: effects of hydrological regulation by dams. *Ecohydrology e Hydrobiology*, 4(3): 255–256.
- Ahlstrom EH, Moser HG. 1976. Eggs and larvae of fishes and their role in systematic investigations in fisheries. *Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes*, 40(3–4): 379–398.

- Almeida FS, Frantine-Silva W, Lima SC, Garcia DAZ, Orsi ML. 2018. DNA barcoding as a useful tool for identifying non-native species of freshwater ichthyoplankton in the neotropics. *Hydrobiologia*, 817(1):111–119.
- Araújo-Lima CARM. 1984. Distribuição espacial e temporal de larvas de Characiformes em um setor do rio Solimões/Amazonas próximo a Manaus, AM. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas, 84p.
- Araújo-Lima CARM, Oliveira EC. 1998. Transport of larval fish in the Amazon. *Journal of Fish Biology*, 53(supl. A): 297–306.
- Araújo-Lima CARM, Ruffino ML. 2003. Migratory fishes of the Brazilian Amazon. Pp. 233–301. In: Carolsfield J, Harvey B, Ross C. Carolsfield J, Harvey B, Ross C, Baer A. (Ed). *Migratory fishes of South America: Biology, Fisheries and Conservation Status*. IDRC/World Bank, Canada.
- Araújo-Lima CARM, Silva JVV, Petry P, Oliveira EC, Moura SML. 2001. Diel variation of larval fish abundance in the Amazon and Rio Negro, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 61(3): 357-362.
- Baird DJ, HAJIBABAEI M. 2012. Biomonitoring 2.0: a new paradigm in ecosystem assessment made possible by next-generation DNA sequencing. *Molecular Ecology*, 21: 2039–2044.
- Barzotto E, Sanches PV, Bialezki A, Orvati L, Gomes LC. 2015. Larvae of migratory fish (Teleostei: Ostariophysi) in the lotic remnant of the Paraná River in Brazil. *Zoologia*, 32(4): 270–280.
- Baumgartner G, Nakatani K, Cavicchioli M, Baumgartner MST. 1997. Some Aspects of the Ecology of Fish Larvae in the floodplain of the high Paraná river, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 14(3): 551–563.
- Baumgartner G, Nakatani K, Gomes L, Bialezki A, Sanches P. 2004. Identification of spawning sites and natural nurseries of fishes in the upper Paraná River, Brazil. *Environmental Biology of Fishes*, 71: 115–125.
- Becker RA, Sales NG, Santos GM, Santos GB, Carvalho DC. 2015. DNA barcoding and morphological identification of neotropical ichthyoplankton from the Upper Paraná and São Francisco. *Journal of Fish Biology*, 87(1): 159–168.
- Benson DA, Cavanaugh M, Clark K, Karsch-Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J, Sayers EW. 2013. GenBank. *Nucleic Acids Research*, 41: 36–42.
- Bialezki A, Nakatani K, Sanches PV, Baumgartner G, Gomes LC. 2005. Larval fish assemblage in the Baía River (Mato Grosso do Sul State, Brazil): temporal and spatial

- patterns. *Environmental Biology of Fishes*, 73: 37–47.
- Bialezki A, Nakatani K, Sanches PV, Baumgartner G, Makrakis MC, Taguti TL. 2008. Desenvolvimento inicial de *Hoplias* aff. *malabaricus* (Bloch, 1794) (Osteichthyes, Erythrinidae) da planície alagável do alto rio Paraná, Brasil. *Acta Scientiarum, Biological Sciences*, 30: 141–149.
- Bittencourt GC. 2017. Comportamento diário de larvas de peixes em ambientes de várzea da Amazônia Central. Trabalho de Conclusão do Curso de Oceanografia, Instituto de Geociências, Universidade Federal do Pará.
- Brander K. 2007. Global Fish Production and Climate Change. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(50): 19709–19714.
- Britzke R, Oliveira C, Kullander SO. 2014. *Apistogramma ortegai* (Teleostei: Cichlidae), a new species of cichlid fish from the Ampyiacu River in the Peruvian Amazon basin. *Zootaxa*, 3869(4): 409–419.
- Bruton MN. 1995. Have fishes had their chips—the dilemma of threatened fishes. *Environmental Biology of Fishes*, 43: 1–27.
- Cajado RA, de Oliveira LS, da Silva FKS, Zacardi DM. 2021. Early development of the Neotropical fish known as long sardine *Triporthesus auritus* (Valenciennes 1850) (Characiformes, Triporthesidae). *Journal of Applied Ichthyology*, 1–11.
- Cajado RA, Silva FKS, Oliveira LS, Santos Z, Bialezki A, Zacardi DM. 2023. Early life history of two Neotropical Triporthesidae fish (Characiformes). *Neotropical Ichthyology*, 21(1):e220102.
- Cardoso P, Erwin TL, Borges PAV, New TR. 2011. The seven impediments in invertebrate conservation and how to overcome them. *Biological Conservation*, 144: 2647-2655.
- Castro RJ, Nakatani K, Bialezki A, Sanches PV, Baumgartner G. 2002. Temporal distribution and composition of the ichthyoplankton from Leopoldo's Inlet on the upper Paraná River floodplain (Brazil). *Journal of Zoology*, 256: 437–443.
- Costa GO. 2021. Aprimoramento de protocolo de DNA *metabarcoding* para aplicação na identificação de áreas prioritárias à conservação da ictiofauna do rio Mogi-Guaçu .Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu-SP.
- Dagosta FCP, de Pinna M. 2017. Biogeography of Amazonian fishes: deconstructing river basins as biogeographic units. *Neotropical Ichthyology*, 15(3): e170034 [1-24].
- Doria CRC, Queiroz LJ. 2008. A pesca comercial das sardinhas (*Triporthesus* spp.) desembarcadas no mercado pesqueiro de Porto Velho, Rondônia (1990-2004): Produção pesqueira e perfil geral. *Revista Biotemas*, 21(3): 99-106.

- Dudgeon D. 2010. Prospects for sustaining freshwater biodiversity in the 21st century: linking ecosystem structure and function. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 2: 422–430.
- Edgar RC. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32(5): 1792–1797.
- Edgar RC. 2010. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*, 26(19): 2460–2461.
- Esteves FA. 1988. *Fundamentos de Limnologia*. Rio de Janeiro: Editora Interciência. 574p.
- Fernandes C, Podos J, Lundberg JG. 2004. Amazonian Ecology: Tributaries Enhance the Diversity of Electric Fishes. *Science*, 305: 1960–1962.
- Ferreira EJG; Zuanon JAS, Santos GM. 1998. *Peixes comerciais do Médio Amazonas: região de Santarém, Pará*. Ibama, Brasília.
- Fisher TR. 1978. Plâncton e produção primária em sistemas aquáticos da bacia Amazônica Central. *Acta Amazonica*, 8: 43–54.
- Forsberg BR. 1985. The fate of planktonic primary production. *Limnology and Oceanography*, 30(4): 807–819.
- Frederico RG, Olden JD, Zuanon JAS. 2016. Climate change sensitivity of threatened, and largely unprotected, Amazonian fishes. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 26(Suppl. 1): 91–102.
- García-Dávila C, Sánchez H, Flores M, Mejía J, Ângulo C, Castro-Ruiz D, Estivals G, García A, Vargas G, Nolorbe C, Núñez J, Mariac C, Duponchelle F, Renno JF. 2018. *Peces de consumo de la Amazonía Peruana*. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP).
- Godinho AL, Lamas IR, Godinho HP. 2010. Reproductive ecology of Brazilian freshwater fishes. *Environmental Biology of Fishes*, 87(2): 143–162.
- Goulding M. 1980. *The fishes and the forest*. University of California Press, Los Angeles, USA. 200p.
- Green MR, Sambrook J. 2012. Isolation and quantification of DNA. Pp. 64–65. In: Green MR, Sambrook J (Eds). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Ed 4. New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Griffiths AJF, Wessler SR, Carroll SB, Doebley J. 2016. *Introdução à genética*. Rio de Janeiro- RJ: Ed. Guanabara Koogan, 11ed. 755p.
- Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR. 2003. Biological identifications through DNA barcodings. *Proceedings of the Royal Society: Biological Sciences*, 270(1512): 313–321.

- Hempel G. 1973. On the use of ichthyoplankton surveys. FAO Fisheries Technical Paper. Rome, 122: 1–2.
- Humphries P, Serafini LG, King AJ. 2002. River regulation and fish larvae: variation through space and time. *Freshwater Biology*, 4: 1307–1331.
- Ivanova NV, Dewaard JR, Hebert PDN. 2006. An inexpensive, automation-friendly protocol for recovering high-quality DNA. *Molecular Ecology Notes*, 6: 998–1002.
- Jennings WB, Ruschi PA, Ferraro G, Quijada CC, Silva-Malanski ACG, Prosdocimi F, Buckup PA. 2019. Barcoding the Neotropical freshwater fish fauna using a new pair of universal COI primers with a discussion of primer dimers and M13 primer tails. *Genome*, 62(2): 77–83.
- Jimenez-Segura L, Palacio J, Leite RG. 2010. River flooding and reproduction of migratory fish species in the Magdalena river basin, Colombia. *Ecology Freshwater Fish*, 19: 178–186.
- Junk WJ. 1973. Investigations on the ecology and of the “floating meadows” on the Middle Amazon. Part II. The aquatic fauna in the root zone of floating vegetation. *Amazoniana*, 4(1): 9–102.
- Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, Drummond A. 2012. Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28(12): 1647–1649.
- King AJ, Humphries P, Lake PS. 2003. Fish recruitment on floodplains: the roles of patterns of flooding and life history characteristics. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 60: 773–786.
- Kullander SO. 2003. Cichlidae (Cichlids). Pp. 605–654. In: Reis RE, Kullander SO, Ferraris CJ Jr. (Eds). *Checklist of the Freshwater Fishes of South and Central America*. Porto Alegre: EDIPUCRS, Brasil.
- Leite RG. 2000. Alimentação e fontes autotróficas de energia utilizadas pelas larvas de peixes do rio Solimões/Amazonas e suas áreas inundáveis. Tese de Doutorado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, AM, 118p.
- Leite RG, Araújo-Lima CARM. 2002. Feeding of the *Brycon cephalus*, *Triportheus elongatus* and *Semaprochilodus insignis* (Osteichthyes, Characiformes) larvae in Solimões/Amazonas River and floodplain areas. *Acta Amazonica*, 32(3): 129–147.
- Leite RG, Silva JVV, Freitas CE. 2006. Abundância e distribuição das larvas de peixes no Lago Catalão e no encontro dos rios Solimões e Negro, Amazonas, Brasil. *Acta Amazonica*, 36(4): 557–562.

- Levin LA. 2006. Recent progress in understanding larval dispersal: new directions and digressions. *Integrative and Comparative Biology*, 46(3): 282–297.
- Lewis OT. 2006 Climate change, species area curves and the extinction crisis. *Philosophical Transactions of the Royal Society London Biological*, 361(1465):163-171.
- Lima AC, Araújo-Lima CARM. 2004. The distribution of larval and juvenile fishes in Amazonian rivers of different nutrient status. *Freshwater Biology*, 49: 1–14.
- Lira NL, Tonello S, Lui RL, Traldi JB, Brandão H, Oliveira C, Blanco DR. 2022. Identifying fish eggs and larvae: from classic methodologies to DNA *metabarcoding*. *Molecular Biology Reports*, 1–14.
- Lopes CA, Garcia V, Reynalte-Tataje DA, Zaniboni-Filho E, Nuñez APO. 2014. Temporal distribution of ichthyoplankton in the Forquilha river upper Uruguay river - Brazil: Relationship with environmental factors. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 36: 59–65.
- Lowe-McConnell RH. 1999 *Ecological studies in tropical fish communities*. Cambridge University Press.
- Löwenberg-Neto P, Loyola R. 2016. Biogeografia da Conservação. In: CARVALHO, C. J. B., ALMEIDA, E. A. B. (Org). *Biogeografia da América do Sul: análise do tempo, espaço e forma*. 2 ed. São Paulo: Roca, p. 169-178.
- Mackenzie DI, Royle JA. 2005. Designing occupancy studies: general advice and allocating survey effort. *Journal of Applied Ecology*, 42: 1105–1114.
- Maggia ME, Vigouroux Y, Renno JF, Duponchelle F, Desmarais E, Nunez J, Garcia-Dávila C, Carvajal Vallejos FM, Paradis E, Martin JF, Mariac C. 2017. DNA *metabarcoding* of Amazonian Ichthyoplankton Swarms. *PLoS One*, 2017, 12(1): e0170009.
- Malabarba, MCSL. 2004. Revision of the Neotropical genus *Triportheus* Cope, 1872 (Characiformes: Characidae). *Neotropical Ichthyology*, 2: 167–204.
- Mariac C, Renno JF, Garcia-Davila C. 2021. Species-level ichthyoplankton dynamics for 97 fishes in two major river basins of the Amazon using quantitative metabarcoding. *Molecular Ecology*, 00:1–22
- Martin M. 2011. CUTADAPT removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet.journal*, 17.
- Mendonça AB. 2011. *Composição e Abundância do Ictioplâncton na Confluência dos Rios Madeira e Amazonas*. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Biologia de Água Doce e Pesca Interior, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.
- Mounic-Silva CE, Leite RG. 2013. Abundance of young-of-the-year migratory Characiforms in floodplain areas of the middle Solimões-Amazon River at flooding 2007/2008.

- Journal of Applied Ichthyology, 29: 118–124.
- Nakatani K. 1994. Estudo do ictioplâncton no reservatório de Itaipu (rio Paraná – Brasil): levantamento das áreas de desova. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 254p.
- Nakatani K, Agostinho AA, Baumgartner G, Bialezki A, Sanches PV, Makrakis MC, Pavanelli CS. 2001. Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação. EDUEM: Maringá, 378p.
- Nascimento FL, Araújo-Lima CARM. 1993. Descrição das larvas de *Psectrogaster amazonica* e *Potamorhina altamazonica* (Curimatidae, Pisces) da Amazônia Central. Acta Amazonica, 23:457–72.
- Nobile AB, Freitas-Souza D, Ruiz-Ruano FJ, Nobile MLMO, Costa GO, Lima FP, Camacho JPM, Foresti F, Oliveira C. 2019. DNA *metabarcoding* of Neotropical ichthyoplankton: Enabling high accuracy with lower cost. *metabarcoding and Metagenomics*, 3: 69–76.
- Oberdorff T, Dias MS, Jézéquel C, Albert JS, Arantes CC, Bigorne R, Carvajal-Valleros FM, De Wever A, Frederico RG, Hidalgo M, Hugueny B, Leprieur F, Maldonado M, Maldonado-Ocampo J, Martens K, Ortega H, Sarmiento J, Tedesco PA, Torrente-Vilara G, Winemiller KO, Zuanon JAS. 2019. Unexpected fish diversity gradients in the Amazon basin. *Science Advances*, 5(9): eaav8681[1–9].
- de Oliveira LS, Cajado RA, dos Santos LRB, Zacardi DM. 2022. Structure of the ichthyoplankton community in a Neotropical floodplain lake affected by environmental degradation. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 94:e20201598.
- Pavan-Kumar A, Gireesh-Babu P, Lakra WS. 2015. DNA *metabarcoding*: A New Approach for Rapid Biodiversity Assessment. *Journal of Cell Science e Molecular Biology*, 2(1): 111.
- Pereira TNA, Castro RMC. 2014. A new species of *Utiaritichthys* Miranda Ribeiro (Characiformes: Serrasalminidae) from the Serra dos Parecis, Tapajós drainage. *Neotropical Ichthyology*, 12, 397–402.
- Ponte SC, Ferreira LC, Bittencourt SCS, Queiroz HL, Zacardi DM. 2016. Spatial and temporal variation of larvae *Triporthus* (Characiformes, Triporthidae) in the middle Solimões River, Central Amazon, Brazil. *Acta of Fisheries and Aquatic Resources*, 4: 71–81.
- Ratnasingham S, Hebert PDN. 2007. BOLD: The barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). *Molecular Ecology Notes*, 7: 355–364.
- Reis RE, Kullander SO, Ferraris Júnior CJ. 2003. Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America. Porto Alegre.

- Reynalte-Tataje DA, Nakatani K, Fernandes R, Agostinho AA, Bialezki A. 2011. Temporal distribution of ichthyoplankton in the Ivinhema River (Mato Grosso do Sul State/Brazil): Influence of environmental variables. *Neotropical Ichthyology*, 9(2): 427–436.
- Reynalte-Tataje DA, Agostinho AA, Bialezki A. 2013. Temporal and spatial distributions of the fish larval assemblages of the Ivinhema River sub-basin (Brazil). *Environmental Biology of Fishes*, 96: 811–822.
- Sanches PV, Nakatani K, Bialezki A, Baumgartner G, Gomes LC, Luiz EA. 2006. Flow regulation by dams affecting ichthyoplankton: The case of the Porto Primavera Dam, Paraná River, Brazil. *River Research and Applications*, 22(5): 555–565.
- Santos GM, Ferreira EJG, Zuanon JAS. 2009. Peixes comerciais de Manaus. Manaus: Ibama/AM, ProVárzea 2 ed. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 144p.
- Severi W. 1997. Ecologia do ictioplâncton no Pantanal de Barão de Melgaço, bacia do rio Cuiabá, Brasil. Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, São Paulo.
- Shuai F, Li X, Li Y, Li J, Yang J, Lek S. 2016. Temporal Patterns of Larval Fish Occurrence in a Large Subtropical River. *Plos One*, 11(5): e0156556.
- Silva GS, Leite RG. 2013. Alimentação e ontogenia trófica de juvenis de Characiformes em bancos de macrófitas aquáticas no rio Solimões/Amazonas. *Revista Colombiana de Ciência Animal*, 5(2): 327–339.
- Sleen P, Albert JS. 2018. Field guide to the fishes of the Amazon, Orinoco, and Guianas. Princeton University Press.
- Souza RCR. 2013. Distribuição e composição do Ictioplâncton no reservatório de Três Marias, MG, Brasil. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais em Ecossistemas Fragmentados e Agrossistemas. Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. 131p.
- Steffen W, Persson A, Deutsch L, Zalasiewicz J, Williams M, Richardson K, Crumley C, Crutzen P, Folke C, Gordon L, Molina M, Ramanathan V, Rockstrom J, Scheffer, Schellnhuber HJ, Svedin U. 2011. The Anthropocene: From global change to planetary stewardship. *Ambio*, 40: 739–761.
- Stuart SN, Chanson JS, Cox NA, Young BE, Rodrigues ASL, Fischman DL, Waller RW. 2004. Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science*, 306(5702): 1783–1786.
- Suzuki FM, Zambaldi LP, Pompeu PS. 2013. Mapping the critical habitats for migratory species of the upper grande river region, minas gerais state, Brazil. *Applied Ecology and Environmental Research*, 11(4): 645–659.

- Suzuki FM, Pompeu PS. 2016. Influence of abiotic factors on ichthyoplankton occurrence in stretches with and without dams in the upper Grande River basin, south-eastern Brazil. *Fisheries Management and Ecology*, 23(2): 99–108.
- Taberlet P, Coissac E, Pompanon F, Brochmann C, Willerslev E. 2012. Towards next-generation biodiversity assessment using DNA *metabarcoding*. *Molecular Ecology*, 21: 2045–2050.
- Tatusova TA, Madden TL. 1999. BLAST 2 Sequences: a new tool for comparing protein and nucleotide sequences. *FEMS Microbiology Letters*, 174(2): 247–250.
- Thomsen PF, Kielgast J, Iversen LL, Wiuf C, Rasmussen M, Gilbert MT, Orlando L, Willerslev E. 2012. Monitoring endangered freshwater biodiversity using environmental DNA. *Molecular Ecology*, 21(11): 2565–2573.
- Van der Laan R, Fricke R. 2022. Eschmeyer's Catalog of Fishes: Family-group names. (<http://www.calacademy.org/scientists/catalog-of-fishes-family-group-names/>). Versão eletrônica acessada em 22 de dezembro de 2022.
- Vazzoler AE, Menezes NA. 1992. Síntese de conhecimentos sobre o comportamento reprodutivo dos Characiformes da América do Sul (Teleostei, Ostariophysi). *Revista Brasileira De Biologia*, 52(4): 627–640.
- Werner RG. 2002. Habitat requirements. Pp. 161–182. In: Fuiman LA, Werner RG (Eds). *Fishery Science: The Unique Contributions of Early Life Stages*. Oxford, Blackwell Sciences.
- Ximenes AM, Bittencourt PS, Machado VN, Hrbek T, Farias IP. 2021. Mapping the hidden diversity of the *Geophagus sensu stricto* species group (Cichlidae: Geophagini) from the Amazon basin. *PeerJ* 9:e12443.
- Yu DW, Ji Y, Emerson BC, Wang X, Ye C, Yang C, Ding Z. 2012. Biodiversity soup: *metabarcoding* of arthropods for rapid biodiversity assessment and biomonitoring. *Methods in Ecology and Evolution*, 3: 613–623.
- Zacardi DM. 2009. Variação diária e caracterização morfológica das larvas de peixes do complexo estuarino do Rio Amazonas - PA. [Dissertação de Mestrado]. Belém (PA): Universidade Federal do Pará.
- Zacardi DM, Bittencourt SCS, Nakayama L, Queiroz HL. 2017. Distribution of economically important fish larvae (Characiformes, Prochilodontidae) in the Central Amazonia, Brazil. *Fish Manag Ecol*. 2017;00:1–9.
- Zacardi DM, Sobrinho AF, Silva LMA. 2014. Composition and distribution of larval fishes of an urban tributary the mouth of Amazon River, Brazil. *Acta Fisheries and Aquatic Resources*, 2(2): 1–16.

- Zacardi DM, Silva da Ponte SC, Campos L, Silva de Lima MA, Sousa da Silva AJ, Chaves CS. 2017. Diversity and spatio-temporal distribution of the ichthyoplankton in the lower Amazon River, Brazil. *Biota Amazônia*, 7(2): 12–20.
- Zhang J, Kobert K, Flouri T, Stamatakis A. 2014. PEAR: a fast and accurate Illumina Paired-End reAd mergeR. *Bioinformatics*, 30(5): 614–620.

Material Suplementar 1

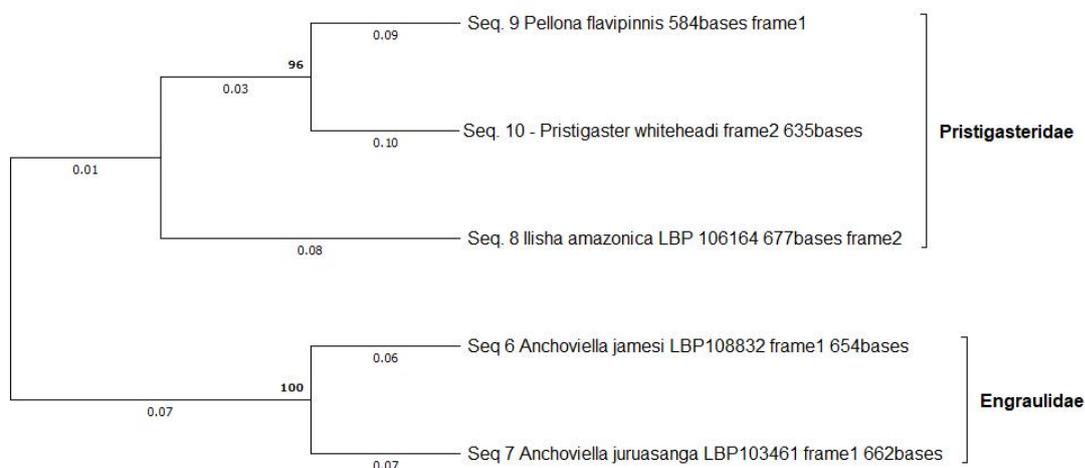


Figura 1. Dendrograma das famílias Pristigasteridae e Engraulidae (Clupeiformes), gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).

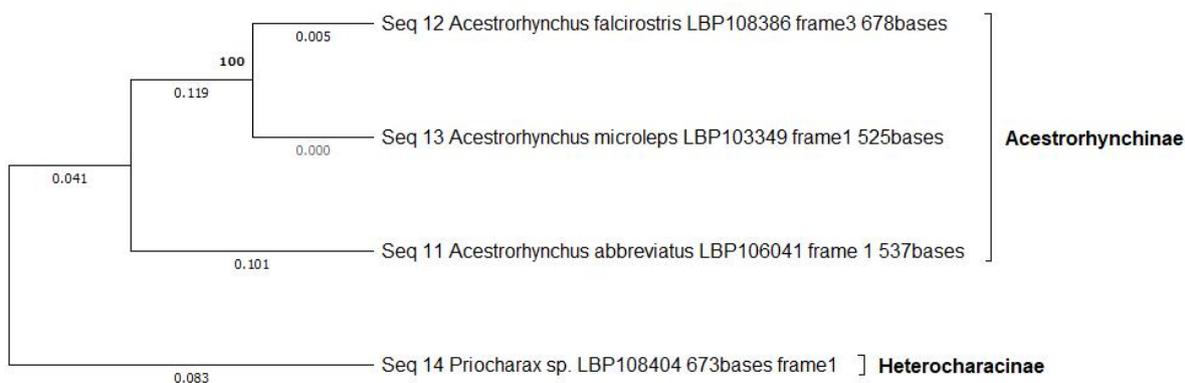


Figura 2. Dendrograma da família Acestrorhynchidae (Characiformes), gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).

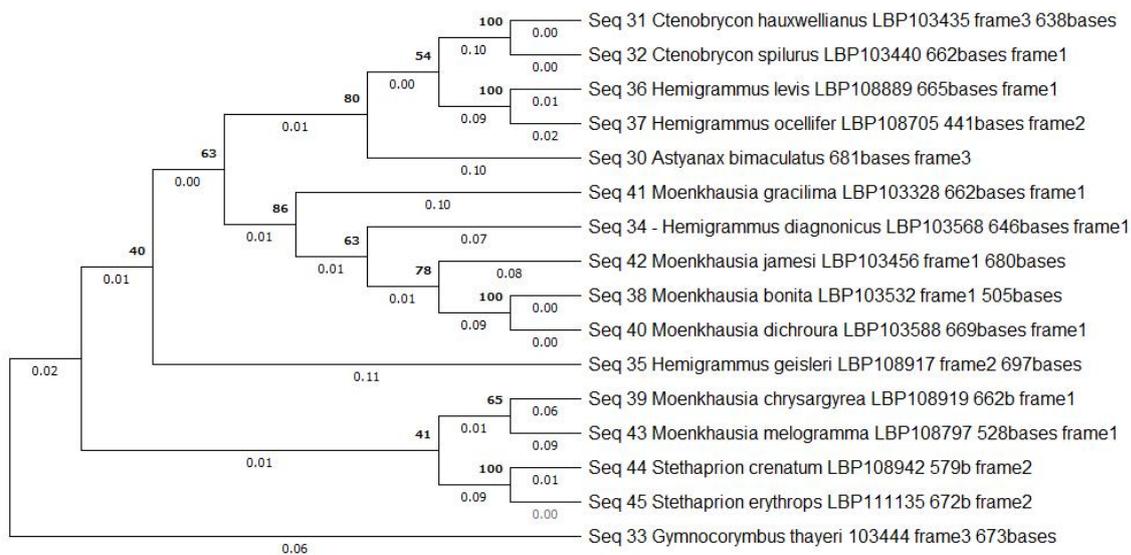


Figura 5. Dendrograma da subfamília Stethaprioninae (Characidae; Characiformes), gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).

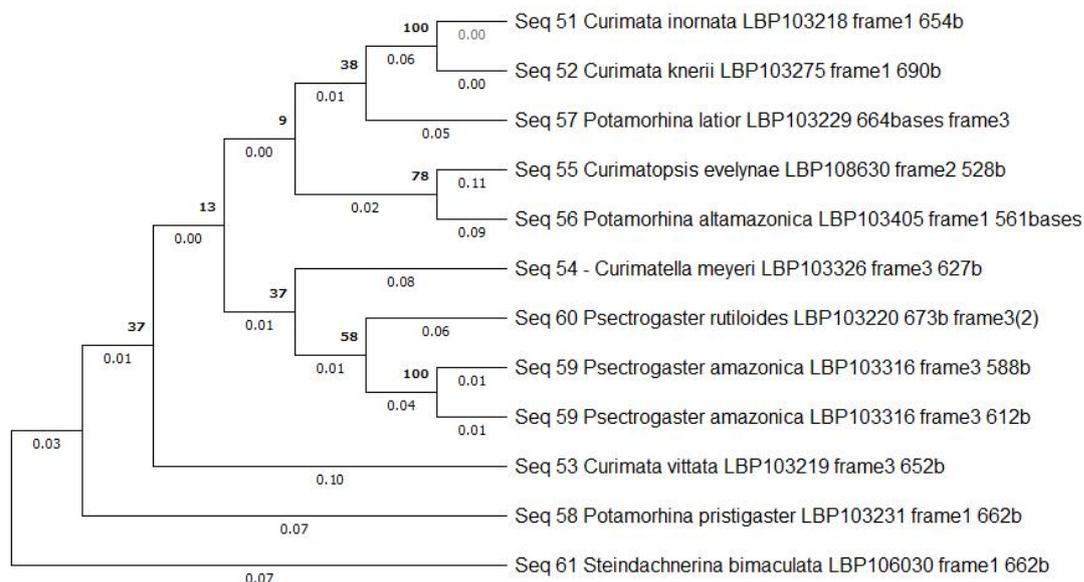


Figura 6. Dendrograma da família Curimatidae (Characiformes), gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).

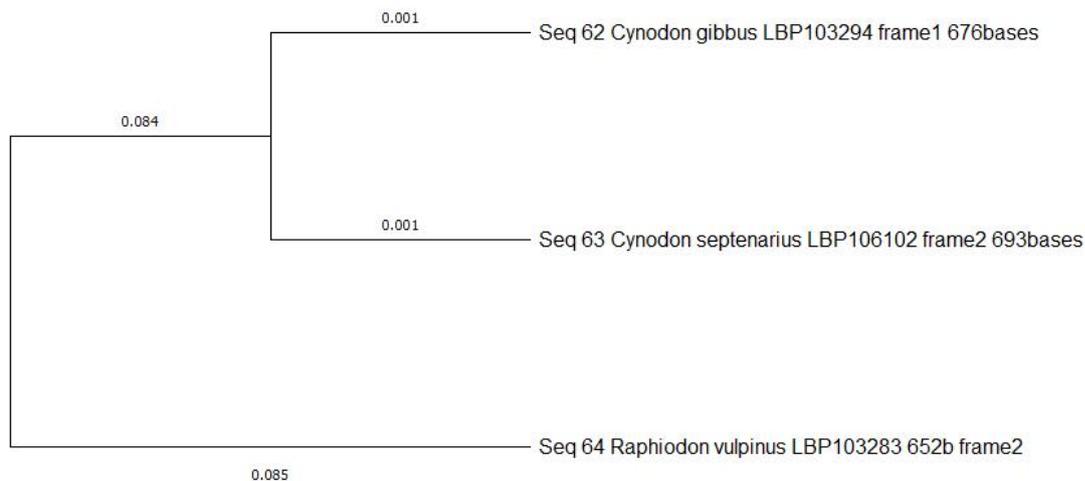


Figura 7. Dendrograma da família Cynodontidae (Characiformes), gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).

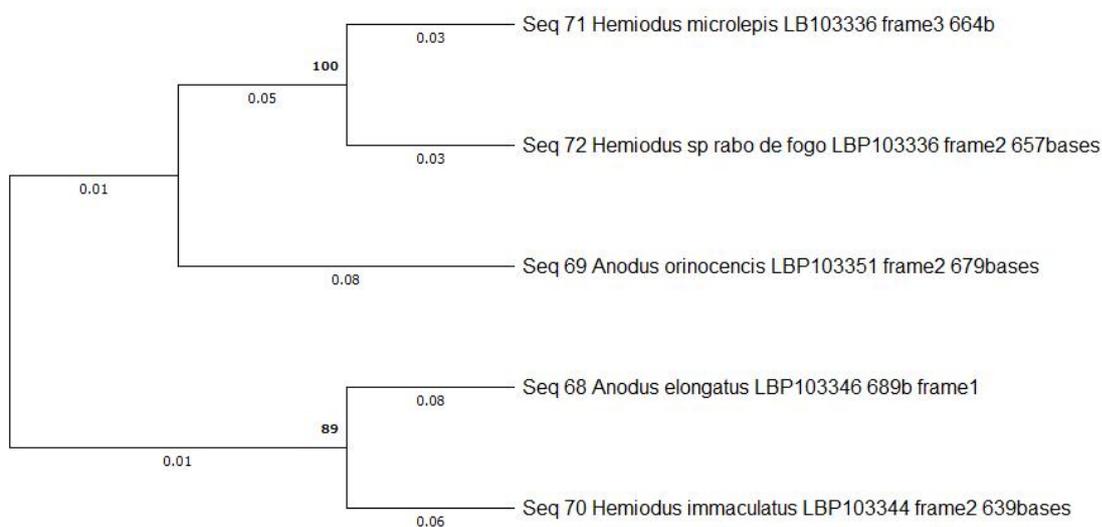


Figura 8. Dendrograma da família Hemiodontidae (Characiformes), gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de Bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).

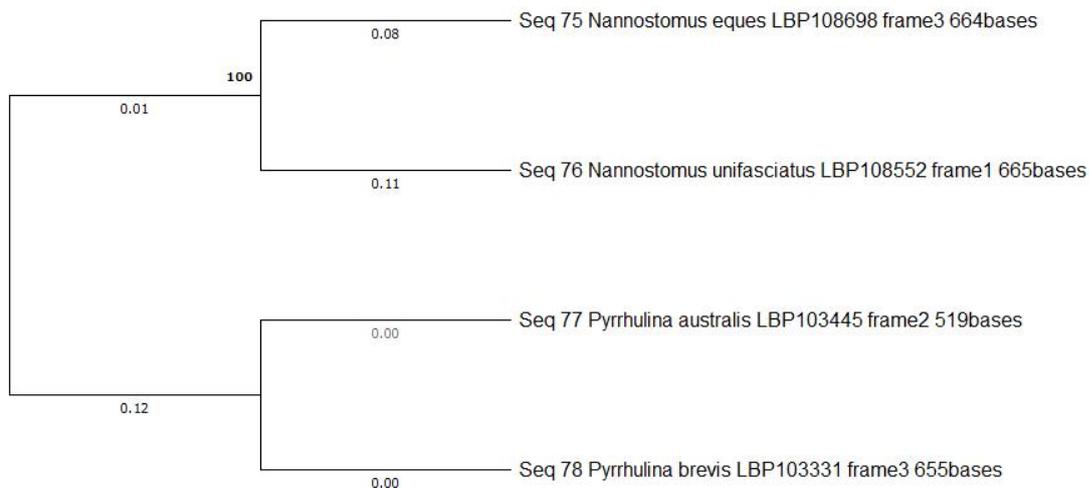


Figura 9. Dendrograma da família Lebiasinidae (Characiformes), gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).

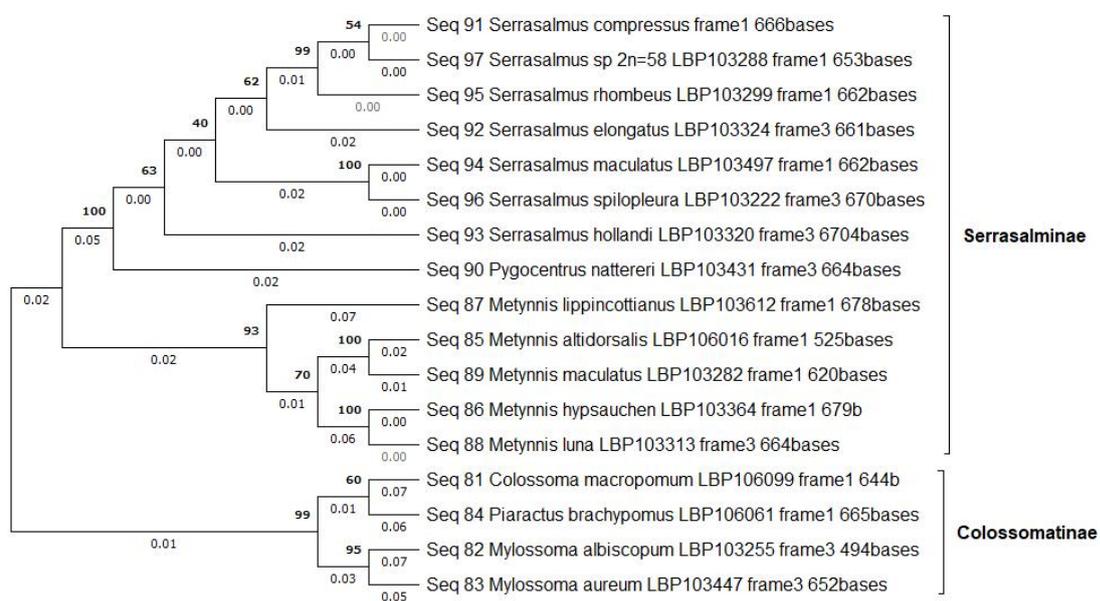


Figura 10. Dendrograma da família Serrasalminidae (Characiformes), gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).

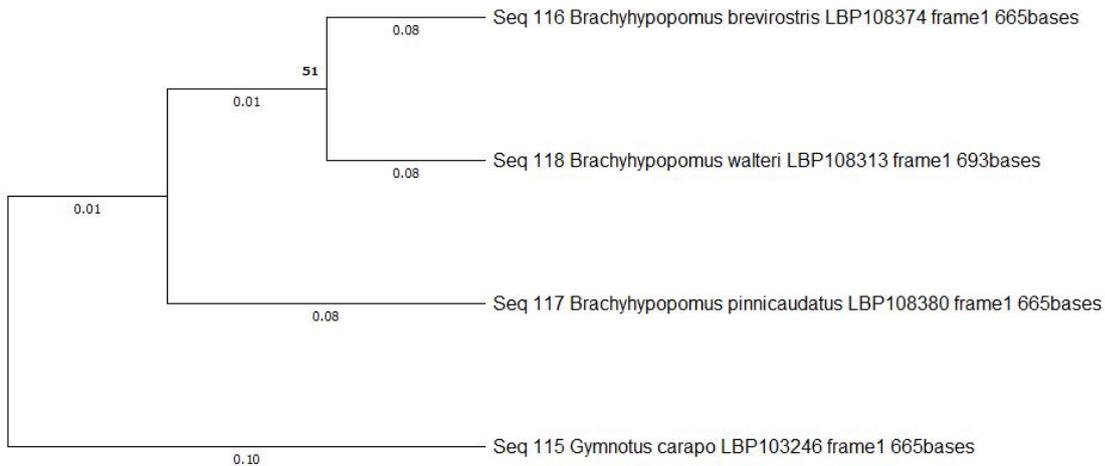


Figura 13. Dendrograma da família Hypopomidae (Gymnotiformes), gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).

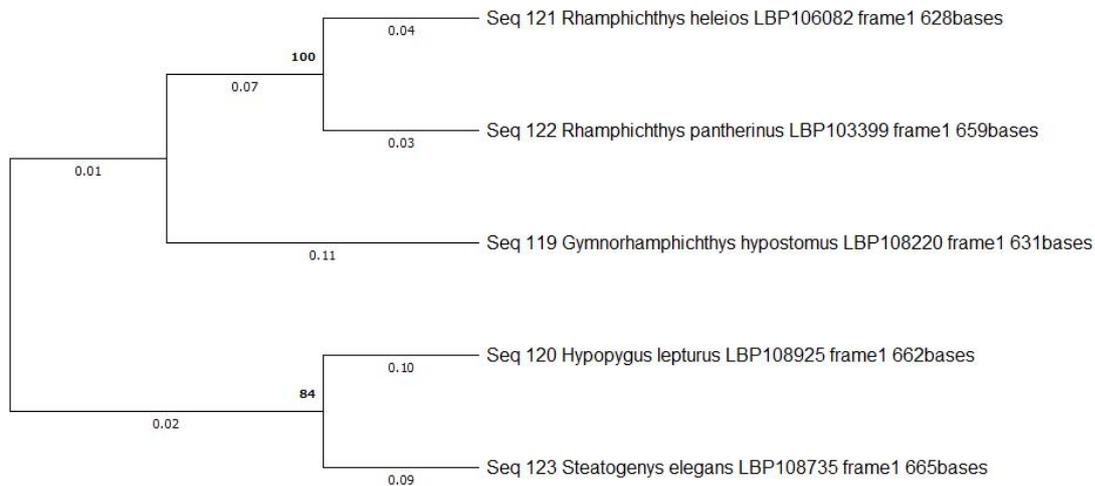


Figura 14. Dendrograma da família Rhamphichthyidae (Gymnotiformes), gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).

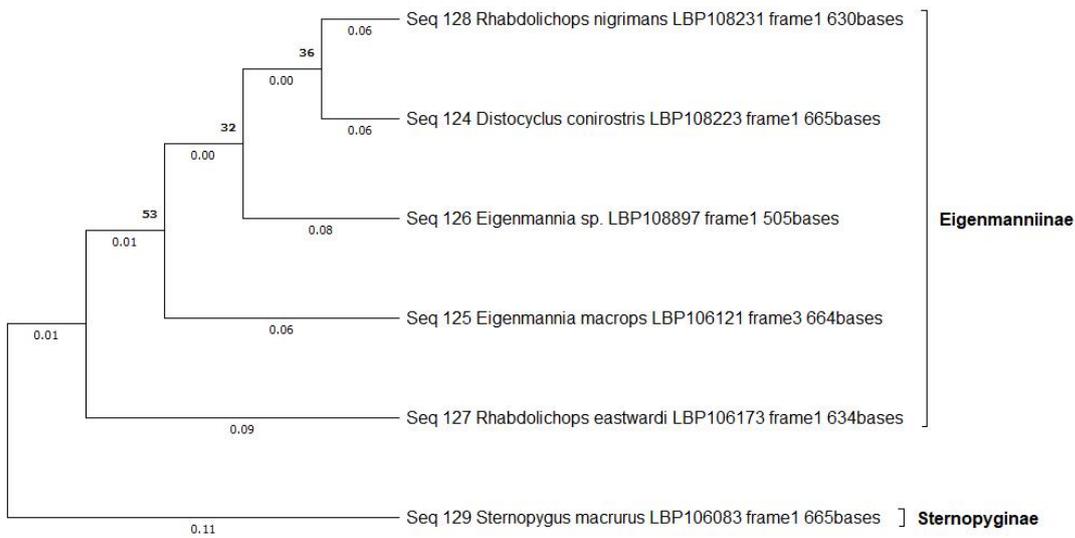


Figura 15. Dendrograma da família Sternopygidae (Gymnotiformes), gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).

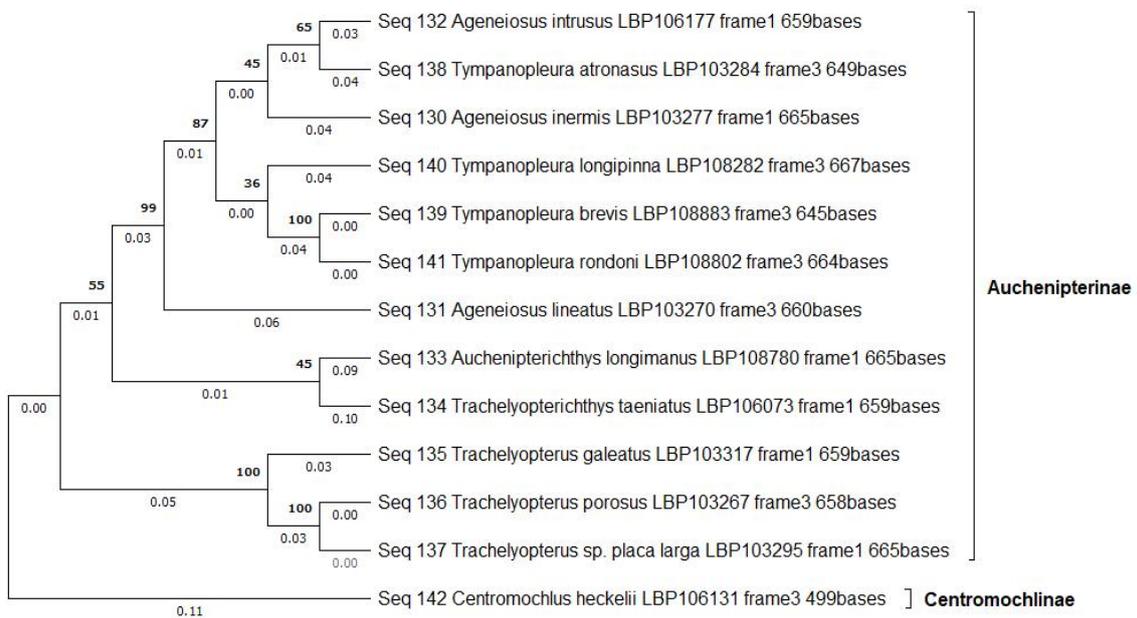


Figura 16. Dendrograma da família Auchenipteridae (Siluriformes), gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).

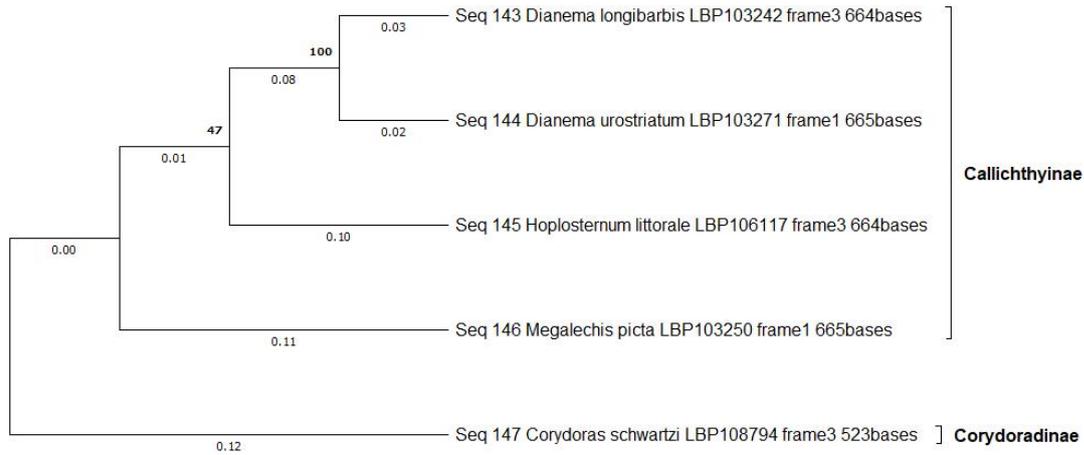


Figura 17. Dendrograma da família Callichthyidae (Siluriformes), gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).

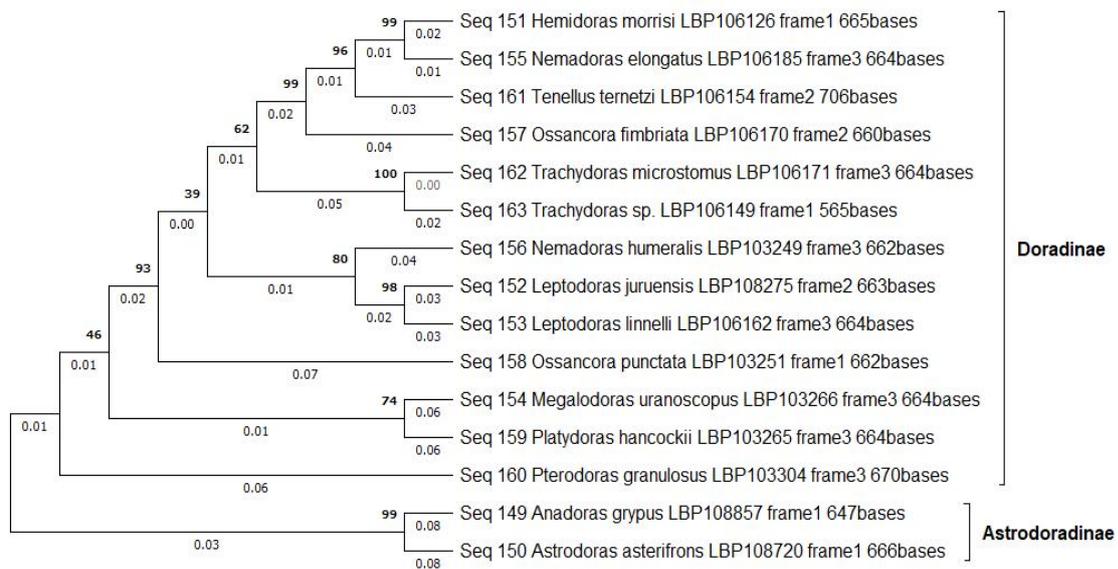


Figura 18. Dendrograma da família Doradidae (Siluriformes), gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).

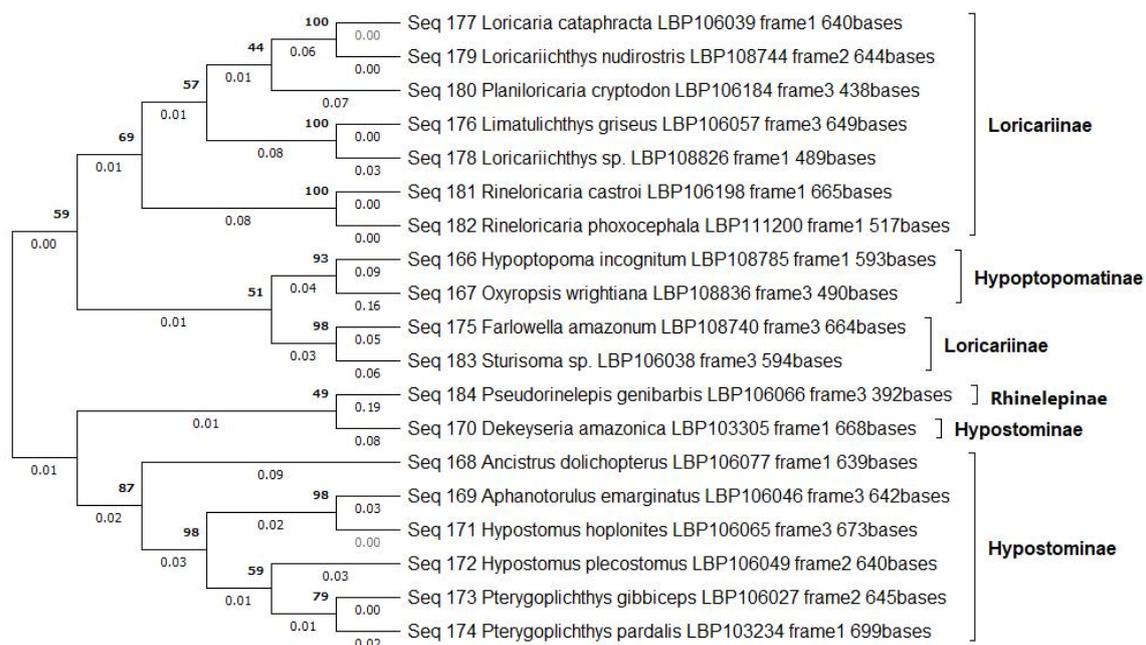


Figura 19. Dendrograma da família Loricariidae (Siluriformes), gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).

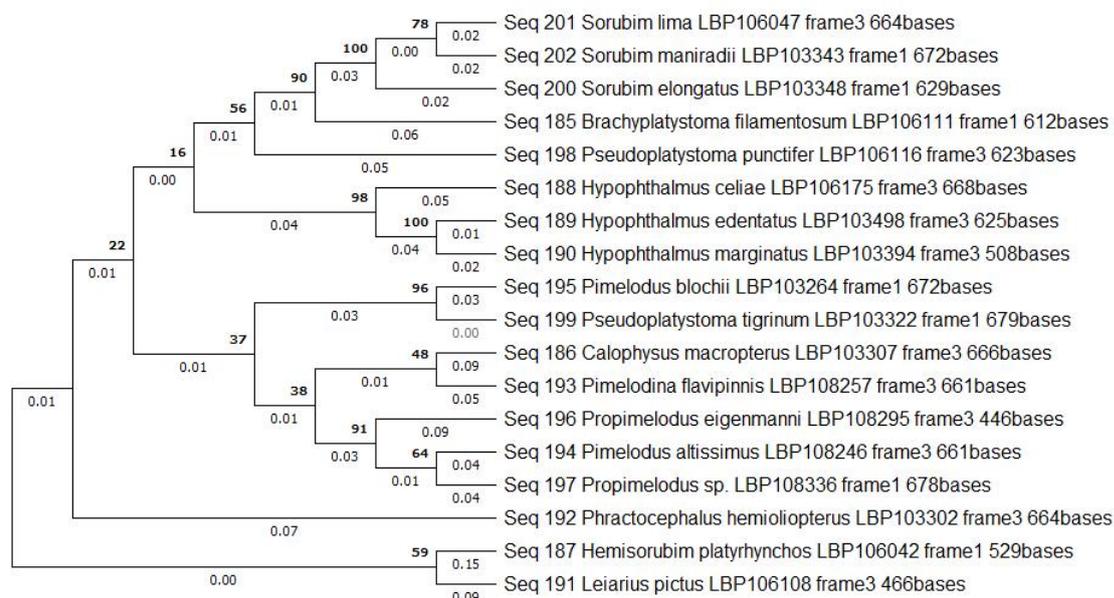


Figura 20. Dendrograma da família Pimelodidae (Siluriformes), gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).

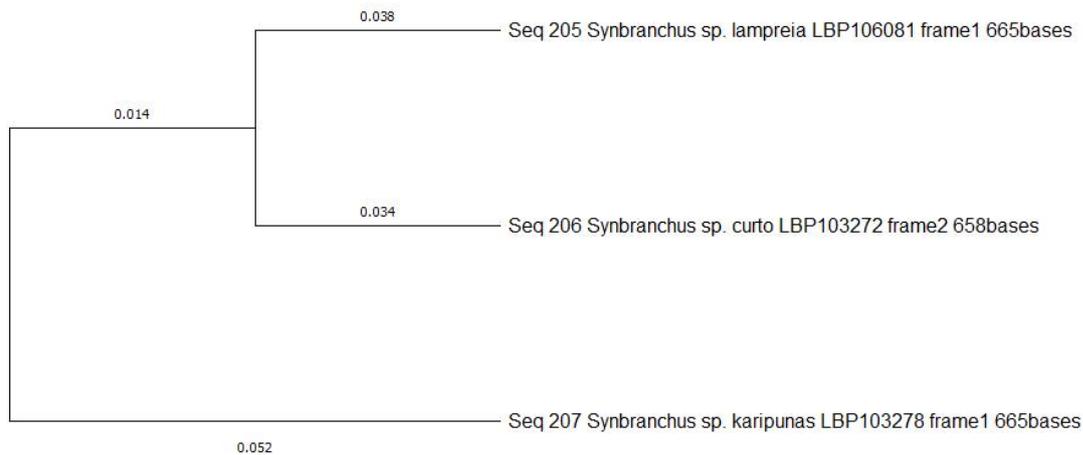


Figura 21. Dendrograma da família Synbranchidae (Synbranchiformes), gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).

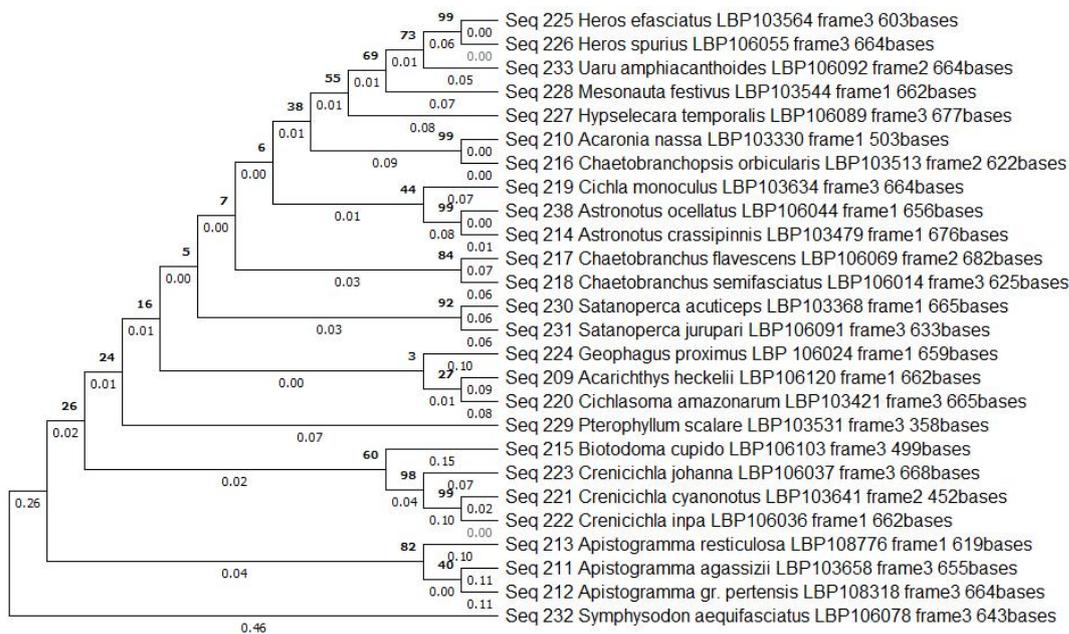


Figura 22. Dendrograma da família Cichlidae (Cichliformes), gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).

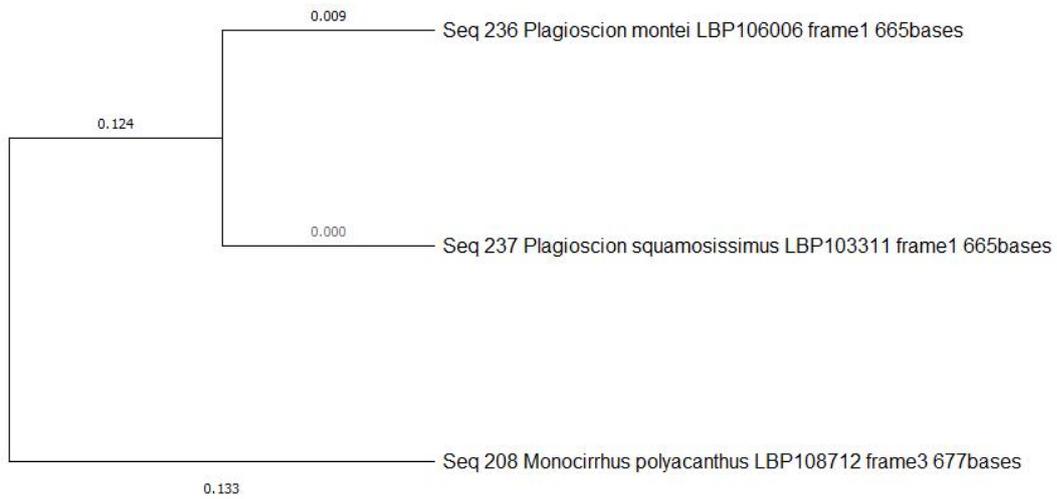


Figura 23. Dendrograma das famílias Scianidae (*Incertae sedis* em nível de ordem em Eupercaria) e Polycentridae (*Incertae sedis* em nível de ordem em Ovalentaria), gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).

Material Suplementar 2

>Morfotipo 1 frame 1 656bases

ATTGGCACCCCTTTATATAGTATTTGGTGCATGGGCCGGGATAGTCGGCACAGCCT
TAAGCCTCTTAATTCGAGCAGAATTAAGCCAGCCCGGGGCTCTCATAGGTGACG
ACCAAATCTACAATGTAATTGTTACTGCACATGCTTTCGTAATAATCTTCTTCATG
GTAATACCCATCATGATTGGGGGTTTTGGAAATTGATTAATTCCTCTAATAATCG
GCGCCCCCGACATAGCATTTCACGAATAAATAACATAAGCTTCTGACTGCTTCC
CCCCTCATTCTTCTCTACTAGCCTCGTCCGGAGTTGAAGCGGGGGCTGGAACC
GGCTGAACCGTTTACCCCCCTCTTGCCGGCAACCTCGCCCACGCAGGGGCCTCTG
TTGATCTTACCATTTTCTCCCTGCATCTTGCAGGGGTATCCTCCATTCTTGGCTCA
ATTAATTTTATCACAACCATTATTAACATAAAACCCCCAGCCATGTCTCAATACC
AAACCCCTTTATTCATCTGAGCCCTCCTGGTAACCACTGTTCTCCTTCTCCTATCC
CTGCCCGTCCTAGCCGCTGGTATCACAATGCTACTAACAGACCGCAACCTAAACA
CAACCTTCTTTGACCCACAGGCGGAGGAGACCCAATTCTTTACCAACACCTATT
CTG

>Morfotipo 3 frame1 651bases

GCACCCTTTTACTTAGTATTTGGTGCCTGAGCCGGRATAGTCGGAACAGCCCTCA
GCCTATTGATTTCGAGCCGAGCTAAGCCAACCCGGGTCTCTGCTAGGAGATGACC
AAATTTATAATGTTATCGTCACCGCACATGCATTCGTAATAATTTTCTTTATAGTA
ATACCAGTAATAATTGGAGGATTTGGAAACTGATTAGTACCTCTAATAATTGGAG
CCCCTGACATAGCCTTCCCCCGAATAAACAACATAAGTTTCTGACTGCTACCCCC
CTCCTTCTTCTTCTTCTGGCATCCTCGGGAGTTGAGGCCGGAGCAGGGACCGGT
TGAACCGTATACCCACCCCTTGCAGGTAATCTTGCCACGCAGGGGCCTCCGTAG
ATTTAACCATTTTTTCACTTCACCTTGCAGGAGTTTCTCAATTCTAGGTGCAATT
AATTTTATTACAACCTATTATTAACATGAAACCACCAGCGATTTCACAATACCAAA
CACCATTATTTGTTTGAGCCGTGCTAATTACAGCTGTACTTCTACTGCTTTCACTA
CCAGTTTTAGCAGCCGGTATCACAATGCTATTAACAGACCGAAACCTAAACACC
ACCTTCTTCGACCCCGCAGGAGGAGGAGACCCAATTTTGTACCAA

>Morfotipo 4 frame3 660bases

TTGGCACCCCTTTACTTAGTATTTGGTGCCTGGGCTGGAATAGTTGGGACAGCCCT
AAGCCTATTAATCCGAGCAGAGCTAAGTCAACCCGGGTCTCTACTGGGAGACGA
CCAAATTTATAATGTTATCGTTACCGCACATGCATTCGTAATAATTTTCTTTATAG
TAATACCAGTAATAATTGGGGGATTTGGAAATTGATTAGTGCCTCTAATAATTGG
AGCCCCAGACATAGCCTTTCCCCGAATAAATAACATAAGTTTTTGGCTTCTACCC
CCTTCTTCTCCTCCTTCTGGCATCCTCAGGGGTTCGAGGCAGGAGCAGGTACCG
GTTGAACCGTATACCCACCACTTGCAGGCAATCTTGCCACGCAGGGGCCTCCGT
AGATTTAACCATTTTTTCACTTCATCTCGCAGGAGTTTCTTCAATTTTAGGTGCAA
TCAATTTTATCACAACCTATTATTAATAAAACCACCAGCAATTTCACAATACCA
GACACCTTTATTTGTTTGAGCTGTATTAATTACAGCTGTCCTCCTGTTACTCTCAC
TGCCAGTTCTGGCAGCCGGAATCACAATGCTCTTAACAGACCGAAACCTAAACA
CCACCTTCTTTGATCCTGCAGGAGGGGGAGACCCAATTTTATATCAACACCTGT

>Morfotipo 5 frame 1 669 bases

ATTGGCACCCCTCTACCTAGTATTTGGTGCCTGAGCCGGAATAGTTGGTACAGCCC
TTAGCCTACTAATTCGGGCAGAGCTGGCCCAACCCGGCGCCCTYCTAGGTGATG
ACCAAATTTACAACGTYATYGTAAGTGCCTTCGTAATAATTTTCTTTATG
GTAATACCAATCATGATCGGAGGATTTGGAAATTGATTAATCCCACTAATGATCG
GGGCACCAGACATGGCATTCCCACGAATAAATAACATAAGCTTCTGACTWCTTC
CACCATCATTCTMCTYCTACTTGCCTCRTCAGGGGTAGAAGCWGGAGCAGGAA

CAGGATGAACTGTMTAYCCYCCTCTYGCMGGRAAYCTKGCACAYGCMGGAGCT
TCTGTRGAYCTAACTATTTTCTCCCTMCACCTAGCAGGRGTGTCATCCATTTTAG
GGGCCATTA ACTTYATYACAACWATYATYAACATGAAGCCCCCTCTATCTCAC
AATAYCAAACACCATTATTTGTATGATCAGTCCTAATTACAGCAGTMCTACTTTT
ACTATCMCTCCCMGMTMYTRGCCGCAGGCATTACAATGTTATTAACAGACCGAAA
CYTAAACACAACCTTCTTTGATCCMGCAGGAGGGGGAGACCCAATCCTTTATCA
ACACCTATTCTGATTC

>Morfotipo 6 frame 2 650bases

CCTTTACCTAGTGTTCCGGTGCCTGAGCCGGGATAGTTGGGACGGCCCTCAGCCTT
CTAATTCGAGCAGAGCTCAGTCAGCCGGATCCCTTCTAGGCGACGACCAGATCT
ACAATGTTATTGTA ACTGCACACGCCTTCGTAATAATCTTCTTTATAGTAATGCC
AATTATGATCGGGGGCTTCGGAACTGACTGGTCCCACTAATGATCGGGCGCACC
AGACATGGCTTTCCCCGAATAAACAACATGAGCTTTTGACTTCTCCCTCCGTCC
TTCCTTCTCCTCCTAGCTTCTTCCGGCGTTGAAGCCGGGGCAGGAACAGGTTGAA
CCGTATATCCTCCCTTAGCGGGAAATCTGGCACACGCGGGGGCTTCCGTCGACTT
AACTATCTTCTCCCTTCACCTCGCCGGGGTATCCTCCATTCTTGGGGCCATTA
TTATTACAACCATCATCAATATGAAACCCCCAGCCATCTACAATACCAGACCCC
CTTATTCGTGTGAGCAGTACTAGTTACAGCCGTATTACTTCTCTCACTCCCAG
TCTTAGCTGCTGGGATTACCATGCTCCTAACAGACCGTAACCTGAATACCACATT
CTTCGACCCTGCAGGAGGAGGAGACCCTATTCTTTACCAACACT

>Morfotipo 7 frame3 658bases

TTGGCACCCCTCTACCTAGTATTCGGTGCCTGAGCCGGAATAGTTGGCACAGCCCT
TAGCCTGTTAATTCGGGCAGAGCTGGCCCAACCCGGTGCTCTCCTAGGCGACGAC
CAAATTTACAATGTCATTGTA ACTGCTCATGCCTTCGTAATAATTTCTTTATAGT
AATACCGATCATAATTGGGGGATTCGGAACTGATTAGTCCCACTAATAATTGG
AGCACCAGATATAGCGTTCCACGAATGAATAACATAAGTTTCTGGCTCCTGCCC
CCATCCTTCTTACTTCTGCTTGCCTCCTCTGGAGTAGAAGCAGGAGCAGGAACAG
GGTGA ACTGTATACCCCCCTCTTGCCGGAAACCTAGCACATGCAGGAGCTTCCGT
AGACTTAACTATTTTCTCCCTTCATTTAGCAGGGGTATCATCAATCCTGGGAGCC
ATTA ACTTTATTACAACCATCATTAAACATGAAACCCCCATCTATTTACAGTATC
AAACACCATTATTTGTATGATCCGTTCTAATTACAGCAGTACTTCTTCTACTGTCT
CTCCCAGTCCTAGCCGCAGGCATTACAATATTGTTAACGGACCGAAACTTGAATA
CTACATTCTTTGACCCAGCCGGCGGAGGAGATCCAATTCTTTATCAACACTT

>Morfotipo 8 frame3 640bases

TAGTATTTGGTGTCTTTGAGCCGGGATAGTTGGTACAGCCCTCAGCCTCTAATTCG
AGCAGAGCTCAGCCAACCCGGAGCCCTTCTAGGCGATGATCAAATTTATAATGTT
ATCGTTACCGCACATGCTTTTGTAATAATTTTCTTTATAGTTATACCAATCATAAT
TGGGGGCTTCGGAAATTGATTAGTACCACTAATGATTGGCGCACCCGACATGGC
ATTCCCACGAATAAACAACATAAGCTTTTGACTGCTGCCCCCTTCTTTTCTTCTTC
TATTAGCATCTTCTGGTGTAGAAGCGGGTGTGGAACAGGCTGAACTGTATACCC
GCCACTTGCTGGGAATTTAGCCACGCAGGTGCCTCCGTTGATCTAACTATTTTC
TCCCTTCATCTTGCTGGTGTATCATCCATTCTTGGAGCCATTAATTTTATCACAAC
CATTATTAACATAAAAACCACCAGCCATCTCACAGTACCAAACCCCCCTATTTGTC
TGGGCCGTA ACTAATTACAGCCGTA CTCTTCTCCTCTCACTACCTGTCTTAGCTGC
CGGAATTACCATGCTTTTTAACTCGAAACCTTACTACATTCTTTGATCCTGCGGGT
CCTATTCTATACCAACACTTATTTTGATTCT

>Morfotipo 9 frame2 685bases

TTCAACCAACCACAAAGACATTGGCACCCCTATATCTAGTATTTGGTGCCTGAGCC

GGAATAGTTGGTACAGCTCTCAGCCTTCTAATCCGAGCAGAGCTAAGCCAACCC
GGGGCATTACTTGGCGATGACCAGATTTATAATGTTATCGTTACTGCACATGCCT
TCGTGATAATTTTCTTCATAGTAATACCCATTATGATCGGGGGATTTCGGGAACTG
ACTTGTCCCTCATGATCGGAGCACCTGACATAGCCTTTCCACGAATAAATAAC
ATAAGTTTCTGACTTCTTCCCCCTCACTACTTCTCCTGTTGGCCTCCTCCGGCGT
AGAAGCGGGAGTCGGGACAGGCTGAACTGTTTACCCCCCTCTCGCCGGAAACCT
CGCACATGCAGGAGCCTCCGTCGACCTGGCAATCTTTTCTCTCCATCTTGCAGGG
GTCTCCTCAATTTTAGGAGCTATCAATTTTATCACAACAATTATTAACATAAAAC
CCCCTGCCATTTACAAATACCAAACCCCTCTATTTGTCTGAGCTATTTTAGTTACA
GCCGTCTTCTTCTCCTCTCCCTCCCCGTTCTTGCTGCTGGAATTACAATACTTTT
AACAGACCGAAACCTTAACACAACCTTCTTTGACCCTGCAGGGGGAGGAGACCC
CATTCTTTATCAACATTTATTCTGA

>Morfotipo 12 frame1 654bases

GGCACCCCTTATCTTATTTTTGGTGCCTGAGCAGGAATAGTGGGGACAGCACTCA
GCCTCTTAATTCGAGCAGAATTAAGTCAACCAGGAGCACTTCTAGGGGACGACC
AGATTTATAATGTGATCGTCACTGCTCACGCGTTCGTAATAATCTTTTTTATAGTT
ATGCCAATCCTAATTGGTGGATTTGGAACTGATTAGTTCCTTTAATGCTTGGAG
CTCCGGACATGGCATTCCCTCGAATGAATAATATGAGCTTCTGGCTCCTTCCTCC
TTCATTCTTCTCCTTCTCGCATCATCCGGAGTTGAAGCAGGGGGCCGGAACAGGA
TGAACAGTATATCCCCCCTAGCAGGAAACCTAGCCCATGCAGGAGCATCAGTA
GACTTAACAATTTTTTCCCTACACCTAGCAGGGATTTTCATCAATCCTAGGTGCTA
TTAATTTCACTACTACCATTATTAATAAAAACCCCGCTATTTACAAATACCA
AACACCTCTATTTGTCTGAGCTGTTTTAATTACAGCAGTACTTTTACTTCTTTCAC
TTCCGGTCTAGCCGCTGGAATTACTATGCTTCTTACAGACCGAAATCTCAATAC
CACCTTCTTTGACCCAGCAGGAGGGGGAGATCCAATTCTTTACCAACAC

>Morfotipo 21 frame1 645bases

CTCTATCTTATTTTTGGTGCCTGAGCAGGRATGGTTGGAACAGCACTTAGCCTCTT
AATTCGAGCAGAATTGAGTCAACCAGGAGCGCTTCTAGGTGACGACCAGATTTA
TAATGTGATCGTCACTGCCACGCATTCGTAATGATTTTCTTCATAGTTATGCCAA
TCTTGATTGGCGGATTCGGAAACTGACTAGTTCCTTTGATACTAGGAGCCCCAGA
CATAGCATTCCCCCGGATAAATAAATAAGCTTTTGGCTCCTCCCCCATCATTTC
TGCTCCTTCTTGATCATCGGGAGTCGAAGCAGGGGGCCGGAACAGGGTGAACAG
TATACCCCCCTCTTGACAGGAAACCTAGCCCACGCAGGAGCATCAGTAGACTTAA
CAATCTTCTCTACATCTAGCAGGAATCTCATCAATTTTAGGCGCCATTAACCTC
ATTACCACTATTATTAATAAAAACCCCGCAATCTCCCAGTACCAAACACCCC
TATTTGTCTGAGCCGTCTTAATTACAGCAGTACTTTTACTTCTTTCACTTCCAGTC
CTGGCTGCCGGAATTACTATGCTTCTTACAGACCGAAACCTTAACACCACCTTCT
TTGACCCTGCAGGGGGAGGAGACCCATTCTTTACCAA

>Morfotipo 22 frame2 635bases

TCACAGCTCTCAGCCTGCTAATTCGGGCGGAACTAAGCCAACAGGTTCCCTATTA
GGCGATGACCAAATTTATAATGTATCGTTACTGCACATGCCTTCGTAATAATTT
TCTTCATAGTAATGCCTATTATAAATTGGAGGCTTTGGAAATTGATTAGTACCATT
AATAATTGGGGCACCAGATATGGCATTCCACGTATAAATAAATAAGCTTTTGA
CTACTTCCCTCATTCTTACTTCTACTAGCCTCATCAGGAGTAGAAGCAGGGG
CTGGAACAGGCTGAACAGTCTATCCTCCCCTTGACAGGAAACCTAGCCCATGCAG
GTGCCTCAGTTGATCTAACCATCTTTTACTGCACTTAGCAGGTGTCTCATCTATC
CTTGGGGCAATTAATTTTATCACCACAATTATTAATAAAAACCTCCAGCCATCT
CACAATATCAAACCCCCCTATTCGTATGAGCCGTATTAGTTACGGCCGTCTACT
ACTCCTATCCCTCCCAGTCTTGGCTGCCGGCATTACCATATTAACAGACCGA

AATCTAAACACCACCTTCTTTGACCCTGCAGGAGGAGGTGACCCCATCCTCTATC
AACACCTATTCTGGTTCTTCGGCCACCCAG

>Morfotipo 24 frame1 651bases

ATTGGCACCCCTCTACCTAGTTTTTGGTGCATGAGCCGGAATAGTAGGCACAGCTT
TAAGCCTCCTAATCCGAGCAGAATTAAGTCAGCCCGGCTCACTCCTTGGGGACG
ACCAGATCTACAACGTAATCGTAACAGCACATGCTTTCGTTATGATTTTCTTTAT
AGTAATGCCCGTTATAATCGGAGGTTTCGGAAACTGACTCGTGCCTTTAATAATC
GGGGCCCCCGACATGGCTTTCCACGAATAAACAACATGAGTTTTTACTTCTCC
CGCCATCCTTTCTTCTTCTCCTGACATCCTCTGGAGTAGAGGCAGGGGCCGGGAC
TGGATGAACGGTTTACCCCCACTCGCCGGGAACCTTGCACACGCGGGCGCCTC
AGTTGACCTGGCCATCTTCTCCCTCCACCTCGCAGGTGTCTCATCGATTCTGGGG
GCCATCAACTTCATTACAACAATTATTAATATAAAGCCCCCTGCCATCTCCAGT
ATCAAACGCCTTTATTCGTATGGGCCGTTTTAATTACAGCCGTACTCCTCCTACTC
TCTCTCCTGTCCTAGCCGCCGGCATCACGATACTCCTGACAGACCGTAACTTGA
ACACAACCTTCTTTGACCCAGCAGGAGGAGGGGATCCAATCCTTTAT

Material Suplementar 3

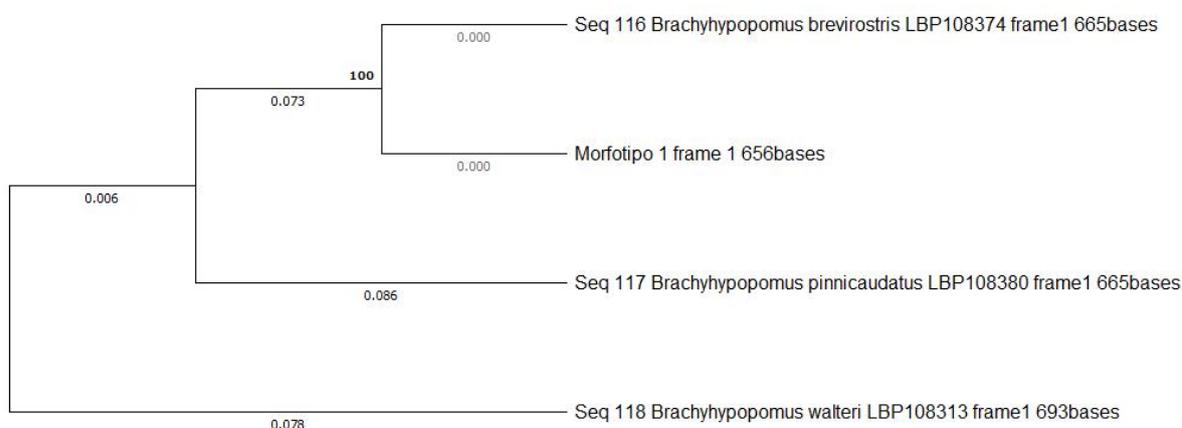


Figura 1. Dendrograma do morfotipo larval 1 (M1) e espécies mais similares, gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).

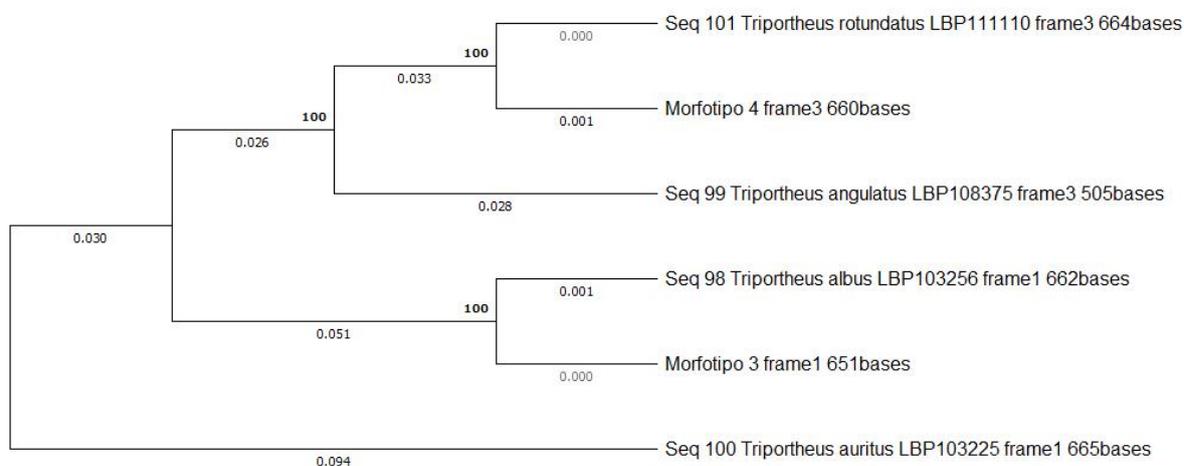


Figura 2. Dendrograma dos morfotipos larvais 3 e 4 (M3 e M4) e espécies mais similares, gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).

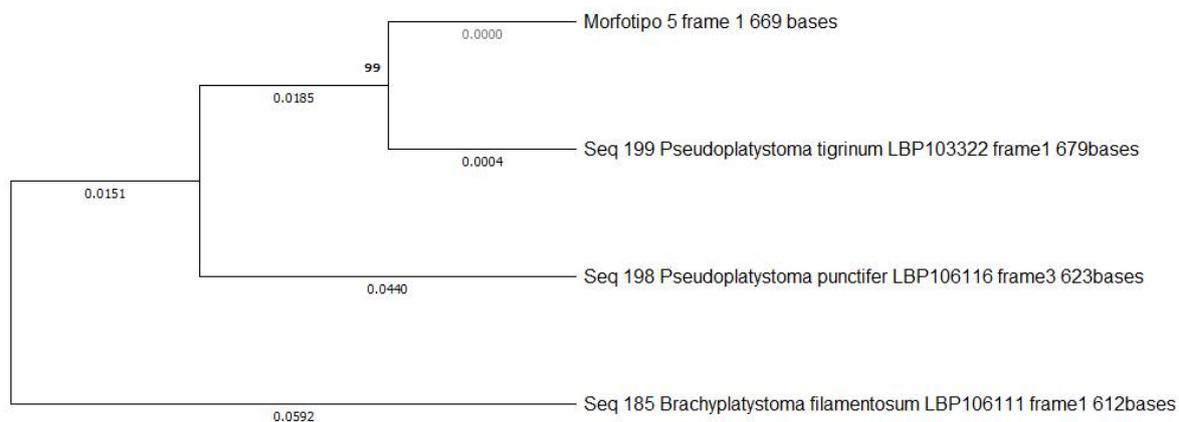


Figura 3. Dendrograma do morfotipo larval 5 (M5) e espécies mais similares, gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).

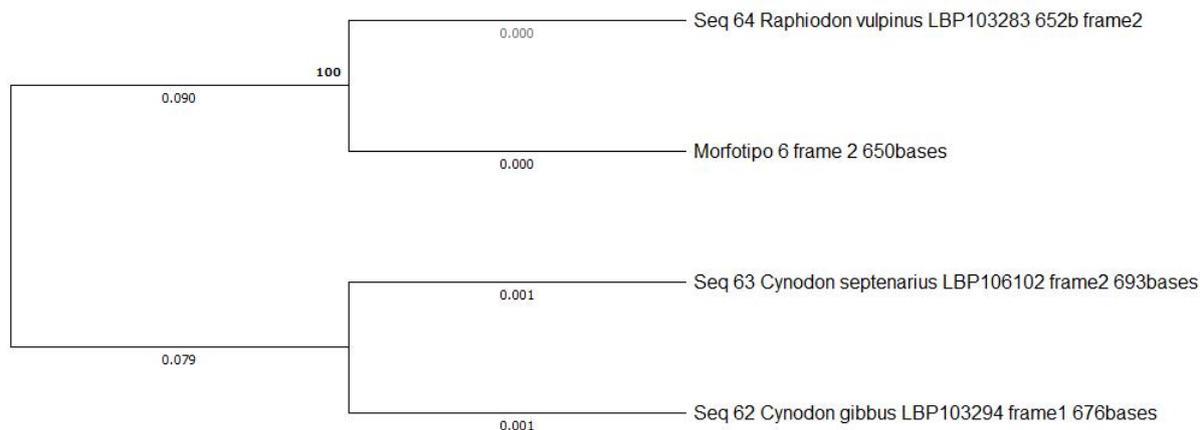


Figura 4. Dendrograma do morfotipo larval 6 (M6) e espécies mais similares, gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).

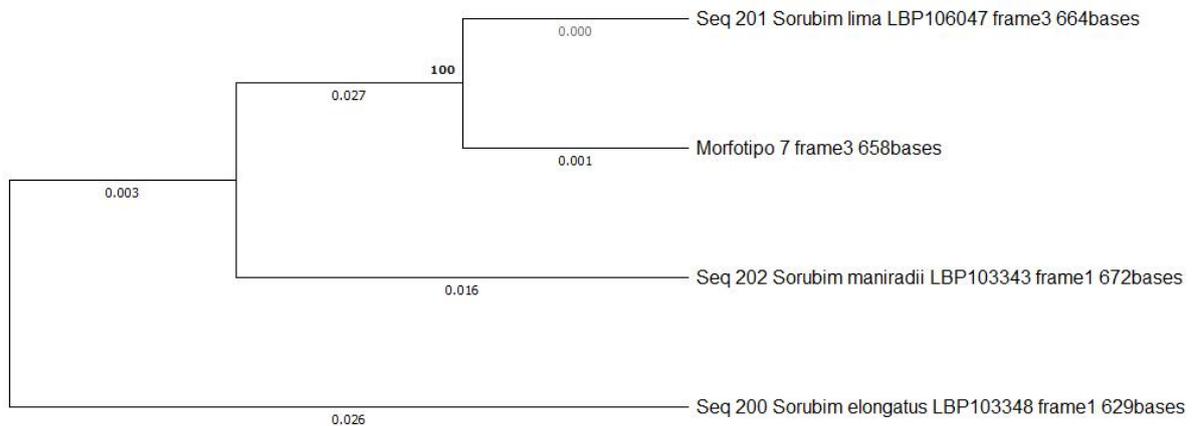


Figura 5. Dendrograma do morfotipo larval 7 (M7) e espécies mais similares, gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).

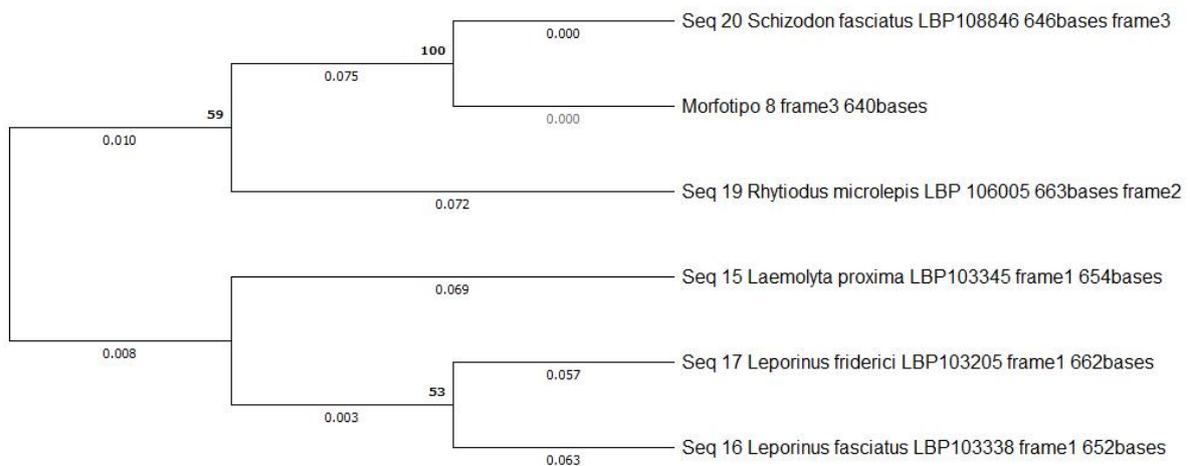


Figura 6. Dendrograma do morfotipo larval 8 (M8) e espécies mais similares, gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).



Figura 7. Dendrograma do morfotipo larval 9 (M9) e espécies mais similares, gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).

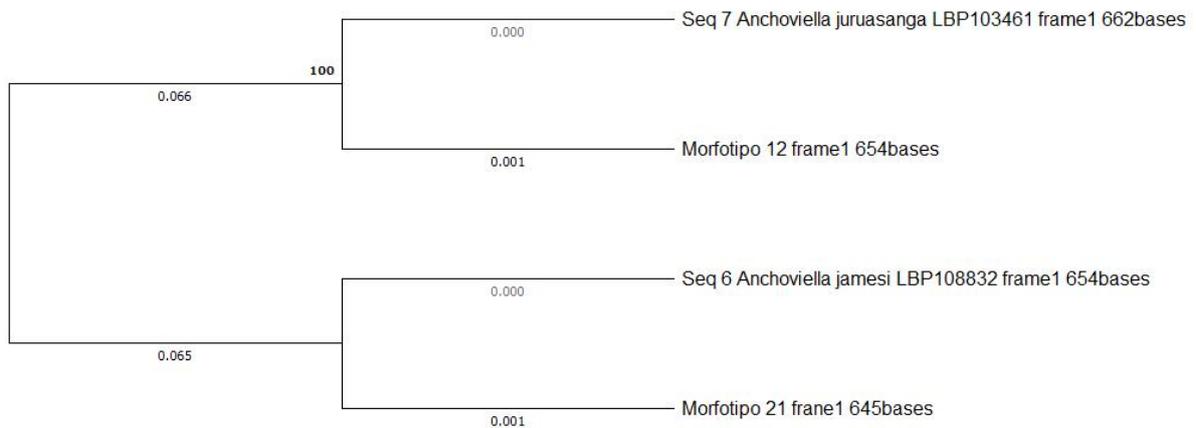


Figura 8. Dendrograma do morfotipos larvais 12 e 21 (M12 e M21) e espécies mais similares, gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).

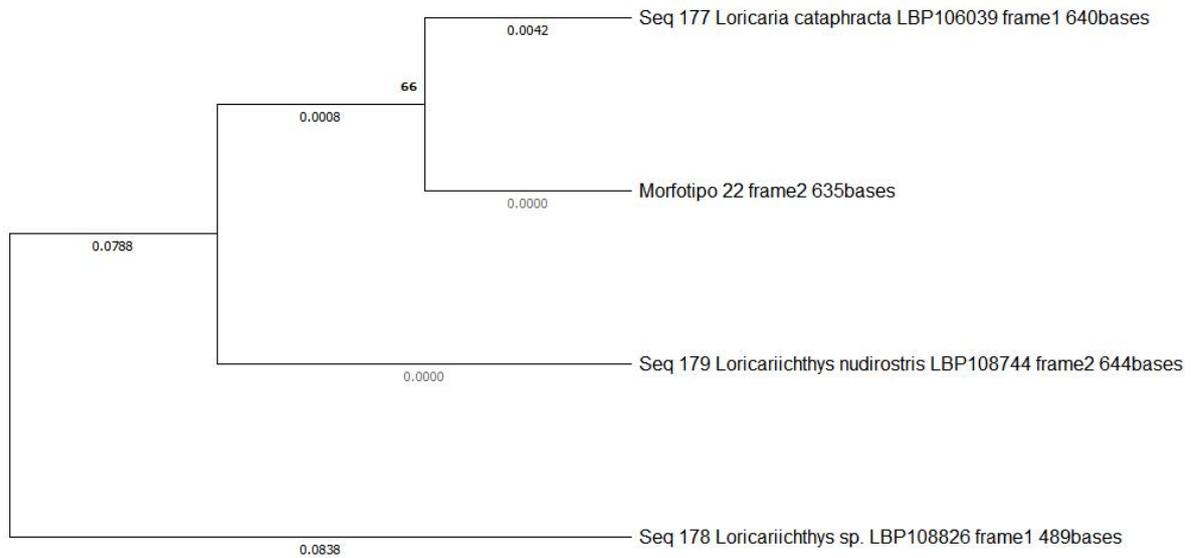


Figura 9. Dendrograma do morfotipo larval 22 (M22) e espécies mais similares, gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).



Figura 10. Dendrograma do morfotipo larval 24 (M24) e espécies mais similares, gerado pelo método de Neighbor-Joining, com valores de bootstrap (em negrito) obtidos em 1000 replicações. As distâncias genéticas foram calculadas pelo método de substituição nucleotídica Kimura 2-parâmetros (K2P).