



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO – UFRPE
UNIDADE ACADÊMICA DE SERRA TALHADA – UAST
BACHARELADO EM ENGENHARIA DE PESCA

CELSO ROMÁRIO GOMES DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DOS GENES 12S E 16S RNA RIBOSSOMAL COMO
MARCADORES BARCODE E NA FILOGENIA DE PEIXES NEOTROPICAIS**

SERRA TALHADA - PE

2026

CELSO ROMÁRIO GOMES DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DOS GENES 12S E 16S RNA RIBOSSOMAL COMO
MARCADORES BARCODE E NA FILOGENIA DE PEIXES NEOTROPICAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Bacharelado em Engenharia de
Pesca da Universidade Federal de Rural de
Pernambuco, como requisito parcial para
obtenção do título de Engenheiro de Pesca.

Orientador: Dr. Carlos Henrique dos Anjos dos
Santos

Coorientadora: B. Sc. Milena Maisa Nogueira
de Souza

SERRA TALHADA - PE

2026

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos
pelo(a) autor(a)

- S729a Souza, Celso Romário Gomes de.
Avaliação da eficiência dos genes 12s e 16s RNA ribossomal como marcadores barcode e na filogenia de peixes neotropicais / Celso Romário Gomes de Souza. – Serra Talhada, 2026.
99 f.; il.
- Orientador(a): Carlos Henrique dos Anjos dos Santos.
Co-orientador(a): Milena Maisa Nogueira de Souza.
- Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica Serra Talhada - UAST, Bacharelado em Engenharia de Pesca, Serra Talhada, BR-PE, 2026.
- Inclui referências e apêndice(s).
1. Genoma mitocondrial. 2. RNA Ribossômico. 3. Citocromo C Oxidase Subunidade I. 4. Código de barras de DNA 5. Peixes de água doce. I. Santos, Carlos Henrique dos Anjos dos, orient. II. Souza, Milena Maisa Nogueira de, coorient. III. Título

CELSO ROMÁRIO GOMES DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DOS GENES 12S E 16S RNA RIBOSSOMAL COMO
MARCADORES BARCODE E NA FILOGENIA DE PEIXES NEOTROPICAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Bacharelado em Engenharia de
Pesca da Universidade Federal de Rural de
Pernambuco, como requisito parcial para
obtenção do título de Engenheiro de Pesca.

Aprovado em: 10 /02/2026

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Carlos Henrique dos Anjos dos Santos
Universidade Federal Rural de Pernambuco

B.Sc. Ávila Daniel de Carvalho Barbosa
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Elton José de França
Universidade Federal Rural de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, em especial à Unidade Acadêmica de Serra Talhada, por toda a oportunidade e suporte durante a trajetória acadêmica.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Carlos Henrique dos Anjos dos Santos, pelo acompanhamento, orientações e paciência ao longo de todo o processo. Bem como, a minha coorientadora, Milena Nogueira e ao mestrando Ávila Daniel.

Agradeço grandemente a todos os Professores do curso, em especial José Carlos Pacheco (Zeca), Renata Akemi Shinozaki, Nivaldo Ferreira, Ugo Lima, Dráuzio Veras, Diógenes, Felipe Reis, bem como, ao eterno Ribamar (Professor de cálculo III).

Agradeço à minha Família, em especial à minha mãe (pessoa que mais amo nesse mundo) e aos meus amigos, em especial, Luma Cavalcanti, Vitória Barbosa, Dra. Priscila, Frank, Andreлина Fernandes, Raissa, Diogo, Irlânia e Romualdo, Yolanda e Bruno Aleixo pelo apoio constante, incentivo e compreensão, cada um à sua maneira, ao longo de toda a minha trajetória acadêmica. Por fim, agradeço à natureza e às leis que a regem, por inspirarem a busca pelo conhecimento.

A experiência deixa marcas que não
alteram o código, mas alteram sua leitura.
مكتوب.

RESUMO

A região Neotropical abriga a maior diversidade de peixes de água doce do planeta; contudo, a identificação taxonômica de linhagens enfrenta desafios significativos devido à complexidade morfológica e à escassez de dados genéticos, fenômeno conhecido como *Darwinian shortfall*. O presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial dos genes mitocondriais 12S e 16S RNA ribossomal (rRNA), como marcador de DNA barcoding complementar ao gene padrão Citocromo Oxidase Subunidade I (COI). Uma compilação e curadoria de mitogenomas completos disponíveis em bases públicas (GenBank e MitoFish) foram download e alinhados para o desenho “*in silico*” de primers universais para identificação taxonômica e reconstrução filogenética usando o método *Neighbor-Joining*. Os resultados revelaram a existência de uma lacuna nos dados do mitogenoma baixados: apenas 133 espécies neotropicais apresentaram sequências completas validadas para os três genes simultaneamente. As análises moleculares mostraram uma dicotomia funcional entre os marcadores, devido a cada marcador possuir taxas de evolução diferentes. O gene 16S rRNA destacou-se por maior robustez, permitindo ao par de primers recuperar com maior eficácia clados mais profundos (ordem e família). Já o gene 12S rRNA, embora útil filogeneticamente, apresentou maior taxa de *mismatches* nas regiões de design dos primers, possuindo assim maior número de bases degeneradas. Em contraste, o gene COI falhou na resolução de níveis taxonômicos superiores, mas manteve sua superioridade na distinção terminal das espécies. Conclui-se que nenhum marcador DNA barcoding isolado é suficiente para detecção taxonômica da complexa ictiofauna neotropical, recomendando-se uma estratégia integrativa usando ambos os genes mitocondriais para recuperar e identificar com maior eficácia as espécies de peixes neotropicais.

Palavras-chave: Genoma mitocondrial, Genes ribossomais, 12S e 16S rRNA; Citocromo C Oxidase Subunidade I; DNA barcoding; peixes neotropicais.

ABSTRACT

The Neotropical region harbors the highest diversity of freshwater fishes on the planet; however, the taxonomic identification of lineages faces significant challenges due to morphological complexity and the scarcity of genetic data, a phenomenon known as the Darwinian shortfall. This study aimed to evaluate the potential of the mitochondrial genes 12S and 16S ribosomal RNA (rRNA) as complementary DNA barcoding markers to the standard gene cytochrome c oxidase subunit I (COI). A compilation and curation of complete mitochondrial genomes available in public databases—GenBank and MitoFish—were downloaded and aligned for the *in silico* design of universal primers for taxonomic identification and phylogenetic reconstruction using the Neighbor-Joining method. The results revealed a gap in the available mitogenomic data: only 133 Neotropical species presented complete and validated sequences for all three genes simultaneously. Molecular analyses showed a functional dichotomy among the markers, largely due to their different evolutionary rates. The 16S rRNA gene stood out for its greater robustness, allowing the primer pair to recover deeper clades (order and family) more efficiently. In contrast, the 12S rRNA gene, although phylogenetically informative, showed a higher rate of mismatches in primer design regions, resulting in a greater number of degenerate bases. The COI gene, on the other hand, showed limitations in resolving higher taxonomic levels but maintained its superiority in the terminal discrimination of species. These results indicate that no single DNA barcoding marker is sufficient for the taxonomic detection of the highly complex Neotropical ichthyofauna. Therefore, an integrative strategy combining multiple mitochondrial markers is recommended to improve the recovery and identification of Neotropical fish species.

Keywords: Mitochondrial genome, Ribosomal genes, 12S and 16S rRNA, Cytochrome C Oxidase Subunit I, DNA barcoding, Neotropical fish.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1– Mapa de localização e delimitação da Região Neotropical, destacada em azul, abrangendo a América do Sul, América Central, México e o Caribe. O mapa principal apresenta a extensão espacial da região no continente americano, enquanto o mapa de inserção indica sua posição no contexto global. A base cartográfica foi obtida a partir de imagens de satélite (ESRI Satellite/Figshare), com sistema de coordenadas geográficas Datum SIRGAS 2000.....	17
Figura 2 – Reconstrução filogenética das 133 espécies analisadas baseada no gene mitocondrial 12S rRNA. A árvore foi construída pelo método de Neighbor-Joining (NJ) utilizando o modelo evolutivo de Kimura 2-parâmetros (K2P), com suporte estatístico de bootstrap calculado a partir de 1000 réplicas. As análises foram conduzidas no software MEGA e a edição gráfica realizada no iTOL. As cores dos clados distinguem as ordens taxonômicas identificadas: Characiformes, Siluriformes, Gymnotiformes, Cichliformes, Cyprinodontiformes, Gobiiformes, Osteoglossiformes e Myliobatiformes. A barra de escala (0.1) indica a distância genética (número de substituições de bases por sítio).	41
Figura 3– Reconstrução filogenética das 133 espécies analisadas baseada no gene mitocondrial 16S rRNA. A árvore foi construída pelo método de Neighbor-Joining (NJ) utilizando o modelo evolutivo de Kimura 2-parâmetros (K2P), com suporte estatístico de bootstrap calculado a partir de 1000 réplicas. As análises foram conduzidas no software MEGA e a edição gráfica realizada no iTOL. As cores dos clados distinguem as ordens taxonômicas identificadas: Characiformes, Siluriformes, Gymnotiformes, Cichliformes, Cyprinodontiformes, Gobiiformes, Osteoglossiformes e Myliobatiformes. A barra de escala (0.1) indica a distância genética (número de substituições de bases por sítio)..	43
Figura 4– Reconstrução filogenética das 133 espécies analisadas baseada no gene mitocondrial Citocromo c Oxidase I (COI). A árvore foi construída pelo método de Neighbor-Joining (NJ) utilizando o modelo evolutivo de Kimura 2-parâmetros (K2P), com suporte estatístico de bootstrap calculado a partir de 1000 réplicas. As análises foram conduzidas no software MEGA e a edição gráfica realizada no iTOL. As cores dos clados distinguem as ordens taxonômicas identificadas: Characiformes, Siluriformes, Gymnotiformes, Cichliformes, Cyprinodontiformes, Gobiiformes, Osteoglossiformes e Myliobatiformes. A barra de escala (0.1) indica a distância genética (número de substituições de bases por sítio).	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1– Composição nucleotídica e desenho esquemático dos primers universais Forward (F-12S) e Reverse (R-12S) para a amplificação do gene 12S rRNA. As linhas indicam a sequência consenso (incluindo bases degeneradas como Y e K) e a frequência absoluta de cada base nitrogenada (A, C, G, T) por posição, calculada a partir de 133 mitogenomas de peixes neotropicais de água doce. O primer amplifica a região central do gene mitocondrial 12S rRNA, com comprimento médio de 372 pares de bases (pb).....33

Tabela 2 –Composição nucleotídica e desenho esquemático dos primers universais Forward (F-16S) e Reverse (R-16S) para a amplificação do gene 16S rRNA. As linhas indicam a sequência consenso e a frequência absoluta de cada base nitrogenada (A, C, G, T) por posição, calculada a partir de 133 mitogenomas de peixes neotropicais de água doce. O primer amplifica a região central do gene mitocondrial 16S rRNA, com comprimento médio de 494 pares de bases (pb).....35

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	15
2.1	OBJETIVO GERAL	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3	REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1	A REGIÃO NEOTROPICAL	16
3.2	ICTIOFAUNA NEOTROPICAL	19
3.3	DNA MITOCONDRIAL	23
3.3.1	Citocromo C Oxidase Subunidade I – COI	24
3.3.2	Genes 12S e 16S RNA ribossomais	24
3.4	DNA BARCODING	25
4	METODOLOGIA	28
4.1	OBTENÇÃO E CURADORIA DOS DADOS	28
4.2	ALINHAMENTO E EDIÇÃO	28
4.3	DESENHO DE PRIMERS E AVALIAÇÃO DE COMPATIBILIDADE	28
4.4	ANÁLISE FILOGENÉTICA	29
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
	REFERÊNCIAS	53
	APÊNDICE A	87
	APÊNDICE B	97

1 INTRODUÇÃO

A região neotropical, um domínio biogeográfico de opulência incomparável, estendendo-se desde a porção sul Mexicana, passando pela América Central, as ilhas caribenhas, até alcançar as regiões mais austrais da América do Sul (Morrone, 2014). Essa região é atestada como um santuário de biodiversidade superlativa, onde a intrincada tapeçaria da vida se manifesta em uma miríade de formas e funções ecológicas (WCMC, 1992; Morrone et al., 2022). A profusão de vida neotropical, com sua imensa e singular variedade biológica, encontra seu motor na extraordinária diversidade de habitats e climas, que vão do tropical ao temperado (Antonelli et al., 2018a;b; Lima et al., 2018b). Tal riqueza, em grande medida, é um eco distante de tempos primevos, um legado insculpido na própria geologia do planeta, quando os continentes sul-americano e africano dançaram sua lenta e grandiosa separação, há mais de cem milhões de anos, resultando em uma enorme ilha continental (América do Sul) isolada das demais massas de terra por cerca de noventa milhões de anos, até se formar o istmo do Panamá, há menos de cinco milhões de anos (Vavrek, 2016; Amorim, 2024).

Dentro dessa megadiversidade, a ictiofauna de águas continentais destaca-se por sua exuberância, sendo a maior e mais diversa do planeta, com valores acima de 6.000 espécies descritas e estimadas em 9.000 (Dagosta; Pinna, 2019; Albert; Tagliacollo; Dagosta, 2020), representando 13% do conjunto de vertebrados mundiais (Buckup; Menezes; Ghazzi, 2007). O território brasileiro emerge como epicentro desta biodiversidade, abrigando mais de 2.580 espécies de peixes de água doce, distribuídas em uma ampla variedade de ecossistemas aquáticos continentais (Barletta et al., 2010; Buckup; Menezes; Ghazzi, 2007; Rossato; Oliveira, 2018). Não obstante a prolífica e recente irradiação evolutiva que moldou a ictiofauna neotropical, a elucidação taxonômica e o agrupamento filogenético de suas linhagens enfrentam desafios epistemológicos consideráveis (Hortal et al., 2015; Pelayo-Villamil et al., 2015; Cornwell et al., 2019; Freitas et al., 2020; Tagliacollo et al., 2024).

Assim, o elevado número de espécies não aparentes, aliado à dependência histórica de atributos morfológicos para o diagnóstico, pode falsear as verdadeiras relações evolutivas, obscurecendo a delimitação das linhagens (Nogueira et al., 2010; Chan et al., 2022), se agravando-se mais ainda com a falta de investimento em pesquisas (Troudet et al., 2017; Thomson et al., 2018). Paralelamente, as pressões antropogênicas impingidas sobre os ecossistemas aquáticos neotropicais exacerbam a vulnerabilidade dessas faunas, manifestando-se através de processos deletérios como a eutrofização, a contaminação química, as modificações hidrodinâmicas e a exploração pesqueira exacerbada, fatores estes que

comprometem a integridade e a resiliência dos habitats naturais (Agostinho; Thomaz; Gomes, 2005; Costa; Barletta, 2016; Winemiller et al., 2016; Anderson et al., 2018; Oliveira, 2019; Duponchelle et al., 2021, Pelicice; Castelo, 2021; Torremorell et al., 2021).

Tais modificações induzem transformações profundas na ictiofauna autóctone, promovendo o declínio da diversidade ictiológica e alterando significativamente tanto a composição quanto a abundância dos distintos grupos taxonômicos de peixes (Joppa et al., 2011; Zhang, 2011; Agostinho et al., 2015; Pelicice et al., 2017). Nesse contexto, o acompanhamento sistemático e contínuo das comunidades ictiológicas assume papel imprescindível para a elucidação das dinâmicas temporais da biodiversidade, bem como para embasar estratégias de manejo e conservação cada vez mais eficazes e fundamentadas cientificamente (Marques et al., 2018). Em face das complexidades impostas por tais circunstâncias, as metodologias de identificação molecular despontam como instrumentos de elevada eficiência e robustez (Chan et al., 2022).

Dentre as diversas abordagens disponíveis, sobressai-se o DNA barcoding, técnica molecular fundamentada na análise de um segmento reduzido e padronizado do material genético, possibilitando a identificação célere e precisa de espécies de peixes (Hebert et al., 2003). O gene mitocondrial Citocromo C Oxidase subunidade I (COI) é tradicionalmente empregado na identificação molecular de animais, devido à sua variabilidade genética suficiente para discernir entre espécies, enquanto mantém estabilidade intrínseca entre indivíduos da mesma espécie (Hebert et al., 2003; Bezerra, 2013). Entretanto, pesquisas contemporâneas evidenciam que outros marcadores mitocondriais, tais como os genes 12S e 16S RNA ribossomal, apresentam eficácia comparável, sobretudo na identificação de peixes e na análise de amostras ambientais por meio do DNA ambiental (eDNA) (Yang et al., 2014; Miya et al., 2015; Frable et al., 2016).

Estes *loci* alternativos caracterizam-se por conterem regiões hipervariáveis que ampliam sua capacidade discriminatória, tornando-os particularmente valiosos para aplicações em eDNAm metabarcoding voltadas ao monitoramento ambiental e à detecção molecular precisa em amostras ambientais (Satoh et al., 2016; Bevilaqua, 2018).

A aplicação do DNA barcoding no estudo da ictiofauna configura-se como uma ferramenta de inestimável valor, ao proporcionar uma identificação taxonômica mais precisa e ágil, permitindo simultaneamente revelar expansões geográficas até então não documentadas, identificar espécies negligenciadas ou ainda desconhecidas e desvelar a existência de táxons ocultos, cuja identificação se mostra inviável por métodos convencionais baseados em caracteres morfológicos (Ward; Hanner; Hebert, 2009; Ward, 2009; Weigt et al., 2012). Além

disso, esse método é rápido, confiável e custo relativamente baixo (Nobile et al., 2019; Polanco et al., 2021). Assim, as múltiplas vantagens intrínsecas ao DNA barcoding, que o impulsionaram como técnica paradigmática e amplamente incorporada às práticas contemporâneas de monitoramento da biodiversidade, evidenciando a necessidade de uma abordagem metodológica complementar para consolidar resultados robustos e abrangentes (Tresbach et al., 2015; Bhattacharya et al., 2016; Lam et al., 2024; Nunes et al., 2024).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial dos genes mitocondriais 12S e 16S rRNA como marcadores moleculares complementares ao COI na identificação e filogenia em peixes neotropicais.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Compilar e validar sequências dos genes 12S, 16S e COI de espécies de peixes neotropicais de água doce de bancos de dados públicos;
- Analisar o grau de conservação dos genes 12S e 16S rRNA identificando as regiões conservadas e informativas;
- Desenhar novos primers universais para os genes 12S e 16S rRNA com base em regiões conservadas;
- Avaliar a eficiência *in silico* dos primers desenhados, identificando os *mismatches* e a composição das bases degeneradas;
- Realizar uma reconstrução filogenética dos peixes neotropicais a partir dos genes mitocondriais COI, 12S e 16S rRNA;
- Avaliar a capacidade dos genes 12S e 16S rRNA de agrupar corretamente as famílias e ordens nas análises filogenéticas;
- Comparar o desempenho filogenético dos genes 12S e 16S rRNA com o gene COI, utilizado como marcador padrão, quanto à resolução interespecífica e à recuperação de clados monofiléticos.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 A REGIÃO NEOTROPICAL

Com a aceitação do pensamento evolucionista, inaugurado por Charles Darwin e Alfred Russel Wallace, tornou-se irrefutável a íntima relação entre a especificidade das faunas e floras continentais e as trajetórias evolutivas exclusivas, conforme elucidaram Colley e Fischer (2013) e Cox, Moore e Ladle (2019). As adaptações de cada espécie, portanto, não emergem isoladamente, mas são o resultado de intrincados entrelaçamentos entre fatores bióticos e abióticos, as delicadas teias das relações alelobióticas e ecobióticas, destacadas por Antonelli (2021). Neste âmbito, evidenciou-se que cada organismo possui seu território natural, sua pátria ecológica, onde a vida se perpetua em consonância com as exigências ambientais e climáticas (Borges, 2007; Queiroz, 2007). Ainda antes de Darwin e Wallace solidificarem o edificante arcabouço da Teoria da Evolução, pensadores como Treviranus (1803), Lamarck e Agostin de Candolle (1805), De Candolle (1820) e Schouw (1823) já almejaram demarcar regiões biológicas distintas, principalmente por meio do exame das floras e de ilustrações acuradas (Loidi; Vynokurov, 2024).

No campo da zoogeografia, Philip Sclater (1858) e Alfred Russel Wallace (1876) depuraram as ideias de precursores como Prichard (1826) e Swainson (1835) e desenharam as primeiras “Regiões Zoogeográficas”, baseando-se na distribuição dos animais e reconhecendo unidades como as regiões Neártica, Paleártica, Africana, Oriental, Neotropical e Australiana, zonas tomadas, em parte, dos domínios propostos por Engler (Beddard, 1895; Rueda; Rodríguez; Hawkins, 2013; Cox; Moore; Ladle, 2019). A contemporaneidade, com o avanço da sistemática e da biologia molecular, permitiu a Holt et al. (2013), analisando uma miríade de mais de vinte mil espécies animais, propor uma nova divisão biogeográfica com onze regiões, reconhecendo zonas de transição e corroborando a vasta extensão neotropical, que cobre quase toda a América do Sul, à exceção do extremo setentrional.

O neotrópico, por sua vez, é hoje universalmente reconhecido como um dos seis principais domínios biogeográficos, desde o sul do México até os confins austrais da América do Sul, incluindo o centro continental e insular americano (Ferrari, 2009; Goldani, 2010; Morrone, 2014; Morrone et al., 2022) (Figura 1).

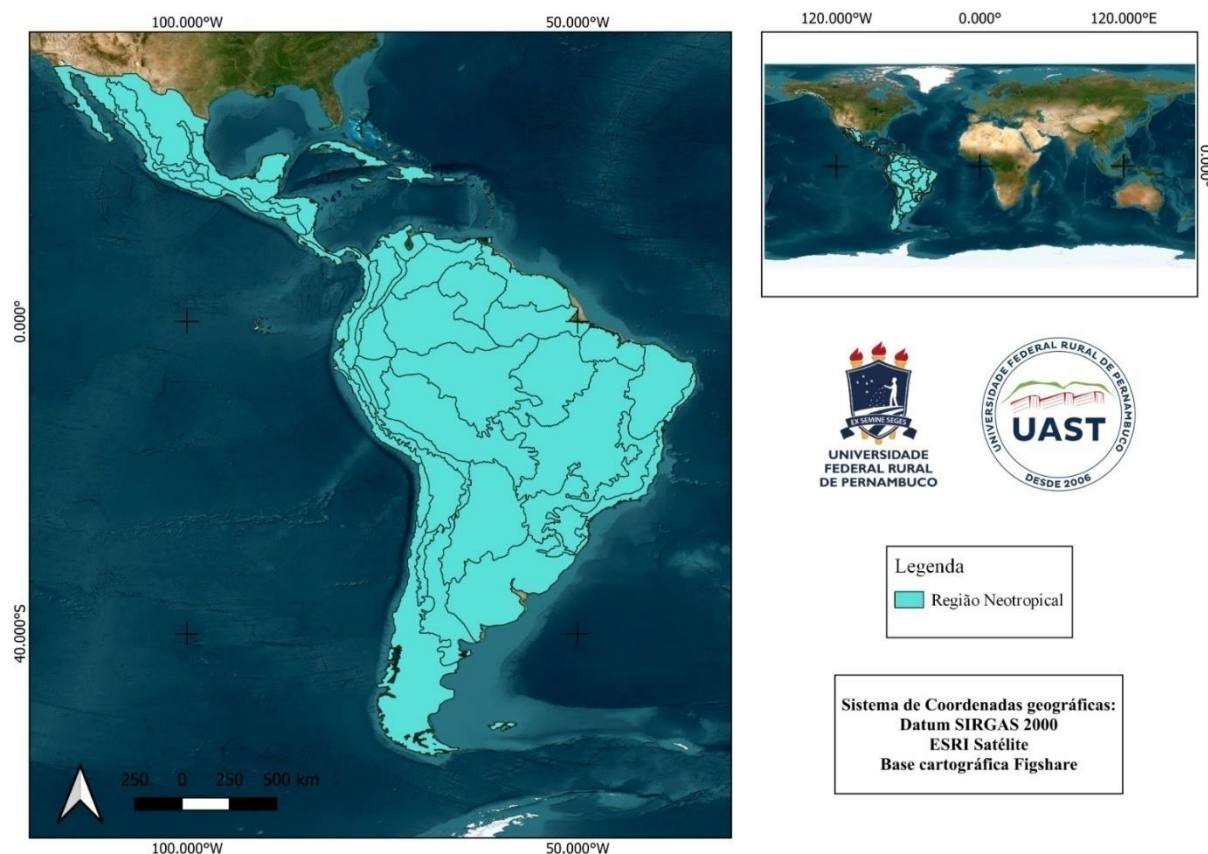


Figura 1 – Mapa de localização e delimitação da Região Neotropical, destacada em azul, abrangendo a América do Sul, América Central, México e o Caribe. O mapa principal apresenta a extensão espacial da região no continente americano, enquanto o mapa de inserção indica sua posição no contexto global. A base cartográfica foi obtida a partir de imagens de satélite (ESRI Satellite/Figshare), com sistema de coordenadas geográficas Datum SIRGAS 2000. A figura inclui escala gráfica (em quilômetros), orientação geográfica (seta do norte) e grades de coordenadas, garantindo a correta interpretação espacial da área representada. Fonte: Nogueira, 2025.

Particularmente no Brasil, sob o manto da Amazônia, concentram-se vastíssimos ambientes naturais, verdadeiros laboratórios naturais onde a vitalidade da vida se manifesta em formas insólitas e inumeráveis (Reis; Kullander; Ferraris, 2003; Joly, 2008; Morrone, 2013; Antonelli et al., 2018b). As florestas impenetráveis, savanas, campos de altitude, pântanos de escala continental, regiões áridas e campos rupestres compõem um caleidoscópio ecológico sem paralelo (Wallace, 1939; Zevallos, 1993; Lima et al., 2018b).

Somada a isso, temos a extraordinária rede hidrológica do neotrópico que não se resume a rios e lagos, mas abrange desde cursos de montanha e estuários periodicamente alagados até cavernas calcárias e rios subterrâneos, cada um deles ofertando condições muito próprias para a diversificação da vida (Albert; Reis, 2011; Antonelli et al., 2018c; Ríos-Touma; Ramírez, 2019). A dinâmica dessas águas, responsável por mais de 30% do aporte líquido aos oceanos mundiais, determina, através de suas singularidades químicas e físicas, influenciadas por solos, vegetações e geoquímica das nascentes, a composição das comunidades aquáticas (Silva et al., 2013; Bessonart et al., 2021).

Na configuração hidrológica, destacam-se a colossal bacia Amazônica, os emblemáticos rios Orinoco, Magdalena e Atrato, o São Francisco e o Paraíba do Sul, a bacia do Paraná, o Lago Titicaca, Maracaibo e o rio San Juan, entre muitos outros (Siqueira et al., 2018; Segnini-Flores et al., 2025). Cada sistema encerra histórias evolutivas distintas, legando ao cenário atual uma ímpar complexidade biológica (Lundberg et al., 1998; Graça et al., 2025). Ainda temos os rios Madeira, Marañon, Meta e Napo, que apresentam grandes quantidades de sedimentos, chamados de rios de águas brancas; os rios Atabapo, Japurá, Negro e Tefé, rios de águas negras, que contêm muitos taninos, e os rios que nascem em rochas cristalinas antigas e desgastadas dos Escudos da Guiana e do Brasil, como o Tapajós, Tocantins, Ventuari e Xingu, rios de águas claras (Muntz, 1978; Silva et al., 2013).

Já a América Central é marcada por uma vasta rede de 23 bacias hidrográficas transfronteiriças, cobrindo quase 37% de seu território e desaguando no Mar do Caribe, Oceano Pacífico e Golfo do México (Global WaterPartnership, 2016). Destacam-se as bacias do Rio San Juan (Nicarágua-Costa Rica) e do Rio Usumacinta (Guatemala-México) como as maiores em extensão, sublinhando a crucial interdependência hídrica entre as nações da região para a gestão de recursos, cooperação ambiental e desenvolvimento sustentável (Giot; Nietschmann, 1992; Canter, 2007; Quintana, 2024). Os rios do sul do México, essenciais à região, incluem o Usumacinta, que forma uma importante fronteira com a Guatemala e atravessa áreas de antiga civilização maia; o rio Grijalva, originário de Chiapas, que deságua no Golfo do México, o Lacantún, que corta a densa Selva Lacandona; e o Hondo, marcando a divisa com Belize ao desaguar no Caribe (Hudson et al., 2005; Pease, 2023). Além do rio Balsas, que nasce em Puebla e percorre longas distâncias até o Oceano Pacífico (Reimnitz; Gutiérrez-Estrada, 1970). A presença desses rios conecta ecossistemas montanhosos e costeiros, contribuindo para a biodiversidade e o equilíbrio ambiental, enquanto sustentam atividades econômicas essenciais que promovem o desenvolvimento sustentável de várias regiões (Toledo, 2003; SEMARNAT, 2008; Rico, 2019; Mejía-Ortíz et al., 2021). Tais circunstâncias hidrológicas catalisaram um prodigioso processo de especiação, conferindo ao neotrópico o primado da maior diversidade biológica do planeta, com índices de riqueza e endemismo sem equivalentes (Morrone, 2013; Antonelli et al., 2018a).

A gênese dessa opulência biológica remonta ao afastamento do continente sul-americano do bloco africano, fragmentação de Gondwana que propiciou longos períodos de isolamento, ensejando a emergência de faunas e floras peculiares e extraordinariamente adaptadas às paisagens cambiantes (USGS, 2001; Vavrek, 2016; Sobral-Souza; Lima-Ribeiro, 2017; Amorim, 2024). Embora o neotrópico não rivalize em extensão com outros domínios,

alberga a mais monumental riqueza de formas vivas do planeta (Carmo, 2021). Paradoxalmente, essa incomparável abundância é gravemente ameaçada (Agostinho; Thomaz; Gomes, 2005; Costa; Barletta, 2016; Winemiller et al., 2016; Oliveira, 2019; Duponchelle et al., 2021; Torremorell et al., 2021).

Uma análise recente da IUCN, avaliou que mais de 37 mil espécies neotropicais, estampa o cenário alarmante: ao menos um terço delas encontra-se sob o espectro da extinção, sendo a expansão agrícola e o uso insustentável da terra as principais molas propulsoras dessa erosão biológica (Antonelli, 2021). Profundas transformações vêm sendo impostas sobre a ictiofauna pela atividade humana, como alertam Agostinho, Thomaz e Gomes (2005), Agostinho et al. (2015), Marques et al. (2018); Oliveira (2019) e Ríos-Touma e Ramírez (2019), comprometendo não apenas a diversidade, mas a própria viabilidade ecológica dos rios e paisagens neotropicais. Desse modo, a história milenar do neotrópico, feita de singularidades geológicas, climas, ambientes e experimentação evolutiva, revela-se, ao mesmo tempo, obra-prima da natureza e desafio irrecusável para a conservação do patrimônio natural da humanidade (Antonelli, 2021).

3.2 ICTIOFAUNA NEOTROPICAL

Entre uma legião que ultrapassa cinquenta e cinco mil espécies de organismos vertebrados que povoam o globo, a diversidade dos peixes ósseos (Osteichthyes) erige como o conjunto mais vultoso e ubíquo, com um espectro que abarca de 31 a 35 mil espécies catalogadas, das quais aproximadamente 41% (~13.000 espécies) prosperam em biomas dulcícolas, enquanto a primazia numérica, estimada em cerca de 58%, reside nos vastos domínios marinhos (Kavalco; Pazza, 2008; Albert; Reis, 2011; Silva, 2016; Terra et al., 2021). A região Neotropical destaca-se notadamente neste panorama, pela sua rica e complexa ictiofauna de água doce, que contém um acervo superior a 6.080 espécies descritas, distribuídas em múltiplas ecorregiões e variados nichos ecológicos (Birindelli; Sidlauskas, 2018; Dagosta; Pinna, 2019; Albert; Tagliacollo; Dagosta, 2020; Albert et al., 2025).

Este caudaloso repositório equivale aproximadamente a treze por cento da biodiversidade planetária, congregando espécimes de mais de 20 ordens (Reis; Kullander; Ferraris, 2003). Predominam, sobremaneira, as ordens Characiformes, Siluriformes, Cyprinodontiformes, Cichliformes e Gymnotiformes, cujo soma excedente 90% da fauna dulcícola regional (Malabarba; Malabarba, 2020). Digna de nota é a preeminência do grupo monofilético Ostariophysi Otophysi, caracterizado por adaptações morfofuncionais singulares,

como o aparelho de Weber e a substância alarme, essencial à acuidade auditiva e comunicação química para alertar perigo entre esses peixes, respectivamente (Popper, 1971; Fink; Fink, 1981; Popper; Platt, 1983; Leal, 2008; Ladich; Schulz-Mirbach, 2016; Betancur-R et al., 2017). Fazendo parte da divisão primária, os Characiformes (peixes de escamas, ex.: piabas e dourados), Siluriformes (peixes de couro e cascudos) e os Gymnotiformes (peixes elétricos e companhia) compreendem o grupo dos Ostariophysi Otophysi neotropicais e, juntos, representam aproximadamente setenta e dois por cento da ictiofauna continentalneotrópica (Myers, 1949; Reis; Kullander; Ferraris, 2003).

A ordem Characiformes engloba um grupo significativo de peixes ósseos de água doce, somando mais de três mil espécies distribuídas em cerca de 24 famílias e mais de 300 gêneros (Toledo-Piza et al., 2024). Predominantemente encontrados nas águas da América Central e do Sul, e também na África, esses peixes compõem 31,2% da diversidade piscícola dulcícola neotropical (Malabarba; Malabarba, 2020), possuindo grande importância ecológica, econômica (sendo relevantes para o aquarismo e a pesca) e evolutiva, com destaque para famílias notórias como Characidae (*lato sensu*), Serrasalminidae e Anostomidae (Moreira, 2007; Mota; Prioli; Prioli, 2014), sendo a primeira a mais diversa, com mais de mil espécies (Mirande, 2010).

A Ordem Siluriformes, popularmente conhecida como bagres e peixes-gato, constitui um vasto e diversificado grupo de peixes ósseos, com mais de 3.800 espécies distribuídas em duas grandes subordens (Loricarioidei e Siluroidei, além de um grupo menor, os Diplomystidae, que é mais basal), mais de 35 famílias e mais de 400 Gêneros (Sullivan; Lundberg; Hardman, 2006; Betancur-R, 2009; MD; Robiul; Reza, 2013; Ballen; Pinna, 2021), constituindo uma parcela significativa da ictiofauna neotropical de água doce, correspondendo a 37,1% do total (Malabarba; Malabarba, 2020), sendo as famílias mais representativas, em especial na América do Sul, a Trichomycteridae; a Loricariidae e a Heptapteridae, as duas primeiras pertencentes a sub-ordemLoricarioidei e a última a Siluroidei (Sullivan; Lundberg; Hardman, 2006).

Encontrados globalmente em ambientes de água doce, marinhos e estuarinos, esses peixes se distinguem pela ausência de escamas (ou presença de placas ósseas), pelos característicos barbos sensoriais ao redor da boca e, frequentemente, por espinhos nas nadadeiras (Kailola, 1999; Acero, 2002; Marceniuk, 2005; Sabaj, 2005; Burger; Zanata; Camelier, 2011; Baumgartner et al., 2012; Calegari; Vari; Reis, 2019; Shibatta et al., 2021). Sua grande variação de tamanho e hábitos alimentares diversos lhes conferem importantes papéis ecológicos (Freitas et al., 2011; Ribeiro; Almeida; Carvalho-Neta, 2012; Agostinho et al., 2009; Freitas; Prudente; Montag, 2022), além de possuírem considerável relevância econômica na

pesca (Mateus; Penha, 2007), aquicultura (Gisbert et al., 2021; Segaran et al., 2023) e aquarismo (Sousa et al., 2025).

Para fechar o grupo dos Otophysi das recentes áreas tropicais, os Gymnotiformes, também chamados de peixes elétrico, endêmicos dos neotrópicos, compreendem 4,1% dos peixes de água doce dessa região, distribuídos em cinco (5) famílias, mais de trinta (30) gêneros e mais de 200 espécies, sendo as famílias Apterontidae e Sternopygidae as mais representativas (Albert, 2001; Ferraris Junior; Santana; Vari, 2017; Malabarba; Malabarba, 2020). Essa ordem inclui peixes de corpo alongado semelhante a uma faca, com a nadadeira anal longa que ocupa quase toda a região ventral, permitindo nado bidirecional; caracterizam-se pela ausência das nadadeiras dorsal e pélvicas, enquanto a nadadeira caudal pode estar ausente ou pouco desenvolvida em algumas espécies, quando presente, aparece como filamento ou estrutura óssea terminal em algumas famílias; além disso, possuem órgãos elétricos que permitem gerar descargas para navegação, comunicação ou defesa, o ânus situa-se na posição anterior ao corpo, e a pele pode exibir desde escamas ciclóides restritas até ausência completa dessas estruturas, variando entre as espécies (Stoddard, 2002; Albert; Crampton, 2005; Ramos, 2010; Bray; Alshami; Kudoh, 2022). Esses peixes são importantes para o entendimento da evolução das espécies (Darwin, 1859; Alves-Gomes et al., 1995; Faria-Pereira et al., 2019).

Para além dos Ostariophysi/Otophysi, outros grupos de peixes habitam a rede hidrológica continental dos neotrópicos, destacando-se alguns da divisão primária não Ostariophysi (Osteoglossiformes), e outros da divisão secundária, como os Cyprinodontiformes e os Cichliformes, que juntas correspondem aproximadamente 22%. E com um menor percentual, porém, com a mesma relevância, estão às ordens Atheriniformes, Gobiiformes, Clupeiformes, Myliobatiformes, Perciformes, Pleuronectiformes, Beloniformes, que juntas somam aproximadamente 5% de toda essa diversidade piscícola continental neotópica (Myers, 1938; Reis; Kullander; Ferraris, 2003; Malabarba; Malabarba, 2020; Cano-Barbacid; Olden; García-Berthou, 2024).

A disparidade quanto à distribuição espacial da ictiofauna neotropical é um testemunho da complexidade biogeográfica do continente sul-americano (Vari; Malabarba, 1998; Reis et al., 2016), onde o imponente sistema hidrográfico amazônico emerge como o epicentro dessa diversidade, concentrando a maior parte das espécies taxonomicamente validadas (Dagosta; Pinna, 2019). No entanto, outras bacias, como as do Paraná-Paraguai e das Guianas, juntamente com as do Orinoco, Magdalena, São Francisco e várias regiões costeiras, contribuem substancialmente para esse mosaico de vida aquática (Shibatta; Cheida, 2003; Lundberg et al., 1998; Lima; Caires, 2011).

A orla marítima sul-americana sustenta uma diversidade marinha notável, ocupada por uma riqueza que excede quatro mil espécies de peixes, correspondentes a 23% da composição faunística marinha global, dispersas por aproximadamente 30 mil quilômetros de litoral, onde a ordem Perciformes predomina expressivamente (Menezes et al., 2003; Miloslavich et al., 2011; Reis et al., 2016). Em contraste, a ictiofauna de água doce sul-americana reúne aproximadamente 5.160 espécies, o que corresponde a cerca de um terço de toda a biodiversidade dulcícola mundial, concentrada em apenas 12% da superfície terrestre, e sua intensa dinâmica taxonômica, com mais de cem novas espécies descritas por ano, evidencia de forma marcante a elevada riqueza e complexidade biológica da região (Reis et al., 2016). No panorama do Brasil, a riqueza piscícola ultrapassa 2.500 espécies distribuídas em diversos ecossistemas aquáticos dulcícolas, envolvendo 35 ordens e 45 famílias, com preponderância das famílias Characidae, Loricariidae, Cichlidae e Rivulidae, muitas das especificações por significativa taxa de endemismo e vulnerabilidade, especialmente aquelas de porte diminuto (Buckup et al., 2007; Kavalco; Pazza, 2008; Rossato; Oliveira, 2018; Castro; Polaz, 2020; Vieira, 2023).

A salvaguarda dessa riqueza biológica reveste-se de importância vital para a estabilidade funcional dos ecossistemas aquáticos, dado que cada espécie exerce papéis ecológicos fundamentais, tais como a regulação populacional de invertebrados e a disseminação de diásporos vegetais, até a dinâmica de nutrientes e o papel como indicadores da salubridade ecossistêmica (Sabino; Corrêa; Castro, 1989; Agostinho; Pelicice; Gomes, 2008; Belei et al., 2016; Noronha, 2018; Ribeiro; Pinheiro, 2018; Severo, 2021). No âmbito sociocultural, a ictiofauna desempenha papel essencial na subsistência e economia de inúmeras populações tradicionais, cuja identidade cultural está intrinsecamente ligada à pesca, atividade primordial com vistas à garantia da segurança alimentar e à sustentação econômica de coletividades indígenas e ribeirinhas (Batistella; Castro; Vale, 2005; Camargo; Júnior; Estupiñan, 2012; Hallwass, 2015; Lopes; Matos; Freitas, 2023; Begossi; Silvano, 2024).

Contudo, a fauna ictiológica neotropical defronta-se com ameaças significativas de atividades antrópicas, as quais transfiguram os habitats naturais (Oliveira; Bennemann, 2005; Andreotti, 2024). Estas incluem a poluição, a eutrofização, a modificação da dinâmica hidrológica, a inserção de táxons alóctones, a exploração excessiva e as interrupções nas condições limnológicas, culminando em mudanças na composição e no declínio da diversidade taxonômica nativa (Agostinho et al., 2005; Nilsson et al., 2005; Agostinho et al., 2015; Souza et al., 2021).

Ante este cenário, o monitoramento contínuo das assembleias de peixes torna-se

fundamental na compreensão das flutuações temporais da biodiversidade, o que possibilita a fundamentação de estratégias de conservação, manejo e gestão destinadas à perpetuação da ictiofauna neotropical (Vitule, 2009; Marques et al., 2018). As estratégias incluem a criação de passagens para peixes, áreas protegidas, planos de manejo sustentável da pesca, repovoamento com espécies nativas, recuperação de matas ciliares e programas de educação ambiental (Vieira; Silva; Toledo, 2005; Martins, 2023).

3.3 DNA MITOCONDRIAL

A mitocôndria é uma organela citoplasmática essencial, cuja origem remonta a um evento endossimbiótico ancestral (Archibald, 2015), sendo responsável pela produção de energia celular através da fosforilação oxidativa (Martin et al., 2015; Torres, 2020). Uma característica distintiva desta organela é a posse de um genoma próprio (mtDNA), que em metazoários apresenta-se como uma molécula de DNA circular, fechada covalentemente e de fita dupla (Boore, 1999; Lima et al., 2011). O tamanho deste genoma em peixes teleósteos é notavelmente conservado, variando tipicamente entre 16.000 e 17.000 pares de bases (pb), embora variações de comprimento possam ocorrer principalmente na região controle (Saccone, 1994; Satoh et al., 2016).

Diferente do genoma nuclear, o mtDNA é caracterizado por uma estrutura extremamente compacta, com ausência quase total de sequências não codificadoras, íntrons ou pseudogenes, resultando em uma densidade gênica elevada (Zardoya; Meyer, 1996; Ferreira; Rodríguez, 2024). Sua organização genealógica padrão compreende 37 genes, sendo 13 codificadores de proteínas do complexo respiratório, 22 genes de RNA transportador (tRNA) e 2 genes de RNA ribossomal (rRNA) (Taanman, 1999; Falkenberg, 2018; Yasukawa, 2018). Além da compactidade, o mtDNA exibe herança predominantemente materna e haploide (Sato; Sato, 2013; Rojansky; Cha; Chan, 2016), característica que impede a recombinação homóloga e preserva a integridade das linhagens clonais (Amorim; Fernandes; Taveira, 2019), enquanto sua localização em múltiplas cópias por célula (Castellani et al., 2020) favorece a recuperação de sequências, consolidando sua ampla aplicabilidade como marcador em estudos filogenéticos e sistemáticos (Avise et al., 1987; Finnegan; Lima; Lynch, 2025; Huda; Kabir; Rabbane, 2025). Evolutivamente, a taxa de substituição nucleotídica no mtDNA animal é estimada em ser 5 a 10 vezes superior à do DNA nuclear de cópia única, devido à ineficiência dos mecanismos de reparo do DNA mitocondrial e à alta exposição a espécies reativas de oxigênio (Brown et al., 1979; James; Walker, 2020; Shokolenko; Alexeyev, 2022).

3.3.1 Citocromo C Oxidase Subunidade I – COI

O gene mitocondrial que codifica a subunidade I do Citocromo c Oxidase (COI) representa uma das regiões mais conservadas e funcionalmente críticas do genoma mitocondrial de metazoários (Pentinsaari et al., 2016). Em peixes teleósteos, este gene possui um comprimento total aproximado de 1.550 pares de bases (pb) e desempenha um papel central no metabolismo energético, codificando a subunidade catalítica primária da enzima terminal da cadeia transportadora de elétrons (Saraste, 1990; Satoh et al., 2016).

Uma característica estrutural determinante do COI em vertebrados é a ausência de íntrons (sequências não codificadoras intervenientes), o que resulta em uma molécula linear e contínua, facilitando significativamente a amplificação e o alinhamento de sequências quando comparado a genes nucleares segmentados (Hebert et al., 2003). A evolução molecular deste gene segue um padrão de substituição nucleotídica tendenciosa, concentrada predominantemente na terceira posição dos códons (posição de "wobble") (Ward et al., 2005). Devido à degeneração do código genético, mutações nesta posição são frequentemente sinônimas (silenciosas), ou seja, alteram a sequência de DNA sem modificar a sequência de aminoácidos da proteína resultante (Freitas, 2013; Mukundan et al., 2022).

3.3.2 Genes 12S e 16S RNA Ribossomais

Os genes mitocondriais ribossomais 12S rRNA e 16S rRNA integram o genoma mitocondrial dos vertebrados e codificam RNAs estruturais essenciais para a formação do ribossomo mitocondrial, atuando diretamente no processo de tradução (Anderson et al., 1981; Greber; Ban, 2016). Devido à sua relevância biológica, tais genes estão sujeitos a rigorosas restrições funcionais que favorecem a conservação de suas sequências, uma vez que, sendo não codificantes, sua função exige estabilidade conformacional, sendo essa, assegurada por estruturas secundárias específicas, compostas por pareamentos de bases intercalados com regiões não pareadas (Mindell; Honeycutt, 1990; Wang; Lee, 2002).

O 12S rRNA, associado à subunidade menor do ribossomo mitocondrial, apresenta maior grau de conservação estrutural e comprimento relativamente menor, geralmente em torno de 800 a 950 pares de bases, enquanto o 16S rRNA, componente da subunidade maior, é mais extenso, com aproximadamente 1.500 a 1.700 pares de bases, e exibe uma combinação de regiões conservadas e segmentos mais variáveis, conferindo-lhe maior flexibilidade evolutiva (Yang et al., 2014).

3.4 DNA BARCODING

Em fevereiro de 2003, uma equipe de pesquisadores, liderados por Hebert, padronizou um código de barra do DNA para determinação taxonômica de organismos utilizando o fragmento da subunidade do Citocromo Oxidase I (COI). Assim, um trecho de ~650 pares de bases do gene mitocondrial, COI, vem sendo executado com destreza na discriminação ictiológica, com um índice superior a 90% (Hebert et al., 2003; Andújar et al., 2018). O DNA mitocondrial ascende como um recurso profícuo e polivalente na sistemática e conservação de organismos, devido a sua rápida taxa evolutiva, herança monoparental e da facilidade de obtenção em amostras deterioradas, pois existe material em abundância (Yang et al., 2014; Filonzi et al., 2023). Tal metodologia marca um progresso significativo sobre às técnicas morfológicas tradicionais, superando obstáculos como a complexidade taxonômica, os diferentes estágios ontogenéticos, as características sexuais secundárias e a exigência por especialistas altamente qualificados para identificações precisas (Tautz et al., 2002; Armstrong; Ball, 2005; Sheth; Thaker, 2017; Panprommin et al., 2023).

Desde a proposição audaciosa de Hebert e seus coautores, essa abordagem metodológica vem sendo extensivamente aplicada em distintos contextos, servindo a campos de pesquisa dedicados à pluralidade das manifestações biológicas como, cianobactérias (Kurobe et al., 2013), plantas (CBOL, 2009; Chen et al., 2010; Vere et al., 2015; Lima et al., 2018a), fungos (Xu, 2016; Badotti et al., 2017; Lücking et al., 2020), invertebrados (Meusnier et al., 2008; Chan et al., 2022; Takenaka et al., 2023), aves (Hajibabaei et al., 2006), peixes (Ward et al., 2005; Bingpeng et al., 2018; Haldar; Nath, 2020; Widayantia et al., 2024; Ashour; Ahmed; Abass, 2025), quelônios (Vargas; Araújo; Santos, 2009), mamíferos (Francis et al., 2010) dentre outros (Hebert et al., 2004; Koroiva; Santana, 2022; Wang et al., 2023), tendo aplicabilidade desde questões ambientais (Bunholi et al., 2018; Ali; Ismail; Aly, 2020; Santana et al., 2023) até setores econômicos (Ardura et al., 2010; Keskin; Atar, 2013; Iyiola et al., 2018) e forense (Gois, 2021; Kamiguchi; Rocha; Tremori, 2023; Costa et al., 2024).

Nos neotrópicos, especificamente nos ambientes dulcícolas do Brasil, a estratégia tem sido essencial para revelar a variação genética de peixes. Estudos notáveis incluem a revelação de diferenciação genética em *Salminus* (Machado et al., 2016), a eficaz identificação de ovos de peixes (Becker et al., 2015; Lima et al., 2020), a elucidação da taxonomia complexa de *Schizodon* (Ramirez et al., 2020) e a evidenciação de novas linhagens em *Astyanax* (Oliveira et al., 2024; Rosso et al., 2012). Outrossim, permitiu confirmar relações filogenéticas em *Paracheirodon* e *Hoplias malabaricus* (Jacobina et al., 2018; Bittencourt et al., 2020),

respectivamente, e geração ou elaboração de bibliotecas de códigos de barras biológico para alguns táxons (Janzen; Crampton; Lovejoy, 2022; Posada-López et al., 2023).

Ainda que uma parte expressiva dos estudos desenvolvidos com animais, utilize o gene COI como marcador único (Pereira et al., 2013; Ramirez et al., 2017; Muhala et al., 2024) ou principal (Kress et al., 2015) na identificação de inúmeros táxons, há situações atípicas em que a eficiência ou potencial do gene para diferenciar espécies é comprometida, podendo ter desempenho limitado (Buhay, 2009; McFadden et al., 2010; Chee, 2015; Serite et al., 2021; Zangaro et al., 2021). Sendo ainda, bastante limitado na metabarcodificação (Deagle et al., 2014; Piñol et al., 2014; Elbrecht; Leese, 2015). Todavia, outros genes alternativos vêm sendo aplicados como código de barra barcode, como por exemplo, os genes mitocondriais 12S e 16S rRNA (RNA ribossomal) (Machida; Kweskin; Knowlton, 2012; Yang et al., 2014; Miya et al., 2015; Frable et al., 2016; Hossain et al., 2019), e os resultados foram notavelmente eficazes na detecção molecular de múltiplas espécies de peixes, principalmente em amostras ambientais (inglês, environmental DNA ou eDNA) (Milan et al., 2020).

O 12S rRNA ou *rrnS* é ideal para o metabarcoding de eDNA, em razão de sua aptidão para amplificação universal e fragmentos curtos, permitindo quantificação precisa e rastreamento de diversidade críptica, inclusive em amostras degradadas, com uso disseminado no metabarcoding (Shu, Ludwig; Peng, 2021; Stoeckle; Ausubel; Coogan, 2022; Corral-Lou; Doadrio, 2023; Hilário et al., 2023; Teixeira et al., 2023). O mesmo consegue amplificar sequências nos mais distintos conjuntos de metazoários e, simultaneamente apresenta alta resolução para distinguir táxons próximos, inclusive espécies recentemente divergentes, mantendo ampla abrangência na resolução de espécies únicas (Kuyl et al., 2002; Li et al., 2010; Machida; Tsuda, 2010; Böttger-Schnack; Machida, 2011).

O 16S rRNA ou *rrnL*, conseqüentemente, exibe regiões pouco conservadas, o que contribui na elucidação de árvores filogenéticas, apresentando efetividade na distinção de espécies morfologicamente semelhantes, formas de vida primevas e em contextos nos quais a amplificação do gene COI se mostra complexa, (Saitoh et al., 2016; Silva-Neto, 2019; Habib et al., 2021; Simões et al., 2023). O mesmo ainda possui regiões altamente conservadas entre grupos distintos, sendo muito útil na elaboração de primers universais (Horreo et al., 2012). E, em alguns casos apresenta resolução superior ao COI (Vences et al., 2005; Clarke et al., 2014; Elbrecht et al., 2016). Sendo utilizado até em metabarcoding (Vences et al., 2016).

O DNA barcoding é um método que usa um curto e padronizado segmento de DNA, que se mostra quase idêntico entre coespecíficos, mas suficientemente diferente para segregar espécies distintas, sendo seu tamanho reduzido (400 – 800pb) e suas regiões delimitadas,

cruciais para simplificar a análise e replicação em laboratório (Kress; Erickson, 2008). Um marcador barcode ou metabarcoding ideal deverá possuir uma extensa biblioteca de referência, na qual está disponível hoje em dia para o gene COI, mas a baixa especificidade dos primers para esse gene tem dificultado a aplicação na prática, enquanto, inversamente, os primers para o gene 12S tem oferecido uma alta especificidade, mas carecem de referências adequadas (Collins et al., 2019).

Pesquisas recentes têm buscado desenvolver primers universais para peixes e outros vertebrados, focando em regiões mitocondriais que apresentam regiões conservadas flanqueando áreas variáveis, facilitando o desenho de primers degenerados capazes de amplificar múltiplas espécies (Ivanova et al., 2007; Cawthorn; Steinman; Witthuhn, 2012; Fernandes et al., 2018; Hossain et al., 2019; Jennings et al., 2019; Wang et al., 2023). Em face do exposto, os genes mitocondriais 12S e 16S rRNA vêm sendo utilizados como DNA metabarcoding, principalmente por possuírem regiões hipervariáveis, que tornam esses genes potenciais marcadores barcode no reconhecimento de espécies (Satoh et al., 2016). Em conjunto, esses marcadores ampliam a proficiência do DNA Barcoding de determinar espécies, mapear distribuições e resolver desafios taxonômicos onde os métodos tradicionais são insuficientes (Ward; Hanner; Hebert, 2009; Tiralongo et al., 2020).

4 METODOLOGIA

4.1 OBTENÇÃO E CURADORIA DE DADOS

As sequências mitocondriais dos genes COI, 12S rRNA e 16S rRNA foram obtidas a partir das bases de dados MitoFish (MitochondrialGenomeDatabaseofFish) e NCBI GenBank (National Center for BiotechnologyInformation – GenBank), selecionando-se peixes neotropicais de água doce com taxonomia validada pelo Eschmeyer'sCatalogofFishes. Foram compilados dados de mitogenomas completos e fragmentos dos genes 12S rRNA, 16S rRNA e COI. As sequências validadas foram baixadas no formato FASTA e organizadas em três conjuntos independentes: um contendo exclusivamente as sequências do gene COI, uma contendo as sequências do gene 12S rRNA e outro contendo as sequências do gene 16S rRNA, abrangendo todas as espécies selecionadas.

4.2 ALINHAMENTO E EDIÇÃO

As múltiplas sequências foram alinhadas utilizando os algoritmos MAFFT (Multiple Alignmentusing Fast Fourier Transform) e DAMBE (Data Analysis in Molecular Biologyand Evolution),com refinamento manual no BioEdit (BiologicalSequenceAlignment Editor).Antes do alinhamento das sequências foram realizados ajustes na direção das sequências nucleotídicas nas direções 3'-5' ou 5'-3', usando o programa MAFFT que testou qual direção dará o melhor alinhamento. O ajuste na direção das sequencias nucleotídicas são necessárias quando as sequências são baixadas da internet.

4.3 DESENHO DE PRIMERS E AVALIAÇÃO DE COMPATIBILIDADE

O desenho dos primers universais para os genes 12S e 16S rRNA foi realizado inicialmente por meio de inspeção visual dos alinhamentos múltiplos, buscando regiões conservadas que flanqueassem segmentos variáveis informativos. Para assegurar a eficiência físico-química da reação de amplificação, os oligonucleotídeos candidatos tiveram suas propriedades termodinâmicas e estruturais avaliadas através da ferramenta OligoAnalyzer™ Tool (Integrated DNA Technologies). Foram verificados parâmetros críticos como a temperatura de melting (T_m), o conteúdo de GC e a propensão à formação de estruturas secundárias, incluindo hairpins e dímeros. Para o refinamento e seleção final do conjunto de primers, foram adotados quatro critérios rigorosos de exclusão: (1) a região de anelamento deveria corresponder a regiões homólogas validadas na literatura científica; (2) o par de primers deveria manter o tamanho do fragmento esperado para amplificação; (3) ausência de falhas críticas de alinhamento na região-alvo; e (4) exclusão de sequências que apresentassem

instabilidade excessiva, definida como a presença de cinco ou mais gaps ou mismatches na região de ligação.

A validação da cobertura taxonômica seguiu a abordagem metodológica descrita por Miya et al. (2015), consistindo na comparação direta entre as sequências dos primers selecionados e os alinhamentos das espécies. Para tanto, foram elaboradas matrizes para mapear manualmente a frequência e a posição dos mismatches, validando a compatibilidade teórica com a ictiofauna neotropical.

4.4 ANÁLISE FILOGENÉTICA

A reconstrução das árvores foi conduzida no software MEGA através do método Neighbor-Joining (NJ), utilizando o modelo evolutivo Kimura 2-Parameter (K2P) e teste de bootstrap com 1.000 repetições, tendo visualização e edição final feitas no iTOL. A eficiência dos genes 12S e 16S foi determinada comparativamente ao COI, avaliando-se a recuperação de monofilias recíprocas e a resolução taxonômica dos clados obtidos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O levantamento inicial realizado nas plataformas MitoFish, FishBase e GenBank/NCBI resultou em milhares de registros de sequências mitocondriais de peixes. Entretanto, após a aplicação rigorosa dos critérios de qualidade estabelecidos para este estudo, incluindo a exigência de genomas mitocondriais completos ou genes completos (COI, 12S rRNA e 16S rRNA), foram selecionadas apenas 133 espécies de peixes de água doce da região Neotropical que atenderam simultaneamente a todos os requisitos (Apêndice A). As 133 espécies selecionadas estão distribuídas em oito ordens e 33 famílias (Apêndice B). Observou-se uma predominância marcante da ordem Characiformes, que concentrou o maior número de espécies no banco analisado. As famílias Acestrorhamphidae, Prochilodontidae, Bryconidae, Serrasalminidae e Anostomidae apresentaram maior representatividade.

A ordem Siluriformes constituiu o segundo grupo mais diverso em número de espécies com genomas mitocondriais completos disponíveis, abrangendo famílias como Callichthyidae, Loricariidae, Pimelodidae e Pseudopimelodidae. A ordem Cichliformes foi representada exclusivamente pela família Cichlidae, com 29 espécies. As ordens Cyprinodontiformes, Gobiiformes, Gymnotiformes, Osteoglossiformes e Myliobatiformes apresentaram menor número de representantes, variando de uma a três espécies por grupo. Entre essas, destacam-se espécies como *Hemieleotris latifasciata*, *Apteronotus albifrons*, *Brachyhypopomus occidentalis*, *Potamotrygon orbignyi*, *Potamotrygon falkneri*, *Potamotrygon magdalenae*, *Arapaima gigas* e *Osteoglossum bicirrhosum*.

Foram identificadas espécies classificadas nas categorias Vulnerável (VU), Em Perigo (EN), Criticamente Em Perigo (CR) e Quase Ameaçada (NT), segundo a IUCN, incluindo *Ichthyoelephas longirostris*, *Orestias laucaensis*, *Brycon orbignyanus* e *Potamotrygon magdalenae*.

Quanto à distribuição geográfica, as espécies selecionadas representam os principais sistemas hidrográficos da região Neotropical, incluindo as bacias dos rios Amazonas, Orinoco, São Francisco, Paraná–Paraguai, Magdalena, Guianas, além de sistemas costeiros brasileiros e bacias transandinas.

O número reduzido de espécies que atenderam aos critérios estabelecidos, frente às mais de 6.000 espécies de peixes descritas para a região Neotropical, evidencia uma expressiva lacuna na disponibilidade de dados moleculares (Albert; Reis, 2011; Jézéquel et al., 2020). Esse resultado destaca um importante viés na representatividade genética da ictiofauna neotropical,

especialmente considerando que a região é reconhecida como um dos maiores centros de diversidade de peixes de água doce do planeta (Reis et al., 2016).

A recuperação limitada de genomas mitocondriais completos constitui, por si só, um achado relevante, pois reflete padrões clássicos de *Darwinian shortfall*, nos quais a cobertura de dados genéticos permanece insuficiente, sobretudo para espécies endêmicas ou pouco amostradas (Nakamura et al., 2025). Esse cenário frequentemente se associa a outras lacunas de conhecimento, como o *Wallacean shortfall*, relacionado à distribuição geográfica incompleta, e o *Raunkiaeran shortfall*, referente à escassez de informações funcionais (Hortal et al., 2015). Essa limitação de dados impacta diretamente a robustez das inferências filogenéticas, dificulta a delimitação taxonômica de grupos problemáticos e restringe a construção de bancos de referência confiáveis para aplicações como DNA barcoding e biomonitoramento por eDNA (Specchia et al., 2020; Teixeira et al., 2025). Assim, a ampliação de esforços em sequenciamento genômico, integrada a dados ecológicos e biogeográficos, torna-se essencial para uma compreensão mais abrangente da biodiversidade aquática neotropical (Civade et al., 2016).

A predominância de Characiformes e Siluriformes no conjunto de dados refletem tanto sua elevada diversidade real quanto um viés histórico de amostragem direcionado a grupos de maior interesse ecológico, econômico ou ornamental (Albert; Crampton, 2010; Pio; Carvalho, 2021; Souza et al., 2022; Melo et al., 2024). Em contraste, a baixa representatividade de ordens como Gymnotiformes, Osteoglossiformes e Myliobatiformes ressalta a necessidade de investimentos direcionados para linhagens evolutivamente distintas, porém subamostradas.

A disponibilidade de genomas mitocondriais completos possibilita análises mais precisas de divergência molecular, relações filogenéticas profundas e padrões evolutivos, reforçando o papel das bases de dados públicas como ferramentas estratégicas para estudos de genética da conservação (Miya et al., 2015; Volanandiana et al., 2025). Nesse contexto, a inclusão de espécies ameaçadas no banco compilado representa um avanço significativo, fornecendo subsídios diretos para ações de manejo, delimitação populacional e identificação genética em programas de conservação (Santana et al., 2023; Hoban et al., 2024; Zhou et al., 2025).

Além disso, a ampla representatividade geográfica das espécies selecionadas fortalece o potencial comparativo do conjunto de dados, permitindo que análises filogenéticas e genéticas reflitam a heterogeneidade ambiental e biogeográfica característica da região Neotropical (Kocher, 2004; Henning; Meyer, 2014; Teresa; Rodrigues-Filho; Leitão, 2021). A combinação do gene COI, amplamente utilizado em DNA barcoding, com os genes ribossomais 12S e 16S

rRNA, reconhecidos por sua aplicabilidade em estudos filogenéticos e metabarcoding ambiental, constitui um arcabouço robusto para análises taxonômicas e evolutivas integradas (Hebert et al., 2003; Miya et al., 2015; Elbrecht et al., 2016).

Em conjunto, os resultados evidenciam não apenas a distribuição desigual dos dados moleculares disponíveis, mas também o papel central de bancos genômicos bem estruturados na redução de lacunas taxonômicas e no aprimoramento da acurácia de análises filogenéticas e de identificação molecular na ictiofauna neotropical, uma das mais diversas e, paradoxalmente, uma das mais subamostradas do planeta (Skorupski, 2022; Melo-Ximenes et al., 2024; Volanandiana et al., 2025).

Os primers desenhados para os genes mitocondriais 12S e 16S rRNA apresentaram comprimento entre 21 e 26 pares de bases (pb), com o conjunto do 12S exibindo apenas uma base degenerada, posicionada distante da extremidade 3'. A composição nucleotídica apresentou conteúdo de GC variando entre 42,3% e 59,1%, resultando em temperaturas de melting (T_m) estimadas entre 50 e 65 °C, com diferença inferior a 5 °C entre os primers forward e reverse. Não foram identificados homopolímeros longos nem estruturas secundárias estáveis, como hairpins, ao longo dos sítios de anelamento.

A eficiência dos genes 12S e 16S rRNA como marcadores moleculares foi avaliada por meio da análise da composição nucleotídica e da distribuição de mismatches nos sítios de anelamento dos primers, considerando 133 espécies de peixes neotropicais.

Para o gene 12S rRNA, o primer forward (22 pb) apresentou ausência de mismatches em apenas nove posições, com elevada variabilidade nucleotídica distribuída ao longo da sequência, incluindo a região 3'. A base degenerada Y (C/T), posicionada na terceira base, mostrou-se incompatível com a maioria das espécies, que apresentaram guanina (G) nesse sítio. No total, foram registrados mais de 800 mismatches, com variação no número de espécies afetadas entre 1 e 132, evidenciando baixa conservação da região-alvo. O primer reverse (26 pb) do gene 12S rRNA também apresentou desempenho limitado, com 243 mismatches registrados. A base degenerada K (G/T) concentrou aproximadamente metade das incompatibilidades observadas, uma vez que a maioria das espécies apresentou adenina ou citosina nesse sítio. Esses resultados indicam elevada heterogeneidade interespecífica nas regiões de anelamento selecionadas para o gene 12S rRNA (Tabela 1).

Tabela 1—Composição nucleotídica e desenho esquemático dos primers universais Forward (F-12S) e Reverse (R-12S) para a amplificação do gene 12S rRNA. As linhas indicam a sequência consenso (incluindo bases degeneradas como Y e K) e a frequência absoluta de cada base nitrogenada (A, C, G, T) por posição, calculada a partir de 133 mitogenomas de peixes neotropicais de água doce. O primer amplifica a região central do gene mitocondrial 12S rRNA, com comprimento médio de 372 pares de bases (pb).

água doce. O primer amplifica a região central do gene mitocondrial 12S rRNA, com comprimento médio de 372 pares de bases (pb).																												
Primer f- 12s	5'	G	G	Y	C	G	G	T	A	A	A	T	A	C	T	C	G	T	G	C	C	A	G	3'				
	A	1	27	0	0	1	1	0	1	122	133	131	125	0	0	0	0	0	0	0	0	133	0					
	C	0	0	2	60	123	0	0	3	4	0	0	1	97	3	133	0	0	0	133	133	0	0					
	G	132	106	131	0	2	132	131	0	0	0	0	0	0	1	0	133	0	133	0	0	0	133					
	T	0	0	0	73	7	0	2	129	7	0	2	7	36	129	0	0	133	0	0	0	0	0					
Primer r- 12s	3'	C	C	T	G	T	T	C	T	A	G	A	A	C	C	G	A	T	A	A	T	C	C	K	C	G	T	5'
	A	1	0	1	0	0	0	0	0	131	2	132	132	0	1	1	132	2	129	125	9	2	0	24	0	0	0	
	C	132	132	0	0	1	9	133	1	1	2	0	0	131	130	0	1	1	0	7	46	131	133	103	133	1	3	
	G	0	0	0	132	0	0	0	0	1	121	0	0	0	0	132	0	0	3	0	0	0	0	0	0	132	0	
	T	0	1	132	1	132	124	0	132	0	8	1	1	2	2	0	0	130	1	1	78	0	0	6	0	0	130	

Fonte: Autoral, 2025.

Em contraste, os primers desenhados para o gene 16S rRNA demonstraram maior conservação nucleotídica. O primer forward (21 pb) apresentou correspondência perfeita em 16 dos 21 sítios analisados, incluindo os 10 sítios iniciais. Os mismatches observados concentraram-se majoritariamente nos cinco últimos sítios, totalizando 121 mismatches, sem ocorrência de mismatches consecutivos na extremidade 3'. O primer reverse (22 pb) do gene 16S rRNA exibiu identidade completa em 21 dos 22 sítios nucleotídicos para todas as 133 espécies analisadas. A única variação foi observada no terceiro sítio da extremidade 3', ocorrendo em apenas oito espécies (6% do total), resultando em complementaridade perfeita na região 3' terminal para mais de 94% das espécies (Tabela 2).

Tabela 2 –Composição nucleotídica e desenho esquemático dos primers universais Forward (F-16S) e Reverse (R-16S) para a amplificação do gene 16S rRNA. As linhas indicam a sequência consenso e a frequência absoluta de cada base nitrogenada (A, C, G, T) por posição, calculada a partir de 133 mitogenomas de peixes neotropicais de água doce. O primer amplifica a região central do gene mitocondrial 16S rRNA, com comprimento médio de 494 pares de bases (pb).

do gene mitocondrial 16S rDNA, com comprimento médio de 454 pares de bases (pb).																								
Primer F – 16S	5'	A	C	C	A	A	A	A	A	C	A	T	C	G	C	C	T	C	C	T	G	C	3'	
	A	133	0	0	133	133	133	133	133	0	133	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	30		
	C	0	133	133	0	0	0	0	0	133	0	2	131	0	133	133	0	131	79	26	0	98		
	G	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	133	0	0	0	0	0	0	133	0		
	T	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	131	0	0	0	0	133	2	54	107	0	5		
Primer R – 16S	3'	C	C	T	A	G	G	G	A	T	A	A	C	A	G	C	G	C	A	A	T	C	C	5'
	A	0	0	2	133	0	0	0	133	0	133	133	0	133	0	0	0	0	133	133	0	0	0	
	C	133	133	6	0	0	0	0	0	0	0	0	133	0	0	133	0	133	0	0	0	133	133	
	G	0	0	0	0	133	133	133	0	0	0	0	0	0	133	0	133	0	0	0	0	0	0	
	T	0	0	125	0	0	0	0	0	133	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	133	0	0	

Fonte: Autoral, 2025

Os primers analisados apresentam características estruturais compatíveis com os critérios clássicos recomendados para o desenho de primers utilizados em reações de PCR. Esses parâmetros são importantes para garantir um equilíbrio entre especificidade, eficiência de anelamento e capacidade de amplificação em diferentes grupos taxonômicos. Primers muito curtos podem reduzir a especificidade da amplificação, enquanto primers muito longos podem comprometer a eficiência do anelamento durante a PCR (Robertson; Walsh-Weller, 1998; Miya et al., 2015; Ouso et al., 2020; Lorusso et al., 2024). A presença de degenerescência distante da extremidade tende a minimizar possíveis impactos na eficiência da amplificação (Linhart; Shamir, 2002; Campos; Quesada, 2017). Além disso, o baixo nível geral de degenerescência favorece a manutenção de boa eficiência de amplificação, mesmo em estudos que envolvem diferentes táxons (Chukwuemeka et al., 2020).

A composição nucleotídica moderadamente rica em GC também contribui para a estabilidade do pareamento entre primer e DNA molde, resultando em temperaturas de melting (T_m) dentro do intervalo esperado para protocolos de PCR. A pequena diferença entre os valores de T_m dos primers forward e reverse permite definir temperaturas de anelamento adequadas, favorecendo a eficiência da reação (Borah, 2011; Li et al., 2011; Kaymana et al., 2021; Gheno et al., 2026). Além disso, não foram observados homopolímeros longos nas regiões de anelamento, o que é importante para reduzir o risco de erros durante a extensão pela DNA polimerase. A ausência dessas sequências repetitivas também contribui para diminuir a formação de estruturas secundárias, como hairpins, que podem interferir negativamente na amplificação (Schlötterer; Tautz, 1992; Elbrecht; Hebert; Steinke, 2018; Yang; Scheffler; Weston, 2006; Osturk; Can, 2017). De forma geral, esses resultados indicam que os primers apresentam um desenho adequado, favorecendo a eficiência e a confiabilidade da amplificação por PCR.

Os primers desenhados para o gene 12S rRNA apresentaram elevada variabilidade nucleotídica ao longo dos sítios de anelamento, refletida no alto número de *mismatches* observados tanto no primer forward (F) quanto no primer reverse (R). De forma geral, os resultados indicam que o gene 12S rRNA, para o conjunto de espécies analisado, apresenta baixa adequação como marcador molecular barcoding universal para esse conjunto de espécies, mesmo que, tendo apresentado regiões altamente conservadas entre algumas espécies, a taxa de variações também tenha sido bastante considerável, exigindo maior grau de degenerescência ou primers específicos por grupo taxonômico, ou ainda utilizar fragmentos menores. Assim, reforçando a ideia que muitos autores evidenciaram em seus grandiosos trabalhos, usando o

12S para metabarcoding na identificação dos mais variados grupos de peixes com diferentes amostragens e localidades (Kelly et al., 2014; Valentini et al., 2016; Milan et al., 2020; Juby; Crampton; Lovejoy, 2025; Volanandiana et al., 2025).

Para o 16S, os resultados são consistentes com aqueles apresentados por Hossain et al. (2019), cujo objetivo foi desenvolver e validar um biomarcador mitocondrial universal baseado no gene 16S rRNA, na forma de um minicódigo de barras, para a identificação de espécies de peixes em produtos de pescado comercializados na Malásia. Para esse fim, os autores testaram o desempenho dos primers em 32 espécies de peixes e 16 espécies não-alvo. Embora o escopo taxonômico do estudo de Hossain et al. (2019) seja mais restrito quando comparado ao presente trabalho, que avaliou 133 espécies, ambos os estudos demonstram um padrão convergente de alta conservação nas regiões de anelamento dos primers, resultando em elevada especificidade e eficiência de amplificação.

Além disso, os resultados obtidos neste estudo são corroborados por Habib et al. (2021), que aplicaram o DNA barcoding utilizando os genes COI e 16S rRNA para a identificação de peixes e crustáceos de águas salobras e marinhas no ecossistema de Sundarbans, o maior manguezal do mundo, onde demonstraram que o 16S rRNA apresenta elevada conservação intraespecífica e divergência interespecífica suficiente, permitindo a discriminação confiável de táxons e a validação de identificações morfológicas, principalmente nos vertebrados (Kochzius et al., 2010). Esse padrão é compatível com o observado no presente estudo, no qual o gene 16S rRNA exibiu alta conservação nos sítios de anelamento e número reduzido de *mismatches* críticos, reforçando seu potencial como marcador robusto em estudos de biodiversidade e conservação.

A robustez da aplicação simultânea dos genes 12S e 16S rRNA é igualmente ratificada por Quraishi et al. (2015), que obtiveram sucesso na caracterização molecular de espécies de peixes marinhos da Malásia por meio do sequenciamento parcial dos genes mitocondriais 12S e 16S rRNA, demonstrando que esses marcadores permitem a identificação taxonômica confiável e a distinção genética entre espécies, inclusive dentro de um mesmo Gênero. Importa ainda destacar que a versatilidade destas regiões genômicas transcende a ictiofauna, sendo amplamente validadas em estudos de identificação de espécies em outros grupos taxonômicos (Chan et al., 2022; Koroiva; Santana, 2022).

Com ralação ao resgate dos clados, o gene 12S rRNA, foi capaz de agrupar todas as 53 espécies pertencentes à ordem Characiformes, indicando boa eficiência do marcador na recuperação desse nível taxonômico. No primeiro segmento da árvore, as espécies do gênero *Prochilodus* (*P. lineatus*, *P. costatus*, *P. argenteus*, *P. harttii* e *P. vimboides*) formaram um

clado monofilético, evidenciando a utilidade do gene 12S rRNA para análises em nível intragenérico nesse grupo. Esse clado apresentou-se separado de *Ichthyoelephas longirostris* (Prochilodontidae) e de *Curimata mivartii* (Curimatidae), que surgiram como ramos externos.

Em outro trecho da árvore, espécies da família Serrasalminidae apresentaram tendência ao agrupamento, com destaque para o gênero *Piaractus*, no qual *P. mesopotamicus* e *P. brachypomus* formaram um clado monofilético; no entanto o gene é bastante limitado para a designação das duas espécies. Outras espécies Serrasalmídeas, como *Metynnis hypsauchen*, *Pygocentrus nattereri* e *Myloplus rubripinnis*, apareceram associadas a esse conjunto, embora com valores de suporte variáveis nos nós mais profundos. Espécies da família Bryconidae, representadas por *Brycon orbignyanus*, *B. nattereri*, *B. henni* *Salminus brasiliensis*, também foram recuperadas nesse segmento da árvore. No entanto, *B. henni* apresentou posicionamento mais distante em relação às demais espécies do gênero *Brycon*, não sendo recuperado como parte de um clado monofilético.

Outros táxons surgiram como ramos externos, incluindo *Hydrolycus scomberoides* (Cynodontidae), *Piabucina astrigata* (Lebiasinidae), *Knodus borki* (Stevardiidae), *Chalceus macrolepidotus* (Chalceidae) e *Chilodus punctatus* (Chilodontidae), evidenciando a separação entre diferentes famílias de Characiformes. *Hemiodopsis gracilis* (Hemiodontidae) emergiu como um ramo distinto, separado dos demais táxons analisados nesse trecho. As espécies da família Anostomidae, representadas por *Abramites hypselonotus*, *Leporinus elongatus*, *L. piavussu* e *Megaleporinus obtusidens*, formaram um agrupamento bem definido, mostrando a consistência do gene 12S rRNA na recuperação dessa família. Dentro desse grupo, as espécies de *Leporinus* e *Megaleporinus* apresentaram clados intragenéricos. Espécies da família Erythrinidae, representadas por *Hoplias intermedius* e *H. malabaricus*, também formaram um clado monofilético.

Os Characiformes restantes foram compostos predominantemente por 24 espécies da família Acestrorhamphidae; no entanto, *Gephyrocharax atracaudatus* (Stevardiidae) foi recuperado inserido nesse agrupamento. Agrupamento exclusivo de Gymnotiformes, com *Apteronotus albifrons* e *Brachyhypopomus occidentalis*, sendo os únicos representantes da ordem, incluídos na análise, foi recuperado formando um clado exclusivo, isolado dos demais grupos e claramente separado dos outros táxons da árvore filogenética.

A análise filogenética baseada no gene mitocondrial 12S rRNA agrupou bem os Siluriformes, mas não conseguiu recuperar a monofilia da ordem de maneira robusta (*Megalechis thoracata*, como grupo externo), com 34 terminais distintos. A topologia da árvore evidenciou a formação de clados correspondentes às principais famílias, organizados em uma

sucessão de ramificações que reflete a diversidade morfológica do grupo.

Na filogenia dos Siluriformes, a família Pimelodidae formou um agrupamento bem sustentado, composto por seis espécies: *Pseudoplatystoma reticulatum* e *Pseudoplatystoma magdaleniatum*, que formaram um par de espécies irmãs, seguidas pelo clado contendo *Pimelodus pictus* e *Pimelodus maculatus*, além do gênero *Sorubim*, representado por *Sorubim lima* e *Sorubim cuspicaudus*. Em posição adjacente, a família Pseudopimelodidae foi recuperada com duas espécies, *Pseudopimelodus schultzi* e *Lophiosilurus alexandri*. Seguindo a estrutura da árvore, observou-se a presença de linhagens representando famílias com menor número de amostras na análise, mas posicionadas consistentemente. A família Aspredinidae foi representada unicamente por *Bunocephalus coracoideus*. A família Doradidae formou um clado contendo *Amblydoras gonzalezi* e *Platydoras armatulus*, enquanto a família Auchenipteridae agrupou as espécies *Centromochlus perugiae* e *Ageneiosus pardalis*.

Como ramos intermediários antes da grande diversificação da superfamília Loricarioidea, foram identificadas as espécies *Diplomystes nahuel butaensis* (Família Diplomystidae) e *Prietella phreatophila* (Família Ictaluridae). O clado derivado correspondente à superfamília Loricarioidea dividiu-se em duas grandes famílias irmãs. A família Loricariidae apresentou-se monofilética, englobando seis espécies organizadas em subclados distintos, o gênero *Hypostomus* (*H. ancistroides* e *H. francisci*), o gênero *Pterygoplichthys* (*P. pardalis* e *P. disjunctivus*), além de *Ancistrus temminckii* e *Hypoptopoma incognitum*.

Por fim, a família Callichthyidae constituiu o grupo de maior diversidade específica na análise, com 13 terminais. O gênero *Corydoras* demonstrou ampla representatividade, formando um grande grupo que incluiu *C. pygmaeus*, *C. paleatus*, *C. aeneus*, *C. rabauti*, *C. cruziensis*, *C. concolor*, *C. arcuatus*, *C. duplicareus*, *C. sterbai*, *C. trilineatus* e *C. julii*, essas três últimas foram considerados idênticas durante o alinhamento, não tendo alto poder de resolução entre elas pelo gene. Este clado de corydoras apresentou-se relacionado a *Scleromystax barbatus*, que ocupou uma posição basal no grupo, enquanto *Megalechis thoracata* posicionou-se como linhagem irmã de todo o agrupamento.

A ordem Cichliformes, representada exclusivamente pela família Cichlidae, formou um extenso clado monofilético, demonstrando a alta diversidade e complexidade evolutiva deste grupo neotropical. As espécies *Chaetobranchopsis bitaeniatus* e *Retroculus lapidifer* ocuparam posições iniciais, seguidas por um agrupamento de "acarás" que incluiu *Andinoacarari vulatus*, *A. pulcher*, *Cichlasoma dimerus*, *Aequidens metae*, *Krobia guianensis*, *Bujurquina mariae* e *Nannacara anomala*. A análise também recuperou a afinidade entre o *Geophagus steindachneri* e *Mikrogeophagus ramirezi*. Um dos resultados mais robustos dentro de Cichlidae foi a

recuperação da monofilia do gênero *Cichla* (tucunarés). As quatro espécies analisadas, *C. ocellaris*, *C. monoculus*, *C. piquiti* e *C. temensis* formaram um subclado coeso e bem sustentado, sendo as duas primeiras consideradas espécies únicas no alinhamento das sequências, evidenciando a não resolução dessas espécies pelo marcador.

Adicionalmente, o gênero *Astronotus* (representado por *A. ocellatus*) posicionou-se próximo aos clados de ciclídeos disco e bandeira. O gênero *Symphysodon* formou um grupo monofilético contendo *S. discus*, *S. haraldi* e *S. aequifasciata*, sendo grupo-irmão do gênero *Uaru* (*U. amphiacanthoides*). Por sua vez, o gênero *Pterophyllum* foi recuperado com a união de *P. altum* e *P. scalare*, seguido por *Hypselecara temporalis*. Evidenciou um subclado derivado composto majoritariamente por ciclídeos centro-americanos, sugerindo uma separação geográfica captada pela filogenia (López-Fernández et al., 2010). Este grupo reuniu o gênero *Thorichthys* (*Thorichthys aureus* e *Thorichthys meeki*) e as espécies *Rocio octofasciata*, *Cryptoheros cutteri*, *Petenia splendida* e *Parachromis managuensis*.

A ordem Gobiiformes foi representada na análise por uma única linhagem da família Eleotridae, correspondente à espécie *Hemieleotris latifasciata*, que se posicionou como um ramo distinto antecedendo a grande radiação dos ciclídeos.

Dando continuidade à topologia da árvore filogenética, subsequente ao grande clado dos Siluriformes, a análise recuperou linhagens pertencentes às ordens Cyprinodontiformes, Myliobatiformes e Osteoglossiformes.

O clado correspondente à ordem Cyprinodontiformes apresentou uma estruturação interna complexa, refletindo a diversidade de famílias desta ordem (Morales et al., 2024). A família Rivulidae (peixes anuais) formou um agrupamento que incluiu *Kryptolebias hermaphroditus*, *Millerichthys robustus* e *Austrolebias charrua*, demonstrando a variabilidade genética dentro do grupo. A família Cyprinodontidae foi representada por um subclado monofilético do gênero *Orestias*, composto pelas espécies *O. laucaensis*, *O. chungarensis* (consideradas idênticas no alinhamento), em que o gene apresentou baixa resolução da distinção, e *O. ascotanensis*. Completando a ordem Cyprinodontiformes, a família Poeciliidae foi recuperada com as espécies *Poeciliopsis monacha* e *Xiphophorus milleri*, enquanto a família Fundulidae posicionou-se no agrupamento representada por *Fundulus lima*. A família Rivulidae ficou como um grupo externo.

Na sequência, a ordem Myliobatiformes formou um clado exclusivo representando os condrictes de água doce (arraias). A família Potamotrygonidae foi recuperada como um grupo monofilético robusto. O gênero *Potamotrygon* demonstrou coesão interna, agrupando três espécies distintas: *Potamotrygon magdalenae*, *P. orbignyi* e *P. falkneri*. A resolução obtida para

este grupo evidencia a capacidade do fragmento 12S de segregar linhagens de elasmobrânquios límnicos (Miya et al., 2015), muito embora os estudos para o grupo utilizem outros marcadores (Toffoli et al., 2008; Ory et al., 2019; Fontenelle et al., 2021). A ordem Osteoglossiformes foi recuperada como uma linhagem distinta, representada na análise pela família Osteoglossidae. O agrupamento reuniu duas espécies de grande porte e relevância ecológica na bacia amazônica: *Arapaima gigas* (pirarucu) e *Osteoglossum bicirrhosum* (aruanã) (Farias et al., 2019; Freitas et al., 2025; Silva et al., 2025). A proximidade topológica entre estes táxons corrobora a monofilia da família dentro da amostra analisada (Lavoué; Sullivan, 2004).

Os resultados obtidos através da análise filogenética do fragmento 12S rRNA confirmam a robustez deste marcador molecular para o estudo da ictiofauna neotropical. A topologia da árvore demonstrou um equilíbrio evolutivo singular, o gene conservou sinal filogenético suficiente para recuperar com precisão a macroestrutura taxonômica, agrupando corretamente a maioria das ordens e famílias, ao mesmo tempo que apresentou variabilidade nucleotídica adequada para a distinção de espécies em níveis terminais.

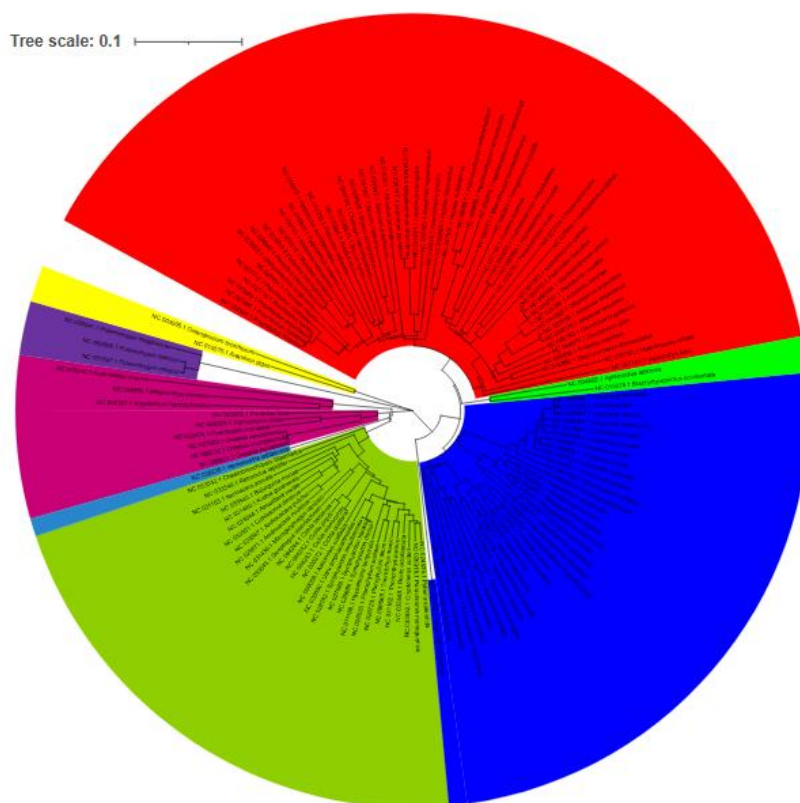


Figura2 – Reconstrução filogenética das 133 espécies analisadas baseada no gene mitocondrial 12S rRNA. A árvore foi construída pelo método de Neighbor-Joining (NJ) utilizando o modelo evolutivo de Kimura 2-parâmetros (K2P), com suporte estatístico de bootstrap calculado a partir de 1000 réplicas. As análises foram conduzidas no software MEGA e a edição gráfica realizada no iTOL. As cores dos clados distinguem as ordens taxonômicas identificadas: **Characiformes**, **Siluriformes**, **Gymnotiformes**, **Cichliformes**, **Cyprinodontiformes**, **Gobiiformes**, **Osteoglossiformes** e **Myliobatiformes**. A barra de escala (0.1) indica a distância genética (número de substituições de bases por sítio). Fonte: Autoral, 2025.

A análise da topologia filogenética, construída a partir de 133 terminais, revelou que o gene 16S atua como um marcador de equilíbrio singular, capaz de navegar entre a história evolutiva profunda e a identificação recente de espécies. O resultado geral demonstra uma árvore estruturada, onde a conservação do gene garantiu a estabilidade de todas as grandes ordens, recuperando suas monofilias respectivas, enquanto suas regiões variáveis permitiram, na maioria dos casos, a diagnose fina necessária para o DNA barcoding, como é o caso dos *Piaractus* e *Coridoras Julii*. O gene foi capaz de alinhar e agrupar corretamente a família Potamotrygonidae na mesma matriz dos peixes ósseos. Esse resultado é crucial, pois prova que, mesmo separando linhagens tão antigas quanto raias e teleósteos, o 16S preserva sítios de anelamento conservados (Lavoué; Sullivan, 2004; Yang et al., 2014; Alyamani, 2024).

Seguindo essa lógica macro-evolutiva, famílias importantes como Cichlidae, Pimelodidae, Loricariidae e Anostomidae formaram blocos sólidos e exclusivos, reafirmando o gene como um excelente preditor para a taxonomia em nível de família.

Diferente da clareza observada nos grandes bagres e ciclídeos, as famílias Acestrorhamphidae e Stevardiidae não se separaram em grupos distintos. A árvore mostrou um cenário intercalado, com gêneros como *Knodus* e *Gephyrocharax* misturados entre as linhagens de tetras, indicando que a evolução destes grupos foi tão rápida e recente (Thomaz et al., 2015; Venegas-Ríos, 2017; Melo et al., 2024) que o gene 16S ainda não acumulou divergências suficientes para separar as duas famílias com precisão. Por fim, ao "dar um zoom" para o nível de espécie, o marcador comportou-se como um código de barras eficiente na grande maioria dos terminais. Os gêneros dos complexos, como *Cichla* e *Prochilodus*, tiveram suas espécies perfeitamente discriminadas. O mesmo ocorreu com a maior parte do gênero *Corydoras*, que se organizou em uma estrutura de "escada" bem definida. Contudo, a análise foi honesta em revelar as limitações do gene para eventos de especiação muito recentes, pares de espécies como *C. ocellaris* e *C. monoculus*; *C. sterbai* e *C. trilineatus*, assim como *Orestias laucaensis* e *O. chungarensis*, apresentaram sequências idênticas. Isso sugere que, embora o 16S seja uma ferramenta poderosa e universal, ele pode perder resolução em casos de espécies-irmãs (Kochzius et al., 2010).

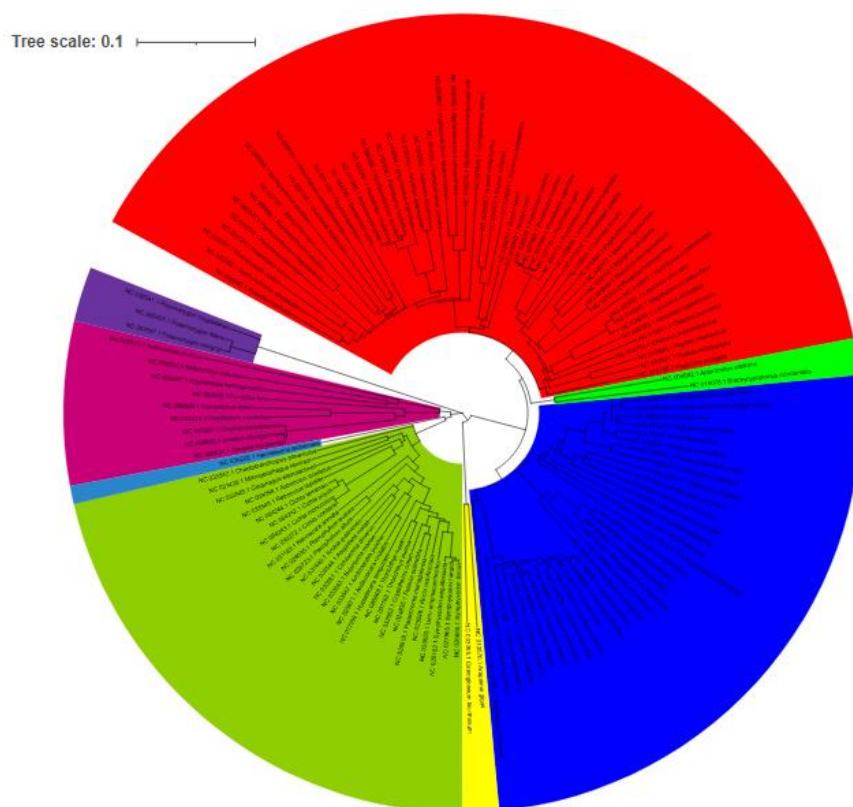


Figura3– Reconstrução filogenética das 133 espécies analisadas baseada no gene mitocondrial 16S rRNA. A árvore foi construída pelo método de Neighbor-Joining (NJ) utilizando o modelo evolutivo de Kimura 2-parâmetros (K2P), com suporte estatístico de bootstrap calculado a partir de 1000 réplicas. As análises foram conduzidas no software MEGA e a edição gráfica realizada no iTOL. As cores dos clados distinguem as ordens taxonômicas identificadas: **Characiformes**, **Siluriformes**, **Gymnotiformes**, **Cichliformes**, **Cyprinodontiformes**, **Gobiiformes**, **Osteoglossiformes** e **Myliobatiformes**. A barra de escala (0.1) indica a distância genética (número de substituições de bases por sítio). Fonte: Autoral, 2025.

A reconstrução filogenética baseada no gene mitocondrial Citocromo C Oxidase I (COI) revelou uma topologia marcada por uma distinta dicotomia funcional, onde, foi possível observar uma excepcional resolução taxonômica nos ramos terminais, contrastada por limitações evidentes na recuperação das relações basais profundas. Essa assimetria de resolução sugere que a utilidade do marcador é estratificada, variando conforme o nível hierárquico analisado (Deagle et al., 2014; Liu et al., 2017).

No nível de ordem, o marcador demonstrou saturação de sinal filogenético, resultando na incapacidade de recuperar o monofilismo de grandes grupos históricos (acima de 100 milhões de anos) (Nakatani et al., 2011). O supergrupo Ostariophysi apresentou-se fragmentado, com as ordens Characiformes, Gymnotiformes e Siluriformes divididas em clados dispersos e intercalados por linhagens não relacionadas. A exceção a esse padrão foram as ordens Cichliformes, Myliobatiformes, Osteoglossiformes e Cyprinodontiformes, essa última apresentando a família Poeciliidae como um grupo externo à ordem. Em contrapartida, a eficácia do agrupamento aumentou substancialmente nos níveis taxonômicos intermediários, uma vez que, em nível de família, o COI demonstrou robustez, recuperando clados monofiléticos bem

sustentados para grupos como Callichthyidae e Pimelodidae, sem intrusões exógenas. Da mesma forma, em nível de gênero, o marcador atuou como um validador taxonômico eficaz, agrupando com perfeição gêneros naturais (*Cichla*, *Prochilodus*, *Symphysodon*) e expôs a complexidade de grupos parafiléticos (*Astyanax*) (Rossini, 2015; Soto, 2016; Terán et al., 2020).

A maior contribuição desta análise reside na resolução em nível de espécie, onde o COI confirmou sua vocação como ferramenta de DNA barcoding para a maioria das linhagens. Contudo, a análise revelou exceções pontuais caracterizadas pela ausência de divergência genética, especificamente no complexo de *Corydoras* (*C. julii*, *C. trilineatus* e *C. sterbai*) e entre as espécies do gênero *Orestias* (*O. laucaensis* e *O. chungarensis*), onde o alinhamento das sequências resultou em haplótipos idênticos. Nestes casos específicos, o marcador não apresentou variabilidade nucleotídica suficiente para discriminar os táxons. Em suma, os resultados permitem concluir que o gene COI é a ferramenta de escolha para diagnósticos taxonômicos recentes, mas possui limitações para inferências filogenéticas profundas nesta ictiofauna.

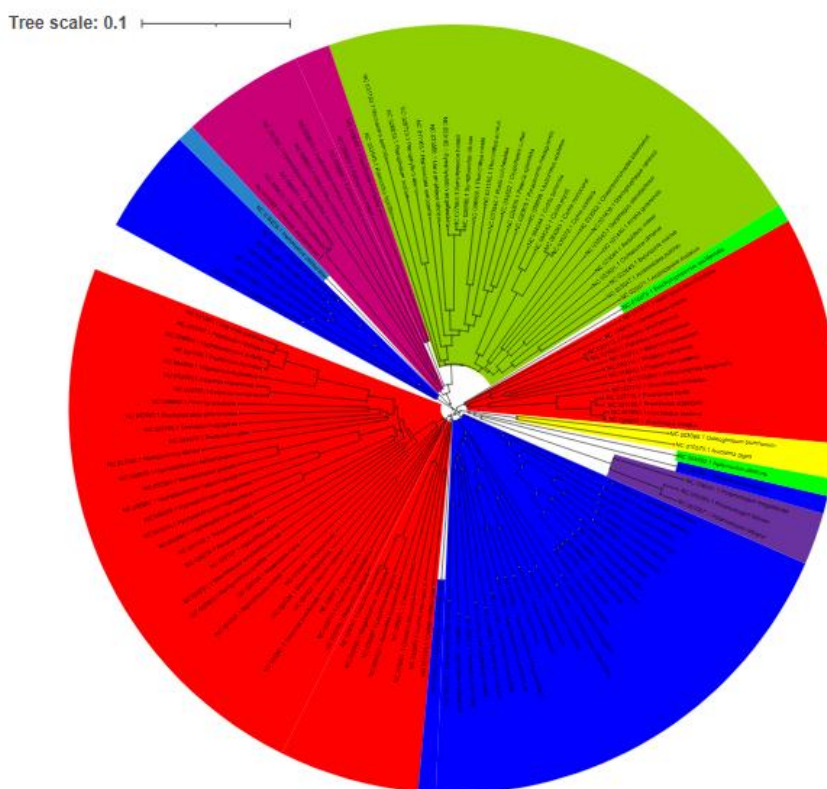


Figura4– Reconstrução filogenética das 133 espécies analisadas baseada no gene mitocondrial Citocromo c Oxidase I (COI). A árvore foi construída pelo método de Neighbor-Joining (NJ) utilizando o modelo evolutivo de Kimura 2-parâmetros (K2P), com suporte estatístico de bootstrap calculado a partir de 1000 réplicas. As análises foram conduzidas no software MEGA e a edição gráfica realizada no iTOL. As cores dos clados distinguem as ordens taxonômicas identificadas: **Characiformes**, **Siluriformes**, **Gymnotiformes**, **Cichliformes**, **Cyprinodontiformes**, **Gobiiformes**, **Osteoglossiformes** e **Myliobatiformes**. A barra de escala (0.1) indica a distância genética (número de substituições de bases por sítio). Fonte: Autoral, 2025.

A comparação entre as árvores filogenéticas geradas pelos marcadores ribossomais (12S e 16S) e pelo marcador codificador de proteína (COI) revelou uma clara dicotomia funcional relacionada às diferentes taxas evolutivas de cada gene. Observou-se um *trade-off* (compromisso) entre a resolução basal profunda e a discriminação terminal específica.

As análises filogenéticas em nível de ordem, considerando os representantes de Characiformes, Siluriformes, Gymnotiformes, Cichliformes, Cyprinodontiformes, Gobiiformes, Osteoglossiformes e Myliobatiformes, evidenciaram diferenças marcantes no desempenho dos marcadores mitocondriais 12S, 16S e COI quanto à recuperação do monofiletismo dos grupos analisados.

De forma geral, o gene 16S apresentou o melhor desempenho filogenético nesse nível taxonômico, recuperando de maneira consistente e completa todos os representantes corretamente agrupados em suas respectivas ordens. A topologia obtida indicou monofiletismo total para todas as ordens analisadas, demonstrando que esse marcador possui sinal filogenético adequado e maior estabilidade para inferências em níveis taxonômicos mais elevados. Em contraste, o gene 12S não recuperou o monofiletismo total de todas as ordens. Das 34 espécies incluídas na análise, apenas uma, *Megalechis thoracata* (Siluriformes), foi posicionada como grupo externo em relação à sua ordem, resultando em uma incongruência pontual na topologia. Ainda assim, o 12S apresentou desempenho intermediário, mantendo o agrupamento correto da maioria dos táxons em nível ordinal.

Esses resultados mostram a capacidade desses genes em resgatar espécies em níveis mais profundos, corroborando com Chan et al. (2022), em seus estudos de identificação de trematodos, utilizando os marcadores ribossomais e Azevedo et al. (2008), que em seu estudo filogenético da ordem Pleuronectiformes utilizando os genes mitocondriais 12S e 16S rRNA demonstrou que esses marcadores são eficientes para recuperar o monofiletismo de diversas famílias de peixes. Além de corroboram com os resultados de Jafar et al. (2024).

O gene COI apresentou o desempenho mais limitado para análises em nível de ordem, promovendo uma fragmentação acentuada dos agrupamentos. Esse marcador não foi capaz de recuperar de forma consistente o monofiletismo das ordens analisadas, dispersando representantes ao longo da árvore filogenética. Especificamente para a ordem Cyprinodontiformes, tanto o 12S quanto o COI falharam em recuperar a monofilia total das espécies. No caso do 12S, representantes da família Rivulidae foram posicionados como grupo externo, enquanto o COI alocou representantes da família Poeciliidae fora do agrupamento esperado. Adicionalmente, o COI também não conseguiu agrupar corretamente os indivíduos pertencentes às ordens Gymnotiformes e Characiformes, reforçando sua menor eficiência para

inferências filogenéticas em níveis taxonômicos superiores, também evidenciado por Vences et al. (2005), em sua avaliação de desempenho do gene 16S em relação ao COI, para a identificação de anfíbios.

De modo integrado, os resultados demonstram que, para análises filogenéticas em nível de ordem, o 16S é o marcador mais robusto e confiável, seguido pelo 12S, que apresenta desempenho intermediário, enquanto o COI se mostra menos adequado para a recuperação do monofiletismo ordinal. Esses padrões fundamentam a apresentação detalhada dos resultados a seguir, nos quais as relações filogenéticas são discutidas individualmente para cada ordem analisada.

De maneira mais detalhada, para a os Characiformes, o marcador 12S demonstrou ser eficiente na separação de níveis taxonômico superiores, permitindo a distinção entre famílias dentro da ordem. No resgate da família Prochilodontidae, o gene 12S não agrupou de maneira robusta todos os representantes da família, uma vez que *Ichthyoelephas longirostris* foi resgatado como grupo externo em relação às espécies de *Prochilodus*, que inclusive apresentaram agrupamento consistente. A análise baseada no gene 16S manteve a separação entre os táxons e apresentou melhor resolução interna dentro de Prochilodontidae, destacando *Ichthyoelephas longirostris* como um ramo distinto, porém agrupado de acordo com sua família. O COI reforçou esse padrão, promovendo uma discriminação mais precisa entre as espécies de *Prochilodus* e confirmando sua elevada capacidade de resolução em nível específico, tanto em vertebrados como em invertebrados (Lv et al., 2014; Guo et al., 2022).

Para a família Serrasalminidae, os três marcadores recuperaram agrupamentos coerentes entre os gêneros analisados. As espécies de *Piaractus* formaram clados bem definidos, principalmente nos marcadores COI e 16S, uma vez que o gene 12S se demonstrou incapaz de distinguir as duas unidades biológicas. *Mylopus rubripinnis* e *Metynnis hypsauchen* apresentaram associação consistente, enquanto *Pygocentrus nattereri* se posicionou como o táxon mais divergente dentro da família. Embora o 12S e o 16S tenham sido eficientes na separação genérica, o COI apresentou maior detalhamento das relações internas, evidenciando com maior clareza as distinções interespecíficas (Ribeiro, 2012).

Na família Anostomidae, observou-se elevada congruência entre as topologias geradas pelos genes 12S e 16S. *Leporinus piavussu*, *Leporinus elongatus* e *Megaleporinus obtusidens* agruparam-se de forma consistente, enquanto *Abramites hypselonotus* apresentou posição mais divergente, atuando como ramo externo dentro da família. O marcador COI refinou esse padrão, proporcionando uma separação mais clara entre os gêneros e maior definição das relações entre as espécies analisadas, corroborando assim com Ramirez et al. (2017).

Para a família Erythrinidae, representada pelas espécies *Hoplias intermedius* e *Hoplias malabaricus*, os três marcadores apresentaram resultados altamente congruentes. Em todas as análises, as espécies formaram um único clado bem definido. Envolvendo a família Bryconidae, o marcador 12S não obteve total eficiência no agrupamento familiar, com *Chalceus macrolepidotus* posicionando-se no entrelace da família. Observou-se maior proximidade entre *Brycon orbignyanus* e *Brycon nattereri*, enquanto *Brycon henni* e *Salminus brasiliensis* ocuparam posições mais divergentes. O gene 16S apresentou maior estabilidade nos agrupamentos internos da família, ao passo que o COI evidenciou a maior resolução filogenética, permitindo a distinção clara entre as espécies de *Brycon* e a separação consistente de *Salminus brasiliensis*. No entanto, esse gênero vem apresentando incertezas taxonômicas de acordo com estudos de identificação molecular (Machado et al., 2016).

A família Stevardiidae não foi recuperada como um clado monofilético em nenhuma das análises. Os representantes *Gephyrocharax atracaudatus* e *Knodus borki* não se agruparam conjuntamente em nenhum dos genes avaliados, estando próximo ou dentro dos agrupamentos da família Acestrorhamphidae, demonstrando a complexidade desse grupo e recente irradiação evolutiva de alguns characiformes (Thomaz et al., 2015; Venegas-Ríos, 2017; Melo et al., 2024). No entanto, de maneira geral, o gene COI teve uma melhor resolução nos ramos terminais, evidentemente demonstrado no gênero *Hyphessobrycon*, refletindo assim, seu alto grau de variação para grupos maiores, e conservação em nível genérico, contrastando com os genes ribossomais (12s e 16s), que exibem alta taxa de conservação a níveis mais profundos, principalmente o 12s.

De maneira integrada, os resultados obtidos para a ordem Characiformes demonstram que o uso combinado dos marcadores 12S, 16S e COI é fundamental para a compreensão das relações filogenéticas em diferentes níveis taxonômicos. Enquanto o 12S se mostrou mais adequado para análises em níveis superiores, o 16S apresentou desempenho robusto em vários níveis, e o COI destacou-se como o marcador mais informativo para a discriminação em nível específico.

No que tange os Siluriformes, árvore baseada no gene 12S, observou-se um agrupamento consistente entre as espécies de *Corydoras*, formando clados bem definidos. Entretanto, destaca-se a ausência de *Megalechis thoracata* nessa análise, o que limita o resgate mais amplo dentro da família Callichthyidae. Apesar disso, o gene 12S apresentou boa capacidade de recuperar relações filogenéticas próximas, sendo eficiente para distinguir espécies congênicas, embora com resolução moderada em alguns nós mais profundos.

A filogenia obtida a partir do gene 16S apresentou maior robustez em comparação ao

12S, com melhor suporte e maior resolução dos ramos internos. Diferentemente do observado no 12S, *Megalechis thoracata* foi incluída nessa análise e posicionou-se de forma consistente como grupo externo em relação às espécies de *Corydoras*, corroborando a separação entre os gêneros dentro de Callichthyidae. Esse resultado reforça a utilidade do 16S para inferências filogenéticas em níveis interespecíficos e intergenéricos (Shimabukuro-Dias et al., 2004).

Por fim, a árvore construída com o gene COI apresentou um padrão geral semelhante ao do 12S, com ausência de *Megalechis thoracata*, resultando na mesma limitação observada anteriormente. Ainda assim, o COI demonstrou alta capacidade discriminatória entre as espécies de *Corydoras*, com ramos bem delimitados, o que é esperado devido ao seu amplo uso em estudos de identificação molecular e DNA barcoding. Contudo, algumas relações filogenéticas mais profundas mostraram-se menos estáveis quando comparadas ao 16S.

De forma geral, os resultados indicam que, embora os três marcadores recuperem padrões coerentes de relacionamento entre as espécies analisadas, o gene 16S apresentou o melhor desempenho filogenético, especialmente pela inclusão de *Megalechis thoracata* e pela maior resolução dos clados. Já os genes 12S e COI mostraram-se eficientes para discriminação entre espécies de *Corydoras*, porém com limitações associadas à ausência de táxons externos e à resolução de relações mais profundas, chegando a formar politomias, sendo incapaz de distinguir espécies muito próximas.

As espécies da família Loricariidae, Pimelodiidae e Pseudopimelodidae apresentaram agrupamento consistente nos três marcadores analisados (12S, 16S e COI). Os genes ribossomais 12S e 16S demonstraram maior estabilidade topológica, formando clados bem definidos e coerentes com a classificação taxonômica da família. O gene COI, embora tenha apresentado rearranjos internos na topologia, manteve a delimitação da família, indicando capacidade de agrupamento em nível familiar, reforçando a complexa relação desses grupos e a capacidade dos genes em agrupar bem os indivíduos dessas famílias (Sullivan et al., 2013; Lujan et al., 2015; Limeira-Filho et al., 2024; Silva et al., 2024).

Nesta mesma ordem, outras famílias menos representativas como, Auchenipteridae e Doradidae, apresentaram diferenças no resgate a depender do marcador, onde a primeira, foi agrupada em monofiletismo pelo marcador 12S e a segunda não, comportamento observado de maneira inversa para os outros dois marcadores. Estudos moleculares mostram a eficácia desses genes na resolução desses grupos (Arce et al., 2013; Calegari et al., 2019).

Nos Cichliiformes, o marcador ribossomal 12S apresentou agrupamento consistente em nível genérico, recuperando dois clados bem definidos correspondentes aos gêneros *Symphysodon* e *Cichla*, evidenciando boa capacidade de delimitação genérica. Contudo, a

resolução em nível interespecífico foi limitada, com arranjos internos pouco informativos e ausência de separação clara entre espécies dentro de cada gênero. De maneira semelhante, o gene ribossomal 16S demonstrou alta estabilidade topológica em níveis taxonômicos superiores, recuperando a monofilia desses gêneros. A topologia observada mostrou-se amplamente congruente com a obtida para o 12S, reforçando a robustez dos marcadores ribossomais para o resgate de relações filogenéticas em nível genérico. Entretanto, assim como observado para o 12S, o 16S apresentou baixa resolução em nível específico, com rearranjos internos e pouca definição entre espécies congêneras.

Em contraste, o gene COI apresentou menor estabilidade topológica geral, caracterizada por rearranjos mais evidentes na organização interna dos clados. Apesar disso, o marcador manteve a capacidade de recuperação dos gêneros como grupos distintos, preservando a monofilia de *Cichla* e *Symphysodon*. Observou-se, entretanto, maior variação na posição relativa das espécies dentro de cada clado, indicando menor coerência filogenética em níveis mais profundos quando comparado aos genes ribossomais. Esses resultados evidenciam que, embora o COI seja eficiente para identificação e delimitação taxonômica em níveis mais superficiais, seu desempenho para reconstruções filogenéticas mais estáveis é inferior ao observado para os marcadores 12S e 16S. Assim, reforçando que existe uma grande complexidade filogenética desse grupo desde muito tempo (Smith et al., 2008; López-Fernández et al., 2010; Pereira, 2016; Almeida, 2022).

Para a ordem Cyprinodontiformes, embora não sendo resgatada com maestria por alguns marcadores, o marcador 12S apresentou agrupamento consistente em nível de família, recuperando Cyprinodontidae como um clado monofilético bem definido, com as espécies do gênero *Orestias* agrupadas de forma exclusiva. Porém, sem capacidade de resolução em níveis mais superficiais. Formando grupo irmão dos Cyprinodontídeos, Poeciliidae e Fundulidae também foram bem recuperadas. As espécies pertencentes à Rivulidae também foram recuperadas em outro clado, indicando boa capacidade do marcador para delimitação familiar. Ainda assim, o 12S demonstrou bom desempenho para o resgate de linhagens mais profundas dentro da ordem. O 16S por sua vez, apresentou melhor resolução para todas as famílias, com alta estabilidade topológica e recuperação clara do clado Cyprinodontidae, mantendo o gênero *Orestias* como monofilético e com específica limitação na resolução de espécies desse grupo. A família Rivulidae também foi recuperada como um agrupamento coerente. As famílias Poeciliidae e Fundulidae também foram recuperadas.

Em contraste, o gene COI apresentou maior variabilidade topológica, com rearranjos mais evidentes entre os clados familiares. Apesar disso, Cyprinodontidae foi novamente recuperada como monofilética,

preservando o agrupamento exclusivo das espécies de *Orestias*, até apresentando incapacidade de resolução entre espécies bastante próximas. A Rivulidae manteve-se parcialmente agrupada, embora com maior dispersão relativa entre seus representantes, estando bastante próxima de Fundulidae. A família Poeciliidae, com *Poeciliopsis monacha* e *Xiphophorus milleri* foi recuperada em um clado distinto dos outros acima. Assim, fica evidente que as famílias da ordem Cyprinodontiformes (peixes do fundo), possuem representantes que acumulam bastantes diferenças genéticas e outros possuem alto grau de semelhança em seus genes, de maneira difícil de resolver suas reais relações filogenéticas (Morales et al., 2024).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo atingiu seus objetivos ao avaliar a complementaridade entre os genes mitocondriais 12S rRNA, 16S rRNA e COI, culminando na compilação de um banco de dados curado e padronizado, capaz de subsidiar análises moleculares voltadas à identificação e ao estudo da ictiofauna neotropical. Apesar desse avanço, foi evidenciada uma expressiva lacuna amostral para a região, caracterizando um *Darwinian shortfall*, uma vez que apenas 133 espécies possuem genoma mitocondrial completo disponível em bases públicas. Esse cenário evidencia que, mesmo diante do crescimento das iniciativas de sequenciamento molecular, a diversidade genética da ictiofauna neotropical ainda permanece sub-representada, ressaltando a necessidade de ampliação dos esforços de sequenciamento e curadoria de dados para essa megadiversa região.

No que se refere ao desenho de primers, o gene 16S rRNA destacou-se pela maior robustez estrutural e pelo elevado grau de conservação em regiões de anelamento, possibilitando a elaboração de primers universais com alta eficiência e potencial de aplicação em diferentes grupos taxonômicos. Em contraste, o gene 12S rRNA apresentou maior variabilidade nas regiões analisadas, refletida na elevada taxa de mismatches observada entre primers e sequências alvo. Embora essa característica represente um desafio para a universalidade dos primers, o gene mantém elevado potencial de aplicação, especialmente em estudos baseados em DNA metabarcoding e environmental DNA, devido ao reduzido tamanho dos fragmentos amplificados. Nesse contexto, a utilização de primers altamente degenerados surge como estratégia necessária para contornar a variabilidade interespecífica e ampliar o espectro de detecção taxonômica.

Do ponto de vista filogenético, os resultados obtidos reforçam a importância da integração entre diferentes marcadores moleculares para uma reconstrução mais robusta das relações evolutivas. Os genes ribossomais demonstraram maior capacidade de recuperação de agrupamentos taxonômicos em níveis hierárquicos superiores, como ordens e famílias, com destaque para o 16S rRNA, que apresentou maior consistência na recuperação desses clados. Por outro lado, o gene COI, amplamente utilizado em iniciativas de DNA barcoding, apresentou limitações na resolução de alguns agrupamentos em níveis taxonômicos mais profundos, especialmente no nível ordinal e em determinadas famílias. Entretanto, manteve desempenho superior na delimitação de espécies, evidenciando sua elevada sensibilidade para detectar variações genéticas interespecíficas. Dessa forma, os resultados obtidos demonstram que nenhuma região gênica isoladamente é capaz de atender plenamente a todas as demandas

analíticas relacionadas à identificação e à inferência filogenética.

Conclui-se, portanto, que a abordagem mais eficiente para o estudo e a identificação da ictiofauna neotropical reside na utilização complementar dos marcadores. Nesse cenário, o gene 16S rRNA destaca-se como marcador robusto para a resolução taxonômica em níveis superiores e para a recuperação de agrupamentos filogenéticos consistentes, enquanto o COI permanece como ferramenta fundamental para a delimitação específica e identificação de espécies. Assim, a integração desses marcadores representa uma estratégia metodológica promissora para ampliar a acurácia taxonômica, fortalecer inferências filogenéticas e contribuir para o avanço do conhecimento sobre a diversidade genética dos peixes neotropicais.

REFERÊNCIAS

- ACERO, P. A. Order Siluriformes-Ariidae. **The living marine resources of the western central Atlantic**, FAO, Rome, p. 831-852, 2002.
- AGOSTINHO, C. S.; MARQUES, E. E.; OLIVEIRA, R. J. de; BRAZ, P. S. Feeding ecology of *Pterodoras granulosus* (Siluriformes, Doradidae) in the Lajeado Reservoir, Tocantins, Brazil. **Iheringia, Sér. Zool.**, Porto Alegre, v. 99, n. 3, p. 301-306, 30 set. 2009. doi.org/10.1590/S0073-47212009000300012.
- AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C.; SANTOS, N. C. L.; ORTEGA, J. C. G.; PELICICE, F. M. Fish assemblages in Neotropical reservoirs: Colonization patterns, impacts and management. **Fisheries Research**, 2015. <https://dx.doi.org/10.1016/j.fishres.2015.04.006>.
- AGOSTINHO, A. A.; THOMAZ, S. M.; GOMES, L. C. Conservation of the Biodiversity of Brazil's Inland Waters. **Conservation Biology**, v. 19, n. 3, p. 646-652, 2005. doi: 10.1111/j.1523-1739.2005.00701.x.
- AGOSTINHO, A. A.; PELICICE, F. M.; GOMES, L. C. Dams and the fish fauna of the Neotropical region: impacts and management related to diversity and fisheries. **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, n. 4, Supl., p. 1119-1132, 2008. doi: 10.1590/s1519-69842008000500019.
- ALBERT, J. S.; ABRAHÃO, V.; AKIN, D. R. *et al.* An ecological trait matrix of Neotropical freshwater fishes. **Scientific Data**, v. 12, p. 1-9, 2025. doi: 10.1038/s41597-025-04674-w.
- ALBERT, J. S. & CRAMPTON, W. GR (2010) A geografia e ecologia da diversificação em águas doces neotropicais. **Nature Education Knowledge** 3(10):13.
- ALBERT, J. S.; CRAMPTON, W. G. R. Diversity and Phylogeny of Neotropical Electric Fishes (Gymnotiformes). In: BULLOCK, T. H.; HOPKINS, C. D.; POPPER, A. N.; FAY, R. R. (eds.). **Electroreception**. New York: Springer, 2005. v. 21, cap. 13. doi: 10.1007/0-387-28275-0_13.
- ALBERT, J. S. **Species Diversity and Phylogenetic Systematics of American Knifefishes (Gymnotiformes, Teleostei)**. Ann Arbor: Museum of Zoology, University of Michigan, 2001. 140p. (Miscellaneous Publications, No. 190).
- ALBERT J.S, REIS RE. (2011). **Historical biogeography of neotropical freshwater fishes**. Berkeley: University of California Press. 388p.
- ALBERT, J. S.; TAGLIACOLLO, V. A.; DAGOSTA, F. Diversification of Neotropical Freshwater Fishes. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 51, p. 27-53, 2020. doi: 10.1146/annurev-ecolsys-011620-031032.

ALI, F. S.; ISMAIL, M.; ALY, W. DNA barcoding to characterize biodiversity of freshwater fishes of Egypt. **Molecular Biology Reports**, 2020. doi: 10.1007/s11033-020-05657-3.

ALMEIDA, Marcelo Silva de. **Identificação molecular de espécies do gênero *Cichla* (Cichliformes: Cichlidae) introduzidas em bacias hidrográficas maranhenses**. 2022. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação da Biodiversidade) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2022.

ALVES-GOMES, J. A.; ORTÍ, G.; HAYGOOD, M.; HEILIGENBERG, W.; MEYER, A. Phylogenetic Analysis of the South American Electric Fishes (Order Gymnotiformes) and the Evolution of Their Electrogenic System: A Synthesis Based on Morphology, Electrophysiology, and Mitochondrial Sequence Data. **Molecular Biology and Evolution**, v. 12, n. 2, p. 298-318, 1995. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040204.

ALYAMANI, N. M. Mitochondrial 16S rRNA gene as a molecular marker in the phylogenetic relationships of some Rabbitfish species (Siganidae: Perciformes). **Open Veterinary Journal**, v. 14, n. 8, p. 1936–1941, 2024. DOI: <https://doi.org/10.5455/OVJ.2024.v14.i8.22>.

AMORIM, D. de S. Biogeografia da região Neotropical. In: RAFAEL, J. A. et al. (Eds.). **Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia**. 2. ed. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 2024. p. 89-108. doi: 10.61818/56339464c04.

AMORIM, António; FERNANDES, Teresa; TAVEIRA, Nuno. Mitochondrial DNA in human identification: a review. **PeerJ**, [S.L.], v. 7, p. 1-24, 13 ago. 2019. PeerJ. <http://dx.doi.org/10.7717/peerj.7314>.

ANDERSON, S. *et al.* Sequence and organization of the human mitochondrial genome. **Nature**, [S.L.], v. 290, n. 5806, p. 457-465, abr. 1981. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/290457a0>.

ANDERSON, E. P.; JENKINS, C. N.; HEILPERN, S.; MALDONADO-OCAMPO, J. A.; CARVAJAL-VALLEJOS, F. M.; ENCALADA, A. C.; RIVADENEIRA, J. F.; HIDALGO, M.; CAÑAS, C. M.; ORTEGA, H.; SALCEDO, N.; MALDONADO, M.; TEDESCO, P. A. Fragmentation of Andes-to-Amazon connectivity by hydropower dams. **Science Advances**, v. 4, n. 1, 2018. doi: 10.1126/sciadv.aao1642.

ANDREOTTI, G. F. **Efeitos de ações antrópicas sobre as interações bióticas entre os peixes de uma planície de inundação Neotropical: alterações nos padrões de coocorrência de espécies**. 2024. 74 f. Tese (Doutorado em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais) - Departamento de Biologia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2024.

ANDÚJAR, C.; ARRIBAS, P.; YU, D. W.; VOGLER, A. P.; EMERSON, B. C. Why the COI barcodes should be the community DNA metabarcode for the metazoa. **Molecular Ecology**, v. 27, p. 3968–3975, 2018. doi: 10.1111/mec.14844.

ANTONELLI, A.; ARIZA, M.; ALBERT, J.; ANDERMANN, T.; AZEVEDO, J.; BACON, C.; FAURBY, S.; GUEDES, T.; HOORN, C.; LOHMANN, L. G.; MATOS-MARAVÍ, P.; RITTER, C. D.; SANMARTÍN, I.; SILVESTRO, D.; TEJEDOR, M.; TER STEEGE, H.; TUOMISTO, H.; WERNECK, F. P.; ZIZKA, A.; EDWARDS, S. V. Conceptual and empirical advances in Neotropical biodiversity research. **PeerJ**, v. 6, e5644, 2018c. doi: 10.7717/peerj.5644.

ANTONELLI, A.; ZIZKA, A.; CARVALHO, F. A.; SCHARN, R.; BACON, C. D.; SILVESTRO, D.; CONDAMINE, F. L. Amazonia is the primary source of Neotropical biodiversity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 115, n. 23, p. 6034-6039, 2018b. doi: 10.1073/pnas.1713819115.

ANTONELLI, A. The rise and fall of Neotropical biodiversity. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 199, n. 1, p. 8-25, 2021. doi: 10.1093/botlinnean/boab061.

ANTONELLI, A.; KISSLING, W. D.; FLANTUA, S. G. A.; BERMÚDEZ, M. A.; MULCH, A.; MUELLNER-RIEHL, A. N.; KREFT, H.; LINDER, H. P.; BADGLEY, C.; FJELDSÅ, J.; FRITZ, S. A.; RAHBEK, C.; HERMAN, F.; HOOGHIEEMSTRA, H.; HOORN, C. Geological and climatic influences on mountain biodiversity. **Nature Geoscience**, v. 11, n. 10, p. 718-725, 2018a. doi: 10.1038/s41561-018-0236-z. ARCHIBALD, J. M. Endosymbiosis and Eukaryotic Cell Evolution. **Current Biology**, v. 25, n. 19, p. R911-R921, 2015. DOI: 10.1016/j.cub.2015.07.055.

ARCE H., M.; REIS, R. E.; GENEZRA, A. J.; SABAJ PÉREZ, M. H. Filogenia molecular dos bagres espinhosos (Siluriformes: Doradidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 67, n. 3, p. 560–577, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.02.021>

ARCHIBALD, John M.. Endosymbiosis and Eukaryotic Cell Evolution. **Current Biology**, [S.L.], v. 25, n. 19, p. 911-921, out. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2015.07.055>.

ARDURA, A.; LINDE, A. R.; MOREIRA, J. C.; GARCIA-VAZQUEZ, E. DNA barcoding for conservation and management of Amazonian commercial fish. **Biological Conservation**, v. 143, p. 1438-1443, 2010. DOI: 10.1016/j.biocon.2010.03.019.

ARMSTRONG, K. F.; BALL, S. L. DNA barcodes for biosecurity: invasive species identification. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 360, n. 1462, p. 1813-1823, 2005. doi: 10.1098/rstb.2005.1713.

ASHOUR, Esraa Mostafa; AHMED, Ragaa A.; ABASS, Nermeen Y.. DNA barcoding and phylogenetic analysis to characterize biodiversity of some freshwater fish species in Lake Nasser and River Nile. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 1-13, 9 out. 2025. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-025-20830-z>.

AVISE, J. C.; ARNOLD, J.; BALL, R. M.; BERMINGHAM, E.; LAMB, T.; NEIGEL, J. e; A REEB, C.; SAUNDERS, N. C. INTRASPECIFIC PHYLOGEOGRAPHY: the mitochondrial dna bridge between population genetics and systematics. **Annual Review**

Of Ecology And Systematics, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 489-522, nov. 1987. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.es.18.110187.002421>.

AZEVEDO, M. F. C.; et al. Phylogenetic analysis of the order Pleuronectiformes (Teleostei) based on sequences of 12S and 16S mitochondrial genes. **Genetics and Molecular Biology**, v. 31, n. 1, p. 284–292, 2008.

BADOTTI, F.; OLIVEIRA, F. S. de; GARCIA, C. F.; VAZ, A. B.; FONSECA, P. L.; NAHUM, L. A.; OLIVEIRA, G.; GÓES-NETO, A. Effectiveness of ITS and sub-regions as DNA barcode markers for the identification of Basidiomycota (Fungi). **BMC Microbiol**, 2017 fev 23; 17(1): 42. doi: 10.1186/s12866-017-0958-x. PMID: 28228107.

BALLEN, G. A.; PINNA, M. C. C. de. A standardized terminology of spines in the order Siluriformes (Actinopterygii: ostariophysi). **Zoological Journal Of The Linnean Society**, Oxford, v. 194, n. 2, p. 601-625, 27 mar. 2021. DOI: 10.1093/zoolinnean/zlab008.

BARLETTA, M.; JAUREGUIZAR, A. J.; BAIGUN, C.; FONTOURA, N. F.; AGOSTINHO, A. A.; ALMEIDA-VAL, V. M. F.; VAL, A. L.; TORRES, R. A.; JIMENES-SEGURA, L. F.; GIARRIZZO, T.; FABRÉ, N. N.; BATISTA, V. S.; LASSO, C.; TAPHORN, D. C.; COSTA, M. F.; CHAVES, P. T.; VIEIRA, J. P.; CORRÊA, M. F. M. Fish and aquatic habitat conservation in South America: a continental overview with emphasis on neotropical systems. **Journal of Fish Biology**, [S.L.], v. 76, n. 9, p. 2118-2176, jun. 2010. Wiley. DOI: 10.1111/j.1095-8649.2010.02684.x.

BATISTELLA, A. M.; CASTRO, C. P. de; VALE, J. D. do. Conhecimento dos moradores da comunidade de Boas Novas, no Lago Janauacá - Amazonas, sobre os hábitos alimentares dos peixes da região. **Acta Amazonica**, [S.L.], v. 35, n. 1, p. 51-54, 2005. DOI: 10.1590/s0044-59672005000100008.

BAUMGARTNER, G.; PAVANELLI, C. S.; BAUMGARTNER, D.; BIFI, A. G.; DEBONA, T.; FRANA, V. A. Siluriformes. In: BAUMGARTNER, G. et al. **Peixes do baixo rio Iguaçu**. Maringá: Eduem, 2012. p. 101-146.

BECKER, R. A.; SALES, N. G.; SANTOS, G. M.; SANTOS, G. B.; CARVALHO, D. C.. DNA barcoding and morphological identification of neotropical ichthyoplankton from the Upper Paraná and São Francisco. **Journal Of Fish Biology**, [S.L.], v. 87, n. 1, p. 159-168, 18 maio 2015. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/jfb.12707>.

BEDDARD, F. E. **A Text-book of Zoogeography**. Cambridge: At the University Press, 1895. (Cambridge Natural Science Manuals. Biological Series).

BEGOSSI, A.; SILVANO, R. A. M. (ed.). **Ribeirinhos do Rio Negro**: passado e presente da interação com as águas e a floresta. Piracicaba: FEALQ, 2024. 208 p.

BELEI, F.; SAMPAIO, W. M. S.; GIONGO, P.; DERGAM, J. Ichthyofauna of a priority area for conservation in the Middle São Francisco River, southeast of Brazil. **Neotropical**

Biology and Conservation, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 94-100, 3 maio 2016. DOI: 10.4013/nbc.2016.112.06.

BESSONART, J.; LOUREIRO, M.; GUERRERO, J. C.; SZUMIK, C. Distribution of freshwater fish from the Southern Neotropics reveals three new areas of endemism and show diffuselimits among freshwater core regions. **Neotropical Ichthyology**, [S.L.], v. 19, n. 4, p. 1-20, 2021. DOI: 10.1590/1982-0224-2020-0153.

BETANCUR-R, R.; WILEY, E. O.; ARRATIA, G.; ACERO, A.; BAILLY, N.; MIYA, M.; LECOINTRE, G.; ORTÍ, G. Phylogenetic classification of bony fishes. **Bmc Evolutionary Biology**, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 1-40, 6 jul. 2017. DOI: 10.1186/s12862-017-0958-3.

BETANCUR-R, R. Filogenética molecular e história evolutiva de bagres áridos revisitadas: uma amostragem abrangente. **BMC Evol Biol**, v. 9, n. 175, 2009. DOI: 10.1186/1471-2148-9-175.

BEVILAQUA, D. R. **Deteção e distribuição temporal de espécies de peixes em lagos de várzea na Amazônia Central utilizando DNA ambiental (DNAa)**. 2018. 154 f. Tese (Doutorado) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2018.

BEZERRA, E. F. **Código de barra de DNA como ferramenta na taxonomia de aves amazônicas**. 2013. 52 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2013.

BHATTACHARYA, M.; SHARMA, A. R.; PATRA, B. C.; SHARMA, G.; SEO, E. M.; NAM, J. S.; CHAKRABORTY, C.; LEE, S. S. DNA barcoding of fishes: current status and future directions. **Mitochondrial DNA A DNA MappSeq Anal**, v. 27, n. 4, p. 2744-2752, 2016. DOI: 10.3109/19401736.2015.1046175.

BINGPENG, Xing; HESHAN, Lin; ZHILAN, Zhang; CHUNGUANG, Wang; YANGUO, Wang; JIANJUN, Wang. DNA barcoding for identification of fish species in the Taiwan Strait. **PlosOne**, [S.L.], v. 13, n. 6, p. 1-13, 1 jun. 2018. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0198109>.

BIRINDELLI, J. L. O.; SIDLAUSKAS, B. L. Preface: how far has neotropical ichthyology progressed in twenty years?. **Neotropical Ichthyology**, [S.L.], v. 16, n. 3, p. 1-8, 2018. DOI: 10.1590/1982-0224-20180128.

BITTENCOURT, P. S.; MACHADO, V. N.; MARSHALL, B. G.; HRBEK, T.; FARIAS, I. P. Phylogenetic relationships of the neon tetras *Paracheirodon* spp. (Characiformes: characidae). **Neotropical Ichthyology**, [S.L.], v. 18, n. 2, p. 1-11, 2020. DOI: 10.1590/1982-0224-2019-0109.

BOORE, Jeffrey L. Animal mitochondrial genomes. **Nucleic Acids Research**, [S. l.], v. 27, n. 8, p. 1767-1780, 1999.

BORAH, P. Primer designing for PCR. **Science Vision**, v. 11, n. 3, p. 134–136, jul./set. 2011. ISSN 0975-6175. ISSN online: 2229-6026.

BORGES, S. H. Análise biogeográfica da avifauna da região oeste do baixo Rio Negro, Amazônia brasileira. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 24, p. 919-940, 2007.

BÖTTGER-SCHNACK, R.; MACHIDA, R. J. Comparação de características morfológicas e moleculares para identificação de espécies e agrupamento taxonômico de copépodes oncaeídeos. **Hydrobiologia**, v. 666, p. 111–125, 2011.

BRAY, I. E.; ALSHAMI, I. J. J.; KUDOH, T. The diversity and evolution of electric organs in Neotropical knifefishes. **EvoDevo**, v. 13, n. 9, 2022. DOI: 10.1186/s13227-022-00194-5.

BROWN, W. M.; GEORGE, M.; WILSON, A. C. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 76, n. 4, p. 1967-1971, abr. 1979. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.76.4.1967>. <http://www.pnas.org/content/76/4/1967>.

BUCKUP, P. A.; MENEZES, N. A.; GHAZZI, M. S. (Ed.). **Catálogo das Espécies de Peixes de Água Doce do Brasil**. Rio de Janeiro: Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2007. 291p.

BUHAY, J. E. “COI-like” Sequences Are Becoming Problematic in Molecular Systematic and DNA Barcoding Studies. **Journal of Crustacean Biology**, [S.L.], v. 29, n. 1, p. 96-110, 1 jan. 2009. DOI: 10.1651/08-3020.1.

BUNHOLI, I. V.; FERRETTE, B. L. da S.; BIASI, J. B. De; MAGALHÃES, C. de O.; ROTUNDO, M. M.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F.; MENDONÇA, F. F. The fishing and illegal trade of the angel shark: DNA barcoding against misleading identifications. **Fisheries Research**, [S.L.], v. 206, p. 193-197, out. 2018. DOI: 10.1016/j.fishres.2018.05.018.

BURGER, R.; ZANATA, A. M.; CAMELIER, P. Estudo taxonômico da ictiofauna de água doce da bacia do Recôncavo Sul, Bahia, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 11, n. 4, p. 273-290, 2011.

CALEGARI, B. B.; VARI, R. P.; REIS, R. E. Phylogenetic systematics of the driftwood catfishes (Siluriformes: Auchenipteridae). **Zoological Journal of the Linnean Society**, [S.L.], v. 187, n. 3, p. 661-773, 11 set. 2019. DOI: 10.1093/zoolinnean/zlz036.

CAMARGO, M.; CARVALHO JÚNIOR, J.; ESTUPIÑAN, R. A. Peixes comerciais da ecorregião aquática Xingu-Tapajós. In: **Ecorregiões Aquáticas Xingu-Tapajós**. [S. l.: s. n.], 2012. p. 175-192.

CAMPOS, Maria Jorge; QUESADA, Alberto. Strategies to Improve Efficiency and Specificity of Degenerate Primers in PCR. **Methods In Molecular Biology**, [S.L.], p. 75-85, 2017. Springer New York. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-7060-5_4.

CANO-BARBACIL, C.; OLDEN, J. D.; GARCÍA-BERTHO, E. Myers' divisions revisited: Contemporary evidence for distinct trait differences among global inland fishes. **Fish and Fisheries**, v. 25, p. 672–685, 2024. DOI: 10.1111/faf.12832.

CANTER, R. L. Rivers Among the Ruins: The Usumacinta. **The PARI Journal**, San Francisco, v. 7, n. 3, p. 1-24, Winter 2007.

CARMO, V. A. Wallace, Sclater e os modelos de distribuição biogeográfica. *Filosofia e História da Biologia*, v. 16, n. 1, p. 113-129, 2021.

CASTELLANI, Christina A.; LONGCHAMPS, Ryan J.; SUN, Jing; GUALLAR, Eliseo; ARKING, Dan E.. Thinking outside the nucleus: mitochondrial DNA copy number in health and disease. **Mitochondrion**, [S.L.], v. 53, p. 214-223, jul. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mito.2020.06.004>.

CASTRO, R. M. C.; POLAZ, C. N. M. Small-sized fish: the largest and most threatened portion of the megadiverse neotropical freshwater fish fauna. **Biota Neotropica**, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 1-12, 2020. DOI: 10.1590/1676-0611-bn-2018-0683.

CAWTHORN, D.-M.; STEINMAN, H. A.; WITTHUHN, R. C. Evaluation of the 16S and 12S rRNA genes as universal markers for the identification of commercial fish species in South Africa. **Gene**, [S.L.], v. 491, n. 1, p. 40-48, jan. 2012. DOI: 10.1016/j.gene.2011.09.009.

CBOL Plant Working Group. A DNA barcode for land plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 31, p. 12794–12797, 2009. DOI: 10.1073/pnas.0905845106.

CHAN, A. H. E.; SARALAMBA, N.; SARALAMBA, S.; RUANGSITTICHA, J.; THAENKHAM, U. The potential use of mitochondrial ribosomal genes (12S and 16S) in DNA barcoding and phylogenetic analysis of trematodes. **Bmc Genomics**, [S.L.], v. 23, n. 1, p. 1-13, 7 fev. 2022. DOI: 10.1186/s12864-022-08302-4.

CHEE, S. Y. Limitations of cytochrome oxidase I for the barcoding of Neritidae (Mollusca: Gastropoda) as revealed by Bayesian analysis. **Genet Mol Res**, v. 14, n. 2, p. 5677-5684, 25 maio 2015. DOI: 10.4238/2015.May.25.20.

CHEN, S.; YAO, H.; HAN, J.; LIU, C.; SONG, J.; SHI, L.; ZHU, Y.; MA, X.; GAO, T.; PANG, X.; LUO, K.; LI, Y.; LI, X.; JIA, X.; LIN, Y.; LEON, C. Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species. **PLoS One**, v. 5, n. 1, e8613, 7 jan. 2010. DOI: 10.1371/journal.pone.0008613.

CHUKWUEMEKA, Prosper Obed *et al.* In silico design and validation of a highly degenerate primer pair: a systematic approach. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 1-17, dez. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1186/s43141-020-00086-y>.

CIVADE, Raphaël; DEJEAN, Tony; VALENTINI, Alice; ROSET, Nicolas; RAYMOND, Jean-Claude; BONIN, Aurélie; TABERLET, Pierre; PONT, Didier. Spatialrepresentativenessofenvironmental DNA metabarcodingsignal for fishbiodiversity assessment in a natural freshwater system. **PLOS ONE**, [S. l.], v. 11, n. 6, p. e0157366, 2016. DOI 10.1371/journal.pone.0157366.

CLARKE, L. J.; SOUBRIER, J.; WEYRICH, L. S.; COOPER, A. Environmental metabarcodes for insects: in silico PCR revealspotential for taxonomic bias. **Molecular EcologyResources**, [S.L.], v. 14, n. 6, p. 1160-1170, 2014. DOI: 10.1111/1755-0998.12265.

COLLEY, E.; FISCHER, M. L. Especiação e seus mecanismos: histórico conceitual e avanços recentes. **História, Ciências, Saúde-Manguinhos**, [S.L.], v. 20, n. 4, p. 1671-1694, dez. 2013. DOI: 10.1590/s0104-597020130005000013.

COLLINS, R. A. et al. Non-specificamplificationcompromisesenvironmental DNA metabarcodingwith COI. **Methods In EcologyAnd Evolution**, [S.L.], v. 10, n. 11, p. 1985-2001, 25 set. 2019. DOI: 10.1111/2041-210x.13276.

CORNWELL, W. K. et al. Whatwe (don't) knowabout global plantdiversity. **Ecography**, [S.L.], v. 42, n. 11, p. 1819-1831, set. 2019. DOI: 10.1111/ecog.04481.

CORRAL-LOU, A.; DOADRIO, I. Environmental DNA metabarcodingofwater samples as a tool for monitoringIberianfreshwaterfishcomposition. **PlosOne**, [S.L.], v. 18, n. 10, p. 1-26, 30 out. 2023. DOI: 10.1371/journal.pone.0283088.

COSTA, M. F.; BARLETTA, M. Specialchallenges in theconservationoffishesandaquaticenvironmentsof South America. **JournalOffishBiology**, [S.L.], v. 89, n. 1, p. 4-11, 26 maio 2016. DOI: 10.1111/jfb.12970.

COSTA, N. R. S.; GIANNI, E.; FARIA, R. S. A.; CARVALHO, C. B. V. DNA barcoding e mini-barcoding na rotina forense: avaliação da viabilidade e da eficácia das técnicas na identificação de espécies animais em amostras degradadas. **Revista Brasileira de Criminalística**, v. 13, n. 2, p. 83-91, 2024. DOI: 10.15260/rbc.v13i2.751.

COX, C. B.; MOORE, P. D.; LADLE, R. J. **Biogeografia - Uma Abordagem Ecológica e Evolucionária**. 9. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2019. E-book. p. 7. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788521635802>. Acesso em: 19 jun. 2025.

DAGOSTA, F. C. P.; PINNA, M. de. The FishesoftheAmazon: distributionandbiogeographicalpatterns, with a comprehensivelistofspecies. **Bulletin Of The American MuseumOf Natural History**, [S.L.], v. 2019, n. 431, p. 1-169, 13 jun. 2019. DOI: 10.1206/0003-0090.431.1.1.

DARWIN, C. **On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life.** New York: D. Appleton and Company, 1859.

DEAGLE, B. E.; JARMAN, S. N.; COISSAC, E.; POMPANON, F.; TABERLET, P. DNA metabarcoding and the cytochrome c oxidase subunit I marker: not a perfect match. **Biology Letters**, [S.L.], v. 10, n. 9, p. 1-5, set. 2014. DOI: 10.1098/rsbl.2014.0562.

DUPONCHELLE, F.; ISAAC, V. J.; DORIA, C. R. C.; VAN DAMME, P. A.; HERRERA-R, G. A.; ANDERSON, E. P.; CRUZ, R. E. A.; HAUSER, M.; HERMANN, T. W.; AGUDELO, E.; BONILLA-CASTILLO, C.; BARTHEM, R.; FREITAS, C. E. C.; GARCÍA-DÁVILA, C.; GARCÍA-VASQUEZ, A.; RENNO, J.-F.; CASTELLO, L. Conservation of migratory fishes in the Amazon basin. **Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems**, v. 31, n. 3, p. 1087-1105, 2021.

ELBRECHT, Vasco; HEBERT, Paul D. N.; STEINKE, Dirk. Slippage of degenerate primers can cause variation in amplicon length. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 1-5, 20 jul. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-29364-z>.

ELBRECHT, Vasco; LEESE, Florian. Can DNA-Based Ecosystem Assessments Quantify Species Abundance? Testing Primer Bias and Biomass—Sequence Relationships with an Innovative Metabarcoding Protocol. **PlosOne**, [S.L.], v. 10, n. 7, p. 1-16, 8 jul. 2015. Public Library of Science (PLOS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0130324>.

ELBRECHT, V.; TABERLET, P.; DEJEAN, T.; VALENTINI, A.; USSEGLIO-POLATERA, P.; BEISEL, J.-N.; COISSAC, E.; BOYER, F.; LEESE, F. Testing the potential of a ribosomal 16S marker for DNA metabarcoding of insects. **PeerJ**, [S.L.], v. 4, p. 1-12, 19 abr. 2016. DOI: 10.7717/peerj.1966.

FALKENBERG, Maria. Mitochondrial DNA replication in mammalian cells: overview of the pathway. **Essays In Biochemistry**, [S.L.], v. 62, n. 3, p. 287-296, 7 jun. 2018. Portland Press Ltd.. <http://dx.doi.org/10.1042/ebc20170100>.

FARIAS, I. P.; WILLIS, S.; LEÃO, A.; et al. The largest fish in the world's biggest river: genetic connectivity and conservation of *Arapaima gigas* in the Amazon and Araguaia-Tocantins drainages. **PLoS ONE**, v. 14, n. 8, e0220882, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220882>.

FARIA-PEREIRA, L. P.; HILSDORF, A. W. S.; ALBERT, J.; PAIVA, M. J. T. R.; GALVÃO, M. S. N. Molecular assessment of *Gymnotus* spp. (Gymnotiformes: gymnotidae) fishing used as live baitfish in the tietê river, Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v. 17, n. 4, p. 1-8, 2019. DOI: 10.1590/1982-0224-20190075.

FERNANDES, T. J. R.; COSTA, J.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; MAFRA, I. Exploiting 16S rRNA gene for the detection and quantification of fish as a potential allergenic food: A comparison of two

real-time PCR approaches. **Food Chemistry**, v. 245, p. 1034-1041, 2018. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.11.068.

FERRARI, A. **Filogenia, biogeografia e revisão de NezarAmyot&Serville, análise filogenética de Nezarini e áreas endêmicas de Pentatomidae na região Neotropical (Hemiptera, Heteroptera)**. 2009. 181 f. Tese (Doutorado em Biologia) - Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

FERRARIS JUNIOR, C. J.; SANTANA, C. D. de; VARI, R. P. Checklist of Gymnotiformes (Osteichthyes: ostariophysi) and catalogue of primary types. **Neotropical Ichthyology**, v. 15, n. 1, p. 1-44, 2017. DOI: 10.1590/1982-0224-20160067.

FERREIRA, T.; RODRÍGUEZ, S. Mitochondrial DNA: Inherent Complexities Relevant to Genetic Analyses. **Genes**, v. 15, n. 5, p. 617, 2024. DOI: 10.3390/genes15050617.

FILONZI, L.; ARDENGHI, A.; RONTANI, P. M.; VOCCIA, A.; FERRARI, C.; PAPA, R.; BELLIN, N.; MARZANO, F. N. Molecular Barcoding: a tool to guarantee correct seafood labelling and quality and preserve the conservation of endangered species. **Foods**, v. 12, n. 12, p. 2420, 2023. DOI: 10.3390/foods12122420.

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

FINNEGAN, Natalie; LIMA, Marcela G. M.; LYNCH, Jessica W.. Mitochondrial DNA for Phylogeny Building: assessing individual and grouped mt genes as proxies for the mt genome in platyrrhines. **American Journal of Primatology**, [S.L.], v. 87, n. 3, p. 1-18, mar. 2025. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ajp.70017>.

FONTENELLE, J. P.; LOVEJOY, N. R.; KOLMANN, M. A.; MARQUES, F. P. L. Molecular phylogeny for the Neotropical freshwater stingrays (Myliobatiformes: Potamotrygoninae) reveals limitations of traditional taxonomy. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 134, n. 2, p. 381-401, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1093/biolinnean/blab090>.

FRABLE, B. W.; MELO, B. F.; SIDLAUSKAS, B. L.; HOEKZEMA, K.; VARI, R. P.; OLIVEIRA, C. Data on the multilocus molecular phylogenies of the Neotropical fish family Prochilodontidae (Teleostei: characiformes). **Data In Brief**, v. 9, p. 128-142, 2016. DOI: 10.1016/j.dib.2016.08.015.

FRANCIS, C. M.; BORISENKO, A. V.; IVANOVA, N. V.; EGER, J. L.; LIM, B. K.; GUILLÉN-SERVENT, A.; KRUSKOP, S. V.; MACKIE, I.; HEBERT, P. D. N. The role of DNA barcodes in understanding and conservation of mammal diversity in southeast Asia. **PLoS One**, v. 5, n. 9, p. e12575, 2010. DOI: 10.1371/journal.pone.0012575.

FREITAS, P. H. L.; BUSSONS, M. R. F. M.; BUSSONS, I. N. B.; et al. Feeding ecology of *Osteoglossum bicirrhosum* (Osteoglossiformes: Osteoglossidae) in a central

Amazon reserve. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 97, n. 2, p. 1–8, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1590/0001-3765202520241121>

FREITAS, T. M. S.; PRUDENTE, B. S.; MONTAG, L. F. A. Influência do pulso de inundação na ecologia alimentar de dois bagres auchenipterídeos da Amazônia. **Neotropical Ichthyology**, v. 20, n. 1, p. e210103, 2022. DOI: 10.1590/1982-0224-2021-0103.

FREITAS, T. M. da S.; STROPP, J.; CALEGARI, B. B.; CALATAYUD, J.; MARCO, P. de; MONTAG, L. F. de A.; HORTAL, J. Quantifying shortfalls in the knowledge on Neotropical Auchenipteridae fishes. **Fish and Fisheries**, v. 22, n. 1, p. 87-104, 2020. DOI: 10.1111/faf.12507.

FREITAS, T. M. da S.; ALMEIDA, V. H. da C.; VALENTE, R. de M.; MONTAG, L. F. de A. Feeding ecology of *Auchenipterichthys longimanus* (Siluriformes: auchenipteridae) in a riparian flooded forest of eastern Amazonia, Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v. 9, n. 3, p. 629-636, 2011. DOI: 10.1590/s1679-62252011005000032.

FREITAS, Thaís Kaus de. **Evolução do gene mitocondrial COI em Aeglidae (Crustacea, Anomura) e implicações para DNA Barcoding**. 2013. 63 f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Animal) – Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

GHENO, B. P.; FRÖDER, H.; LOPES, T. S.; et al. Steps for primer development using open-access platforms. **Biologia**, v. 81, p. 24, 2026. DOI: 10.1007/s11756-025-02088-y.

GIROT, P. O.; NIETSCHMANN, B. Q. A Geopolítica e Ecopolítica do Rio San Juan. **Pesquisa e Exploração Geográfica Nacional**, v. 1, p. 52-63, 1992.

GISBERT, E.; LUZ, R. K.; FERNÁNDEZ, I.; PRADHAN, P. K.; SALHI, M.; MOZANZADEH, M. T.; KUMAR, A.; KOTZAMANIS, Y.; CASTRO-RUIZ, D.; BESSONART, M. Development, nutrition, and rearing practices of relevant catfish species (Siluriformes) at early stages. **Reviews in Aquaculture**, v. 14, n. 1, p. 73-105, 2021. DOI: 10.1111/raq.12586.

GLOBAL WATER PARTNERSHIP. **Integrated water resources management in Central America: The over-riding challenge of managing transboundary waters**. (Technical Focus Paper). 2016.

GOIS, G. B. **Mini-DNA Barcode para autenticação de produtos de pescado processado**. 2021. 69 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2021.

GOLDANI, A. **APLICABILIDADES E ESTUDO COMPARATIVO DA BIOGEOGRAFIA HISTÓRICA NA REGIÃO NEOTROPICAL COMO FERRAMENTAS PARA CONSERVAÇÃO: OS MÉTODOS "ANÁLISE DE PARCIMÔNIA DE ENDEMISMO" E "PANBIOGEOGRAFIA"**. 2010. 122 f. Tese

(Doutorado em Biologia) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Faculdade de Biociências, Porto Alegre, 2010.

GRAÇA, M. A. S.; LATRUBESSE, E. M.; CALLISTO, M.; MELLO, F. T. de; RODRÍGUEZ-OLARTE, D. Introduction to rivers of South America. In: LATRUBESSE, E. M. (Org.). **Rivers of South America**. [S. l.]: Elsevier, 2025. p. 1-17. DOI: 10.1016/b978-0-12-823429-7.00023-9.

GREBER, Basil J.; BAN, Nenad. Structure and Function of the Mitochondrial Ribosome. **Annual Review Of Biochemistry**, [S.L.], v. 85, n. 1, p. 103-132, 2 jun. 2016. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-biochem-060815-014343>.

GUO, M.; et al. Life barcoded by DNA barcodes. **Conservation Genetics Resources**, v. 14, p. 351-365, 2022.

HABIB, K. A.; NEOGI, A. K.; RAHMAN, M.; OH, J.; LEE, Y.-H.; KIM, C.-G. DNA barcoding of brackish and marine water fishes and shellfishes of Sundarbans, the world's largest mangrove ecosystem. **PlosOne**, v. 16, n. 8, p. 1-17, 2021. DOI: 10.1371/journal.pone.0255110.

HAJIBABAEI, M.; JANZEN, D. H.; BURNS, J. M.; HALLWACHS, W.; HEBERT, P. D. N. DNA barcodes distinguish species of tropical Lepidoptera. **Proceedings of The National Academy of Sciences**, v. 103, n. 4, p. 968-971, 2006. DOI: 10.1073/pnas.0510466103.

HALDAR, C.; NATH, S. DNA barcoding for fish species identification: current status and future prospective. **International Journal of Fauna and Biological Studies**, v. 7, n. 4, p. 72-75, 2020.

HALLWASS, G. **Etnoecologia e Pesca: influência de Unidades de Conservação e aplicação do Conhecimento Ecológico Local de pescadores no manejo e conservação dos recursos pesqueiros no Baixo Rio Tapajós, Amazônia Brasileira**. 2015. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-graduação em Ecologia, Porto Alegre, 2015.

HEBERT, P. D. N.; CYWINSKA, A.; BALL, S. L.; DEWAARD, J. R. Biological identification through DNA barcodes. **Proceedings of The Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 270, n. 1512, p. 313-321, 2003. DOI: 10.1098/rspb.2002.2218.

HEBERT, P. D. N.; STOECKLE, M. Y.; ZEMLAK, T. S.; FRANCIS, C. M. Identification of Birds through DNA Barcodes. **PlosBiology**, v. 2, n. 10, p. 1657-1663, 2004. DOI: 10.1371/journal.pbio.0020312.

HENNING, Frederico; MEYER, Axel. The Evolutionary Genomics of Cichlid Fishes: explosive speciation and adaptation in the postgenomic era. **Annual Review Of Genomics And Human Genetics**, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 417-441, 31 ago. 2014. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-genom-090413-025412>.

HILÁRIO, H. O.; MENDES, I. S.; GUIMARÃES-SALES, N.; CARVALHO, D. C. DNA metabarcoding of mock communities highlights potential biases when assessing Neotropical fish diversity. **Environmental Dna**, v. 5, n. 6, p. 1351-1361, 2023. DOI: 10.1002/edn3.456.

HOBAN, Sean *et al.* DNA-based studies and genetic diversity indicator assessments are complementary approaches to conserving evolutionary potential. **Conservation Genetics**, [S.L.], v. 25, n. 6, p. 1147-1153, 21 ago. 2024. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10592-024-01632-8>.

HOLT, B. G., LESSARD, J.-P., BORREGAARD, M. K., FRITZ, S. A., ARAÚJO, M. B., DIMITROV, D., FABRE, P.-H., GRAHAM, C. H., GRAVES, G. R., JØNSSON, K. A., NOGUÉS-BRAVO, D., WANG, Z., WHITTAKER, R. J., FJELDSÅ, J., & RAHBEK, C. (2013). An update of Wallace's zoogeographic regions of the world. **Science**, **339**(6115), 74-78.

HORREO, J. L.; ARDURA, A.; POLA, I. G.; MARTINEZ, J. L.; GARCIA-VAZQUEZ, E. Universal primers for species authentication of animal foodstuff in a single polymerase chain reaction. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, v. 93, n. 2, p. 354-361, 27 jun. 2012. DOI: 10.1002/jsfa.5766.

HORTAL, J.; BELLO, F. de; DINIZ-FILHO, J. A. F.; LEWINSOHN, T. M.; LOBO, J. M.; LADLE, R. J. Seven Shortfalls that Beset Large-Scale Knowledge of Biodiversity. **Annual Review Of Ecology, Evolution, And Systematics**, v. 46, n. 1, p. 523-549, 4 dez. 2015. DOI: 10.1146/annurev-ecolsys-112414-054400.

HOSSAIN, M. A. M.; UDDIN, S. M. K.; CHOWDHURY, Z. Z.; SULTANA, S.; JOHAN, M. R.; ROHMAN, A.; ERWANTO, Y.; ALI, M. E. Universal mitochondrial 16s rRNA biomarker for mini-barcoding to identify fish species in Malaysian fish products. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 36, n. 4, p. 493-506, 13 mar. 2019. DOI: 10.1080/19440049.2019.1580389.

HUDA, Tajmirul; KABIR, Md. Alamgir; RABBANE, Md. Golam. Complete Mitochondrial (mtDNA) Genome Analysis of Economically Significant Fish *Cirrhinus cirrhosus* in Bangladesh. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 26, n. 15, p. 1-14, 2 ago. 2025. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms26157473>.

HUDSON, P. F.; HENDRICKSON, D. A.; BENKE, A. C.; VARELA-ROMERO, A.; RODILES-HERNÁNDEZ, R.; MINCKLEY, W. L. RIVERS OF MEXICO. **Rivers Of North America**, p. 1030-1084, 2005. DOI: 10.1016/b978-012088253-3/50026-2.

IVANOVA, N. V.; ZEMLAK, T. S.; HANNER, R. H.; HEBERT, P. D. N. Coquetéis de primers universais para codificação de DNA de peixes. **Molecular Ecology Notes**, v. 7, n. 4, p. 544-548, 19 mar. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01748.x>.

IYIOLA, O. A.; NNEJI, L. M.; MUSTAPHA, M. K.; NZEH, C. G.; OLADIPO, S. O.; NNEJI, I. C.; OKEYOYIN, A. O.; NWANI, C. D.; UGWUMBA, O. A.; UGWUMBA, A. A. A.; FATUROTU, E. O.; WANG, Y.; CHEN, J.; WANG, W.; ADEOLA, A. DNA

barcoding of economically important freshwater fish species from north-central Nigeria uncovers cryptic diversity. **Ecology And Evolution**, v. 8, n. 14, p. 6932-6951, jun. 2018. DOI: 10.1002/ece3.4210.

JACOBINA, U. P.; LIMA, S. M. Q.; MAIA, D. Gama; SOUZA, G.; BATALHA-FILHO, H.; TORRES, R. A.. DNA barcodes shed light on systematics and evolution of neotropical freshwater trahiras. **Genetica**, [S.L.], v. 146, n. 6, p. 505-515, 25 out. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10709-018-0043-x>.

JAFAR, S.; ANJUM, K. M.; ZAHOR, M. Y. *et al.* Development and validation of a pair of universal primers for taxonomic and phylogenetic studies of vertebrates. **Molecular Biology Reports**, [S.L.], v. 51, p. 332, 2024. DOI: 10.1007/s11033-023-09175-w.

JAMES, Jennifer; EYRE-WALKER, Adam. Mitochondrial DNA Sequence Diversity in Mammals: a correlation between the effective and census population sizes. **Genome Biology And Evolution**, [S.L.], v. 12, n. 12, p. 2441-2449, 23 out. 2020. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/gbe/evaa222>.

JANZEN, F. H.; CRAMPTON, W. G. R.; LOVEJOY, N. R. A new taxonomist-curated reference library of DNA barcodes for Neotropical electric fish (Teleostei: gymnotiformes). **Zoological Journal Of The Linnean Society**, v. 196, n. 4, p. 1718-1742, 2 jun. 2022. DOI: 10.1093/zoolinnean/zlac039.

JENNINGS, W. B.; RUSCHI, P. A.; FERRARO, G.; QUIJADA, C. C.; SILVA-MALANSKI, A. C. G.; PROSDOCIMI, F.; BUCKUP, P. A. 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**, v. 62, n. 2, p. 77-83, fev. 2019. DOI: 10.1139/gen-2018-0145.

JÉZÉQUEL, Céline *et al.* A database of freshwater fish species of the Amazon Basin. **Scientific Data**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 1-9, 19 mar. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41597-020-0436-4>.

JOLY, C. A. Biodiversity and climate change in the Neotropical region. **Biota Neotropica**, v. 8, n. 1, p. 1-2, mar. 2008. DOI: 10.1590/s1676-06032008000100001.

JOPPA, L. N.; ROBERTS, D. L.; MYERS, N.; PIMM, S. L. Biodiversity hotspots house most undiscovered plant species. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, v. 108, n. 32, p. 13171-13176, 5 jul. 2011. DOI: 10.1073/pnas.1109389108.

JUBY, Nicole; CRAMPTON, William; LOVEJOY, Nathan. A 12S rDNA barcode reference library for Neotropical electric fishes (Teleostei, Gymnotiformes). **Preprint**, [S.L.], p. 1-17, 22 dez. 2025. Pensoft Publishers. <http://dx.doi.org/10.3897/arphapreprints.e183223>.

KAILOLA, P. J. Order Siluriformes Ariidae. In: CARPENTER, K. E.; NIEM, V. H. **The Living Marine Resources of the Western Central Pacific**, v. 3, n. 1, p. 1827-1879, 1999.

KAMIGUCHI, I. E.; ROCHA, N. S.; TREMORI, T. M. DNA barcode e identificação de espécies da fauna silvestre brasileira a partir de amostras sanguíneas. **Brazilian Journal Of Animal And Environmental Research**, v. 6, n. 2, p. 1196-1210, 7 maio 2023. DOI: 10.34188/bjaerv6n2-020.

KAVALCO, K. F.; PAZZA, R. Aspectos biogeográficos de componentes da ictiofauna da América Central. **Conscientiae Saúde**, v. 6, n. 1, p. 147-154, 7 abr. 2008. DOI: 10.5585/conssaude.v6i1.921.

KAYAMA, Kotetsu; KANNO, Miyuki; CHISAKI, Naoto; TANAKA, Misaki; YAO, Reika; HANAZONO, Kiwamu; CAMER, Gerry Amor; ENDOH, Daiji. Prediction of PCR amplification from primer and template sequences using recurrent neural network. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 1-24, 5 abr. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-86357-1>.

KELLY, Ryan P.; PORT, Jesse A.; YAMAHARA, Kevan M.; CROWDER, Larry B.. Using Environmental DNA to Census Marine Fishes in a Large Mesocosm. **PlosOne**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 1-11, 15 jan. 2014. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0086175>.

KESKİN, E.; ATAR, H. H. DNA barcoding commercially important fish species of Turkey. **Molecular Ecology Resources**, v. 13, n. 5, p. 788-797, set. 2013. DOI: [10.1111/1755-0998.12120](https://doi.org/10.1111/1755-0998.12120).

KOCHER, Thomas D.. Adaptive evolution and explosive speciation: the cichlid fish model. **Nature Reviews Genetics**, [S.L.], v. 5, n. 4, p. 288-298, 1 abr. 2004. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrg1316>.

KOCHZIUS, M.; SEIDEL, C.; ANTONIOU, A.; BOTLA, S. K.; CAMPO, D.; CARIANI, A., et al. Identificação de peixes por meio de códigos de barras de DNA e microarrays. **PLoS ONE**, v. 5, n. 9, p. e12620, 2010. DOI: 10.1371/journal.pone.0012620.

KOROIVA, R.; SANTANA, D. J. Evaluation of partial 12S rRNA, 16S rRNA, COI and Cytb gene sequence datasets for potential single DNA barcode for hylids (Anura: hylidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 94, n. 4, p. 1-15, 2022. DOI: 10.1590/0001-3765202220200825.

KRESS, W. J.; GARCÍA-ROBLEDO, C.; URIARTE, M.; ERICKSON, D. L. DNA barcoding for ecology, evolution, and conservation. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 30, n. 1, p. 25-35, jan. 2015. DOI: 10.1016/j.tree.2014.10.008.

KRESS, W. J.; ERICKSON, D. L. DNA barcodes: Genes, genomics, and bioinformatics. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 8, p. 2761-2762, 2008. DOI: 10.1073/pnas.0800476105.

KUROBE, T.; BAXA, D. V.; MIONI, C.; KUDELA, R. M.; SMYTHE, T. R.; WALLER, S.; CHAPMAN, A. D.; TEH, S. J. Identification of harmful cyanobacteria in the Sacramento-San Joaquin Delta and Clear Lake, California by DNA barcoding. **Springerplus**, v. 2, n. 491, 30 set. 2013. DOI: 10.1186/2193-1801-2-491.

KUYL, A. C. van der; BALLASINA, D. L. P.; DEKKER, J. T.; MAAS, J.; WILLEMSSEN, R. E.; GOUDSMIT, J. Phylogenetic Relationships among the Species of the Genus *Testudo* (Testudines: testudinidae) inferred from mitochondrial 12S rRNA gene sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 22, n. 2, p. 174-183, fev. 2002. DOI: 10.1006/mpev.2001.1052.

LADICH, F.; SCHULZ-MIRBACH, T. Diversity in Fish Auditory Systems: one of the riddles of sensory biology. **Frontiers In Ecology and Evolution**, v. 4, p. 1-26, 31 mar. 2016. DOI: 10.3389/fevo.2016.00028.

LAM, T. T. H.; DINH, Q. M.; NGUYEN, T. H. D.; PHAN, G. H. Genetic diversity and phylogenetic tree of *Butis* genus in the Vietnamese Mekong Delta based on mitochondrial cytochrome b gene sequences. **Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 50, n. 4, p. 498-505, dez. 2024. DOI: 10.1016/j.ejar.2024.07.006.

LAVOUÉ, S.; SULLIVAN, J. P. Simultaneous analysis of five molecular markers provides a well-supported phylogenetic hypothesis for the living bony-tonguefishes (Osteoglossomorpha: Teleostei). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 33, n. 1, p. 171-185, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2004.04.021>

LEAL, F. Os Ostariophysi e a Ordem Characiformes - Explosão de Diversidade em Água Doce. In: BRANDÃO, L. G. (coord.). **Conhecendo o Pantanal 4 - Peixes da Estância SESC Pantanal: Peixes de Pequeno Porte**. Rio de Janeiro: SESC, Departamento Nacional, 2008. p. 23.

LI, Li-Yan; LI, Qiang; YU, Yan-Hong; ZHONG, Mei; YANG, Lei; WU, Qing-Hong; QIU, Yu-Rong; LUO, Shen-Qiu. A primer design strategy for PCR amplification of GC-rich DNA sequences. **Clinical Biochemistry**, [S.L.], v. 44, n. 8-9, p. 692-698, jun. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2011.02.001>.

LI, J.; ZHAO, G. H.; ZOU, F. C.; MO, X. H.; YUAN, Z. G.; AI, L.; LI, H. L.; WENG, Y. B.; LIN, R. Q.; ZHU, X. Q. Combined mitochondrial 16S and 12S rDNA sequences: an effective genetic marker for inter-species phylogenetic analysis of zoonotic trematodes. **Parasitology Research**, v. 107, n. 3, p. 561-569, 12 maio 2010. DOI: 10.1007/s00436-010-1895-x.

LIMA, F. C. T. de; CAIRES, R. A. Peixes da Estação Ecológica Serra Geral do Tocantins, bacias dos Rios Tocantins e São Francisco, com observações sobre as implicações biogeográficas das. **Biota Neotropica**, v. 11, n. 1, p. 231-250, mar. 2011. DOI: 10.1590/s1676-06032011000100024.

LIMA, M. C. C. de; LIMA, S. C.; SAVADA, C. S.; SUZUKI, K. M.; ORSI, M. L.; ALMEIDA, F. S. de. Use of DNA barcode in the identification of fish eggs in tributaries of the Paranapanema River basin. **Genetics And Molecular Biology**, v. 43, n. 3, p. 1-9, 2020. DOI: 10.1590/1678-4685-gmb-2019-0352.

LIMA, N. E. de; CARVALHO, A. A.; LIMA-RIBEIRO, M. S.; MANFRIN, M. H. Caracterização e história biogeográfica dos ecossistemas secos neotropicais. **Rodriguésia**, v. 69, n. 4, p. 2209-2222, dez. 2018b. DOI: 10.1590/2175-7860201869445.

LIMA, R. A. F. de; OLIVEIRA, A. A. de; COLLETTA, G. D.; FLORES, T. B.; COELHO, R. L. G.; DIAS, P.; FREY, G. P.; IRIBAR, A.; RODRIGUES, R. R.; SOUZA, V. C.; CHAVE, J. Can plant DNA barcoding be implemented in species-rich tropical regions? A perspective from São Paulo State, Brazil. **Genetics And Molecular Biology**, v. 41, n. 3, p. 661-670, 2018a. DOI: 10.1590/1678-4685-gmb-2017-0282.

LIMA, Tiago Ferreira Oliveira de; DUARTE, Diego Andreazzi; SÁ, André Luís Braghini. Mitocôndria Revisada. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, [S. l.], v. 2, p. 94-107, 2011. ISSN 2178-2091.

LIMEIRA FILHO, D.; FRANÇA, E. R. R.; COSTA, D. K. P.; et al. Molecular evidence reveals taxonomic uncertainties and cryptic diversity in the Neotropical catfish of the genus *Pimelodus* (Siluriformes: Pimelodidae). **Biology**, v. 13, n. 3, p. 162, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology13030162>.

LINHART, Chaim; SHAMIR, Ron. The degenerate primer design problem. **Bioinformatics**, [S. l.], v. 18, n. 1, p. 172-181, 1 jul. 2002. Oxford University Press (OUP). http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/18.suppl_1.s172.

LIU, J.; JIANG, J.; SONG, S.; et al. Multilocus DNA barcoding – species identification with multilocus data. **Scientific Reports**, v. 7, p. 16601, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16920-2>.

LOIDI, J.; VYNOKUROV, D. The biogeographical kingdoms and regions of the world. **Mediterranean Botany**, v. 45, n. 2, p. 1-50, 20 maio 2024. DOI: 10.5209/mbot.92333.

LOPES, G. C. S.; MATOS, O. F.; FREITAS, C. E. C. Spatial dynamics of Amazonian commercial fisheries: an analysis of landscape composition and fish landings. **Brazilian Journal Of Biology**, v. 83, p. 1-11, 2023. DOI: 10.1590/1519-6984.265791.

LÓPEZ-FERNÁNDEZ, H.; WINEMILLER, K. O.; HONEYCUTT, R. L. Multilocus phylogeny and rapid radiations in Neotropical cichlid fishes (Perciformes: Cichlidae: Cichlinae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 55, n. 3, p. 1070–1086, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.02.020>

LORUSSO, L. et al. Authentication of seafood species on the ASFIS list (FAO) by in-silico evaluation of primers for metabarcoding. **Food Control**, [s. l.], v. 165, p. 1-12, nov. 2024.

LÜCKING, R. *et al.* Unambiguous identification of fungi: where do we stand and how accurate and precise is fungal DNA barcoding?. **IMA Fungus**, v. 11, n. 14, 10 jul. 2020. DOI: 10.1186/s43008-020-00033-z.

LUJAN, N. K.; ARMBRUSTER, J. W.; LOVEJOY, N. R.; LÓPEZ-FERNÁNDEZ, H. Multilocus molecular phylogeny of the suckermouth armored catfishes (Siluriformes: Loricariidae) with a focus on subfamily Hypostominae. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 82, p. 269–288, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.08.020>.

LV, J.; et al. Assessment of four DNA fragments (COI, 16S rDNA, ITS2, 12S rDNA) for species identification of the Ixodida (Acari: Ixodida). **Parasites & Vectors**, v. 7, p. 93, 2014.

LUNDBERG, J. G.; MARSHALL, L. G.; GUERRERO, J.; HORTON, B.; MALABARBA, M. C. S. L.; WESSELINGH, F. The Stage for Neotropical Fish Diversification: A History of Tropical South American Rivers. In: MALABARBA, L. R.; REIS, R. E.; VARI, R. P.; LUCENA, Z. M. de; LUCENA, C. A. S. de (Eds.). **Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes**. Porto Alegre: Edipucrs, 1998. p. 43-69.

MACHADO, C. de B.; ISHIZUKA, T. K.; FREITAS, P. D. de; VALIATI, V. H.; GALETTI JR., P. M. DNA barcoding reveals taxonomic uncertainty in Salminus (Characiformes). **Systematics and Biodiversity**, v. 15, n. 4, p. 372-382, 2016. DOI: 10.1080/14772000.2016.1254390.

MACHIDA, Ryuji J.; KWESKIN, Matthew; KNOWLTON, Nancy. PCR Primers for Metazoan Mitochondrial 12S Ribosomal DNA Sequences. **PlosOne**, [S.L.], v. 7, n. 4, p. 1-6, 19 abr. 2012. Public Library of Science (PLOS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0035887>.

MACHIDA, R. J.; TSUDA, A. Dissimilarity of Species and Forms of Planktonic Neocalanus Copepods Using Mitochondrial COI, 12S, Nuclear ITS, and 28S Gene Sequences. **PlosOne**, v. 5, n. 4, p. 1-6, 28 abr. 2010. DOI: 10.1371/journal.pone.0010278.

MALABARBA, L. R.; MALABARBA, M. C. Phylogeny and classification of Neotropical fish. In: CARNEIRO, L. C.; OLIVEIRA, S. C. **Biology and physiology of freshwater neotropical fish**. Academic Press, 2020. p. 1-19. DOI: 10.1016/B978-0-12-815872-2.00001-4.

MARCENIUK, A. P. Chave para identificação das espécies de bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) da costa brasileira. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 31, n. 2, p. 89-101, 2005.

MARQUES, H.; DIAS, J. H. P.; PERBICHE-NEVES, G.; KASHIWAQUI, E. A. L.; RAMOS, I. P. Importance of dam-free tributaries for conserving fish biodiversity in Neotropical reservoirs. **Biological Conservation**, v. 224, p. 347-354, ago. 2018. DOI: 10.1016/j.biocon.2018.05.027.

MARTIN, William F.; GARG, Sriram; ZIMORSKI, Verena. Endosymbiotic theories for eukaryote origin. **Philosophical Transactions Of The Royal Society B: Biological Sciences**,

[S.L.], v. 370, n. 1678, p. 1-18, 26 set. 2015. The Royal Society. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2014.0330>.

MARTINS, L. S. F. **Diversidade e estado de conservação da fauna de peixes de riacho de quatro Parques Nacionais da Mata Atlântica**. 2023. 136 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Comparada) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

MATEUS, L. A. F.; PENHA, J. M. F. Dinâmica populacional de quatro espécies de grandes bagres na bacia do rio Cuiabá, Pantanal norte, Brasil (Siluriformes, Pimelodidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 24, n. 1, p. 87-98, mar. 2007. DOI: 10.1590/s0101-81752007000100012.

MCFADDEN, C. S.; BENAYAHU, Y.; PANTE, E.; THOMA, J. N.; NEVAREZ, P. A.; FRANCE, S. C. Limitationsofmitochondrial gene barcoding in Octocorallia. **Molecular EcologyResources**, v. 11, n. 1, p. 19-31, 13 dez. 2010. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2010.02875.x.

MEJÍA-ORTÍZ, M. L.; SPROUSE, P.; TEJEDA-MAZARIEGOS, J. C.; VALLADAREZ, J.; FRAUSTO-MARTÍNEZ, O.; COLLANTES-CHAVEZ-COSTA, A. L.; RUÍZ-CANCINO, G.; YÁÑEZ, G. Tropical SubterraneanEcosystems in Mexico, Guatemala and Belize: A Review ofAquaticBiodiversityandTheirEcologicalAspects. In: **Natural HistoryandEcologyof Mexico and Central America**. IntechOpen, 2021. DOI: 10.5772/intechopen.97694.

MELO, Bruno F *et al.* PhylogenomicsofCharacidae, a hyper-diverse Neotropical freshwaterfishlineage, with a phylogeneticclassificationincluding four families (Teleostei: characiformes). **ZoologicalJournalOf The Linnean Society**, [S.L.], v. 202, n. 1, p. 1-37, set. 2024. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/zoolinnea/zlae101>.

MELO-XIMENES, Amanda Alves de *et al.* Mitochondriongenomesofsevenspeciesoftheendangered genus Sporophila (Passeriformes: thraupidae). **GeneticsAnd Molecular Biology**, [S.L.], v. 47, n. 1, p. 1-6, 2024. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4685-gmb-2023-0172>.

MENEZES, N. A.; BUCKUP, P. A.; FIGUEIREDO, J. L. de; MOURA, R. L. de. **Catálogo das espécies de peixes marinhos do Brasil**. São Paulo: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, 2003.

MEUSNIER, I.; SINGER, G. A.; LANDRY, J.-F.; HICKEY, D. A.; HEBERT, P. D. N.; HAJIBABAEI, M. A universal DNA mini-barcode for biodiversityanalysis. **BmcGenomics**, v. 9, n. 1, p. 1-4, 12 maio 2008. DOI: 10.1186/1471-2164-9-214.

MD, W.; ROBIUL, H. M.; REZA, H. M. A. Fishesundertheorder Siluriformes available in theinlandwaterofMymensinghregion, Bangladesh. **Bangladesh JournalofProgressive Science & Technology**, v. 11, n. 1, p. 115-120, jan. 2013.

MILOSLAVICH, P.; KLEIN, E.; DÍAZ, J. M.; HERNÁNDEZ, C. E.; BIGATTI, G.; CAMPOS, L., et al. Biodiversidade Marinha nas Costas Atlântica e Pacífica da América do Sul: Conhecimento e Lacunas. **PlosOne**, v. 6, n. 1, p. e14631, 2011. DOI: 10.1371/journal.pone.0014631.

MILAN, D. T.; MENDES, I. S.; DAMASCENO, J. S.; TEIXEIRA, D. F.; SALES, N. G.; CARVALHO, D. C. New 12S metabarcoding primers for enhanced Neotropical freshwater fish biodiversity assessment. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1-12, 21 out. 2020. DOI: 10.1038/s41598-020-74902-3.

MINDELL, D. P.; HONEYCUTT, R. L. Ribosomal RNA in Vertebrates: evolution and phylogenetic applications. **Annual Review Of Ecology And Systematics**, [S.L.], v. 21, n. 1, p. 541-566, nov. 1990. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.es.21.110190.002545>.

MIRANDE, J. M. Phylogeny of the family Characidae (Teleostei: characiformes). **Neotropical Ichthyology**, v. 8, n. 3, p. 385-568, 2010. DOI: 10.1590/s1679-62252010000300001.

MIYA, M.; SATO, Y.; FUKUNAGA, T.; SADO, T.; POULSEN, J. Y.; SATO, K.; MINAMOTO, T.; YAMAMOTO, S.; YAMANAKA, H.; ARAKI, H.; KONDOH, M.; IWASAKI, W. MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: Detection of more than 230 subtropical marine species. **Royal Society Open Science**, v. 2, n. 7, p. 150088, 2015. DOI: 10.1098/rsos.150088.

MORALES, P.; GAJARDO, F.; VALDIVIESO, C.; et al. Genomes of the *Orestias* pupfish from the Andean Altiplano shed light on their evolutionary history and phylogenetic relationships within Cyprinodontiformes. **BMC Genomics**, v. 25, p. 614, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12864-024-10416-w>.

MOREIRA, C. R. **Relações Filogenéticas na Ordem Characiformes (Ostariophysi, Teleostei)**. 2007. 468 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

MORRONE, J. J. **Biogeographical regionalisation of the Neotropical region**. Auckland, New Zealand: Magnolia Press, 2014. 110 p. (Zootaxa; v. 3782, n. 1). DOI: 10.11646/zootaxa.3782.1.1.

MORRONE, J. J. Cladistic biogeography of the Neotropical region: identifying the main events in the diversification of the terrestrial biota. **Cladistics**, v. 30, n. 2, p. 202-214, 15 mar. 2013. DOI: 10.1111/cla.12039.

MORRONE, J. J.; ESCALANTE, T.; RODRÍGUEZ-TAPIA, G.; CARMONA, A.; ARANA, M.; MERCADO-GÓMEZ, J. D. Biogeographic regionalization of the Neotropical region: new map and shapefile. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 94, n. 1, p. 1-5, 2022. DOI: 10.1590/0001-376520220211167.

MOTA, T. F. M.; PRIOLI, S. M. A. P.; PRIOLI, A. J. Estudos filogenéticos da Ordem Characiformes: tendências e carências. **Publ. UEPG Ci. Biol. Saúde**, v. 20, n. 1, p. 21-36, jan./jun. 2014. DOI: 10.5212/Publ.Biologicas.v.20i1.0003.

MUHALA, V.; GUIMARÃES-COSTA, A.; MACATE, I. E.; RABELO, L. P.; BESSA-SILVA, A. R.; WATANABE, L.; SANTOS, G. D. dos; SAMBORA, L.; VALLINOTO, M.; SAMPAIO, I. DNA barcoding for the assessment of marine and coastal fish diversity from the Coast of Mozambique. **PLoS ONE**, v. 19, n. 2, p. e0293345, 2024. DOI: 10.1371/journal.pone.0293345.

MUKUNDAN, Lakshmi P.; SUKUMARAN, Sandhya; RAJ, Neenu; JOSE, Anjaly; GOPALAKRISHNAN, Achamveetil. Positive selection in the mitochondrial protein coding genes of teleost regional endotherms: Evidence for adaptive evolution. **Journal of the Marine Biological Association of India**, [S. l.], v. 64, n. 1, p. 10-18, 2022.

MUNTZ, W. R. A. A penetração de luz nas águas de rios amazônicos. **Acta Amazonica**, v. 8, n. 4, p. 613-619, dez. 1978. DOI: 10.1590/1809-43921978084613.

MYERS, G. S. **Freshwater fishes and West Indian zoogeography**. US Government Printing Office, 1938. Disponível em: <https://people.wku.edu/charles.smith/biogeog/MYER1938.htm>. Acesso: 25 jul 2025.

MYERS, G. S. Salt-tolerance of fresh-water fish groups in relation to zoogeographical problems. **Bijdr Dierk**, v. 28, p. 315-322, 1949.

NAKAMURA, Gabriel *et al.* Darwinian shortfall and macroecological patterns in genetic data of Tocantins-Araguaia basin fishes. **Neotropical Ichthyology**, [S. l.], v. 23, n. 1, p. 1-19, 2025. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1982-0224-2024-0047>.

NAKATANI, M.; MIYA, M.; MABUCHI, K.; *et al.* Evolutionary history of Otophysi (Teleostei), a major clade of the modern freshwater fishes: Pangaea origin and Mesozoic radiation. **BMC Evolutionary Biology**, v. 11, p. 177, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2148-11-177>.

NILSSON, C.; REIDY, C. A.; DYNESIUS, M.; REVENGA, C. Fragmentation and flow regulation of the world's larger river systems. **Science**, v. 308, n. 5720, p. 405-408, 2005. DOI: 10.1126/science.1107887.

NOBILE, A. B.; FREITAS-SOUZA, D.; RUIZ-RUANO, F. J.; NOBILE, M. L. M. O.; COSTA, G. O.; LIMA, F. P. de; CAMACHO, J. P. M.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. DNA metabarcoding of Neotropical ichthyoplankton: enabling high accuracy with lower cost. **Metabarcoding and Metagenomics**, v. 3, p. 69-76, 5 set. 2019. DOI: 10.3897/mbmg.3.35060.

NOGUEIRA, C.; BUCKUP, P. A.; MENEZES, N. A.; OYAKAWA, O. T.; KASECKER, T. P.; RAMOS NETO, M. B.; SILVA, J. M. C. da. Restricted-Range

Fishes and the Conservation of Brazilian Freshwaters. **PlosOne**, v. 5, n. 6, p. 1-10, 30 jun. 2010. DOI: 10.1371/journal.pone.0011390.

NORONHA, F. A. **Assembleias de peixes consumidoras de frutos e dispersoras de sementes em uma área de igapó da Amazônia Central, Brasil**. 2018. 71 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Pesqueiras nos Trópicos) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2018.

NUNES, D. B. S. M.; PONTES, A. I.; SANTOS, L. F. dos; CALADO, L. L.; BARROS-NETO, L. F.; LUSTOSA-COSTA, S. Y.; LIMA, S. M. Q.; JACOBINA, U. P. DNA barcoding highlights taxonomic uncertainties and cryptic lineages of São Francisco River basin fishes. **Neotropical Ichthyology**, v. 22, n. 4, p. 1-19, 2024. DOI: 10.1590/1982-0224-2024-0059.

OLIVEIRA, D. C.; BENNEMANN, S. T. Ictiofauna, recursos alimentares e relações com as interferências antrópicas em um riacho urbano no sul do Brasil. **Biota Neotropica**, v. 5, n. 1, p. 95-107, 2005. DOI: [10.1590/S1676-06032005000100011](https://doi.org/10.1590/S1676-06032005000100011).

OLIVEIRA, L. B. de. **Efeitos imediatos na composição taxonômica e funcional de peixes em decorrência da instalação de Pequenas Centrais Hidrelétricas (PCH's)**. 2019. 42 f. Dissertação (Mestrado em Conservação de Recursos Naturais do Cerrado) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Urutaí, Urutaí, 2019.

OLIVEIRA, R. C. G.; SILVA, J. L. N.; SILVA, A. C. C.; SOUSA, P. R. S.; ALMEIDA, M. S.; NASCIMENTO, M. H. S.; RODRIGUES-FILHO, L. F. S.; BARROS, M. C.; FRAGA, E. C. DNA barcode reveals a new lineage of *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus 1758) in the basin of the Western Northeast Atlantic Region, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 96, n. 4, p. 1-14, nov. 2024. DOI: 10.1590/0001-3765202420240161.

ORY, D.; CUENOT, Y.; VIGOUROUX, R.; et al. Complete mitochondrial genome of the river stingray *Potamotrygon orbignyi* (Myliobatiformes: Potamotrygonidae). **Mitochondrial DNA Part B**, v. 4, n. 2, p. 3153–3154, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/23802359.2019.1666683>.

OUSO, Daniel O. *et al.* Three-gene PCR and high-resolution melting analysis for differentiating vertebrate species mitochondrial DNA for biodiversity research and complementing forensic surveillance. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 1-13, 16 mar. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-020-61600-3>.

OZTURK, Ahmet Rasit; CAN, Tolga. A multiplex primer design algorithm for target amplification of continuous genomic regions. **Bmc Bioinformatics**, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 1-9, 19 jun. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12859-017-1716-7>.

PANPROMMIN, D. *et al.* DNA barcoding for fish species identification and diversity assessment in the Mae Tam reservoir, Thailand. **Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 26, n. 9, p. 548–557, 2023.

PEASE, A. A. *et al.* Rivers of Mexico. In: *Rivers of North America*. [S. l.]: Elsevier, 2023. p. 974–1024.

PELAYO-VILLAMIL, P. *et al.* Global diversity patterns of freshwater fishes – potential victims of their own success. **Diversity and Distributions**, v. 21, n. 3, p. 345–356, mar. 2015. DOI: [10.1111/ddi.12271](https://doi.org/10.1111/ddi.12271).

PELICICE, F. M.; AZEVEDO-SANTOS, V. M.; VITULE, J. R. S.; ORSI, M. L.; LIMA JUNIOR, D. P.; MAGALHÃES, A. L. B.; POMPEU, P. S.; PETRERE JUNIOR, M.; AGOSTINHO, A. A. Neotropical freshwater fishes imperilled by unsustainable policies. **Fish and Fisheries**, v. 18, n. 6, p. 1119–1133, nov. 2017. DOI: [10.1111/faf.12228](https://doi.org/10.1111/faf.12228).

PELICICE, F. M.; CASTELLO, L. A political tsunami hits Amazon conservation. **Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems**, v. 31, n. 5, p. 1221–1229, 26 mar. 2021. DOI: [10.1002/aqc.3565](https://doi.org/10.1002/aqc.3565).

PELLISSIER, L. Detecting aquatic and terrestrial biodiversity in a tropical estuary using environmental DNA. **Biotropica**, v. 53, n. 6, p. 1606–1619, nov. 2021. DOI: [10.1111/btp.13009](https://doi.org/10.1111/btp.13009).

PENTINSAARI, Mikko; SALMELA, Heli; MUTANEN, Marko; ROSLIN, Tomas. Molecular evolution of a widely-adopted taxonomic marker (COI) across the animal tree of life. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 1–12, 13 out. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/srep35275>.

PEREIRA, Antonio Marcos Silva. **Identificação molecular por DNA barcoding de peixes das ordens Cichliformes e Acanthuriformes em rios do Maranhão**. 2016. 36 f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Maranhão, Maranhão, 2016.

PEREIRA, L. H. G.; HANNER, R.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. Can DNA barcoding accurately discriminate megadiverse Neotropical freshwater fish fauna?. **BMC Genetics**, v. 14, 20, 2013. DOI: [10.1186/1471-2156-14-20](https://doi.org/10.1186/1471-2156-14-20).

PIÑOL, J.; MIR, G.; GOMEZ-POLO, P.; AGUSTÍ, N. Universal and blocking primer mismatches limit the use of high-throughput DNA sequencing for the quantitative metabarcoding of arthropods. **Molecular Ecology Resources**, v. 15, n. 4, p. 819–830, 23 dez. 2014. DOI: [10.1111/1755-0998.12355](https://doi.org/10.1111/1755-0998.12355).

PIO, Nathália Luiz; CARVALHO, Tiago P. Evidence on the paleodrainage connectivity during Pleistocene: phylogeography of a hypoptopomatine endemic to southeastern Brazilian coastal drainages. **Neotropical Ichthyology**, [S. l.], v. 19, n. 2, p. 1–15, 2021. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1982-0224-2020-0128>.

POLANCO, A.; MARTINEZGUERRA, M. M.; MARQUES, V.; VILLA-NAVARRO, F.; PÉREZ, G. H. B.; CHEUTIN, M. C.; DEJEAN, T.; HOCDE, R.; JUHEL, J. B.; MAIRE, E.; MANEL, S.; SPESCHIA, M.; VALENTINI, A.; MOUILLOT, D.; ALBOUY, C.;

POPPER, A. N. The morphology of the Weberian ossicles of two species of the genus *Astyanax* (Ostariophysi: characidae). **Journal of Morphology**, v. 133, n. 2, p. 179-188, fev. 1971. DOI: [10.1002/jmor.1051330205](https://doi.org/10.1002/jmor.1051330205).

POPPER, A. N.; PLATT, C. Sensory surface of the sacculus and lagena in the ear of ostariophysan fishes. **Journal of Morphology**, v. 176, n. 2, p. 121-129, maio 1983. DOI: [10.1002/jmor.1051760202](https://doi.org/10.1002/jmor.1051760202).

POSADA-LÓPEZ, L.; RODRIGUES, B. L.; VELEZ, I. D.; URIBE, S. Improving the COI DNA barcoding library for Neotropical phlebotomines and flies (Diptera: Psychodidae). **Parasites & Vectors**, v. 16, n. 1, p. 198, 12 jun. 2023. DOI: [10.1186/s13071-023-05807-z](https://doi.org/10.1186/s13071-023-05807-z).

QUEIROZ, K. de. Species Concepts and Species Delimitation. **Systematic Biology**, v. 56, n. 6, p. 879-886, 1 dez. 2007. DOI: [10.1080/10635150701701083](https://doi.org/10.1080/10635150701701083).

QUINTANA, Y. Fish fauna of the Río San Pedro and Río La Pasi3n, Usumacinta River Basin, Guatemala. **Biota Neotropica**, v. 24, n. 1, 2024.

QURAISHI, Siti Farah; PANNEERCHELVAM, Sundararajulu; ZAINUDDIN, Zafarina; ABD RASHID, Nur Haslindawaty. Molecular characterization of Malaysian marine fish species using partial sequence of mitochondrial DNA 12S and 16S rRNA markers. **Sains Malaysiana**, v. 44, n. 8, p. 1119–1123, 2015.

RAMIREZ, J. L.; BIRINDELLI, J. L.; CARVALHO, D. C.; AFFONSO, P. R. A. M.; VENERE, P. C.; ORTEGA, H.; CARRILLO-AVILA, M.; RODRÍGUEZ-PULIDO, J. A.; GALETTI, P. M. Revealing Hidden Diversity of the Underestimated Neotropical Ichthyofauna: DNA barcoding in the recently described genus *megaleporinus* (characiformes). **Frontiers In Genetics**, v. 8, p. 1-11, 12 out. 2017. DOI: [10.3389/fgene.2017.00149](https://doi.org/10.3389/fgene.2017.00149).

RAMIREZ, J. L.; SANTOS, C. A.; MACHADO, C. B.; OLIVEIRA, A. K.; GARAVELLO, J. C.; BRITSKI, H. A.; GALETTI, P. M. Molecular phylogeny and species delimitation of the genus *Schizodon* (Characiformes, Anostomidae). **Molecular Phylogenetics And Evolution**, v. 153, p. 1-14, dez. 2020. DOI: [10.1016/j.ympev.2020.106959](https://doi.org/10.1016/j.ympev.2020.106959).

RAMOS, C. do S. **Revis3o taxon3mica de *Gymnorhamphichthys* (Gymnotiformes, Rhamphichthyidae) com descri3o de duas novas esp3cies**. 2010. 100 p. Disserta3o (Mestrado em Zoologia) - Programa de P3s-Gradua3o em Zoologia, Museu Paraense Em3lio Goeldi e Universidade Federal do Par3, Bel3m, 2010.

REIMNITZ, E.; GUTIÉRREZ-ESTRADA, M. Rapid changes in the head of the Rio Balsas Submarine Canyon system, Mexico. **Marine Geology**, v. 8, n. 3-4, p. 245-258, abr. 1970. DOI: [10.1016/0025-3227\(70\)90046-0](https://doi.org/10.1016/0025-3227(70)90046-0).

REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS JR., C. J. **Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2003.

REIS, R. E.; ALBERT, J. S.; DARIO, F. di; MINCARONE, M. M.; PETRY, P.; ROCHA, L. A. Fish biodiversity and conservation in South America. **Journal of Fish Biology**, v. 89, n. 1, p. 12-47, 17 jun. 2016. DOI: [10.1111/jfb.13016](https://doi.org/10.1111/jfb.13016).

RIBEIRO, A. O. **Identificação molecular de peixes marinhos das regiões Sudeste e Sul do Brasil com ênfase no estado de São Paulo**. 2012. 128 f. Dissertação (Mestrado em Biociências) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.

RIBEIRO, E. B.; ALMEIDA, Z. S.; CARVALHO-NETA, R. N. F. Hábito alimentar do bagre *Sciadesherzbergii* (Siluriformes, Ariidae) da Ilha dos Caranguejos, Maranhão, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 6, p. 1761-1765, dez. 2012. DOI: [10.1590/s0102-09352012000600048](https://doi.org/10.1590/s0102-09352012000600048).

RIBEIRO, N. U. F.; PINHEIRO, J. H. P. A. Peixes como bioindicadores de agrotóxicos em ambientes aquáticos. **ANAP Brasil: Revista Científica**, v. 11, n. 22, p. 65-75, 2018.

RICO, Y. Landscape genetics of Mexican biodiversity: A review. **Acta Universitaria**, v. 29, p. 1-23, 10 abr. 2019. DOI: [10.15174/au.2019.1894](https://doi.org/10.15174/au.2019.1894).

RÍOS-TOUMA, B.; RAMÍREZ, A. Multiple Stressors in the Neotropical Region: environmental impacts in biodiversity hotspots. In: **Multiple Stressors In River Ecosystems**. [S. l.]: Elsevier, 2019. p. 205-220. DOI: [10.1016/b978-0-12-811713-2.00012-1](https://doi.org/10.1016/b978-0-12-811713-2.00012-1).

ROBERTSON, James M.; WALSH-WELLER, Jennifer. An Introduction to PCR Primer Design and Optimization of Amplification Reactions. **Forensic Dna Profiling Protocols**, [S. l.], p. 121-154, 1998. Humana Press. <http://dx.doi.org/10.1385/0-89603-443-7:121>.

ROJANSKY, Rebecca; CHA, Moon-Yong; CHAN, David C. Elimination of paternal mitochondria in mouse embryos occurs through autophagic degradation dependent on PARKIN and MUL1. **Elife**, [S. l.], v. 5, p. 1-18, 17 nov. 2016. ELife Sciences Publications, Ltd. <http://dx.doi.org/10.7554/elife.17896>.

ROSSATO, D. P. I. C.; OLIVEIRA, J. A. A fauna de peixes. **Sociobiodiversidade do Amanã, Amazonas**, v. p. 72-77, 2018.

ROSSINI, B. C. **Estudo da diversidade e das relações filogenéticas do gênero *Astyanax* (Characiformes: Characidae) baseado em sequências de DNA**. 2015. 117 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2015.

ROSSO, J. J.; MABRAGAÑA, E.; CASTRO, M. G.; ASTARLOA, J. M. D. de. DNA barcoding Neotropical fishes: recent advances from the pampa plain, argentina. **Molecular Ecology Resources**, v. 12, n. 6, p. 999-1011, 17 set. 2012. DOI: [10.1111/1755-0998.12010](https://doi.org/10.1111/1755-0998.12010).

RUEDA, M.; RODRÍGUEZ, M. A.; HAWKINS, B. A. Identifying global zoogeographical regions: lessons from Wallace. **Journal of Biogeography**, v. 40, p. 2215-2225, 2013. DOI: [10.1111/jbi.12214](https://doi.org/10.1111/jbi.12214).

SABINO, J.; CORRÊA E CASTRO, R. M. Alimentação, período de atividade e distribuição espacial dos peixes de um riacho da Floresta Atlântica (Sudeste do Brasil). **Revista brasileira de Biologia**, v. 50, n. 1, p. 23-36, 1989.

SABAJ, M. H. Taxonomic assessment of Leptodoras (Siluriformes: Doradidae) with description of three new species. **Neotropical Ichthyology**, v. 3, n. 4, p. 637-677, 2005.

SACCONE, Cecilia. The evolution of mitochondrial DNA. **Current Opinion In Genetics & Development**, [S.L.], v. 4, n. 6, p. 875-881, dez. 1994. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0959-437x\(94\)90073-6](http://dx.doi.org/10.1016/0959-437x(94)90073-6).

SAITOH, S.; AOYAMA, H.; FUJII, S.; SUNAGAWA, H.; NAGAHAMA, H.; AKUTSU, M.; SHINZATO, N.; KANEKO, N.; NAKAMORI, T. A quantitative protocol for DNA metabarcoding of springtails (Collembola). **Genome**, v. 59, n. 9, p. 705-723, set. 2016. DOI: [10.1139/gen-2015-0228](https://doi.org/10.1139/gen-2015-0228).

SANTANA, P.; MARTINS, T.; LUTZ, Í.; MIRANDA, J.; SILVA, R. da; MESQUITA, D.; MARTINS, R.; VENEZA, I.; VALLINOTO, M.; SAMPAIO, I.; EVANGELISTA-GOMES, G. DNA barcode reveals occurrence of threatened species and hidden diversity on Teleost fish trade in the Coastal Amazon. **Scientific Reports**, v. 13, n. 19749, 2023. DOI: [10.1038/s41598-023-47063-2](https://doi.org/10.1038/s41598-023-47063-2).

SARASTE, Matti. Structural features of cytochrome oxidase. **Quarterly Reviews Of Biophysics**, [S.L.], v. 23, n. 4, p. 331-366, nov. 1990. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1017/s0033583500005588>.

SATO, Miyuki; SATO, Ken. Maternal inheritance of mitochondrial DNA by diverse mechanisms to eliminate paternal mitochondrial DNA. **Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - Molecular Cell Research**, [S.L.], v. 1833, n. 8, p. 1979-1984, ago. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamcr.2013.03.010>.

SATOH, T. P.; MIYA, M.; MABUCHI, K.; NISHIDA, M. Structure and variation of the mitochondrial genome of fishes. **BMC Genomics**, v. 17, n. 1, p. 1-20, 7 set. 2016. DOI: [10.1186/s12864-016-3054-y](https://doi.org/10.1186/s12864-016-3054-y).

SCHLÖTTERER, Christian; TAUTZ, Diethard. Slippage synthesis of simple sequence DNA. **Nucleic Acids Research**, [S.L.], v. 20, n. 2, p. 211-215, 1992. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/nar/20.2.211>.

SEGARAN, T. C.; AZRA, M. N.; PIAH, R. M.; LANANAN, F.; TÉLLEZ-ISAÍAS, G.; GAO, H.; TORSABO, D.; KARI, Z. A.; NOORDIN, N. M. Catfishes: a global review of the literature. **Heliyon**, v. 9, n. 9, p. 1-18, set. 2023. DOI: [10.1016/j.heliyon.2023.e20081](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e20081).

SEGNINI-FLORES, S. E.; RODRÍGUEZ-OLARTE, D.; RINCÓN, J. E.; BLANCO-LIBREROS, J. F.; LÓPEZ-RODRÍGUEZ, S. R. Rivers of the Caribbean. In: **Rivers of South America**. [S. l.]: Elsevier, 2025. p. 19-56. DOI: 10.1016/b978-0-12-823429-7.00001-x.

SEMARNAT. **Informe de la Situación del Medio Ambiente en México. Edição 2008. Compendio de Estadísticas Ambientales**. México, 2008.

SERITE, C. P.; NTSHUDISANE, O. K.; SWART, E.; SIMBINE, L.; JAIME, G. L. M.; TESKE, P. R. Limitations of DNA barcoding in determining the origin of smuggled seahorses and pipefishes. **Forensic Science International: Animals and Environments**, v. 1, p. 1-6, nov. 2021. DOI: 10.1016/j.fsiae.2021.100006.

SEVERO, E. S. **Peixes como modelo biológico para o monitoramento ambiental em áreas agrícolas**. 2021. 130 f. Tese (Doutorado em Biodiversidade Animal) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2021.

SHETH, B. P.; THAKER, V. S. DNA barcoding and traditional taxonomy: an integrated approach for biodiversity conservation. **Genome**, v. 60, n. 7, p. 618-628, jul. 2017. DOI: 10.1139/gen-2015-0167.

SHIBATTA, O. A.; CHEIDA, C. C. Composição em tamanho dos peixes (Actinopterygii, Teleostei) de ribeirões da bacia do rio Tibagi, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 20, n. 3, p. 469-473, set. 2003. DOI: 10.1590/s0101-81752003000300016.

SHIBATTA, O. A.; JARDULI, L. R.; ABRAHÃO, V. P.; SOUZA-SHIBATTA, L. Phylogeny of the Neotropical Pacman catfish genus *Lophiosilurus* (Siluriformes: pseudopimelodidae). **Neotropical Ichthyology**, v. 19, n. 4, p. 1-28, 2021. DOI: 10.1590/1982-0224-2021-0040.

SHIMABUKURO-DIAS, C. K.; OLIVEIRA, C.; REIS, R. E.; FORESTI, F. Molecular phylogeny of the armored catfish family Callichthyidae (Ostariophysi, Siluriformes). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 32, n. 1, p. 152-163, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2003.11.010>.

SHOKOLENKO, Inna; ALEXEYEV, Mikhail. Mitochondrial DNA: consensus and controversies. **Dna**, [S.L.], v. 2, n. 2, p. 131-148, 10 jun. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/dna2020010>.

SHU, L.; LUDWIG, A.; PENG, Z. Environmental DNA metabarcoding primers for freshwater fish detection and quantification: in silico and in tanks. **Ecology and Evolution**, v. 11, n. 12, p. 8281-8294, 16 maio 2021. DOI: 10.1002/ece3.7658.

SILVA, G. S. C.; ROCHA, M. S.; MELO, B. F.; et al. Phylogenomics of the catfish family Pimelodidae with focus on the genus *Pimelodus* support the recognition of Sorubiminae and Pimelodinae (Teleostei, Siluriformes). **Zoologica Scripta**, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1111/zsc.12671>

SILVA, L. O. **COMPOSIÇÃO E DISTRIBUIÇÃO ESPAÇO-TEMPORAL DA ICTIOFAUNA DULCÍCOLA DA BACIA DO RIO MAMANGUAPE, PARAÍBA, BRASIL**. 2016. 77 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biodiversidade, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2016.

SILVA, M. do S. R. da; MIRANDA, S. Átila F.; DOMINGOS, R. N.; SILVA, S. L. R.; SANTANA, G. P. CLASSIFICAÇÃO DOS RIOS DA AMAZÔNIA: UMA ESTRATÉGIA PARA PRESERVAÇÃO DESSES RECURSOS. **Holos Environment**, [S. l.], v. 13, n. 2, p. 163–174, 2013. DOI: 10.14295/holos.v13i2.7344.

SILVA NETO, B. R. da. **Conceitos Básicos da Genética**. 2019.

SILVA, T. J.; MACHADO, V. N.; SOARES, E. C.; HRBEK, T.; FARIAS, I. P. Genetic variability and population structure of *Osteoglossum bicirrhosum* (Osteoglossiformes: Osteoglossidae) in the Amazon basin. **Neotropical Ichthyology**, v. 23, n. 2, p. 1–20, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2024-0085>.

SIMÕES, S. M.; COSTA, R. C.; CARVALHO, F. L.; CARVALHO-BATISTA, A.; TEODORO, S. de S. A.; MANTELATTO, F. L. Genetic variation and cryptic lineage among the sergestid shrimp *Acetes americanus* (Decapoda). **PeerJ**, v. 11, e14751, 2023. DOI: 10.7717/peerj.14751.

SIQUEIRA, V. A.; PAIVA, R. C. D.; FLEISCHMANN, A. S.; FAN, F. M.; RUHOFF, A. L.; PONTES, P. R. M.; PARIS, A.; CALMANT, S.; COLLISCHONN, W. Toward continental hydrologic–hydrodynamic modeling in South America. **Hydrology And Earth System Sciences**, v. 22, n. 9, p. 4815–4842, 18 set. 2018. DOI: 10.5194/hess-22-4815-2018.

SKORUPSKI, Jakub. Characterisation of the Complete Mitochondrial Genome of Critically Endangered *Mustela lutreola* (Carnivora: mustelidae) and its phylogenetic and conservation implications. **Genes**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 1–36, 10 jan. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/genes13010125>.

SMITH, W. L.; CHAKRABARTY, P.; SPARKS, J. S. Phylogeny, taxonomy, and evolution of Neotropical cichlids (Teleostei: Cichlidae: Cichlinae). **Cladistics**, v. 24, n. 5, p. 625–641, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2008.00210.x>.

SOBRAL-SOUZA, T.; LIMA-RIBEIRO, M. S. DE VOLTA AO PASSADO: revisitando a história biogeográfica das florestas neotropicais úmidas. **Oecologia Australis**, v. 21, n. 02, p. 93–107, jul. 2017. DOI: 10.4257/oeco.2017.2102.01.

SOUZA, C. P. de; RODRIGUES-FILHO, C. A. de S.; BARBOSA, F. A. R.; LEITÃO, R. P. Drastic reduction of the functional diversity of native ichthyofauna in a Neotropical lake following invasion by piscivorous fishes. **Neotropical Ichthyology**, v. 19, n. 3, p. 1–18, 2021. DOI: 10.1590/1982-0224-2021-0033.

SOUZA, Camila S.; MELO, Bruno F.; MATTOX, George M.T.; OLIVEIRA, Claudio. Phylogenomic analysis of the Neotropical fish subfamily Characinae using ultraconserved elements (Teleostei: characidae). **Molecular Phylogenetics And Evolution**, [S.L.], v. 171, p. 1-11, jun. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2022.107462>.

SOUSA, L. M.; SOUSA, E. B.; OLIVEIRA, R. R.; SABAJ, M. H.; ZUANON, J.; PY-DANIEL, L. R. Two new species of *Hypancistrus* (Siluriformes: Loricariidae) from the rio Xingu, Amazon, Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v. 23, n. 1, e240080, 2025. DOI: 10.1590/1982-0224-2024-0080.

SOTO, J. J. S. A phylogeny of *Astyanax* (Characiformes: Characidae) in Central and North America. **Zootaxa**, v. 4109, n. 2, p. 101–130, 2016. DOI: <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4109.2.1>.

SPECCHIA, Valeria; TZAFESTA, Eftychia; MARINI, Gabriele; SCARCELLA, Salvatore; D'ATTIS, Simona; PINNA, Maurizio. Gap Analysis for DNA Barcode Reference Libraries for Aquatic Macroinvertebrate Species in the Apulia Region (Southeast of Italy). **Journal Of Marine Science And Engineering**, [S.L.], v. 8, n. 7, p. 1-11, 20 jul. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/jmse8070538>.

STODDARD, P. K. Electric signals: predation, sex, and environmental constraints. In: BREED, M. D.; MOORE, J. (ed.). **Advances in the study of behavior**, vol. 31. Academic Press, 2002. p. 201–242.

STOECKLE, M. Y.; AUSUBEL, J. H.; COOGAN, M. 12S gene metabarcoding with DNA standard quantifies marine bony fish environmental DNA, identifies threshold for reproducible detection, and overcomes distortion due to amplification of non-fish DNA. **Environmental DNA**, v. 6, n. 1, p. 1-11, 8 dez. 2022. DOI: 10.1002/edn3.376.

SULLIVAN, J. P.; LUNDBERG, J. G.; HARDMAN, M. A phylogenetic analysis of the major groups of catfishes (Teleostei: siluriformes) using rag1 and rag2 nuclear gene sequences. **Molecular Phylogenetics And Evolution**, v. 41, n. 3, p. 636-662, dez. 2006. DOI: 10.1016/j.ympev.2006.05.044.

SULLIVAN, J. P.; MURIEL-CUNHA, J.; LUNDBERG, J. G. Phylogenetic relationships and molecular dating of the major groups of catfishes of the Neotropical superfamily Pimelodoidea (Teleostei, Siluriformes). **Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia**, v. 162, p. 89–110, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1635/053.162.0106>.

TAANMAN, Jan-Willem. The mitochondrial genome: structure, transcription, translation and replication. **Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - Bioenergetics**, [S.L.], v. 1410, n. 2, p. 103-123, fev. 1999. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0005-2728\(98\)00161-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0005-2728(98)00161-3).

TAGLIACOLLO, V. A.; TAN, M.; REIS, R. E.; GAIA, R.; CARRIJO, V.; RANUZI, M.; CRAIG, J. M.; ALBERT, J. S. Time-calibrated phylogeny of neotropical freshwater fishes. **Frontiers In Bioinformatics**, v. 4, p. 1-15, 6 dez. 2024. DOI: 10.3389/fbinf.2024.1433995.

10.1007/s10201-022-00710-5.

TAUTZ, D.; ARCTANDER, P.; MINELLI, A.; THOMAS, R. H.; VOGLER, A. P. DNA points the way ahead in taxonomy. **Nature**, v. 418, n. 6897, p. 479-479, 1 ago. 2002. DOI: 10.1038/418479a.

TEIXEIRA, Marcos A. L.; AYLAGAS, Eva; PEARMAN, John K.; CARVALHO, Susana. Gaps and Data Ambiguities in DNA Reference Libraries: a limiting factor for molecular based biodiversity assessments using annelids as a case study. **Ecology And Evolution**, [S.L.], v. 15, n. 6, p. 1-23, jun. 2025. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ece3.71544>.

TEIXEIRA, D. F.; HILÁRIO, H. O.; SANTOS, G. B.; CARVALHO, D. C. DNA metabarcoding assessment of Neotropical ichthyoplankton communities is marker-dependent. **Ecology and Evolution**, v. 13, n. 10, e10649, 2023. DOI: 10.1002/ece3.10649.

TERÁN, G. E.; BENITEZ, M. F.; MIRANDE, J. M. Opening the Trojan horse: phylogeny of *Astyanax*, two new genera and resurrection of *Psalidodon* (Teleostei: Characidae). **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 190, n. 4, p. 1217–1234, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1093/zoolinnean/zlaa019>.

TERESA, Fabrício Barreto; RODRIGUES-FILHO, Carlos Alberto Sousa; LEITÃO, Rafael Pereira. **Diversidade funcional de comunidades de peixes de riacho**. *Oecologia Australis*, v. 25, n. 2, p. 415-432, 2021. DOI: <https://doi.org/10.4257/oeco.2021.2502.12>

TERRA, B. de F.; MEDEIROS, E. S. F.; BOTERO, J. I. S.; NOVAES, J. L. C.; REZENDE, C. F. ECOLOGIA DE PEIXES DE RIACHOS INTERMITENTES. *Oecologia Australis*, v. 25, n. 02, p. 605-619, 16 jun. 2021. DOI: 10.4257/oeco.2021.2502.23.

THOMAZ, A. T.; et al. Molecular phylogeny of the subfamily Stevardiinae Gill, 1858 (Characiformes: Characidae): classification and the evolution of reproductive traits. **BMC Evolutionary Biology**, v. 15, p. 146, 2015.

THOMSON, S. A. *et al.* Taxonomy based on science is necessary for global conservation. **PLoS Biology**, v. 16, n. 3, p. e2005075, 2018. DOI: 10.1371/journal.pbio.2005075.

TIRALONGO, F.; CROCETTA, F.; RIGINELLA, E.; LILLO, A. O.; TONDO, E.; MACALI, A.; MANCINI, E.; RUSSO, F.; COCO, S.; PAOLILLO, G.; AZZURRO, E. Snapshot of rare, exotic and overlooked fish species in the Italian seas: A citizen science survey. **Journal of Sea Research**, [s. l.], v. 164, p. 101930, 2020.

TOFFOLI, D.; HRBEK, T.; ARAÚJO, M. L. G.; et al. A test of the utility of DNA barcoding in the radiation of the freshwater stingray genus *Potamotrygon* (Potamotrygonidae,

Myliobatiformes). **Genetics and Molecular Biology**, v. 31, n. 1, p. 324–336, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1415-47572008000200028>.

TOLEDO, A. **Ríos, costas, mares: Hacia un análisis integrado de las regiones hidrológicas de México**. México, D.F.: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología; El Colegio de Michoacán, 2003.

TOLEDO-PIZA, M.; BAENA, E. G.; DAGOSTA, F. C. P.; MENEZES, N. A.; ÂNDRADE, M.; BENINI, R. C.; BERTACO, V. A.; BIRINDELLI, J. L. O.; BODEN, G.; BUCKUP, P. A. Checklist of the species of the Order Characiformes (Teleostei: ostariophysi). **Neotropical Ichthyology**, [S. l.], p. 1-548, 2024. DOI: 10.1590/1982-0224-2023-0086.

TORRES, Vladimir Stolzenberg. Origem das mitocôndrias em células eucarióticas: uma revisão. **UNISANTA Bioscience**, [S. l.], v. 9, n. 2, p. 155-165, 2020.

TORREMORELL, A. *et al.* Current and future threats for ecological quality management of South American freshwater ecosystems. **Inland Waters**, v. 11, n. 2, p. 125-140, 2021. DOI: 10.1080/20442041.2019.1608115.

TREBACH, R. H.; CERQUEIRA, N. M.; MEDEIROS, S. R.; GUTIERREZ, H. J. P.; HERNÁNDEZ, N. O.; RODRIGUES, M. D. N. DNA Barcoding: uma ferramenta de apoio molecular para identificação de espécies de peixes. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 14, n. 2, p. 77-81, 2015. DOI: 10.18188/1983-1471/sap.v14n2p77-81.

TROUDET, J.; GRANDCOLAS, P.; BLIN, A.; VIGNES-LEBBE, R.; LEGENDRE, F. Taxonomic bias in biodiversity data and societal preferences. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-14, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-09084-6.

UNITED STATES GEOLOGICAL SURVEY (USGS). **This Dynamic Earth: the Story of Plate Tectonics**. Versão online. Editado por Peter Lindeberg. Washington, DC: USGS, 2001.

VALENTINI, Alice *et al.* Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. **Molecular Ecology**, [S. l.], v. 25, n. 4, p. 929-942, 18 jan. 2016. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/mec.13428>.

VARGAS, S. M.; ARAÚJO, F. C. F.; SANTOS, F. R. DNA barcoding of Brazilian sea turtles (Testudines). **Genetics and Molecular Biology**, v. 32, n. 3, p. 608-612, 2009. DOI: 10.1590/s1415-47572009005000050.

VARI, R. P.; MALABARBA, L. R. Neotropical ichthyology: an overview. In: **Phylogeny and classification of Neotropical fishes**. [S. l.: s. n.], v. 1, p. 1-12, 1998.

VAVREK, M. J. The fragmentation of Pangaea and Mesozoic terrestrial vertebrate biodiversity. **Biology Letters**, v. 12, n. 9, p. 1-5, 2016. DOI: 10.1098/rsbl.2016.0528.

VENCES, M.; THOMAS, M.; VAN DER MEIJDEN, A.; CHIARI, Y.; VIEITES, D. R. Comparative performance of the 16S rRNA gene in DNA barcoding of amphibians. **Frontiers in Zoology**, v. 2, n. 1, p. 1-12, 2005. DOI: 10.1186/1742-9994-2-5.

VENCES, Miguel *et al.* Freshwater vertebrate metabarcoding on Illumina platforms using double-indexed primers of the mitochondrial 16S rRNA gene. **Conservation Genetics Resources**, [S.L.], v. 8, n. 3, p. 323-327, 28 maio 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12686-016-0550-y>.

VANEGAS-RÍOS, A. J. Phylogeny of the Neotropical genus *Gephyrocharax* (Characiformes: Characidae: Stevardiinae), with remarks on the tribe Stevardiini. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 182, n. 4, p. 808-829, 2018.

VERE, N.; RICH, T. C. G.; TRINDER, S. A.; LONG, C. DNA barcoding for plants. **Methods in Molecular Biology**, v. 1245, p. 101-18, 2015. DOI: 10.1007/978-1-4939-1966-6_8.

VIEIRA, I. C. G.; SILVA, J. M. C. da; TOLEDO, P. M. de. Estratégias para evitar a perda de biodiversidade na Amazônia. **Estudos Avançados**, v. 19, n. 54, p. 153-164, 2005. DOI: 10.1590/s0103-40142005000200009.

VIEIRA, L. O. **Inventário da ictiofauna da bacia do rio munim, Maranhão, nordeste do Brasil**. 2023. 89 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade Federal do Maranhão, Chapadinha, 2023.

VITULE, J. R. S. Introdução de peixes em ecossistemas continentais brasileiros: revisão, comentários e sugestões de ações contra o inimigo quase invisível. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 4, n. 2, p. 111-122, 2009. DOI: 10.4013/nbc.2009.42.07.

VOLANANDIANA, Jean Jubrice Anissa *et al.* Building a DNA Reference for Madagascar's Marine Fishes: expanding the COI barcode library and establishing the first 12S dataset for eDNA monitoring. **Diversity**, [S.L.], v. 17, n. 7, p. 495, 18 jul. 2025. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/d17070495>.

WALLACE, A. R. Viagens pelo Amazonas e rio Negro. [S. l.]: Brasileira, 1939.

WANG, Hurng-Yi; LEE, Sin-Che. Secondary Structure of Mitochondrial 12S rRNA Among Fish and Its Phylogenetic Applications. **Molecular Biology and Evolution**, [S.L.], v. 19, n. 2, p. 138-148, 1 fev. 2002. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a004066>.

WANG, Z.; LIU, X.; LIANG, D.; WANG, Q.; ZHANG, L.; ZHANG, P. VertU: universal multilocus primer sets for eDNA metabarcoding of vertebrate diversity, evaluated by both artificial and natural cases. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 11, p. 1-18, 2023. DOI: 10.3389/fevo.2023.1164206.

WARD, R. D.; HANNER, R.; HEBERT, P. D. N. The campaign to DNA barcode all fishes, FISH-BOL. **Journal of Fish Biology**, v. 74, n. 2, p. 329-356, 2009. DOI: 10.1111/j.1095-8649.2008.02080.x.

WARD, R. D. DNA barcoding divergence among species and genera of birds and fishes. **Molecular Ecology Resources**, Malden, MA, v. 9, n. 5, p. 1077-1085, 2009. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2009.02541.x.

WARD, R. D.; ZEMLAK, T. S.; INNES, B. H.; LAST, P. R.; HEBERT, P. D. N. DNA barcoding Australia's fish species. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 360, n. 1462, p. 1847-1857, 2005. DOI: 10.1098/rstb.2005.1716.

WCMC-WORLD CONSERVATION MONITORING CENTRE. **Protected Areas of the World: a review of national systems**. Volume 4: Nearctic and Neotropical. Gland, Switzerland: IUCN-The World Conservation Union, 1992.

WEIGT, L. A.; BALDWIN, C. C.; DRISKELL, A.; SMITH, D. G.; ORMOS, A.; REYIER, E. A. Using DNA Barcoding to Assess Caribbean Reef Fish Biodiversity: Expanding Taxonomic and Geographic Coverage. **PloS ONE**, v. 7, n. 7, e41059, 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.0041059.

WIDAYANTI, R.; LIMIANO, J. B.; SARI, R. P.; NUGROHO, S. D. L. S.; IBRAHIM, A.; PAKPAHAN, S.; NURJIRANA. Disclosure of genetic diversity of mackerel fish (*Scomberomorus* spp.) in Indonesian waters based on the mitochondrial cytochrome oxidase subunit II (COII) gene. **Brazilian Journal of Biology**, [S.L.], v. 84, p. 1-10, 2024. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.278322>.

WINEMILLER, K. O. *et al.* Balancing hydropower and biodiversity in the Amazon, Congo, and Mekong. **Science**, v. 351, n. 6269, p. 128-9, 2016. DOI: 10.1126/science.aac7082.

XU, J. Fungal DNA barcoding. **Genome**, v. 59, n. 11, p. 913-932, 2016. DOI: [10.1139/gen-2016-0046](https://doi.org/10.1139/gen-2016-0046).

YANG, Xiaohan; SCHEFFLER, Brian E.; WESTON, Leslie. Recent developments in primer design for DNA polymorphism and mRNA profiling in higher plants. **Plant Methods**, [S.L.], v. 2, n. 1, p. 1-10, 2006. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/1746-4811-2-4>.

YANG, L.; TAN, Z.; WANG, D.; XUE, L.; GUAN, M. X.; HUANG, T.; LI, R. Species identification through mitochondrial rRNA genetic analysis. **Scientific Reports**, v. 4, n. 1, p. 1-11, 2014.

YASUKAWA, Takehiro; KANG, Dongchon. An overview of mammalian mitochondrial DNA replication mechanisms. **The Journal of Biochemistry**, [S.L.], v. 164, n. 3, p. 183-193, 20 Jun. 2018. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jb/mvy058>.

ZANGARO, F.; SACCOMANNO, B.; TZAFESTA, E.; BOZZEDA, F.; SPECCHIA, V.; PINNA, M. Limitações atuais e perspectivas futuras da detecção e biomonitoramento de NIS no Mar Mediterrâneo por meio de DNA ambiental. **NeoBiota**, v. 70, p. 151-165, 2021. DOI: 10.3897/neobiota.70.71862.

ZARDOYA, Rafael; MEYER, Axel. The Complete Nucleotide Sequence of the Mitochondrial Genome of the Lungfish (*Protopterus dolloi*) Supports Its Phylogenetic Position as a Close Relative of Land Vertebrates. **Genetics**, [S.L.], v. 142, n. 4, p. 1249-1263, 1 abr. 1996. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/genetics/142.4.1249>.

ZEVALLOS, E. A. Da Amazônia ao Pacífico cruzando os Andes. **Estudos Avançados**, v. 7, n. 17, p. 117-169, 1993. DOI: 10.1590/s0103-40141993000100006.

ZHANG, Z. Q. Animal biodiversity: an introduction to higher-level classification and taxonomic richness. **Zootaxa**, v. 3148, n. 1, p. 1-6, 2011. DOI: 10.11646/zootaxa.3148.1.3.

ZHOU, Yufei; TRUJILLO-GONZÁLEZ, Alejandro; NICOL, Simon; HUERLIMANN, Roger; SARRE, Stephen D.; GLEESON, Dianne. Evaluation of DNA barcoding referenced databases for marine species in the western and central Pacific Ocean. **PeerJ**, [S.L.], v. 13, p. 1-25, 14 jul. 2025. PeerJ. <http://dx.doi.org/10.7717/peerj.19674>.

APÊNDICE A –Lista das espécies de peixes de água doce da região Neotropical incluídas nas análises moleculares. São apresentadas apenas espécies com sequências completas do DNA mitocondrial, incluindo os genes COI (Citocromo c oxidase subunidade I), 12S rRNA e 16S rRNA, disponíveis integralmente no GenBank. A tabela informa, para cada espécie, o número de acesso no GenBank, a classificação taxonômica (ordem e família), o nome científico, o autor e ano de descrição, a distribuição geográfica conhecida e o status de conservação segundo a União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN).

(Continua)

Genbank	Order	Family	Species	Author	Occurrence	IUCN
>NC_026195.1	Characiformes	Acestrorhamphidae	<i>Grundulusbogotensis</i>	Humboldt, 1821	South America: Magdalena River basin.	LC
>NC_027946.1	Characiformes	Acestrorhamphidae	<i>Hemigrammusbleheri</i>	Géry & Mahnert, 1986	South America: Negro and Meta River basins.	LC
>NC_031380.1	Characiformes	Acestrorhamphidae	<i>Astyanaxparanae</i>	Eigenmann, 1914	South America: Brazil.	LC
>NC_044969.1	Characiformes	Acestrorhamphidae	<i>Oligosarcusargenteus</i>	Günther, 1864	South America: Rio Doce and Rio das Velhas basins.	LC
>NC_044970.1	Characiformes	Acestrorhamphidae	<i>Astyanaxgiton</i> - <i>Deuterodon giton</i>	Eigenmann, 1908	South America: Paraíba do Sur River basinandcoastalstreamsof Espírito Santo and Rio de Janeiro, Brazil.	LC
>NC_050876.1	Characiformes	Acestrorhamphidae	<i>Hyphessobryconherbertaxelrodi</i>	Géry, 1961	South America: Paraguay River basin.	LC
>NC_051983.1	Characiformes	Acestrorhamphidae	<i>Nematobryconpalmeri</i>	Eigenmann, 1911	South America: Atrato and San Juan River basins.	DD
>NC_053756.1	Characiformes	Acestrorhamphidae	<i>Astyanax lacustres</i>	Lütken, 1875	South America: easternBrazil.	LC
>NC_053757.1	Characiformes	Acestrorhamphidae	<i>Psalidodonrivularis</i>	Lütken, 1875	South America: São Francisco River basin.	
>NC_053758.1	Characiformes	Acestrorhamphidae	<i>Psalidodonfasciatus</i>	Cuvier, 1819	South America: mostfreshwaterbasinsfrom Mexico to Argentina.	LC
>NC_053878.1	Characiformes	Acestrorhamphidae	<i>Hyphessobryconmegalopecterus</i>	Eigenmann, 1915	South America: Upper Paraguay and Guaporé River basins.	LC
>NC_056781.1	Characiformes	Acestrorhamphidae	<i>Moenkhausiasanctaefilomenae</i>	Steindachner, 1907	South America: Paranaíba, São Francisco, upperParana, Paraguay amd Uruguay River basins.	LC
>NC_056797.1	Characiformes	Acestrorhamphidae	<i>Moenkhausiacostae</i>	Steindachner, 1907	South America: Sao Francisco and Itapicuru rivers.	LC
>NC_057100.1	Characiformes	Acestrorhamphidae	<i>Thayeriaboehlkei</i>	Weitzman, 1957	South America: upperAmazon River basin in Peru and Araguaia River in Brazil.	LC
>NC_057167.1	Characiformes	Acestrorhamphidae	<i>Inpaichthyskerri</i>	Géry & Junk, 1977	South America: Aripuanã River, upper Madeira River basin, Mato Grosso, Brazil.	LC

(Continua)

Genbank	Order	Family	Species	Author	Occurrence	IUCN
>NC_066989.1	Characiformes	Acestrorhamphidae	<i>Hyphessobrycon amapaenses</i>	Zarske & Géry, 1998	South America: known only from the type locality, Amapá, Brazil.	LC
>NC_066990.1	Characiformes	Acestrorhamphidae	<i>Hyphessobrycon socolofi</i>	Weitzman, 1977	South America: Negro River basin.	LC
>NC_066993.1	Characiformes	Acestrorhamphidae	<i>Hemigrammus ocellifer</i>	Steindachner, 1882	South America: Rivers of Guyana, Suriname, French Guiana, and Amazon basin in Brazil and Peru.	LC
>NC_066994.1	Characiformes	Acestrorhamphidae	<i>Hyphessobrycon anisitsi</i> / <i>Psalidodon anisitsi</i>	Eigenmann, 1907	South America: Paraná and Uruguay River basins.	LC
>NC_022724.1	Characiformes	Acestrorhamphidae	<i>Hasemania nana</i>	Lütken, 1875	South America: São Francisco River basin in Minas Gerais, Brazil.	LC
>NC_053759.1	Characiformes	Acestrorhamphidae	<i>Astyanax altiparanae</i>	Garutti & Britski, 2000	South America: upper Paraná River basin.	LC
>NC_025767.1	Characiformes	Anostomidae	<i>Leporinus piavussu</i>	Britski, Birindelli & Garavello, 2012	South America: endemic to the upper Rio Paraná, Brazil.	LC
>NC_024941.1	Characiformes	Bryconidae	<i>Salminus brasiliensis</i>	Cuvier, 1816	South America: Paraná, Paraguay, and Uruguay River basins; Laguna dos Patos drainage, upper Chaparé and Mamoré River basin in Bolivia. Occurrence in the remaining Amazon River highly doubtful.	LC
>NC_015801.1	Characiformes	Chilodontidae	<i>Chilodus punctatus</i>	Müller & Troschel, 1844	South America: Amazon River basin, Apeú River, Pará State, Guyana, Suriname, and western Orinoco River basin.	LC
>NC_033860.1	Characiformes	Erythrinidae	<i>Hoplias intermedius</i>	Günther, 1864	South America: Brazil.	LC
>NC_015816.1	Characiformes	Hemiodontidae	<i>Hemiodopsis gracilis</i>	Günther, 1864	South America: Negro, Tapajós, Madeira, Solimões, Amazon, and Orinoco River basins.	LC
>NC_015750.1	Characiformes	Lebiasinidae	<i>Piabucina astrigata</i>	Regan, 1903	South America: northern Ecuador and southern Colombia west of the Andes.	LC

(Continua)

Genbank	Order	Family	Species	Author	Occurrence	IUCN
>NC_025950.1	Characiformes	Prochilodontidae	<i>Ichthyoelephas longirostris</i>	Steindachner, 1879	South America: Cauca-Magdalena River basin in Colombia.	VU
>NC_015840.1	Characiformes	Serrasalminae	<i>Pygocentrus nattereri</i>	Kner, 1858	South America: Amazon River basin, Paraguay-Paraná River basin, northeastern Brazilian coastal rivers and Essequibo River basin. Reported from the Uruguay River, Brazil	LC
>NC_024940.1	Characiformes	Serrasalminae	<i>Piaractus mesopotamicus</i>	Holmberg, 1887	South America: Paraguay-Paraná River basin.	NT
>NC_025315.2	Characiformes	Serrasalminae	<i>Piaractus brachipomus</i>	Cuvier, 1818	South America: Amazon and Orinoco River basins. Reported from Argentina	LC
>NC_039113.1	Characiformes	Serrasalminae	<i>Metynnis hypsauchen</i>	Müller & Troschel, 1844	South America: Amazon and Paraguay River basins, north Guiana Shield rivers.	LC
>NC_039115.1	Characiformes	Serrasalminae	<i>Myloplus rubripinnis</i>	Müller & Troschel, 1844	South America: Amazon and Orinoco River basins; north and eastern Guiana Shield rivers.	LC
>NC_070390.1	Characiformes	Stevardiidae	<i>Knodus borki</i>	Zarske, 2008	South America: Iquitos, Peru.	DD
>NC_042882.1	Characiformes	Stevardiidae	<i>Gephyrocharax atracaudatus</i>	Meek & Hildebrand, 1912	Central America: Panama, Province Cerro-Azul and former Canal Zone, Frijoles River basin.	LC
>NC_066992.1	Characiformes	Acestrorhamphidae	<i>Pristella maxillaris</i>	Ulrey, 1894	South America: Amazon, Orinoco, and coastal river drainages of the Guianas.	LC
>NC_080887.1	Characiformes	Acestrorhamphidae	<i>Hyphessobrycon heterorhabdus</i>	Ulrey, 1894	South America: lower Amazon River basin.	LC
>NC_028279.1	Characiformes	Acestrorhamphidae	<i>Paracheirodon innesi</i>	Myers, 1936	South America: Blackwater or clearwater stream tributaries of the Solimões River.	LC
>NC_034281.1	Characiformes	Anostomidae	<i>Leporinus elongatus</i>	Valenciennes, 1850	South America: Known only from the Rio Jequitinhonha and Rio Pardo in Brazil. Record from São Francisco River, the type locality in the original description, seems to be erroneous. Reported from Paraná and La Plata basins	LC

(Continua)

Genbank	Order	Family	Species	Author	Occurrence	IUCN
>NC_034945.1	Characiformes	Anostomidae	<i>Megaleporinusobtusidens</i>	Valenciennes, 1837	South America: Paraná, La Plata and São Francisco, Uruguay, Paraguay, Guaíba and Parnaíba River basins	LC
>NC_060323.1	Characiformes	Anostomidae	<i>Abramiteshypselsonotus</i>	Günther, 1868	South America: Orinoco, Amazon, Paraguay, andlower Paraná River basins.	LC
>NC_024938.1	Characiformes	Bryconidae	<i>Bryconorbignyanus</i>	Valenciennes, 1850	South America: La Plata basin.	EN
>NC_026873.1	Characiformes	Bryconidae	<i>Bryconhenni</i>	Eigenmann, 1913	South America: Trans-AndeanriverbasinsofColombia.	LC
>NC_051927.1	Characiformes	Bryconidae	<i>Bryconnattereri</i>	Günther, 1864	South America: Upper Paraná and São Francisco River basins in Brazil.	LC
>NC_004700.1	Characiformes	Chalceidae	<i>Chalceusmacrolepidotus</i>	Cuvier, 1818	South America: Negro and Orinoco River basinsandcoastalrivers in Guyana, Suriname, andFrench Guiana.	LC
>NC_025951.1	Characiformes	Curimatidae	<i>Curimatamivartii</i>	Steindachner, 1878	South America: Magdalena, Cauca, San Jorge andSinú River basins in Colombia.	NT
>NC_015813.1	Characiformes	Cynodontidae	<i>Hydrolycusscomberoides</i>	Cuvier, 1819	South America: Amazon River basin.	LC
>NC_057531.1	Characiformes	Erythrinidae	<i>Hopliasmalabaricus</i>	Bloch, 1794	Central and South America: Costa Rica to Argentina in mostriversbasins.	LC
>NC_024939.1	Characiformes	Prochilodontidae	<i>Prochiloduslineatus</i>	Valenciennes, 1837	South America: Paraná-Paraguay and Paraíba do Sul River basins.	LC
>NC_027689.1	Characiformes	Prochilodontidae	<i>Prochilodusargenteus</i>	Spix & Agassiz, 1829	South America: endemicto São Francisco River basin, butintroducedintovariousriversofnortheasternBrazíl.	LC
>NC_037712.1	Characiformes	Prochilodontidae	<i>Prochilodusvimboides</i>	Kner, 1859	South America: CoastalriversofBrazilfrom Jequitinhonha River northwardsto Paraíba River, easternportionsofupper Paraná River and São Francisco River basin.	VU
>NC_037715.1	Characiformes	Prochilodontidae	<i>Prochilodushartii</i>	Steindachner, 1875	South America: Pardo and Jequitinhonha River basins in Brazil.	

(Continua)

Genbank	Order	Family	Species	Author	Occurrence	IUCN
>NC_027690.1	Characiformes	Prochilodontidae	<i>Prochilodus costatus</i>	Valenciennes, 1850	South America: endemic to the São Francisco River basin, but reported to have been introduced into the Jequitinhonha River, Brazil.	LC
>NC_025671.1	Cichliiformes	Cichlidae	<i>Andinoacara rivulatus</i>	Günther, 1860	South America: Pacific slope from the Esmeraldas River in Ecuador to the Tumbes River in Peru.	LC
>NC_027965.1	Cichliiformes	Cichlidae	<i>Symphysodon haraldi</i>	Schultz, 1960	South America: eastern Amazon River, lower reaches of Amazon River and affluent east of the confluence of the Negro and Solimões Rivers.	LC
>NC_033545.1	Cichliiformes	Cichlidae	<i>Geophagus steindachneri</i>	Eigenmann & Hildebrand, 1922	South America: Magdalena, Cauca and Sinú River basins in Colombia; Limón River (Lake Maracaibo drainage) in Venezuela.	LC
>NC_033549.1	Cichliiformes	Cichlidae	<i>Retroculis lapidifer</i>	Castelnau, 1855	South America: Amazon River basin, in the Tocantins and Capim River basins, Brazil.	LC
>NC_030272.1	Cichliiformes	Cichlidae	<i>Cichla ocellaris</i>	Bloch & Schneider, 1801	South America: Marowijne drainage in Suriname and French Guiana to the Essequibo drainage in Guyana.	LC
>NC_009058.1	Cichliiformes	Cichlidae	<i>Astronotus ocellatus</i>	Agassiz, 1831	South America: western Amazon and Orinoco basins. Introduced elsewhere.	LC
>NC_011168.1	Cichliiformes	Cichlidae	<i>Hypselecaratemporalis</i>	Günther, 1862	South America: Amazon River basin, in the Ucayali and Amazon River drainages in Peru, the Amazonas River drainage in Colombia, the Solimões-Amazon River in Brazil, east to Cametá, also rivers of Amapá, Brazil, and the Oyapock River basin in Brazil.	LC
>NC_026689.1	Cichliiformes	Cichlidae	<i>Symphysodon discus</i>	Heckel, 1840	South America: Amazon River basin in Brazil, near the mouth of the Negro River, in the lower Abacaxis River, and in the lower Trombetas River.	LC
>NC_028182.1	Cichliiformes	Cichlidae	<i>Symphysodona equifasciata</i>	Pellegrin, 1904	South America: eastern Amazon River, lower reaches of Amazon River and affluent east of the confluence of the Negro and Solimões Rivers.	LC

(Continua)

Genbank	Order	Family	Species	Author	Occurrence	IUCN
>NC_028723.1	Cichliformes	Cichlidae	<i>Pterophyllumaltum</i>	Pellegrin, 1903	South America: Amazon River basin, in the upper Negro River drainage; Orinoco River basin, in tributaries of the upper Orinoco River (Inírida and Atabapo rivers) to Puerto Ayacucho.	LC
>NC_031182.1	Cichliformes	Cichlidae	<i>Thorichthys aureus</i>	Günther, 1862	Central America: Atlantic slope from Belize (Golden Creek) to Honduras (Motagua River basin).	DD
>NC_031183.1	Cichliformes	Cichlidae	<i>Nannacara anomala</i>	Regan, 1905	South America: Aruka River in Guyana east to the lower Marowijne River in Suriname.	LC
>NC_031439.1	Cichliformes	Cichlidae	<i>Mikrogeophagus ramirezi</i>	Myers & Harry, 1948	South America: Orinoco River basin, in the llanos of Venezuela and Colombia.	LC
>NC_033542.1	Cichliformes	Cichlidae	<i>Chaetobranchopsis bitaeniatus</i>	Ahl, 1936/Steindachner, 1875	South America: Amazon River basin, along the Amazon River from the mouth to the Negro River to Marajó Island, and in Amapá, Brazil.	LC
>NC_033543.1	Cichliformes	Cichlidae	<i>Bujurquina mariae</i>	Eigenmann, 1922	South America: Meta River basin of the Orinoco River basin, Colombia.	LC
>NC_033547.1	Cichliformes	Cichlidae	<i>Andinoacara pulcher</i>	Gill, 1858	Central and South America: Trinidad and Venezuela.	LC
>NC_033548.1	Cichliformes	Cichlidae	<i>Rocio octofasciata</i>	Regan, 1903	North and Central America: Atlantic slope from southern Mexico (Papaloapán River) to Honduras (Ulua River).	LC
>NC_033550.1	Cichliformes	Cichlidae	<i>Uaruamphiacanthoides</i>	Heckel, 1840	South America: Amazon River basin, along the Amazon-Solimões River drainage from the Japurá River to the Tapajós River, and in the middle and lower Negro River basin.	LC
>NC_033551.1	Cichliformes	Cichlidae	<i>Cichlasoma dimerus</i>	Heckel, 1840	South America: Paraná River basin, in the Paraguay River drainage in Brazil, Bolivia and Paraguay, and the Paraná River drainage of Argentina.	LC
>NC_084242.1	Cichliformes	Cichlidae	<i>Cichla piquiti</i>	Kullander & Ferreira, 2006	South America.	LC

(Continua)

Genbank	Order	Family	Species	Author	Occurrence	IUCN
>NC_084243.1	Cichliformes	Cichlidae	<i>Cichlamonoculus</i>	Agassiz, 1831	South America: Rio Solimões-A Amazonas along the main channel and lower courses of tributaries; Peru, Colombia and Brazil; including Araguari and lower Oyapock rivers north of the Amazon. Probably much more widespread in the lowland Amazon basin.	LC
>NC_084244.1	Cichliformes	Cichlidae	<i>Cichlatemensis</i>	Humboldt, 1821	South America: Amazon River basin in the Negro and Uatumbá River drainages; Orinoco River basin in tributaries of the Orinoco River in Venezuela and Colombia.	LC
>NC_086569.1	Cichliformes	Cichlidae	<i>Thorichthys meeki</i>	Brind, 1918	Central America: Atlantic slope, in the Usumacinta River drainage, the Belize River drainage, and near Progreso, in Mexico, Guatemala and Belize.	LC
>NC_033552.1	Cichliformes	Cichlidae	<i>Cryptoheros cutteri</i>	Fowler, 1932	North America: Honduras and Guatemala.	LC
>NC_026535.1	Cichliformes	Cichlidae	<i>Pterophyllum scalare</i>	Schultze, 1823	South America: Amazon River basin, in Peru, Colombia, and Brazil, along the Ucayali, Solimões and Amazon rivers; rivers of Amapá (Brazil), Rio Oyapock in French Guiana; Essequibo River in Guyana.	LC
>NC_026918.1	Cichliformes	Cichlidae	<i>Parachromis managuensis</i>	Günther, 1867	Central America: Atlantic slope from the Ulua River (Honduras) to the Matina River (Costa Rica).	LC
>NC_031440.1	Cichliformes	Cichlidae	<i>Kribia guianensis</i>	Regan, 1905	South America: Guianan coastal drainages, from the Demerara River in Guyana, eastward to the Cottica River in Suriname and to Araguari river basin, Amapá, Brazil.	LC
>NC_033544.1	Cichliformes	Cichlidae	<i>Aequidens metae</i>	Eigenmann, 1922	South America: Meta River in the Orinoco River basin, Colombia.	LC
>NC_024835.1	Cichliformes	Cichlidae	<i>Petenia splendida</i>	Günther, 1862	Central America: Atlantic slope of Grijalva River to Usumacinta River (Mexico), Usumacinta River (Guatemala), and Belize.	LC
>NC_027582.1	Cyprinodontiformes	Cyprinodontidae	<i>Orestias ascotánensis</i>	Parenti, 1984	South America: Ascotán Lake, Chile.	VU

(Continua)

Genbank	Order	Family	Species	Author	Occurrence	IUCN
>NC_086630.1	Cyprinodontiformes	Cyprinodontidae	<i>Orestiaschungarensis</i>	Vila & Pinto, 1987	South America: Chungará Lake, Chile.	CR
>NC_086631.1	Cyprinodontiformes	Cyprinodontidae	<i>Orestiaslaucaensis</i>	Arratia, 1982	South America: Lauca River basin in Chile.	EN
>NC_063692.1	Cyprinodontiformes	Fundulidae	<i>Fundulus lima</i>	Vaillant, 1894	Central America: Mexico.	EN
>NC_032074.1	Cyprinodontiformes	Poeciliidae	<i>Poeciliopsismonacha</i>	Miller, 1960	Central America: Mexico.	EM
>NC_066829.1	Cyprinodontiformes	Poeciliidae	<i>Xiphophorusmilleri</i>	Rosen, 1960	Central America: Papaloapancoregion in Mexico.	DD
>NC_028510.1	Cyprinodontiformes	Rivulidae	<i>Austrolebias charrua</i>	Costa & Cheffe, 2001	South America: Laguna dos Patos basin in Brazil.	NT
>NC_032387.1	Cyprinodontiformes	Rivulidae	<i>Kryptolebiashermaphroditus</i>	Costa, 2011	South America: southeasternBrazil.	LC
>NC_088550.1	Cyprinodontiformes	Rivulidae	<i>Millerichthysrobustus</i>	Miller & Hubbs, 1974	Central America: PapaloapanandCoatzacoalcosriverbasins in Mexico.	EN
>NC_036228.1	Gobiiformes	Eleotridae	<i>Hemieleotrislatifasciata</i>	Meek & Hildebrand, 1912	Central and South America: San Juan del Sur, Nicaragua to southern Colombia on the Pacific drainage.	LC
>NC_004692.1	Gymnotiformes	Apteronotidae	<i>Apteronotus albifrons</i>	Linnaeus, 1766	South America: Venezuela to Paraguay and Paraná rivers. Also in the Amazon Basin of Peru	LC
>NC_015078.1	Gymnotiformes	Hypopomidae	<i>Brachyhypopomus occidentalis</i>	Regan, 1914	Central and South America: Magdalena, Atrato, Catatumbo and Pacific slope rivers.	LC
>NC_036041.1	Myliobatiformes	Potamotrygonidae	<i>Potamotrygon magdalenae</i>	Duméril, 1865	South America: Magdalena and Atrato River basins.	NT
>NC_057097.1	Myliobatiformes	Potamotrygonidae	<i>Potamotrygon orbignyi</i>	Castelnau, 1855	South America: Widespread in Amazon and Orinoco River basins and in river systems in Suriname, Guyana and French Guiana.	LC
>NC_065055.1	Myliobatiformes	Potamotrygonidae	<i>Potamotrygon falkneri</i>	Castex & Maciel, 1963	South America: Paraná-Paraguay River basin, from Cuiabá and Piquiri rivers (among others) to the La Plata River.	DD
>NC_010570.1	Osteoglossiformes	Arapaimidae	<i>Arapaima gigas</i>	Schinz, 1822	South America: Amazon River basin.	DD

(Continua)

Genbank	Order	Family	Species	Author	Occurrence	IUCN
>NC_003095.1	Osteoglossiformes	Osteoglossidae	<i>Osteoglossumbicirrhosum</i>	Cuvier, 1829	South America: Amazon River basin, RupununiandOyapock Rivers.	LC
>NC_015748.1	Siluriformes	Auchenipteridae	<i>Centromochlusperugiae</i>	Steindachner, 1882	South America: Upper Amazon River basin.	LC
>NC_063780.1	Siluriformes	Callichthyidae	<i>Corydorasaeueus</i>	Gill, 1858	South America: Colombiaand Trinidad to La Plata River basineastofthe Andes.	LC
>NC_077554.1	Siluriformes	Callichthyidae	<i>Corydorasconcolor</i>	Weitzman, 1961	South America: Orinoco River basin.	NT
>NC_087759.1	Siluriformes	Callichthyidae	<i>Scleromystaxbarbatus</i>	Quoy & Gaimard, 1824	South America: Coastal drainagesfrom Rio de Janeiro to Santa Catarina, Brazil.	LC
>NC_015823.1	Siluriformes	Diplomystidae	<i>Diplomystesnahuelbutaensis</i>	Arratia, 1987	South America: Bío-Bío River basinandLoncomilla River in Chile.	EN
>NC_084459.1	Siluriformes	Ictaluridae	<i>Prietellaphreatophila</i>	Carranza, 1954	wellsneartheSierra de Santa Rosa in Coahuila, Mexico.	VU
>NC_052710.1	Siluriformes	Loricariidae	<i>Hypostomusancistroides</i>	Ihering, 1911	South America: Tietê River basin.	LC
>NC_060468.1	Siluriformes	Loricariidae	<i>Pterygoplichthyspardalis</i>	Castelnau, 1855	South America: Lower, middleandupperAmazon River basin. Introducedto countries outside its native range.	LC
>NC_033859.1	Siluriformes	Pimelodidae	<i>Pseudoplatystomareticulatum</i>	Eigenmann & Eigenmann, 1889	South America: Central Amazonand Paraná River in Argentina, Bolivia, Brazil, Paraguay and Uruguay.	LC
>NC_060300.1	Siluriformes	Pimelodidae	<i>Sorubim lima</i>	Bloch & Schneider, 1801	South America: Amazon, Orinoco, Paraná and Parnaíba River basins. Syntopicwith <i>S. elongatus</i> in the Orinoco basinandwith <i>S. elongatus</i> and <i>S. maniradii</i> in theupperAmazon drainageofBrazil, Ecuador, Peru, andBolivia	LC
>NC_066072.1	Siluriformes	Pseudopimelodidae	<i>Pseudopimelodusschultzi</i>	Dahl, 1955	South America: Magdalena River basin, Colombia.	LC
>NC_015811.1	Siluriformes	Aspredinidae	<i>Bunocephaluscoracoideus</i>	Cope, 1874	South America: Amazon River basin.	LC

(Continua)

Genbank	Order	Family	Species	Author	Occurrence	IUCN
>NC_026717.1	Siluriformes	Auchenipteridae	<i>Ageneiosus pardalis</i>	Lütken, 1874	Central and South America: Lake Maracaibo basin and Magdalena, Cauca, San Juan, and Tuira River basins.	LC
>NC_004698.1	Siluriformes	Callichthyidae	<i>Corydoras rabauti</i>	La Monte, 1941	South America: Upper Amazon, Solimões, and Negro River basins.	LC
>NC_048967.1	Siluriformes	Callichthyidae	<i>Corydoras sterbai</i>	Knaack, 1962	South America: central Brazil and Bolivia.	LC
>NC_049095.1	Siluriformes	Callichthyidae	<i>Corydoras duplicareus</i>	Sands, 1995	South America: Upper Negro River basin.	DD
>NC_049096.1	Siluriformes	Callichthyidae	<i>Corydoras arcuatus</i>	Elwin, 1938	South America: Upper Amazon River basin.	LC
>NC_049098.1	Siluriformes	Callichthyidae	<i>Corydora strilineatus</i>	Cope, 1872	South America: Central Amazon River basin; Peruvian Amazon and coastal drainages of Suriname.	LC
>NC_063781.1	Siluriformes	Callichthyidae	<i>Corydoras paleatus</i>	Jenyns, 1842	South America: Argentina, Brazil, and Uruguay.	LC
>NC_065338.1	Siluriformes	Callichthyidae	<i>Corydoras pygmaeus</i>	Knaack, 1966	South America: Madeira River basin.	LC
>NC_072073.1	Siluriformes	Callichthyidae	<i>Corydoras cruziensis</i>	Knaack, 2002	South America: Madeira River basin in Bolivia.	DD
>NC_077553.1	Siluriformes	Callichthyidae	<i>Corydoras julii</i>	Steindachner, 1906	South America: Lower Amazon River and coastal rivers in northeastern Brazil.	LC
>NC_087852.1	Siluriformes	Callichthyidae	<i>Megalechisthoracata</i>	Valenciennes, 1840	South America: Amazon, Orinoco and upper Paraguay River basins, as well as coastal rivers of the Guianas and northern Brazil.	LC
>NC_015745.1	Siluriformes	Doradidae	<i>Amblydoras gonzalezi</i>	Fernández-Yépez, 1968	América do Sul: Bacia do Rio Orinoco e Canal Casiquiare.	LC
>NC_028072.	Siluriformes	Loricariidae	<i>Hypoptopoma incognitum</i>	Aquino & Schaefer, 2010	South America: across the central and lower Rio Amazonas basin; including Rio Tocantins basin. It is the only species known for northeastern coastal rivers.	LC

(Finalizou)

Genbank	Order	Family	Species	Author	Occurrence	IUCN
>NC_015747.1	Siluriformes	Loricariidae	<i>Pterygoplichthysdisjunctivus</i>	Weber, 1991	South America: Madeira River basin. Introduced to countries outside its native range.	LC
>NC_045188.1	Siluriformes	Loricariidae	<i>Hypostomusfrancisci</i>	Lütken, 1874	South America: upper São Francisco River basin.	LC
>NC_015797.1	Siluriformes	Pimelodidae	<i>Pimeloduspictus</i>	Steindachner, 1876	South America: Amazon and Orinoco River basins.	LC
>NC_026211.1	Siluriformes	Pimelodidae	<i>Sorubimcuspicaudus</i>	Littmann, Burr & Nass, 2000	South America: Lake Maracaibo, Magdalena and Sinu River basins.	
>NC_026526.1	Siluriformes	Pimelodidae	<i>Pseudoplatystomamagdaleni</i>	Buitrago-Suárez & Burr, 2007	South America: Magdalena River drainage, including Cauca River in Colombia.	EN
>NC_032695.1	Siluriformes	Pimelodidae	<i>Pimelodusmaculatus</i>	Lacepède, 1803	South America: Paraná and São Francisco River basins.	LC
>NC_026845.1	Siluriformes	Pseudopimelodidae	<i>Lophiosilurusalexandri</i>	Steindachner, 1876	South America: São Francisco River basin, Brazil.	VU
>NC_051963.1	Siluriformes	Loricariidae	<i>Ancistrustemminckii</i>	Valenciennes, 1840	South America: Saramacca, Suriname, and Maroni River basins.	
>NC_025585.1	Siluriformes	Doradidae	<i>Platydorasarmatulus</i>	Valenciennes, 1840	South America: Paraná River basin	LC

Fonte: Autoral, 2025.

APÊNDICE B – Representatividade taxonômica das espécies de peixes de água doce da região Neotropical incluídas no estudo. A tabela apresenta a distribuição das espécies analisadas por ordem e família, indicando o número total de espécies (SPECIES) amostradas em cada grupo taxonômico. As espécies listadas correspondem àquelas com sequências completas do DNA mitocondrial disponíveis em bases públicas (GenBank), utilizadas nas análises moleculares. Essa organização evidencia o esforço amostral e a diversidade taxonômica contemplada entre diferentes ordens de peixes neotropicais.

(Continua)

ORDER	FAMILY	SPECIES
Characiformes	Acestrorhamphidae	24
Characiformes	Anostomidae	4
Characiformes	Bryconidae	4
Characiformes	Chilodontidae	1

(Continua)

ORDER	FAMILY	SPECIES
Characiformes	Erythrinidae	2
Characiformes	Hemiodontidae	1
Characiformes	Lebiasinidae	1
Characiformes	Prochilodontidae	6
Characiformes	Serrasalminidae	5
Characiformes	Stevardiidae	2
Characiformes	Chalceidae	1
Characiformes	Curimatidae	1
Characiformes	Cynodontidae	1
Cichliformes	Cichlidae	29
Cyprinodontiformes	Cyprinodontidae	3
Cyprinodontiformes	Fundulidae	1
Cyprinodontiformes	Poeciliidae	2
Cyprinodontiformes	Rivulidae	3
Gobiiformes	Eleotridae	1
Gymnotiformes	Apteronotidae	1
Gymnotiformes	Hypopomidae	1
Myliobatiformes	Potamotrygonidae	3
Osteoglossiformes	Arapaimidae	1
Osteoglossiformes	Osteoglossidae	1
Siluriformes	Auchenipteridae	2
Siluriformes	Callichthyidae	13
Siluriformes	Diplomystidae	1
Siluriformes	Ictaluridae	1
Siluriformes	Loricariidae	6
Siluriformes	Pimelodidae	6
Siluriformes	Pseudopimelodidae	2
Siluriformes	Aspredinidae	1

(Finalizou)

ORDER	FAMILY	SPECIES
Siluriformes	Doradidae	2

Fonte: Autoral, 2025.