

Universidade do Estado do Amazonas
Escola Normal Superior

**Filogeografia do bagre neotropical *Scoloplax distolothrix* Schaefer,
Weitzman & Britski, 1989 (Siluriformes: Scoloplacidae)**

**Manaus – AM
2019**

Universidade do Estado do Amazonas
Escola Normal Superior

Thais Mayumi Macedo Higa

**Filogeografia do bagre neotropical *Scoloplax distolothrix* Schaefer,
Weitzman & Britski, 1989 (Siluriformes: Scoloplacidae)**

Orientador: Dr. Marcelo Salles Rocha

Monografia apresentada
como Trabalho de
Conclusão de Curso –
TCC de Licenciatura em
Ciências Biológicas.

**Manaus – AM
2019**

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Sistema Integrado de Bibliotecas da Universidade do Estado do Amazonas.

t364f Higa, Thais Mayumi Macedo
Filogeografia do bagre neotropical *Scoloplax distolothrix* Schaefer, Weitzman & Britski, 1989 (Siluriformes: Scoloplacidae) / Thais Mayumi Macedo Higa. Manaus : [s.n], 2019.
25 f.: color.; 30 cm.

TCC - Graduação em Ciências Biológicas - Licenciatura - Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2019.
Inclui bibliografia
Orientador: Marcelo Salles Rocha

1. scoloplacidae. 2. peixe-miniatura. 3. barcode. 4. genética . I. Marcelo Salles Rocha (Orient.). II. Universidade do Estado do Amazonas. III. Filogeografia do bagre neotropical *Scoloplax distolothrix* Schaefer, Weitzman & Britski, 1989 (Siluriformes: Scoloplacidae)

Elaborado por Jeane Macelino Galves - CRB-11/463

THAIS MAYUMI MACEDO HIGA

**Filogeografia do bagre neotropical *Scoloplax distolothrix* Schaefer,
Weitzman & Britski, 1989 (Siluriformes: Scoloplacidae)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Estadual do Amazonas como requisito para obtenção de título de Licenciado em Ciências Biológicas

Aprovado em ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Dr. Marcelo Salles Rocha

Dra. Cristina Motta Bührnheim

Dra. Valéria Nogueira Machado

Os meus agradecimentos ao meus pais, que me deram tanto suporte durante todos os anos da minha vida, em especial durante a minha faculdade, nunca me deixando faltar nada para que eu pudesse completar mais essa fase na minha vida.

Agradeço também ao meus amigos que me acompanharam durante estes cinco anos de graduação e me proporcionaram tantos momentos felizes. Um agradecimento especial para Jackeline Damasceno, Karina Oliveira, Fernando Sanches, Matheus Raiol e Marina Pâmela.

Agradeço imensamente ao meu orientador que possibilitou a conclusão deste trabalho e guiou os caminhos para que o projeto inicial se tornasse esta monografia. Além disso, sou grata a todos os professores que no decorrer desses anos me ensinaram tanto e abriram a minha mente.

RESUMO

A região Neotropical apresenta grande biodiversidade, apresentando uma ictiofauna diversificada com estimativa de cerca de oito mil espécies. Dentre as famílias que compõem essa fauna, temos Scoloplacidae, que possui um único gênero, *Scoloplax*, com seis espécies. *Scoloplax distolothrix* foi descrita em 1989 juntamente com a espécie irmã *S. empousa*. Para o estudo filogeográfico desta espécie foram utilizadas amostras do gênero coletadas previamente, sendo as de *S. distolothrix* provenientes do alto e baixo rio Xingu e alto rio Araguaia. Amplificando os genes COI e 16S, estimou-se a distância genética das espécies no programa MEGA. A inferência bayesiana foi feita no BEAST. As sequências foram depositadas no BOLD-System para identificação. A distância genética encontrada do gene COI eram baixas, indicando que se trata apenas de uma espécie, enquanto que na árvore filogenética pode-se perceber que as populações de *S. distolothrix* e *S. empousa* foram separadas a cerca de 13 Ma, período que coincide com a subsidência do Pantanal. Quanto a espécie *S. distolothrix*, os indivíduos apresentaram maior diferenciação tanto de distância genética quanto na inferência bayesiana dos indivíduos do alto rio Xingu e do alto rio Araguaia, inferindo-se que esta separação tenha ocorrido devido a aparição da Fossa do Araguaia. As sequências da espécie foram depositadas no BOLD e foram identificadas como *S. distolothrix*.

Palavras-chave: scoloplacidae, peixe-miniatura, barcode, genética.

ABSTRACT

The Neotropical region provides great biodiversity, presenting a diverse ichthyofauna with an estimated of 8000 species. Among the families that compose this fauna, we have Scoloplacidae, which has a single genus, *Scoloplax*, with six species. *Scoloplax distolothrix* was described in 1989, along with the sister species *S. empousa*. For the phylogeographic study of this species, the samples of the genus were previously collected, being *S. distolothrix* collected from the upper and lower Xingu river and upper Araguaia river. By amplifying the COI and 16S genes, the genetic distance of the species was estimated in the MEGA program. Bayesian inference was made in BEAST. The sequences were deposited in the BOLD system for identification. The genetic distance found in the COI gene was low, confirm that is only one species, while in the phylogenetic tree it can be seen that the statistics of *S. distolothrix* and *S. empousa* were separated about 13 Ma, which coincides with a subsidence of Pantanal. About the species *S. distolothrix*, the ones that are less differentiated in genetic distance are from the upper Xingu and upper Araguaia individuals in relation to the bayesian, inferring that this occurrence was caused by the appearance of the Fossa do Araguaia. The sequences of species that were deposited in BOLD were identified as *S. distolothrix*.

Keywords: scoloplacidae, miniature fish, barcode, genetic.

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 - Localização das amostras coletadas de <i>Scoloplax distolothrix</i> no baixo e alto rio Xingu e no rio Araguaia	14
Figura 2 - Inferência Bayesiana gerada no BEAST editada no Ink Scape para a família Scoloplacidae. Sendo Scoloplax empousa em rosa, os indivíduos do Pantanal, <i>S. distolothrix</i> em azul, indivíduos do Araguaia, em verde indivíduos do baixo Xingu e em vermelho indivíduos do alto Xingu.	18

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1 - Distância genética entre amostras de *Scoloplax distolothrix* coletadas no alto e baixo rio Xingu, utilizando o marcador COI e o modelo K2P realizado no programa MEGA X

..... 16

Tabela 2 - Média da distância genética de amostras de COI do gênero *Scoloplax*.

..... 17

Tabela 3 - Distância genética entre amostras de *Scoloplax distolothrix* coletadas no alto e baixo rio Xingu e no rio Araguaia, utilizando o marcador 16S e o modelo

K2P realizado no programa MEGA X

.....17

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
1.2 OBJETIVO GERAL.....	13
1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
2. MATERIAL E MÉTODOS	14
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
4. CONCLUSÃO.....	21
5. REFERÊNCIAS	22

1. Introdução

A Região Neotropical apresenta uma ictiofauna de água doce extensa, sendo estimado que a região tenha 8000 espécies de peixes, o que representa aproximadamente 25% de toda a diversidade de peixes existentes na região (VARI & MALABARBA, 1998). Segundo REIS et al. (2003) essa região apresenta 43 famílias endêmicas, entre elas está a família Scoloplacidae.

A família Scoloplacidae anteriormente foi considerada uma subfamília de Loricariidae (BAILEY & BASKIN, 1989), mas em estudos posteriores foi elevada ao nível de família na década de 1980 (ISBRÜKER, 1980) e está distribuída nas bacias da América do Sul, como Amazônica, Tocantins, Paraná e Paraguai (SCHAEFER, 2003).

As características principais da família são o seu pequeno tamanho, tendo o maior exemplar encontrado apenas 1,99 cm e a presença de placa rostral móvel localizada na cabeça, a presença de odontoides e o fato de apresentarem duas séries bilaterais de placas ósseas entre as nadadeiras caudal e anal (SCHAEFER, 2003). Acredita-se que a reprodução é por inseminação interna (SPADELLA et al., 2008).

O gênero *Scoloplax*, o qual em 2012 teve a última descrição de uma espécie, abrange seis espécies no gênero, sendo elas: *Scoloplax dicra* descrita por BAILEY & BASKIN (1976), *S. empousa*, *S. distolothrix* e *S. dolicholophia* descritas por SCHAEFER et al. (1989), *S. baskini* descrita por ROCHA et al. (2008) e *S. baileyi* descrita por ROCHA et al. (2012).

A espécie *S. distolothrix* é encontrada no Brasil e no Paraguai, sendo distribuída pelos rios Xingu, Tocantins-Araguaia e alto Paraguai (SCHAEFER et al., 1989; SCHAEFER, 2003; ROCHA et al., 2008), sendo o seu maior exemplar encontrado por SCHAEFER et al. (1989) possuindo 1,79 cm. A espécie se diferencia das demais pela presença de três raios na nadadeira dorsal, pode ser diferenciada de *S. empousa* pela presença de cinco raios na nadadeira anal, e diferencia-se de *S. dicra* e *S. dolicholophia* pela presença de um par de barbilhões no canto da boca, enquanto que para *S. dicra* há apenas um barbilhão e *S. dolicholophia* não possui nenhum (SCHAEFER et al., 1989).

Recentemente diversos estudos tem utilizado em conjunto com análises filogenéticas e morfológicas, o método do código de barras do DNA (*barcode*) para a delimitação de espécies de peixes. O uso do barcode tem resolvido espécies com conflitos taxonômicos, que podem ser separadas (CARVALHO et al., 2011; PEREIRA et al., 2011; RIBOLLI, et al., 2017; ABDULLAH et al., 2017). Além disso, é uma ferramenta molecular que auxilia na indicação da possibilidade de novas espécies (WARD et al., 2009; PEREIRA et al., 2011).

Cada vez mais este método vem se comprovando eficaz na identificação no nível de espécie (CARVALHO et al., 2011). Com isso, cada vez mais especialistas vem incluindo o código de barras do DNA nas descrições de espécies (WARD et al., 2009). Um grande ponto a favor desse método também é o fato que no caso da falta de uma amostra completa para a identificação morfológica, a identificação pode ser realizada através do código de barras do DNA utilizando fragmentos do indivíduo ou até mesmo ovos (WARD et al., 2009).

A filogeografia é o ramo de estudo que relaciona os componentes histórico e filogenético com a distribuição geográfica de uma determinada espécie (AVISE, 2000). Estudos filogeográficos são importantes para entender como as espécies estão distribuídas e qual foram os fatores que levaram determinada espécie a estar distribuída daquela maneira. No entanto, para espécies neotropicais os animais terrestres dominam os estudos sobre filogeografia (MARTINS & DOMINGUES, 2011).

Um dos motivos seria que grande parte das hipóteses para explicar a distribuição da diversidade na Amazônia foram testadas com vertebrados terrestres, como a hipótese de rio como barreiras realizado por WALLACE (1852) envolvendo primatas, em que as populações estavam isoladas de acordo com os rios, e a hipótese conhecida como Teoria de Refúgios por HAFFER (1969) que foi testada com aves, uma vez que o mesmo acreditava que os rios não seriam barreiras para as aves.

Vários eventos como mudança de curso dos rios, incursões e regressões marinhas, isolamento de drenagem contribuíram para a diversificação e enriquecimento de espécies na biota aquática na região Neotropical (LUNDBERG et al., 1998).

Para a família Scoloplacidae houve um grande estudo envolvendo toda a superfamília Loricarioidea, no qual foi mostrado que as famílias Callicthyidae, Scoloplacidae, Astroblepidae e Loricariidae formam um grupo monofilético e também foi apontado *S. distolothrix* como espécie irmã de *S. empousa* (SCHAEFER, 1990). Porém, são necessários mais estudos envolvendo a filogeografia da família Scoloplacidae e as espécies do gênero *Scoloplax*.

Para a espécie *S. distolothrix* temos apenas estudos envolvendo a morfologia do seu espermatozoide (SPADELLA et al., 2006) e o seu sistema reprodutivo (SPADELLA et al., 2008) e até mesmo o seu cariótipo (OLIVEIRA et al., 2006). No entanto, ainda há lacunas na sua história evolutiva e para isso é preciso que sejam feitos mais estudos para entender como ocorreu a diversificação da espécie, a história da sua distribuição ao longo dos rios que habita e como ocorreu essa distribuição ao longo de milhares de anos, especialmente identificar se diferentes populações correspondem a apenas uma espécie.

1.2 Objetivo Geral

- Investigar os processos evolutivos que resultaram nos padrões de distribuição espacial da diversidade genética da espécie *Scoloplax distolothrix* nos rios Xingu e Araguaia.

1.3 Objetivos Específicos

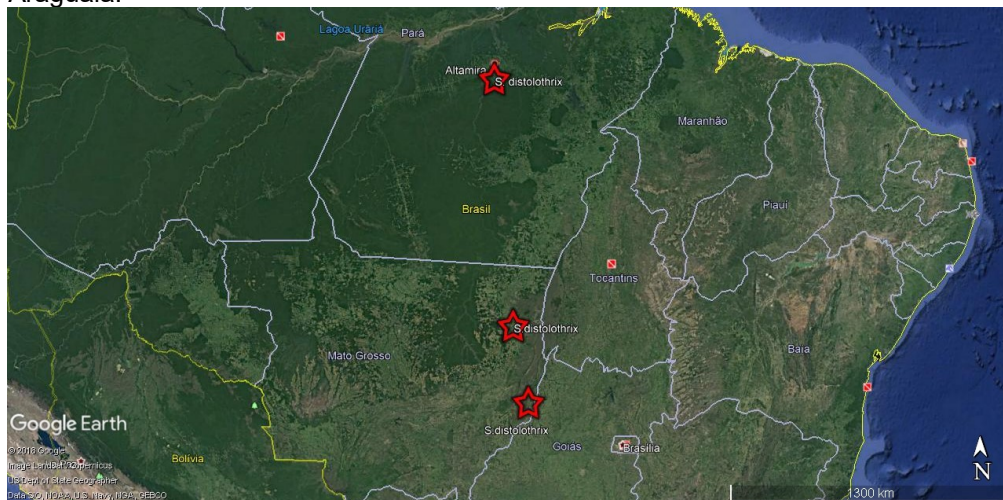
- Relacionar o tempo de divergência das populações de *Scoloplax distolothrix* com as mudanças geológicas ocorridas no local;
- Analisar a variabilidade genética de *Scoloplax distolothrix* entre as populações do alto e baixo rio Xingu e alto rio Araguaia.

2. Material e métodos

2.1 Área de estudo e amostragem

O trabalho envolve o gênero *Scoloplax* com foco em *S. distolothrix*, assim foram previamente coletadas amostras das espécies do gênero (exceto *S. baileyi*). As amostras de *S. distolothrix* foram obtidas durante expedições previamente realizadas na região do alto e baixo rio Xingu e alto rio Araguaia (Figura 1). Totalizando nove amostras da espécie.

Figura 1: Localização das amostras coletadas de *Scoloplax distolothrix* no baixo e alto rio Xingu e no rio Araguaia.



Fonte: Adaptado do Google Earth (2019)

2.2 Análise de dados

Todas as amostras do gênero foram previamente extraídas, amplificadas e sequenciadas, utilizando-se os marcadores mitocondriais 16S rDNA e Citocromo c oxidase subunidade I (COI). A edição das sequências foi realizada utilizando o programa Geneious (DRUMMOND et al., 2011). O alinhamento foi realizado utilizando o Aliview (LARSON, 2014). A escolha do modelo evolutivo mais apropriado para as sequências foi realizada utilizando o programa MEGA X (KUMAR et al., 2018).

2.2.1 Distância genética entre as populações

Para calcular a distância genética entre as populações de *Scoloplax distolothrix* foi realizada uma análise no programa MEGA X (KUMAR et al., 2018), usando o modelo Kimura-2-Parâmetros (K2P) (KIMURA, 1980).

2.2.2 Relações filogenéticas

Juntamente com as sequências de *Scoloplax distolothrix* foram utilizadas como grupo externo *Hemipsilichthys gobio*, *Astroblepus* sp., *Isbrueckerichthys epakmos*, *Neoplec paranensi*, *Nematogenys inermis*, *Corydoras aeneu*, *Hoplosternum littorale*, *Callichthys callichthys* e *Diplomystes mesembrinus* sendo a raiz, assim como as outras espécies da família Scoloplacidae, sendo elas *S. dicra*, *S. empousa*, *S. dolicholophia* e *S. baskini*. As amostras de COI e 16s foram concatenadas utilizando o Sequence Matrix (VAIDYA et al., 2011). Para inferir as relações filogenéticas entre as amostras a sequência concatenada foi utilizada na análise de inferência bayesiana no programa BEAST 1.10.4 (BOUCKAERT et al., 2014). Estimou-se o tempo de divergência entre as amostras utilizando o modelo relógio molecular relaxado não correlacionado (lognormal), sendo a calibração feita seguindo a origem de *Corydoras* estabelecendo um offset de 55 MA com base em um fóssil de *Corydoras revelatus* (ROXO et al., 2014), o modelo utilizado foi o Nascimento-Morte. Após todos os priors e calibração feitos, a análise foi rodada por 50 milhões de gerações com amostragem a cada mil gerações. Em seguida, foi avaliado no Tracer 1.7.1 (RAMBAUT et al., 2018) se a análise foi feita corretamente observando se todos os tamanhos efetivos da amostra (ESS) estavam acima de 200. Para realização do *burn-in* foi utilizado o LogCombiner com uma taxa de 10%. Uma árvore consenso foi gerada através do programa TreeAnnotator e em seguida a árvore consenso foi visualizada no FigTree 1.4.4 (RAMBAUT, 2018).

2.2.3 Código de barras do DNA

Para identificações de espécies utilizando o código de barras do DNA as sequências editadas foram depositadas no site BOLD-System (Barcode of Life Data-Systems, disponível em: <http://www.boldsystems.org/>).

3. Resultados e Discussão

3.1 Análise de dados

A sequência final do marcador 16S contou com 456 bp e 436 bp para a sequência de COI, sendo a sequência concatenada com 892 bp. Com base na análise realizada, o melhor modelo evolutivo para o banco de dados foi o GTR + G.

3.2 Distância genética entre populações

A distância genética entre as amostras coletadas no alto rio Xingu e baixo rio Xingu com o marcador COI ficaram entre 0% a 1,19% (Tabela 1), demonstrando que as populações de *Scoloplax distolothrix* não possuem muita divergência no seu material genético apesar de estarem em localidades diferentes.

Tabela 1: Distância genética entre amostras de *Scoloplax distolothrix* coletadas no alto e baixo rio Xingu, utilizando o marcador COI e o modelo K2P realizado no programa MEGA X

Localidade	Alto Xingu	Alto Xingu	Alto Xingu	Baixo Xingu	Baixo Xingu	Baixo Xingu
Alto Xingu						
Alto Xingu	0,00%					
Alto Xingu	0,00%	0,00%				
Baixo Xingu	0,93%	0,93%	0,93%			
Baixo Xingu	0,93%	0,93%	0,93%	0,00%		
Baixo Xingu	1,17%	1,17%	1,17%	0,23%	0,23%	

Para que as populações sejam consideradas da mesma espécie muitos autores adotam valores relevantes para o gênero ou família e é proposto, no entanto, que a distância genética entre indivíduos da mesma espécie deve ser menor que 2% (WARD, 2009). Portanto, considera-se que apesar das distâncias geográficas *Scoloplax distolothrix* corresponde a apenas uma espécie. No entanto, como cada espécie tem suas especificidades, em trabalhos realizados com o gênero *Rhamdia* (RIBOLLI et al., 2017), por exemplo, foi observado que as espécies *R. voulezi* e *R. branneri* possuem diferenças morfológicas claras, no entanto a taxa de divergência genética é de apenas 1,4%.

Dentre as espécies de um estudo realizado no rio São Francisco, observou-se que duas espécies do mesmo gênero, *Astyanax rivularis* e *A. cf. fasciatus* tinham uma divergência genética de apenas 0,93% (CARVALHO et al., 2011). No entanto, as demais espécies apresentaram uma distância genética

média de até 10,54%. Para bagres da Malásia a maior distância genética intraespecífica encontrada foi de 4,2% (ABDULLAH et al., 2017), enquanto que em pesquisas com 190 espécies de peixes do Canadá houve uma média de 0,27% de distância genética intraespecífica, sendo o maior resultado 7,42% (HUBERT et al., 2008).

Quanto as distâncias genéticas entre as outras espécies do gênero *Scoloplax* e *S. distolothrix*, os dados variam entre 10,45% e 22,13%. A menor divergência encontrada dentro do gênero estudado é entre *S. distolothrix* e *S. empousa*, o que era esperado, uma vez que são consideradas espécies-irmãs (SCHAEFER, 1990). Nos peixes do rio São Francisco foi encontrada uma média de 10,61% entre espécies do mesmo gênero, com a maior divergência sendo de 22,88% (CARVALHO et al., 2011). Entre peixes de água doce do Canadá a maior divergência interespecífica encontrada foi de 19,22%, com uma média de 8,37% (HUBERT et al., 2008).

Tabela 2: Média da distância genética de amostras de COI do gênero *Scoloplax*.

Espécie	<i>S. empousa</i>	<i>S. dicra</i>	<i>S. dolicolophia</i>	<i>S. baskini</i>
<i>S. distolothrix</i>	10,46%	21,83%	22,13%	21,71%

Os resultados obtidos a partir das amostras de 16S incluem indivíduos que pertencem ao alto Araguaia (Tabela 2). Sendo assim, destaca-se que as distâncias genéticas observadas entre Araguaia e as demais localidades são mais altas do que as do rio Xingu, uma vez que fazem parte de bacias diferentes. Apesar disso, os números não são maiores que 2%.

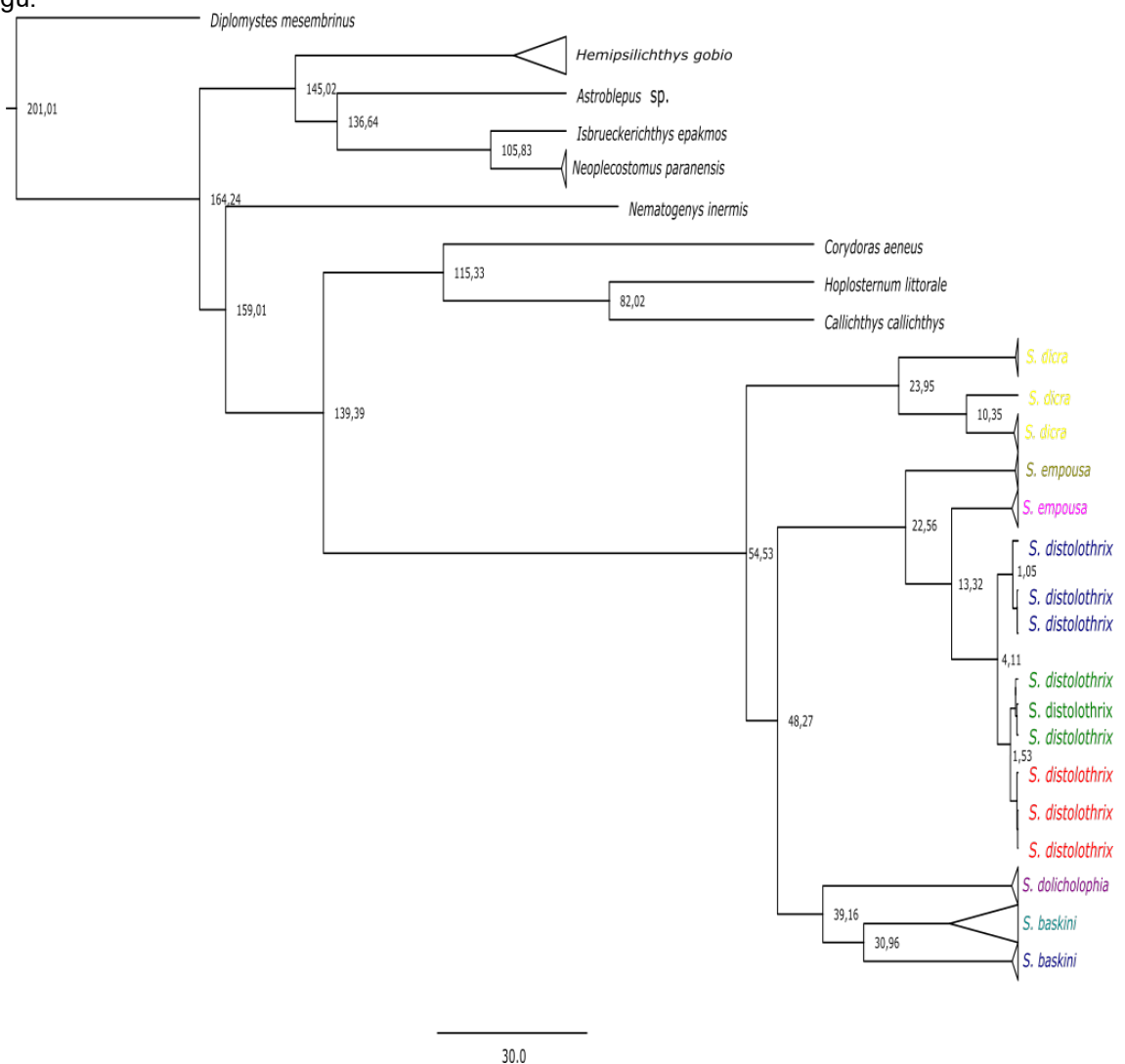
Tabela 3: Distância genética entre amostras de *Scoloplax distolothrix* coletadas no alto e baixo rio Xingu e no rio Araguaia, utilizando o marcador 16S e o modelo K2P realizado no programa MEGA X.

Localidades	Baixo Xingu	Baixo Xingu	Araguaia	Araguaia	Araguaia	Alto Xingu
Baixo Xingu						
Baixo Xingu	0,00%					
Araguaia	0,92%	0,92%				
Araguaia	1,38%	1,38%	0,23%			
Araguaia	1,38%	1,38%	0,23%	0,00%		
Alto Xingu	0,45%	0,45%	0,92%	1,38%	1,38%	
Alto Xingu	0,45%	0,45%	0,92%	1,38%	1,38%	0,00%

3.3 Relações filogenéticas

A árvore de inferência bayesiana gerada pelo BEAST tem como raiz a espécie *Diplomystes mesembrinus* (Figura 2). Nesta observou-se que *Scoloplax empousa* é espécie-irmã de *S. distolothrix*, corroborando com estudos realizados anteriormente (SCHAEFER, 1990), também mostrando que a especiação ocorreu a cerca de 13 milhões de anos e reforçando o resultado da distância genética entre as mesmas de serem as mais baixas dentro do gênero. Ambas as espécies estão em áreas próximas, sendo *S. empousa* no Pantanal e *S. distolothrix* no Xingu, uma distribuição já encontrada para diversas espécie de peixes (COSTA, 2010; RIBEIRO et al., 2013).

Figura 2: Inferência Bayesiana gerada no BEAST editada no Ink Scape para o família Scoloplacidae. Sendo *Scoloplax empousa* em rosa, indivíduos do Pantanal, *S. distolothrix* em azul, indivíduos do Araguaia, em verde indivíduos do baixo Xingu e em vermelho indivíduos do alto Xingu.



Infere-se que as populações ancestrais de ambas as espécies, *Scoloplax distolothrix* e *S. empousa*, tenham se diferenciado devido a ligação que existia entre o Pantanal e a alguns afluentes do rio Amazonas, ter sido quebrada com a subsidência tectônica do Pantanal que tenha ocorrido entre o Mioceno e o Quaternário (ASSINE et al., 2015), separando assim as populações ancestrais que deram origem as espécies atuais.

Pode-se observar esse mesmo padrão em outro grupos de peixes endêmicos da região Neotropical, como no caso do gênero *Spectrolebias* (COSTA, 2010) com inferências filogenéticas que corroboram a separação de espécies devido a esse evento ocorrido no Pantanal. Esse evento vicariante é bastante discutido em diversos trabalhos, como a possível explicação para especiação na área que abrange o alto Paraguaia, alto Xingu e demais bacias próximas, e corroborando também para peixes de água doce reofílicos, de espécies como *Jupiaba acanthogaster* (RIBEIRO et al., 2013).

Quanto a espécie *Scoloplax distolothrix* a árvore filogenética indica que as amostras do rio Xingu e do rio Araguaia apresentam uma separação de aproximadamente quatro milhões de anos, o que pode explicar as taxas de distância genética mais elevadas encontradas entre as amostras coletadas no Xingu e as amostras coletadas no Araguaia.

Destaca-se que esta separação muito provavelmente ocorreu devido a formação da Fossa do Araguaia que ocorreu no período Pleistocênico (SAADI, 1993). Durante esta subsidência a direção que os afluentes corriam mudou e passou a ser de leste para oeste. Essa mudança pode ter dificultado o fluxo gênico entre as populações que se encontram no alto Xingu e aquelas que estão no alto Araguaia.

A depressão do Araguaia juntamente com a subsidência do Pantanal geraram uma atividade neotectônica que modificou o rios que estavam nela, sendo assim os prováveis responsáveis pela distribuição de inúmeros táxons de peixes, pois ambas permitiram a troca de populações entre as bacias que estão localizadas em tais depressões (LIMA & RIBEIRO, 2011).

Outro ponto importante também é que as sequências do alto Xingu e do baixo Xingu foram separadas em grupos diferentes, com uma datação de cerca de 1,5 milhões de anos, apesar da distância genética ter sido de 0,45% para 16S

e para COI entre 0,93% e 1,17%. No entanto, com os dados analisados não é possível inferir que as duas populações sejam espécies diferentes, uma vez que a distância genética interespecífica de *Scoloplax* é geralmente maior que 10%.

3.4 Código de barras do DNA

Todas as sequências de COI da espécie depositadas no site BOLD foram identificadas como *Scoloplax distolothrix*, todas com probabilidade de atribuição maior que 98%, sendo as amostras do alto rio Xingu colocadas com uma probabilidade de 100%. O que comprovou a sua eficiência na identificação no nível de espécie. Essa metodologia também provou ser válida para espécies de bagres da Malásia (ABDULLAH, 2017), assim como de Siluriformes também da região Neotropical (ROXO et al., 2015; RIBOLLI et al., 2011), e também na distinção de outros peixes neotropicais de água doce (PEREIRA et al., 2011).

No entanto, na base de dados existe apenas uma única sequência da espécie, que é proveniente de uma sequência colocada no GenBank. Para as demais espécies do gênero *Scoloplax* não existem sequências no GenBank, portanto não foi possível a confirmação taxonômica através do código de barras do DNA. Sendo assim, é necessária uma maior quantidade de dados para que melhore o alcance de identificação pelo BOLD (WARD et al., 2009).

4. Conclusão

A espécie *Scoloplax distolothrix* em comparação com as demais espécies do gênero possui uma das menores distâncias genéticas entre as suas diferentes populações, sendo assim é possível constatar que os indivíduos estudados pertencem a mesma espécie, se considerado que para serem da mesma espécie devem ter divergência menor que 2%. Apesar da distância geográfica e barreiras geográficas, como a Fossa do Araguaia dificultar o fluxo genético, principalmente para uma espécie de peixe de pequeno porte e com hábito de vida sedentário, não houve diferenciação suficiente para que as populações fossem consideradas espécies distintas.

As análises realizadas no presente estudo foram suficientes para iniciar a compreensão do padrão de distribuição, não apenas da espécie mas também do seu grupo-irmão. Podendo observar que a subsidência do Pantanal teve grande influência para que ambas as espécies se diferenciassem.

O código de barra do DNA foi útil para a identificação da espécie, porém é preciso que mais sequências do gênero *Scoloplax* sejam depositadas na base de dados do BOLD para que seja possível a separação de outras espécies do gênero.

5. Referências

ABDULLAH, M. L.; NOR, S. A. M.; NAIM, D. M. D. Use of DNA barcode in the identification of catfishes (Siluriformes: Ariidae) from Malaysia. **Biodiversitas**, vol. 18, 1358-1366p. 2017.

ASSINE, M.; MERINO, E.; PUPIM, F.; WARREN, L.; GUERREIRO, R.; MCGLUE, M. Geology and Geomorphology of the Pantanal Basin. In: BERGIER, I.; ASSINE, M. L. Assine (eds.). Dynamics of the Pantanal Wetland in South America. Heidelberg: Springer Berlin. 2015.

AVISE, J. C. **Phylogeography: the history and formation of species**. Cambridge: Harvard University Press. 2000.

BAILEY, R.M.; BASKIN, J.N. *Scoloplax dicra*, a new armored catfish from the Bolivian Amazon. **Occasional Papers of the Museum of Zoology**, vol. 674,1-14p. 1976.

BOUCKAERT, R.R.; HELED, J.; KUHNERT, D.; VAUGHAN, T.; WU, C.H.; XIE, D.; SUCHARD, M.A.; RAMBAUT, A.; DRUMMOND, A.J. BEAST 2: a software platform for Bayesian evolutionary analysis. **PLOS Computational Biology**. 2014.

CARVALHO, D. C.; OLIVEIRA, D. A. A.; POMPEU, P. S.; LEAL, C. G.; OLIVEIRA, C.; HANNER, R. Deep barcode divergence in Brazilian freshwater fishes: the case of the São Francisco River basin, **Mitochondrial DNA**, vol. 22: sup1, 80-86p. 2011.

COSTA, W. J. E. M. Comparative morphology, phylogenetic relationships, and historical biogeography of plesiolebiasine seasonal killifishes (Teleostei: Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, n. 162, 131–148p. 2011.

DRUMMOND, A.J., HO, S.Y.W., PHILLIPS, M.J., RAMBAUT, A., 2006. **Relaxed phylogenetics and dating with confidence**. *PLoS Biol.* 4, 699–710. doi:10.1371/journal.pbio.0040088

HAFFER, J. Speciation in Amazonian forest birds. **Science**, vol. 165, 131-137p. 1969.

HUBERT, N.; HANNER, R.; HOLM, E.; MANDRA, N. E.; TAYLOR, E.; BURRIDGE, M.; BERNATCHEZ, L. Identifying canadian freshwater fishes through DNA Barcodes. **PLoS ONE**, vol. 3, n. 6, ed. 2490, 1-8p. 2008.

ISBRÜCKER, I. J. H. Classification and catalogue of the mailed Loricariidae (Pisces, Siluriformes). Verslagen en technische Genevens, **Universiteit van Amsterdam**, vol 22, 1-181p. 1980.

KIMURA, M. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **Journal of Molecular Evolution**, vol. 16, 111-120p. 1980.

KUMAR S.; STECHER, G.; LI, M.; KNYAZ, C.; TAMURA K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. **Molecular Biology and Evolution**, vol. 35, 1547-1549p. 2018.

LARSSON, A., 2014. AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. **Bioinformatics**, 30 n. 22, p. 3276-327.

LIMA, F. C. T.; A. RIBEIRO, C. Continental-scale tectonic controls of biogeography and ecology. In: ALBERT, J. S.; R. E. REIS (Eds.). **Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes**. Berkeley: University of California Press, 145- 164p. 2011.

LUNDBERG, J. G.; MARSHALL, L.G, GUERRERO, J. HORTON, B. K.; MALABARBA, M. C.; 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. S.; LUCENA, C. A. S. (Org.). **Phylogeny and classification of neotropical fishes**. 1. ed. Porto Alegre: Edipucrs, 13-48p. 1998.

MARTINS, F. M. de; DOMINGUES, M. V. Filogeografia. **Revista da Biologia**, vol. Esp. Biogeografia, 26-30p. 2011.

OLIVEIRA, C.; ALVES, A. L.; FORESTI, F. The karyotype of *Scoloplax distolothrix* (Teleostei: Siluriformes: Scoloplacidae). **Cytologia**, vol. 71, n. 3, 257–259p, 2006.

PEREIRA, L. H. G.; MAIA, G. M. G.; HANNER, R.; FORESTI, F; OLIVEIRA, C. DNA barcodes discriminate freshwater fishes from the Paraíba do Sul River Basin, São Paulo, Brazil. **Mitochondrial DNA**, vol. 22, 1^a ed. , 71-79p. 2011.

RAMBAUT, A. FigTree v1.4.4. 2018. Disponível em <<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>>

RAMBAUT. A.; DRUMMOND, A. J.; XIE D.; BAELE, G.; SUCHARD, M. A. Posterior summarisation in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. **Systematic Biology**. 2018.

REIS, R.E.; KULLANDER, S.O.; FERRARIS Jr., C.J. **Check list of the freshwater fishes of South and Central America**. Porto Alegre: Edipucrs. ?p. 2003.

RIBOLLI, J. DNA barcoding confirms the occurrence of *Rhamdia branneri* and *Rhamdia voulezi* (Siluriformes: Heptapteridae) in the Iguaçu River Basin. **Neotropical Ichthyology**, vol. 15, n. 1, 1-8p. 2017.

SAADI, A. neotectônica da plataforma brasileira: esboço e interpretação preliminares. **Genomos**, vol 1, 1 – 15 p. 1993.

RIBEIRO, A. C.; JACOB, R. M.; SILVA, R. R. S. R., LIMA, F. C. T.; FERREIRA, D. C.; FERREIRA, K. M.; MARIGUELA, T. C., PEREIRA, L. H. G.; OLIVEIRA, C. Distributions and phylogeographic data of rheophilic freshwater fishes provide evidences on the geographic extension of a central-brazilian amazonian palaeoplateau in the area of the present day Pantanal Wetland. **Neotropical Ichthyology**, vol. 11, n. 2, 319-326p. 2013.

ROCHA, M. S.; OLIVEIRA, R. R.; PY-DANIEL, L.R. *Scoloplax baskini*: a new spiny dwarf catfish from Rio Aripuanã, Amazonas, Brazil (Loricarioidei: Scoloplacidae). **Neotropical Ichthyology** vol. 6, 323–328p. 2008.

ROCHA, M. S.; LAZZAROTTO, H.; PY-DANIEL. L. R. A new species of *Scoloplax* with a remarkable new tooth morphology within Loricarioidea (Siluriformes: Scoloplacidae). **Copeia**, vol. 4, 670 – 677p. 2012.

ROXO, F. F.; ALBERT, J. S.; SILVA, G. S. C.; ZAWADZKI, C. H.; FORESTI, F.; OLIVEIRAR, C. Molecular phylogeny and biogeographic history of the armored neotropical catfish subfamilies Hypoptopomatinae, Neoplecostominae and Otothyridae (Siluriformes: Loricariidae). **PLoS ONE** vol. 9, ed. 8, 1-17p. 2014.

ROXO, F. F.; OCHOA, L. E. COSTA-SILVA, G. J.; OLIVEIRA, C. Species delimitation in *Neoplecostomus* (Siluriformes: Loricariidae) using morphologic and genetic approaches. **DNA Barcodes**, vol. 3, 110–117p. 2015.

SCHAEFER, S. A.; WEITZMAN, S.H.; BRITSKI, H.A. Review of the Neotropical catfish genus *Scoloplax* (Pisces: Loricarioidea: Scoloplacidae), with comments on reductive characters in phylogenetic analysis. **Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia**, vol. 141, 181-211p. 1989.

SCHAEFER, S. A. Anatomy and relationships of the scoloplacid catfishes. **Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia** vol. 142,167–210p. 1990.

SCHAEFER, S. A. Family Scoloplacidae (spiny dwarf catfishes), 310–311p. 2003. In: REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRAIS, C. J. (eds.). Checklist of the Freshwater Fishes of the South and Central America. Porto Alegre: Edipucrs, Brazil. 2003.

SPADELLA, M. A.; OLIVEIRA, C.; QUAGIO-GRASSIOTTO, I. Spermogenesis and introsperm ultrastructure of *Scoloplax distolothrix* (Ostariophysi: Siluriformes: Scoloplacidae). **Acta Zoologica (Stockholm)**, vol. 87, 341–348p. 2006.

SPADELLA, M. A.; OLIVEIRA, C.; QUAGIO-GRASSIOTT, I. Morphology and histology of male and female reproductive systems in the inseminating species *Scoloplax distolothrix* (Ostariophysi: Siluriformes: Scoloplacidae). **Journal of Morphology**, vol. 269, 1114–1121p. 2008.

VARI, R.P.; MALABARBA, L.R. Neotropical ichthyology: an overview. In: **Phylogeny and classification of Neotropical Fishes** (ed. por L.R. Malabarba, R. E. Reis, R. Vari, Z.M.S. Lucena, & C.A.S. Lucena), pp. 1-11. Porto Alegre: Edipucrs, . 1998.

WALLACE, A.R. On the monkeys of the Amazon. **Proc. Zool. Soc. London** vol. 20, 107-110 p. 1852.

WARD R. D.; HANNER, R, HEBERT, P. D. N. The campaign to DNA barcode all fishes, FISH-BOL. **Journal of Fish Biology**, vol. 74, n. 2, 329-56p. 2009.