



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

Lucas Gabriel Poerner Sorrentino

**Delimitação de espécies do gênero *Hypostomus* da bacia do Alto rio Uruguai**

FLORIANÓPOLIS  
2019

Lucas Gabriel Poerner Sorrentino

**Delimitação de espécies do gênero *Hypostomus* da bacia do Alto rio Uruguai**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Mestre em Aquicultura.

Orientador: Prof. Dr. Evoy Zaniboni Filho  
Coorientador: Prof. Dra. Josiane Ribolli

Florianópolis

2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Sorrentino, Lucas Gabriel Poerner  
Delimitação de espécies do gênero *Hypostomus* da bacia do  
Alto rio Uruguai / Lucas Gabriel Poerner Sorrentino ;  
orientador, Evoy Zaniboni Filho, coorientadora, Josiane  
Ribolli, 2019.  
59 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós  
Graduação em Aquicultura, Florianópolis, 2019.

Inclui referências.

1. Aquicultura. 2. Loricariidae . 3. DNA mitocondrial.  
4. GMYC. 5. MOTUs. I. Zaniboni Filho, Evoy . II. Ribolli,  
Josiane . III. Universidade Federal de Santa Catarina.  
Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. IV. Título.

Lucas Gabriel Poerner Sorrentino

**Delimitação de espécies do gênero *Hypostomus* da bacia do Alto rio Uruguai**

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Evoy Zaniboni Filho, Dr.  
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Cláudio Manoel Rodrigues de Melo, Dr.  
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Carolina de Barros Machado da Silva, Dra.  
Universidade Federal de São Carlos

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Aquicultura.

---

Prof. Dra. Leila Hayashi  
Coordenadora do Programa

---

Prof. Dr. Evoy Zaniboni Filho  
Orientador

Florianópolis, 08 de agosto de 2019.

Dedico este trabalho ao meu filho Noah, minha namorada Marina, minha irmã Laís e meus pais Roberto e Cláudia. Que eu possa se um pai exemplar como os que tive.

## **AGRADECIMENTOS**

Inicialmente gostaria de agradecer a Universidade Federal de Santa Catarina, pela oportunidade da realização do curso de Pós-graduação em Aquicultura.

Ao meu orientador Prof. Dr. Evoy Zaniboni Filho, pela oportunidade, paciência e companheirismo nesta reta final de mestrado.

À minha coorientadora Dra. Josiane Ribolli, pelos ensinamentos, compreensão e amizade durante o período em que trabalhamos juntos.

Agradeço em especial a mestre Bianca Scaranto pelo auxílio, ensinamentos e conversas durante este período.

Ao Dr. Oscar Shibatta, pela contribuição com a identificação taxonômica dos exemplares.

Em geral, a todos os funcionários, técnicos, professores e alunos do LAPAD, que sempre me ajudaram nos momentos necessários.

Ao Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal, pela concessão do laboratório para o desenvolvimento deste trabalho.

A Dra. Anita por me ajudar e incentivar nesta trajetória.

Aos meus familiares e amigos do Rio de Janeiro e de Florianópolis, por todo o apoio e ajuda neste período.

A minha namorada Marina e meu filho Noah, pelo companheirismo durante este período. Obrigado por estarem sempre dispostos a tornar meus dias melhores.

Aos membros da banca examinadora, Prof. Dr. Cláudio Manoel Rodrigues de Melo e Dra.<sup>a</sup> Carolina Machado.

Enfim, agradeço de coração a todos que passaram pelo meu caminho em mais esta conquista e fizeram parte da minha formação. Os agradecimentos aos colaboradores à execução do trabalho.

## RESUMO

Popularmente conhecidos como cascudos, os indivíduos do gênero *Hypostomus* são um importante recurso pesqueiro na região do Alto rio Uruguai, sendo composta por espécies que apresentam alta adaptabilidade a diferentes tipos de ambientes. O gênero *Hypostomus* é o mais numeroso e um dos mais complexos da família Loricariidae, composto por espécies que apresentam características morfológicas similares, dificultando assim a sua diferenciação. Esse estudo teve como objetivo inferir, através da técnica do DNA *barcoding*, o número de MOTUs e sua variação intra e interespecíficas entre as espécies do gênero *Hypostomus* da bacia do Alto rio Uruguai. Foram analisadas sequências parciais do gene COI de 35 indivíduos de cinco espécies do gênero *Hypostomus* do Alto rio Uruguai identificados taxonomicamente como *H. spiniger*, *H. isbrueckeri*, *H. roseopunctatus*, *H. luteus* e *H. uruguayensis*. Foram utilizadas 52 sequências de espécies do gênero *Hypostomus*, obtidas do BOLD (Barcode of Life Data System). A árvore bayesiana com todas as sequências revelou agrupamento polifilético entre as espécies do Alto rio Uruguai, onde *H. spiniger* se separa dos demais. A análise GMYC revelou cinco MOTUs dentre os indivíduos analisados, indicando subdivisão de *H. isbrueckeri*. Os indivíduos previamente identificados como *H. roseopunctatus* e *H. luteus* foram agrupados na mesma MOTU. Os exemplares identificados morfológicamente como *H. regani* foram agrupados na MOTU *H. roseopunctatus/H. luteus*, levantando uma dúvida sobre a existência da espécie na bacia. Os indivíduos de *H. uruguayensis* agruparam-se em apenas uma MOTU, corroborando a delimitação taxonômica. As distâncias interespecíficas médias variaram de 0,68 a 8,24%, e as distâncias intraespecíficas médias variaram de 0,0 a 0,58%. Os resultados do presente estudo indicam a complexidade da identificação morfológica de algumas espécies de *Hypostomus* do Alto rio Uruguai. Os resultados do presente estudo indicam a necessidade de ampliar a amostragem e utilizar outros marcadores moleculares para elucidar o complexo *H. luteus/H. roseopunctatus* e a subdivisão de *H. isbrueckeri*. A correta identificação e delimitação das espécies permite manejo adequado dessas espécies que se destacam pelo seu potencial para pesca e aquariorfilia.

**Palavras-chave:** Aquicultura. Loricariidae. DNA mitocondrial. GMYC. MOTUs.

## ABSTRACT

Popularly known as cascudos, individuals of the genus *Hypostomus* are an important fishing resource in the Upper Uruguay River region, being composed of species that show high adaptability to different types of environments. The genus *Hypostomus* is the most numerous and one of the most complex of the family Loricariidae, composed of species that present similar morphological characteristics, making it difficult to differentiate them. The aim of this study was to infer, through the technique of DNA *barcoding*, the number of MOTUs and their intra and interspecific variation among the species of the genus *Hypostomus* of the Upper Uruguay river basin. Partial sequences of the COI gene from 35 individuals of five species of the genus *Hypostomus* of the Upper Uruguay River were analyzed, taxonomically identified as *H. spiniger*, *H. isbrueckeri*, *H. roseopunctatus*, *H. luteus* and *H. uruguayensis*. Fifty-two sequences of *Hypostomus* species obtained from the Barcode of Life Data System (BOLD) were used. The Bayesian tree with all sequences revealed polyphyletic grouping among the Upper Uruguay River species, where *H. spiniger* separates from the others. GMYC analysis revealed five MOTUs among the individuals analyzed, indicating subdivision of *H. isbrueckeri*. The individuals previously identified as *H. roseopunctatus* and *H. luteus* were grouped in the same MOTU. The morphologically identified specimens as *H. regani* were grouped in MOTU *H. roseopunctatus* / *H. luteus*, raising a doubt about the existence of the species in the basin. *Hypostomus uruguayensis* individuals were grouped in only one MOTU, corroborating the taxonomic delimitation. Mean interspecific distances ranged from 0.68 to 8.24%, and mean intraspecific distances ranged from 0.0 to 0.58%. The results of the present study indicate the complexity of morphological identification of some species of *Hypostomus* from the Upper Uruguay river. The results of the present study indicate the need to extend sampling and use other molecular markers to elucidate the *H. luteus* / *H. roseopunctatus* complex and the subdivision of *H. isbrueckeri*. The correct identification and delimitation of species allows proper management of these species that stand out for their potential for fishing and aquarium.

**Keywords:** Aquaculture. Loricariidae. Mitochondrial DNA. GMYC. MOTUs.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Árvore de inferência Bayesiana 101 sequências de *Hypostomus* obtidas do BOLD, 35 sequências do presente estudo e o grupo externo. Os círculos pretos nas ramificações do nó representam uma probabilidade posterior maior que 70%. A figura foi dividida para melhor visualização.....29
- Figura 2 - Árvore de inferência Bayesiana 87 sequências de *Hypostomus*. Os círculos pretos nas ramificações do nó representam uma probabilidade posterior maior que 80%. Os ramos em vermelho indicam as MOTUs identificadas pela análise GMYC. ....30

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Informações dos indivíduos do gênero <i>Hypostomus</i> amostradas no Alto rio Uruguai.....	25
Tabela 2 - Informações das espécies do gênero <i>Hypostomus</i> amostradas no Alto rio Uruguai identificadas morfológicamente. CA = Código da Amostra, ID = identificação. *ID Molecular segundo as análises de DNA barcoding do presente trabalho. INI = Indivíduo não identificado por Taxonomista. <i>H. commersoni</i> = <i>H. spiniger</i> .....	32
Tabela 3 - Valores médios das distâncias genéticas baseada em Kimura-2-parameter (K2P) das MOTUs obtidas através do GMYC para indivíduos do gênero <i>Hypostomus</i> . Valores em negrito na diagonal principal referentes às distâncias genéticas intraespecífica. Valores abaixo da diagonal são referentes às distâncias genéticas interespecíficas. ....	34

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ARU	Alto rio Uruguai
CytB	Citocromo B
BOLD	Barcode of Life Data System
COI	Citocromo C oxidase subunidade I
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ESS	Tamanho efetivo da amostragem
K2P	Kimura 2 parâmetros
MCMC	Monte Carlo via Cadeias de Markov
MOTUs	Unidades taxonômicas operacionais moleculares
NJK2P	Neighbor-joining Kimura 2 parâmetros
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PEG8000	Polietilenoglicol 8000

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>18</b>
2.1	OBJETIVO GERAL .....	18
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
<b>3</b>	<b>ARTIGO CIENTÍFICO</b> .....	<b>19</b>
	<b>RESUMO</b> .....	<b>20</b>
	<b>ABSTRACT</b> .....	<b>21</b>
	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>22</b>
	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>24</b>
	AMOSTRAGEM E TAXONOMIA.....	24
	EXTRAÇÃO, AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO.....	26
	ANÁLISE DE DADOS.....	27
	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>28</b>
	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>35</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>38</b>
<b>4</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>43</b>
	<b>REFERÊNCIAS INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	<b>44</b>
	<b>APÊNDICE A – Fotos dos <i>Voucher</i></b> .....	<b>49</b>
	<b>APÊNDICE B - Lista das sequências de <i>Hypostomus</i> obtidas no BOLD.</b> .....	<b>55</b>

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A bacia do rio Uruguai possui 365.000 km<sup>2</sup> de área total e juntamente com os rios Paraná e Paraguai compõe a bacia hidrográfica do Prata, sendo destes o rio mais recente a ser formado (DI PERSIA, NEIFF, 1986), datando seu principal acidente vulcânico entre 120 à 130 milhões de anos atrás (ZANIBONI-FILHO; SCHULZ, 2003). O rio Uruguai pode ser dividido em três principais compartimentos, Alto, Médio e Baixo, com bacia de drenagem com cerca de 176.000 km<sup>2</sup> e com 48 % da área situada em território brasileiro. O Baixo rio Uruguai apresenta menos de 1 metro de queda em aproximadamente 350 quilômetros de extensão e é fortemente influenciado pela usina hidroelétrica de Salto Grande que o separa do setor Médio do rio (ZANIBONI-FILHO; SCHULZ, 2003). O Médio rio Uruguai flui por aproximadamente 800 quilômetros e apresenta queda média de apenas 0,16% em seu trecho, com a presença de corredeiras (ZANIBONI-FILHO; SCHULZ, 2003). A parte superior do rio Uruguai se caracteriza principalmente por ser um rio canalizado, chegando a registrar queda de 8 metros em apenas 7 km, possuindo trechos profundos e estreitos, com a presença de corredeiras e áreas represadas, sendo que neste trecho o rio delimita os estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, nascendo da confluência entre o rio Canoas e o rio Pelotas, na Serra Geral (DI PERSIA; NEIFF, 1986; ZANIBONI-FILHO; SCHULZ, 2003). Em razão destas características o rio Uruguai se diferencia dos seus vizinhos Paraná e Paraguai, evidenciando particularidades em sua geomorfologia em relação aos demais (DI PERSIA; NEIFF, 1986), como por exemplo, a ausência de lagoas marginais e sistemas de inundação de planícies.

Tais particularidades do ambiente podem contribuir para a ocorrência de espécies endêmicas, muitas vezes restritas a pequenas áreas ou sub-bacias. Na bacia do rio Uruguai, das 275 espécies de peixes reconhecidas, 78 espécies (28%) são endêmicas (BERTACO et al., 2016). Já seu trecho superior possui atualmente 105 espécies de peixes válidas (SILVA, 2014), com destaque para a ocorrência de espécies endêmicas, em diversas famílias, como Characidae, Poeciliidae e Loricariidae (MALABARBA et al., 2009; PAIM; ORTIZ, 2006).

Cabe ressaltar que o número de espécies de peixes da bacia do Alto rio Uruguai pode estar subestimado. Diversos estudos têm revalidado espécies e identificado um maior número de espécies de peixes em outras bacias neotropicais,

com o auxílio da ferramenta do DNA *barcoding* (PEREIRA et al., 2013; RAMIREZ; GALETTI JR., 2015). Essa metodologia se destaca como uma alternativa de identificação molecular eficiente (HERBERT et al., 2003) que utiliza uma sequência parcial padronizada do gene citocromo *C* oxidase subunidade I (COI) (MARQUES et al., 2013). Esta região do DNA é suficientemente variável e comum para a análise de espécies de peixes, possuindo cerca de 650 pares de base (pb) (HERBERT et al., 2003). A metodologia se mostra adequada não somente para identificação de indivíduos adultos, mas também em outros estágios do desenvolvimento dos espécimes, como larvas e até pequenos fragmentos de indivíduos (STOECKLE, 2003). Paralelamente a metodologia do DNA *barcoding* é utilizado o BOLD (*Barcode Of Life Data System*), sistema de banco de dados online que permite o registro das sequências geradas para consulta pública e utilização em futuros estudos (BRANDÃO et al., 2016). Estudos apresentaram resultados eficientes em peixes neotropicais (PEREIRA et al., 2013), revelando e sugerindo novas espécies de peixes nas principais bacias hidrográficas brasileiras (BENINE; MARIGUELA; OLIVEIRA, 2009; PEREIRA et al., 2011), auxiliando em problemas de delimitação de espécies (MACHADO et al., 2016), além de revelar a presença de grupos crípticos (MELO et al., 2016; NASCIMENTO et al., 2016; RIBOLLI et al., 2017).

Através do DNA *barcoding* Ramirez e Galletti (2015) identificaram alta distância genética entre indivíduos de *Laemolyta fernandesi* provenientes de diferentes bacias hidrográficas, sugerindo futuros esforços para determinar a situação da espécie. Machado et al. (2016) encontraram maior diversidade entre as espécies descritas do gênero *Salminus*, sugerindo reavaliação do gênero. Cherobim, Lazzarotto e Langeani (2016) descreveram uma nova espécie de Loricariidae denominada *Neoplecostomus paraty* na bacia do Alto Perequê-Açu, Parati, Rio de Janeiro. Em paralelo a utilização da técnica do DNA *barcoding* ocorrem análises altamente precisas para a identificação de MOTUs (unidades taxonômicas moleculares operacionais), onde se destaca a análise de *General Mixed Yule Coalescent* (GMYC) (FONTANETO et al., 2007; PONS et al., 2006). O GMYC se baseia no método de verossimilhança, identificando o ponto de transição entre os processos de ramificação específica e coalescente em árvores ultramétricas que tenham múltiplas espécies e dados derivados de um único locus, sendo interessante ressaltar a vantagem que possui de não se fazer valer de nenhuma suposição a priori de limites de espécies (BAGLEY et al., 2015). A utilização do DNA *barcoding* e

GMYC aumenta a eficácia de identificação e delimitação de espécies em diversas famílias de peixes de água doce neotropicais (ROXO et al., 2015).

A família Loricariidae pertence à ordem Siluriforme e apresenta ampla distribuição e diversidade nos ecossistemas neotropicais (CHIACHO; OLIVEIRA; MONTOYA-BURGOS, 2008; PANSONATO-ALVES et al., 2013), compreendendo atualmente 947 espécies válidas (ESCHMEYER; FONG, 2018). Os indivíduos da família apresentam o corpo recoberto por placas ósseas e boca modificada em formato de ventosa (ARMBRUSTER, 2004). Tais adaptações morfológicas dos indivíduos desta família torna possível a colonização de diversos habitats (CHIACHO; OLIVEIRA; MONTOYA-BURGOS, 2008), como corredeiras, poços e margens costeiras (GARAVELLO; GARAVELLO, 2004). Em ambientes de regime de águas lóticis os indivíduos possuem o hábito de se aderirem ao substrato rochoso (ROXO et al., 2012), e em ambiente onde o substrato é mais arenoso utilizam o aparato bucal na procura de alimento (COVAIN; FISCH-MULLER, 2007). Essas características ressaltam suas especializações, com ampla distribuição e plasticidade ambiental (MENEZES et al., 2007).

A sistemática de espécies de Loricariidae já foi analisada com utilização de filogenia molecular (MONTOYA-BURGOS et al., 1998; MONTOYA-BURGOS; WEBER; LE BAIL, 2002) e estudos morfológicos (GHAZZI, 2008; INGENITO et al., 2008; REIS; PEREIRA; ARMBRUSTER, 2006). Contudo, as espécies dessa família, popularmente conhecidas como “cascudos”, apresentam dificuldade para sua identificação, devido ao grande número de espécies e elevada variação intraespecífica caracterizada pelos seus padrões morfológicos e de pigmentação (REIS; WEBER; MALABARBA, 1990). É uma família muito complexa e de difícil consenso entre pesquisadores (RUBERT, 2011), onde o gênero *Hypostomus* se destaca como um dos mais complexos (REIS; WEBER; MALABARBA, 1990) e o mais numeroso, totalizando 132 espécies (LORSCHIEDER et al., 2015).

Devido aos padrões morfológicos e de pigmentação, as espécies do gênero *Hypostomus* se sobressaem como importante recurso econômico, com destaque para o consumo de espécies de grande porte e a utilização como espécies ornamentais com alto valor econômico (CARVALHO et al., 2010; OLIVEIRA; ISAAC, 2013; SORRENTINO, 2015), apresentando-se como um importante recurso para a aquicultura ornamental.

Segundo o catálogo de Peixes do Alto rio Uruguai (ZANIBONI-FILHO et al., 2004), o gênero *Hypostomus* possui sete espécies válidas no Alto rio Uruguai, três das quais são espécies endêmicas à bacia (*H. isbrueckeri*, *H. roseopunctatus*, *H. luteus*) e quatro são comuns a outras bacias (*H. regani*, *H. commersoni*, *H. ternetzi*, *H. uruguayensis*) (BUCKUP; MENEZES; GHAZZI, 2007; CARDOSO et al., 2012). Contudo, recente publicação sugere a alteração do nome *H. commersoni* para *H. sponiger* (CARDOSO et al., 2019).

*Hypostomus isbrueckeri* (REIS; WEBER; MALABARBA, 1990) se caracteriza por ser um peixe de porte médio, endêmico, e com distribuição entre o Alto e Médio rio Uruguai; (BUCKUP; MENEZES; GHAZZI, 2007; REIS; WEBER; MALABARBA, 1990). Na região do Alto rio Uruguai os exemplares dessa espécie podem alcançar 308 mm de comprimento e 258,1 g de peso (ZANIBONI-FILHO et al., 2004).

*Hypostomus roseopunctatus* (REIS; WEBER; MALABARBA, 1990) se distingue das outras espécies do gênero devido ao seu baixo número de dentes em cada pré-maxilar (6-16), enquanto as demais espécies possuem mais de 21 dentes (REIS; WEBER; MALABARBA, 1990). É uma espécie de médio porte com presença de manchas claras e arredondas pelo corpo, com indivíduos chegando a medir 305 mm de comprimento e a pesar 329 g (ZANIBONI-FILHO et al., 2004). Sua distribuição se restringe a bacia do rio Uruguai (BUCKUP; MENEZES; GHAZZI, 2007).

Indivíduos adultos de *H. luteus* (GODOY, 1980), se distinguem de outras espécies do gênero devido à forte coloração alaranjada em todo o seu corpo, que quando jovem normalmente se apresenta localizada em suas nadadeiras caudal e dorsal, e pintas alaranjadas pelo corpo (REIS; WEBER; MALABARBA, 1990). Podem chegar até 405 mm de comprimento e 762 g de peso (ZANIBONI-FILHO et al., 2004), sendo endêmico do Alto rio Uruguai (BUCKUP; MENEZES; GHAZZI, 2007).

*Hypostomus regani* (IHERING, 1905), caracteriza-se pela coloração escura com manchas arredondadas alaranjadas em todo o seu corpo, diferenciando-se de outras espécies do gênero *Hypostomus* do rio Uruguai pela maior quantidade de dentes (57-111) (REIS; WEBER; MALABARBA, 1990). São espécimes de médio porte, chegando a medir 397 mm de comprimento e pesar 681,9 g de peso (ZANIBONI-FILHO et al., 2004). Sua distribuição engloba as bacias Uruguai, Paraná e Paraguai (BUCKUP; MENEZES; GHAZZI, 2007).

*Hypostomus spiniger* (HENSEL, 1870) foi recentemente revalidada (era descrita como *H. commersoni*) para a bacia do rio Uruguai e Lagoa dos Patos (CARDOSO et al., 2019). *H. spiniger* pode ser diferente de *H. commersoni* por ter grandes cristas laterais com odontodes inclinados posteriormente), forte cristas laterais no pedúnculo caudal, cordilheira lateral média. Adulto de *H. spiniger* (mais de 120mm SL) pode ser distinto de adulto de *H. commersoni* por ter uma crista muito fraca na placa temporal (detalhes ver CARDOSO et al., 2019)

*Hypostomus ternetzi* (BOULENGER, 1895) se caracteriza pela coloração marrom homogênea por toda sua região dorsal e sem a presença de pintas (REIS; WEBER; MALABARBA, 1990). Espécie de médio porte com indivíduos alcançando 343 mm de comprimento e 497 g de peso (ZANIBONI-FILHO et al., 2004). Distribuiu-se pelas bacias do médio Paraná, Paraguai e Uruguai (BUCKUP; MENEZES; GHAZZI, 2007).

*Hypostomus uruguayensis* (REIS; WEBER; MALABARBA, 1990) é uma espécie de porte médio com manchas bem definidas em todo o corpo e nadadeira caudal lunada, chegando a medir 345 mm de comprimento e pesar 350 g (ZANIBONI-FILHO et al., 2004). Distingue-se das outras espécies do gênero existente no rio Uruguai por sua coloração mais clara e pintas escuras (REIS; WEBER; MALABARBA, 1990). Sua distribuição se restringe às bacias Uruguai e Paraguai (CARDOSO et al., 2012).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Identificar e delimitar as espécies do gênero *Hypostomus* da bacia do Alto rio Uruguai através de abordagens moleculares.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a funcionalidade do DNA *barcoding* em separar as espécies de *Hypostomus* spp. da bacia do Alto rio Uruguai;
- Delimitar as espécies do gênero *Hypostomus* do Alto rio Uruguai através do DNA *barcoding*.

### 3 ARTIGO CIENTÍFICO

#### **Delimitação de espécies do gênero *Hypostomus* da bacia do Alto rio Uruguai através de abordagens moleculares.**

Lucas Gabriel Poerner Sorrentino<sup>1</sup>, Josiane Ribolli<sup>1</sup> & Evoy Zaniboni Filho<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce - Universidade Federal de Santa Catarina / CCA/ Departamento de Aquicultura Rodovia SC 406, nº 3532 – Lagoa do Peri - Florianópolis – Santa Catarina – Brasil – 88066-000. Email <sup>1</sup>lpsorrentino@gmail.com

## RESUMO

A família Loricariidae se destaca como importante recurso pesqueiro na região do Alto rio Uruguai. O gênero *Hypostomus* é o mais numeroso e um dos mais complexos da família Loricariidae, onde suas espécies apresentam características morfológicas similares, corroborando a dificuldade em sua identificação. O presente estudo teve como objetivo inferir, através da técnica do DNA *barcoding*, o número de Unidades Taxonômicas Operacionais Moleculares (MOTU) e sua variação intra e interespecíficas entre as espécies do gênero *Hypostomus* da bacia do Alto rio Uruguai. Foram analisadas sequências parciais do gene COI de 35 indivíduos do Alto rio Uruguai, identificados morfológicamente como *Hypostomus spiniger*, *Hypostomus isbrueckeri*, *Hypostomus roseopunctatus*, *Hypostomus luteus* e *Hypostomus uruguayensis*. Adicionalmente utilizamos 52 sequências de espécies do gênero *Hypostomus* obtidas do BOLD (Barcode of Life Data System). A árvore bayesiana revelou agrupamento polifilético entre as espécies do Alto rio Uruguai, onde *H. spiniger* se separa dos demais. A análise GMYC revelou cinco MOTUs, indicando subdivisão de *H. isbrueckeri* e o agrupamento dos indivíduos previamente identificados como *H. roseopunctatus* e *H. luteus*. Os exemplares identificados morfológicamente como *H. regani* foram agrupados na MOTU *H. roseopunctatus/H. luteus*, levantando uma dúvida sobre a existência da espécie na bacia. Os indivíduos de *H. uruguayensis* agruparam-se em apenas uma MOTU, corroborando a delimitação taxonômica. As distâncias interespecíficas médias variaram de 0,68 a 8,24%, e as distâncias intraespecíficas médias variaram de 0,0 a 0,58%, não havendo sobreposição entre as divergências inter e intraespecíficas. Os resultados do presente estudo indicam a necessidade de ampliar a amostragem e utilizar outros marcadores moleculares para elucidar o complexo *H. luteus/H. roseopunctatus* e a subdivisão de *H. isbrueckeri*. A correta identificação das espécies auxilia o manejo e conservação dessas espécies que se destacam pelo seu potencial para pesca e aquariorfilia.

**Palavras-chave:** Recurso pesqueiro. DNA mitocondrial. Cascudos. GMYC. MOTUs. Loricariidae.

## ABSTRACT

The Loricariidae family stands out as an important fishing resource in the Upper Uruguay River region. The genus *Hypostomus* is the most numerous and one of the most complex in the Loricariidae family, where its species have similar morphological characteristics, corroborating the difficulty in their identification. The present study aimed to infer, through the DNA *barcoding* technique, the number of Molecular Operational Taxonomic Units (MOTU) and their intra and interspecific variation among the *Hypostomus* species of the Upper Uruguay River basin. Partial sequences of the COI gene from 35 individuals from the Upper Uruguay River, identified morphologically as *Hypostomus spiniger*, *Hypostomus isbrueckeri*, *Hypostomus roseopunctatus*, *Hypostomus luteus* and *Hypostomus uruguayensis*, were analyzed. Additionally, we used 52 sequences of *Hypostomus* species obtained from the Barcode of Life Data System (BOLD). The Bayesian tree revealed polyphyletic grouping among the species of the Upper Uruguay River, where *H. spiniger* separates from the others. GMYC analysis revealed five MOTUs, indicating subdivision of *H. isbrueckeri* and grouping of previously identified individuals as *H. roseopunctatus* and *H. luteus*. The morphologically identified specimens as *H. regani* were grouped in MOTU *H. roseopunctatus* / *H. luteus*, raising a doubt about the existence of the species in the basin. *Hypostomus uruguayensis* individuals were grouped in only one MOTU, corroborating the taxonomic delimitation. The average interspecific distances ranged from 0.68 to 8.24%, and the average intraspecific distances ranged from 0.0 to 0.58%, with no overlap between inter and intraspecific divergences. The results of the present study indicate the need to extend sampling and use other molecular markers to elucidate the *H. luteus* / *H. roseopunctatus* complex and the subdivision of *H. isbrueckeri*. The correct identification of species helps the management and conservation of these species that stand out for their potential for fishing and aquarium.

**Keywords:** Fishing resource. Mitochondrial DNA. Armored catfish. GMYC. MOTUs. Loricariidae.

## INTRODUÇÃO

O rio Uruguai possui 365.00 km<sup>2</sup> de área total, onde cerca de 176.000 (48 %) estão situados em território brasileiro (ZANIBONI-FILHO; SCHULZ, 2003). Juntamente com os rios Paraná e Paraguai formam a bacia hidrográfica do Prata, sendo destes o rio mais recente a ser formado (DI PERSIA; NEIFF, 1986). O rio Uruguai pode ser dividido em três compartimentos, Alto, Médio e Baixo rio Uruguai, onde a sua porção superior, foco do presente estudo, caracteriza-se por ser um trecho canalizado, contendo áreas profundas e estreitas, com a presença de corredeiras e ambientes represados (DI PERSIA; NEIFF, 1986; ZANIBONI-FILHO; SCHULZ, 2003). Devido a tais características, o rio Uruguai se diferencia dos rios Paraná e Paraguai, evidenciando inclusive particularidades em sua geomorfologia (DI PERSIA; NEIFF, 1986) como, por exemplo, a ausência de lagoas marginais e sistemas de inundação de planícies. A presença destas peculiaridades ambientais pode colaborar para a ocorrência de espécies endêmicas, onde na bacia do rio Uruguai, das 275 espécies de peixes válidas, 78 (28%) são endêmicas (BERTACO et al., 2016). O Alto rio Uruguai possui 105 espécies de peixes reconhecidas (SILVA, 2014), com ocorrência de espécies endêmicas em diversas famílias, como Characidae, Poeciliidae e Loricariidae (MALABARBA et al., 2009; PAIM; ORTIZ, 2006), porém este número, assim como as demais bacias neotropicais, pode estar subestimado.

Diversos estudos têm identificado a presença de novas espécies de peixes, e além de detectar espécies crípticas nas principais bacias hidrográficas brasileiras (NASCIMENTO et al., 2016; PEREIRA et al., 2011; PUGEDO et al., 2016; ROXO et al., 2015; SALES et al., 2018), com o auxílio da ferramenta do DNA barcode (PEREIRA et al., 2013). Ramirez e Galletti (2015) encontraram valores de distâncias genéticas intra e inter-MOTU elevados em espécies do gênero *Laemolyta* provenientes de diferentes bacias hidrográficas, indicando a necessidade de novos estudos para melhor identificar a situação destas espécies. Machado et al. (2016) demonstraram diversidade intrínseca a espécies do gênero *Salminus*. A nova espécie denominada *Neoplecostomus Paraty* foi descoberta no rio Perequê-Açu e em bacias do entorno (CHEROBIM; LAZZAROTTO; LANGEANI, 2016). Em conjunto à aplicação da técnica do DNA *barcoding*, algumas análises vêm se destacando na identificação de MOTUs (Unidades taxonômicas moleculares operacionais), como o

caso da análise de *General Mixed Yule Coalecent* (GMYC) (FONTANETO et al., 2007; PONS et al., 2006). O GMYC se baseia no método de verossimilhança e árvores ultramétricas que tenham múltiplas espécies, já apresentando dados que comprovam sua eficácia na avaliação de peixes neotropicais (ROXO et al., 2015), incluindo loricarídeos (SOUZA et al., 2018).

Os cascudos, como são popularmente conhecidas as espécies da família Loricariidae, apresentam dificuldades para identificação, devido ao elevado número de espécies (947) (ESCHMEYER; FONG, 2017) e seus padrões morfológicos e de pigmentação (REIS; WEBER; MALABARBA, 1990). As diversas especializações morfológicas, ampla distribuição e plasticidade ambiental que a família apresenta (MENEZES et al., 2007), corrobora a grande dificuldade de identificação de suas espécies. Estudos morfológicos (GHAZZI, 2008; INGENITO et al., 2008; REIS; PEREIRA; ARMBRUSTER, 2006) e com a utilização de filogenia molecular (MONTROYA-BURGOS et al., 1998; MONTROYA-BURGOS; WEBER; LE BAIL, 2002) são fundamentais para o melhor entendimento da sistemática da família.

O gênero *Hypostomus* se destaca dentre a família Loricariidae como o mais numeroso (LORSCHIEDER et al., 2015) e um dos mais complexos (REIS; WEBER; MALABARBA, 1990). Os padrões de coloração e pigmentação das espécies do gênero *Hypostomus* são características procuradas pelo mercado de peixes ornamentais (CARVALHO et al., 2010; OLIVEIRA; ISAAC, 2013; SORRENTINO, 2015), destacando a sua utilização como recurso pesqueiro, tanto destinado ao consumo como para a aquicultura ornamental. Segundo Zaniboni-Filho et al. (2004), o gênero *Hypostomus* possui sete espécies válidas na bacia do Alto rio Uruguai, sendo três endêmicas (*H. isbrueckeri*, *H. roseopunctatus*, *H. luteus*) e outras quatro comuns a outras bacias (*H. regani*, *H. commersoni*, *H. ternetzi* e *H. uruguayensis*) (BUCKUP; MENEZES; GHAZZI, 2007; CARDOSO et al., 2012). Visto a complexidade do gênero e as particularidades da região do Alto rio Uruguai, o número de espécies provenientes do Alto rio Uruguai pode estar sendo subestimado.

Tendo em vista a importância destas espécies, tanto do ponto de vista ecológico como econômico, a correta identificação é fundamental para o desenvolvimento da atividade da aquarofilia e a adoção de práticas sustentáveis para o manejo e a conservação desse grupo como recurso pesqueiro. Para o melhor entendimento das espécies do gênero *Hypostomus* da bacia do Alto rio Uruguai

objetivou-se inferir, através da técnica do DNA *barcode*, o número de MOTUs e sua variação intra e interespecíficas.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **AMOSTRAGEM E TAXONOMIA**

A amostragem dos exemplares de *Hypostomus* foi realizada em diversos pontos de coleta no trecho do Alto rio Uruguai, totalizando 35 indivíduos. Segundo identificação morfológica, os indivíduos foram classificados em cinco espécies (*H. spiniger*, *H. isbrueckeri*, *H. reseopunctatus*, *H. uruguayensis* e *H. luteus*). Após a identificação em campo, um fragmento de nadadeira foi retirado de cada exemplar e acondicionado em microtubos de 2,0 ml contendo etanol 96% e estocados em freezer a -20°C. Os exemplares foram fotografados (Apêndice A); e os *voucher* de todas as espécies previamente identificadas foram utilizados para identificação taxonômica e registro na coleção ictiológica do Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Londrina (MUZEL). A identificação taxonômica (SHIBATTA, 2018) foi conduzida de acordo com Reis, Weber e Malabarba (1990) (Tabela 1).

Tabela 1 - Informações dos indivíduos do gênero *Hypostomus* amostradas no Alto rio Uruguai.

<b>Indivíduo</b>	<b>Rio</b>	<b>Localização (Latitude e Longitude)</b>
3384	Rio Uruguai	27° 31' 37.0"S/51° 47' 06.5"W
3589	Rio Uruguai	27° 17' 09.9" S/52° 20' 26.6" W
3642	Rio Uruguai	27° 31' 14.2" S/51° 46' 40.3" W
3657	Rio Uruguai	27° 37' 45.2"S/51° 23' 54.5"W
3680	Rio Canoas	27° 35' 59.7" S/51° 23' 28.9" W
3945	Rio Uruguai	27° 37' 45.2"S/51° 23' 54.5"W
3476	Rio Ligeiro	27° 32' 16.4" S/51° 51' 24.2" W
3540	Rio das Antas	27° 06' 10" S/53° 24' 07" W
3541	Rio das Antas	27° 06' 10" S/53° 24' 07" W
3562	Rio Uruguai	27° 30' 12.2" S/51° 54' 05.0" W
3661	Rio Uruguai	27° 37' 45.2"S/51° 23' 54.5"W
3923	Rio Uruguai	27° 31' 37.0"S/51° 47' 06.5"W
4003	Rio Ligeiro	27° 32' 16.4" S/51° 51' 24.2" W
3543	Rio das Antas	27° 06' 10" S/53° 24' 07" W
3560	Rio das Antas	27° 06' 10" S/53° 24' 07" W
3561	Rio Uruguai	27° 30' 12.2" S/51° 54' 05.0" W
3565	Rio Uruguai	27° 30' 12.2" S/51° 54' 05.0" W
3993	Rio das Antas	27° 06' 10" S/53° 24' 07" W
3566	Rio Uruguai	27° 30' 12.2" S/51° 54' 05.0" W
3567	Rio Uruguai	27° 30' 12.2" S/51° 54' 05.0" W
3568	Rio Uruguai	27° 30' 12.2" S/51° 54' 05.0" W
4073	Rio Uruguai	27° 30' 12.2" S/51° 54' 05.0" W
4105	Rio Uruguai	27° 30' 12.2" S/51° 54' 05.0" W
3545	Rio das Antas	27° 06' 10" S/53° 24' 07" W
4032	Rio Uruguai	27° 18' 32.5" S/52° 06' 05.0" W
4006	Rio Uruguai	27° 30' 12.2" S/51° 54' 05.0" W
4088	Rio Forquilha	27° 36' 50.3"S/51° 45' 17.4"W
4089	Rio Forquilha	27° 36' 50.3"S/51° 45' 17.4"W
4090	Rio Forquilha	27° 36' 50.3"S/51° 45' 17.4"W
4091	Rio Forquilha	27° 36' 50.3"S/51° 45' 17.4"W
4092	Rio Forquilha	27° 36' 50.3"S/51° 45' 17.4"W
4093	Rio Forquilha	27° 36' 50.3"S/51° 45' 17.4"W
4094	Rio Forquilha	27° 36' 50.3"S/51° 45' 17.4"W
4095	Rio Forquilha	27° 36' 50.3"S/51° 45' 17.4"W
4096	Rio Forquilha	27° 36' 50.3"S/51° 45' 17.4"W

Fonte: Elaborada pelo autor (2019).

## EXTRAÇÃO, AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO

O DNA genômico foi extraído do tecido das nadadeiras, por meio do protocolo de precipitação salina descrito por Aljanabi e Martinez (1997). As sequências parciais do gene mitocondrial COI foram amplificadas com a utilização dos *primers* Fish-F1 (5'TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC3') e Fish-R1 (5'TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA3') (Ward et al., 2005). A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) continha um volume final de 25 µl, com de 15,6 µl de água ultrapura, 2,5 µl tampão 10x, 4 µl dNTPs mix (1,25mM), 1 µl DNA (50ng/µl), 0,7 µl MgCl<sub>2</sub> (50mM), 0,5 µl de cada iniciador (*Forward* e *Reverse*) (10mM) e 0,2 µl de Taq polimerase (Invitrogen). A reação de PCR consistiu nas seguintes etapas: desnaturação inicial em 94°C (2 min), 35 ciclos de desnaturação a 94°C (30 s), temperatura de anelamento a 54°C (30 s) e extensão em 72°C (1 min) e resfriamento a 7°C, finalizando com extensão final em 72°C (10 min) de acordo com o protocolo de Bellafronte et al. (2013). Os produtos da PCR foram visualizados em gel de agarose 1% e purificados com PEG 20% (LIS, 1980). As reações para o sequenciamento foram realizadas utilizando BigDye™ Terminator V 3.1 para uma nova amplificação, onde ambas as reações (*Forward* e *Reverse*) foram preparadas com um volume final de 20 µl, contendo 4,0 µl do *primer Forward* ou *Reverse* (0,8 pmol/µl), 1,0 µl de Big Dye, 3,0 µl de tampão 5x, 1,0 µl do produto amplificado da primeira PCR (200 ng), e 11 µl de água Milli-Q. Essa segunda reação de PCR consistiu em: desnaturação a 96 °C por 2 minutos, seguidos de 35 ciclos de desnaturação a 96 °C por 15 segundos, anelamento a 54 °C por 15 segundos, extensão a 60 °C por 4 minutos, resfriamento a 7°C. O último passo, anterior ao sequenciamento, foi a precipitação realizada com etanol, acetato/EDTA, 10 µl de formamida, sendo desnaturado por 5 minutos a 95 °C e exposto ao gelo por 3 minutos. O sequenciamento foi realizado no equipamento Applied Biosystems 3500xL e os fragmentos foram visualizados no *software* Sequencing Analysis v5.3.1.

## ANÁLISE DE DADOS

As 35 sequências *Forward* e *Reverse* foram visualizadas e editadas através do *software* BIOEDIT v7.0.5.3 (HALL, 1999), gerando assim uma sequência consenso. Posteriormente foram adicionadas 101 sequências do gene COI de espécies do gênero *Hypostomus* disponíveis no banco de dados BOLD, que apresentassem 465 pb no mínimo, e um grupo externo, *Corydoras nattereri* (código BOLD FPSR082-09).

Foi gerada uma árvore ultramétrica das 137 sequências utilizando o método Inferência Bayesiana (IB) implementado no *software* BEAST v.2.4.8 (BOUCKAERT et al., 2014). Utilizamos o modelo de substituição nucleotídica BIC (baseado no critério de informação Bayesiana) inferido no *software* JModelTest (KUMAR; STECHER; TAMURA, 2016) (HKY+I+G), relógio molecular relaxado com uma distribuição lognormal, e o modelo de especiação birth-death, seguindo metodologia de Costa-Silva et al. (2015). Realizamos três corridas independentes das cadeias de Markov com 10 milhões de gerações, salvos a cada 10000 gerações, e 30% de burn-in. O programa LogCombiner v.1.8 (DRUMMOND et al., 2012) foi utilizado para combinar os arquivos .tree e .log. A mixagem apropriada dos dados foi verificada com valores do tamanho efetivo de amostragem (ESS) acima de 200 no *software* Tracer v1.5 (RAMBAUT; DRUMMOND, 2009). A árvore foi sumarizada com o programa TreeAnnotator v.1.8 (DRUMMOND et al., 2012) e posteriormente visualizada no *software* FigTree v.1.4 (RAMBAUT, 2014). Após análise da árvore gerada, sequências oriundas do BOLD onde os clados das espécies correspondentes apresentavam incongruências e sobreposições, gerando dúvidas, foram retiradas. Para as análises posteriores, apenas as sequências das seguintes espécies foram mantidas: *H. aurogutattus*, *H. luetkeni*, *S. strigaticeps*, *H. commersoni*, *H. affinis*, *H. brevis*, *H. aspidolepis* e *H. topave*, totalizando 52 indivíduos distribuídos em oito espécies (Detalhes no apêndice B)

O modelo Generalized Mixed Yule Coalescent (GMYC) (PONS et al., 2006) foi utilizado para delimitar as MOTUs (Unidades Taxonômicas Operacionais Moleculares), utilizando as sequências do gênero *Hypostomus* do presente estudo e as 54 sequências citadas acima, através do pacote SPLITS (*SPecies' Limits by Threshold Statistics*) (MONAGHAN et al., 2009) no *software* R, através do método *single threshold* e parâmetro de intervalo padrão (intervalo = c (1,10)). O GMYC se

baseia em uma função de verossimilhança, se relacionando com processos evolutivos, ideal em estudos relacionados a questões de delimitação de espécies (MACHADO et al., 2016).

Para isso foi gerada uma nova árvore ultramétrica usando o método Inferência Bayesiana (IB) através do BEAST v.2.4.8. Utilizamos o modelo de substituição nucleotídica BIC (baseado no critério de informação Bayesiana) inferido no *software* JModelTest (KUMAR; STECHER; TAMURA, 2016) (HKY + G), relógio molecular relaxado com uma distribuição lognormal, e o modelo de especiação birth-death, seguindo metodologia de Costa-Silva et al. (2015). As corridas das cadeias de Markov e as demais análises foram iguais a metodologia descrita anteriormente.

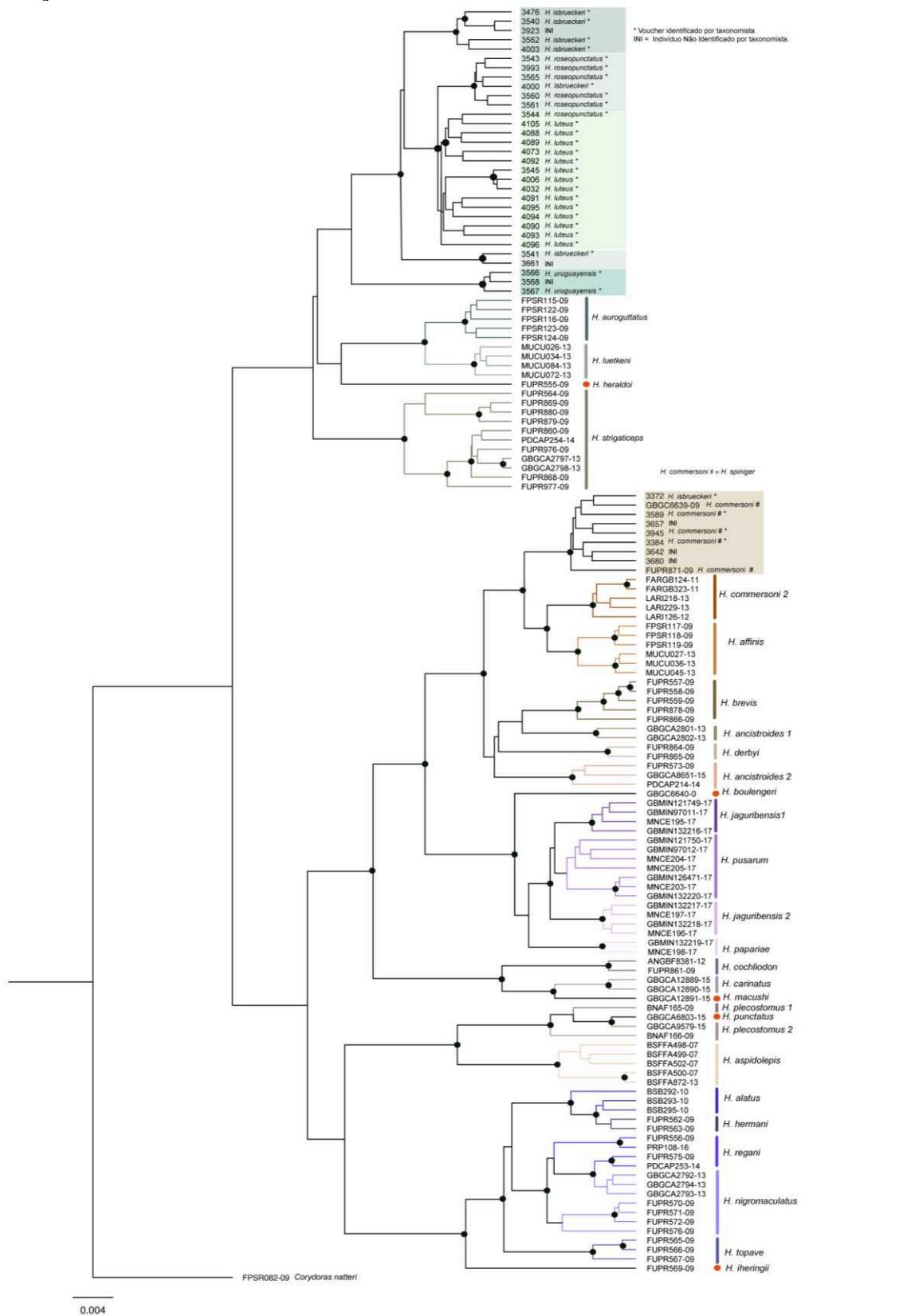
Após a definição das MOTUs, o *software* Mega 7.0.26 (KUMAR, STECHER, TAMURA, 2016) foi utilizado para calcular as distâncias genéticas intra e inter-MOTUs, utilizando o modelo Kimura 2-Parâmetros (K2P), através do método *bootstrap* com cinco mil replicações.

## RESULTADOS

A árvore filogenética de inferência bayesiana gerada pelo gene COI, com todas as sequências disponíveis no BOLD (Figura 1) sugere que muitas espécies estão com incongruências e precisam ser analisadas.

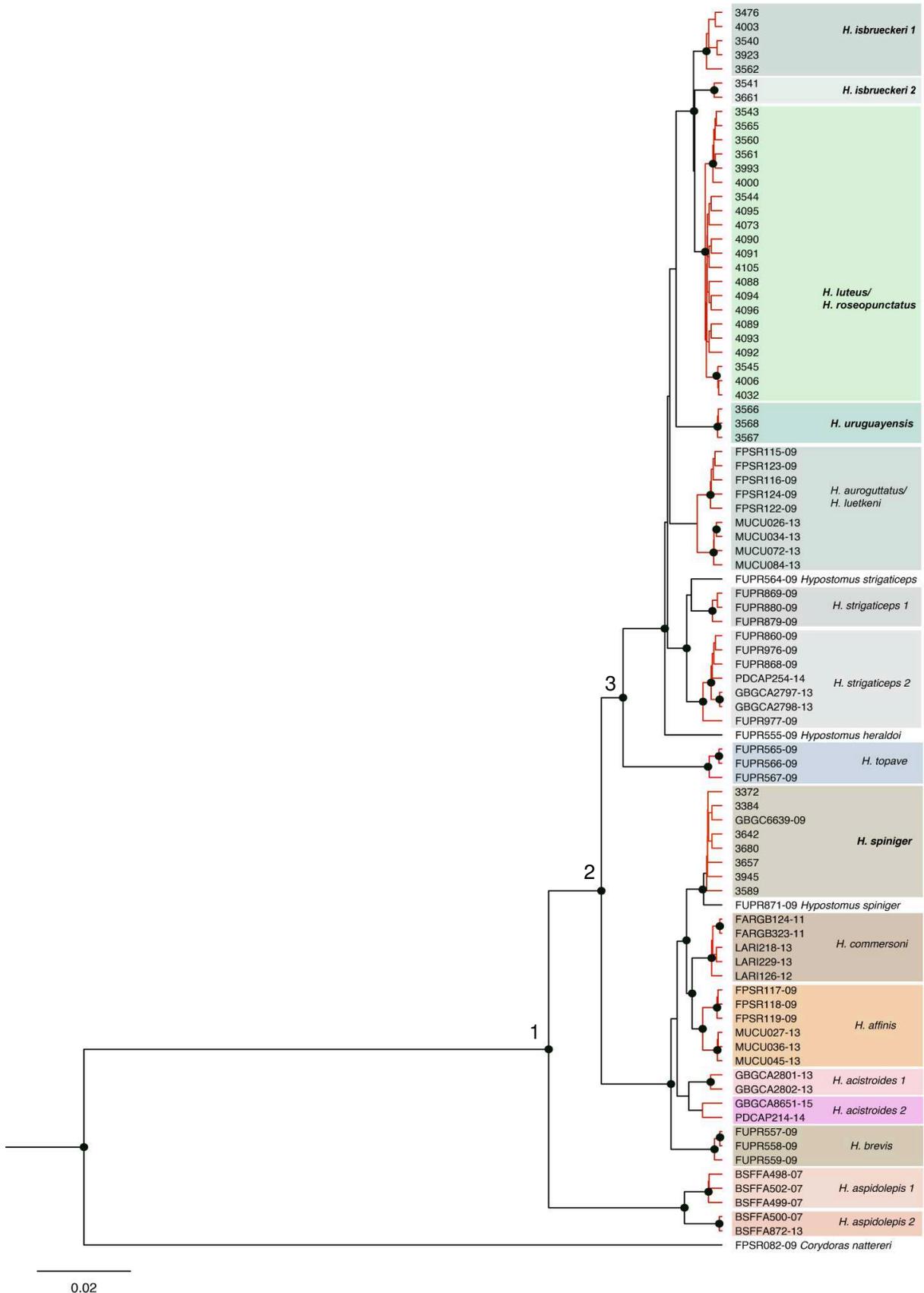
Deste modo, as análises foram refeitas excluindo as espécies que estão sobrepostas e com indicação de incertezas taxonômicas. A análise GMYC através da nova árvore filogenética de inferência bayesiana que foi gerada a partir do conjunto de dados com 87 sequências (35 do presente estudo e 52 obtidas do BOLD) revelou a presença de 16 MOTUs (Figura 2).

Figura 1 - Árvore de inferência Bayesiana 101 seqüências de *Hypostomus* obtidas do BOLD, 35 seqüências do presente estudo e o grupo externo. Os círculos pretos nas ramificações do nó representam uma probabilidade posterior maior que 70%. A figura foi dividida para melhor visualização.



Fonte: Elaborada pelo autor (2019).

Figura 2 - Árvore de inferência Bayesiana 87 sequências de *Hypostomus*. Os círculos pretos nas ramificações do nó representam uma probabilidade posterior maior que 80%. Os ramos em vermelho indicam as MOTUs identificadas pela análise GMYC.



Fonte: Elaborada pelo autor (2019).

Dentre as 52 sequências obtidas do BOLD, para as espécies previamente descritas como *H. strigaticeps* a análise GMYC revelou uma subdivisão, aqui chamada de *H. strigaticeps* 1 e *H. strigaticeps* 2 (Figura 2). O mesmo foi observado para as espécies *H. ancistroides* e *H. aspidolepis*.

Dentre os indivíduos do Alto rio Uruguai, a análise GMYC revelou a presença de cinco MOTUs (Figura 2). Considerando a identificação taxonômica dos *voucher* (Tabela 2), as unidades moleculares foram denominadas aqui como: *H. isbrueckeri* 1, *H. isbrueckeri* 2, *H. luteus/H. roseopunctatus*, *H. uruguayensis*, *H. spiniger*. Os exemplares identificados em campo como *H. regani* e *H. ternetzi* não foram confirmados taxonomicamente.

A árvore de inferência Bayesiana (Figura 2) revelou três principais clados monofiléticos suportados estatisticamente (>80 %). O nó 1 separa dois clados, um formado pelas MOTUs *H. aspidolepis* 1 e *H. aspidolepis* 2 dos demais indivíduos. O nó 2 separa os dois principais clados, um formado pelas MOTUs *H. spiniger*, onde estão os indivíduos do Alto rio Uruguai, *H. commersoni*, *H. affinis*, *H. ancistroides* 1, *H. ancistroides* 2 e *H. brevis*.

O nó 3 separa os indivíduos *H. topave* de um clado formado por 7 MOTUs: *H. isbrueckeri* 1, *H. isbrueckeri* 2, *H. luteus/H. roseopunctatus*, *H. uruguayensis*, *H. auroguttatus/H. luetkeni*, *H. strigaticeps* 1 e *H. strigaticeps* 2.

Tabela 2 - Informações das espécies do gênero *Hypostomus* amostradas no Alto rio Uruguai identificadas morfologicamente. CA = Código da Amostra, ID = identificação. \*ID Molecular segundo as análises de DNA barcoding do presente trabalho. INI = Indivíduo não identificado por Taxonomista. *H. commersoni* = *H. spiniger*.

CA	ID campo	ID Molecular	ID Taxonômica	Mzuel
3476	<i>H. isbrueckeri</i>		<i>H. isbrueckeri</i>	19474
3540	<i>H. isbrueckeri</i>		<i>H. isbrueckeri</i>	19450
3562	<i>H. isbrueckeri</i>	<i>H. isbrueckeri</i> 1	<i>H. isbrueckeri</i>	19457
4003	<i>H. ternetzi</i>		<i>H. isbrueckeri</i>	19463
3923	<i>H. isbrueckeri</i>		INI	
3541	<i>H. isbrueckeri</i>		<i>H. isbrueckeri</i>	19451
3661	<i>H. isbrueckeri</i>	<i>H. isbrueckeri</i> 2	INI	
3543	<i>H. roseopunctatus</i>		<i>H. roseopunctatus</i>	19452
3560	<i>H. roseopunctatus</i>		<i>H. roseopunctatus</i>	19455
3561	<i>H. roseopunctatus</i>		<i>H. roseopunctatus</i>	19456
3565	<i>H. roseopunctatus</i>		<i>H. roseopunctatus</i>	19459
3993	<i>H. roseopunctatus</i>		<i>H. roseopunctatus</i>	19461
4000	<i>H. uruguayensis</i>		<i>H. isbrueckeri</i>	19462
3545	<i>H. roseopunctatus</i>		<i>H. luteus</i>	19454
4006	<i>H. ternetzi</i>		<i>H. luteus</i>	19464
4032	<i>H. roseopunctatus</i>		<i>H. luteus</i>	19466
4090	<i>H. luteus</i>		<i>H. luteus</i>	19572
4091	<i>H. luteus</i>	<i>H. luteus/H. roseopunctatus</i>	<i>H. luteus</i>	19573
4093	<i>H. luteus</i>		<i>H. luteus</i>	19575
4094	<i>H. luteus</i>		<i>H. luteus</i>	19576
4095	<i>H. luteus</i>		<i>H. luteus</i>	19577
4096	<i>H. luteus</i>		<i>H. luteus</i>	19578
3544	<i>H. roseopunctatus</i>		<i>H. roseopunctatus</i>	19453
4105	<i>H. regani</i>		<i>H. luteus</i>	19489
4088	<i>H. luteus</i>		<i>H. luteus</i>	19570
4089	<i>H. luteus</i>		<i>H. luteus</i>	19571
4073	<i>H. regani</i>		<i>H. luteus</i>	19486
4092	<i>H. luteus</i>		<i>H. luteus</i>	19574
3566	<i>H. uruguayensis</i>		<i>H. uruguayensis</i>	19483
3567	<i>H. uruguayensis</i>	<i>H. uruguayensis</i>	INI	
3568	<i>H. uruguayensis</i>		<i>H. uruguayensis</i>	19484
3372	<i>H. isbrueckeri</i>		<i>H. isbrueckeri</i>	19445
3384	<i>H. commersoni</i>		<i>H. commersoni</i>	19473
3589	<i>H. commersoni</i>		<i>H. commersoni</i>	19481
3945	<i>H. isbrueckeri</i>	<i>H. spiniger</i>	<i>H. commersoni</i>	19460
3657	<i>H. commersoni</i>		INI	
3642	<i>H. commersoni</i>		INI	
3680	<i>H. commersoni</i>		INI	

Fonte: Elaborada pelo autor (2019).

As distâncias intra e interespecíficas médias, calculadas a partir da definição das unidades moleculares (MOTUs) pela análise GMYC, são apresentadas na Tabela 3. O maior valor intraespecífico encontrado foi para indivíduos da MOTU *H. acistroides* 2, com uma divergência de 0,58%. As MOTUs *H. aspidolepis* 2, *H. spiniger* e *H. uruguayensis* apresentaram valores de 0,0% de divergência intraespecífica.

Para as divergências interespecíficas, os valores médios variaram de 0,68% (*H. isbrueckeri* 1 vs. *H. isbrueckeri* 2) a 8,25% (*H. aspidolepis* 2 vs *H. commersoni*). Considerando todas as 12 comparações par-a-par entre as 16 MOTUs identificadas pelo GMYC (Figura 2), 27 comparações apresentaram valores de divergência interespecíficas inferiores a 2% (Tabela 3). Contudo, o menor valor interespecífico (0,68) foi maior que o maior valor intraespecífico (0,58%), demonstrando consistência na delimitação das MOTUs pelo método GMYC.

Na divergência entre as espécies subdivididas em diferentes MOTUs pela análise GMYC, todas apresentaram valores interespecíficos inferiores a 1%. As MOTUs *H. isbrueckeri* 1 vs. *H. isbrueckeri* 2 apresentaram o menor valor interespecífico (0,68%), *H. aspidolepis* 1 vs. *H. aspidolepis* 2 apresentaram valores de divergência interespecíficas de 1,7%, *H. strigaticeps* 1 vs. *H. strigaticeps* 2 divergiram em 0,81%, e *H. ancistroides* 1 vs. *H. ancistroides* apresentaram divergência de 0,87%.

Dentre as amostras de *Hypostomus* previamente identificadas como sendo espécies distintas (*H. luteus* e *H. roseopuncatus*), o valor intraespecífico da MOTU *H. luteus/H. roseopuncatus* foi baixo (0,34%).

Tabela 3 - Valores médios das distâncias genéticas baseada em Kimura-2-parameter (K2P) das MOTUs obtidas através do GMYC para indivíduos do gênero *Hypostomus*. Valores em negrito na diagonal principal referentes às distâncias genéticas intraespecífica. Valores abaixo da diagonal são referentes às distâncias genéticas interespecíficas.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1 <i>H. aspidolepis_1</i>	<b>0,26</b>															
2 <i>H. aspidolepis_2</i>	1,7	<b>0,0</b>														
3 <i>H. strigiceps_2</i>	7,11	7,83	<b>0,46</b>													
4 <i>H. strigiceps_1</i>	7,32	7,76	0,81	<b>0,26</b>												
5 <i>H. affinis</i>	6,88	7,83	5,18	5,17	<b>0,47</b>											
6 <i>H. auroguttatus/H. luetkeni</i>	6,65	7,37	1,72	1,56	4,92	<b>0,34</b>										
7 <i>H. brevis</i>	6,98	7,78	5,94	5,97	2,49	5,5	<b>0,13</b>									
8 <i>H. topave</i>	7,04	7,55	3,89	3,92	4,79	3,59	4,87	<b>0,26</b>								
9 <i>H. acistroides 2</i>	6,79	7,63	5,08	5,08	1,17	4,61	2,2	4,59	<b>0,58</b>							
10 <i>H. acistroides 1</i>	6,9	7,85	5,08	5,18	1,36	4,72	1,9	4,7	0,87	<b>0,39</b>						
11 <i>H. commersoni</i>	7,74	8,25	5,3	5,12	1,52	5,26	2,66	4,65	1,82	1,92	<b>0,27</b>					
12 <i>H. spiniger</i>	7,12	8,07	4,97	4,97	0,78	4,46	2,09	4,48	0,87	0,97	1,33	<b>0,0</b>				
13 <i>H. isbrueckeri 1</i>	7,55	8,19	1,86	1,69	5,24	1,43	5,62	3,7	4,94	4,83	5,51	4,83	<b>0,35</b>			
14 <i>H. isbrueckeri 2</i>	7,43	8,16	1,76	1,59	4,5	1,33	4,87	3,68	4,2	4,1	4,85	4,09	0,68	<b>0,19</b>		
15 <i>H. uruguayensis</i>	7,53	7,82	2,86	2,29	5,87	2,02	6,25	4,4	5,57	5,46	6,23	5,45	2,16	2,06	<b>0,0</b>	
16 <i>H. luteus/H. roseop</i>	6,78	7,5	1,94	1,78	5,13	1,51	5,71	3,87	5,03	4,92	5,68	4,92	0,86	0,76	2,25	<b>0,17</b>

Fonte: Elaborada pelo autor (2019).

## DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo revelam grande complexidade entre as análises morfológicas e as análises moleculares, corroborando a complexidade já descrita para o gênero (REIS; WEBER; MALABARBA, 1990). Os resultados indicam polifilia entre as espécies do gênero *Hypostomus*, provenientes do Alto rio Uruguai, onde *H. spiniger* se agrupa em clado diferente das demais espécies, assim como já encontrado para indivíduos da subfamília Hypostominae, cujo gênero tipo é *Hypostomus* (MONTROYA-BURGOS; WEBER; LE BAIL, 2002).

O gênero *Hypostomus* compreende aproximadamente 130 espécies, o que aliado à sua ampla distribuição, variabilidade em padrões de coloração e morfologia, dificulta por muitas vezes a delimitação de diferentes espécies (FERRARIS, 2007; LUJAN et al., 2015; REIS; WEBER; MALABARBA, 1990). Apesar de tentativas de esclarecimento da sistemática e filogenia, o gênero ainda possui muitos grupos mal resolvidos (MARTINEZ, 2009; MONTROYA-BURGOS, 2003). Diversos trabalhos focaram em caracteres morfológicos em revisões regionais de espécies do gênero (MAZZONI; WEBER; CARAMASCHI, 1994; OYAKAWA et al., 2005; REIS; WEBER; MALABARBA, 1990).

Para *Hypostomus* provenientes do Alto rio Uruguai o método GMYC indicou a presença de cinco MOTUs, subdividindo as espécies identificadas taxonomicamente como *H. isbrueckeri* em duas MOTUs (*H. isbrueckeri* 1 e *H. isbrueckeri* 2) e agrupando as espécies identificadas previamente como *H. luteus* e *H. roseopuncatus* na MOTU aqui denominada *H. luteus/H. roseopuncatus*.

Montoya-Burgos (2003), baseando-se no marcador mitocondrial D-loop, e Silva et al. (2016) encontraram indivíduos de *H. commersoni* agrupados no mesmo clado que *H. affinis* e *H. ancistroides*. Recentemente Cardoso et al. (2019), utilizando o marcador D-loop, sugeriu a separação de *H. commersoni* em dois subgrupos, revalidando *H. spiniger*. No presente estudo *H. commersoni* se apresentou mais próximo à *H. affinis* do que a *H. spiniger*, não havendo subdivisão de indivíduos de *H. spiniger* (Figura 2). A sequência do BOLD que agrupou na MOTU *H. spiniger* (GBGC6639-09) não tem identificação de origem. Por outro lado, as sequências de *H. commersoni* são do rio Paraná.

As análises de delimitação de espécies de *Hypostomus* do Alto rio Uruguai, através de análises moleculares (MOTUs), obtidas pela metodologia GMYC

revelaram distâncias genéticas interespecíficas menores do que o valor utilizado como referência para delimitação de espécies de peixes neotropicais, que é de 2 % (ANTUNES et al., 2011; LARA et al., 2010; PEREIRA et al., 2013; RAMIREZ; GALETTI Jr, 2015). Contudo, a aplicação do método analítico do GMYC para delimitação de espécies é encorajada, destacando diversidade intrínseca às diversas espécies de peixes neotropicais (MELO et al., 2016; ROXO et al., 2015). Além disso, é importante ressaltar que a baixa distância genética interespecífica pode indicar recente especiação (COSTA-SILVA et al., 2015). No caso das espécies *Ixinandria steinbachi* e *I. montebelloi*, devido à dificuldade encontrada para a sua separação com a utilização do gene mitocondrial COI, apesar dos dados morfológicos indicarem a ocorrência das duas espécies, foram designadas como sinônima (RODRIGUEZ et al., 2008). Contrariamente, Costa-silva et al. (2015) decidiram diferenciar as espécies *Rineloricaria kronei* e *R. langei* através de parâmetros morfológicos, apesar da baixa divergência genética encontrada através da utilização do marcador COI.

As espécies taxonômicas *H. roseopunctatus* e *H. luteus* também apresentam características morfológicas que os diferenciam, como o baixo número de dentes em cada pré-maxilar (6-16) encontrado em *H. roseopunctatus*, enquanto *H. luteus* apresenta 22-40 dentes (REIS, WEBER, MALABARBA, 1990). Apesar de essas características serem utilizadas para discriminar estas duas espécies morfológicamente, as análises moleculares sugerem um complexo que precisa ser mais investigado.

Já a MOTU *H. uruguayensis*, espécie taxonomicamente bem delimitada em relação às demais provenientes do Alto rio Uruguai, apresentou elevada diferenciação em relação às demais MOTUs (*H. uruguayensis* vs. *H. auroguttatus*/*H. luetkeni* 2,02%, *H. uruguayensis* vs. *H. aspidolepis* 2, 7,82%), refletindo congruência entre a taxonomia e a identificação molecular.

A identificação morfológica a campo de *H. regani* não se confirmou na identificação taxonômica nem na identificação molecular. As sequências de *H. regani* utilizadas no presente estudo foram obtidas no BOLD e são provenientes do Alto rio Paraná (local tipo da espécie). Apesar de ser relatada sua ocorrência no Alto rio Uruguai (ZANIBONI-FILHO et al., 2004), nenhuma sequência se agrupou na MOTU *H. regani*, e por este motivo, precisa ser validada taxonomicamente e molecularmente, evitando assim erros de identificação.

A complexidade do gênero *Hypostomus*, refletida pelos diversos padrões morfológicos de pigmentação e ao grande número de espécies, muitas vezes tornam difíceis a identificação das espécies. De acordo com Pereira et al. (2013) a técnica do DNA *barcoding* se mostrou eficiente na discriminação de 99,2% das espécies de peixes neotropicais. No presente estudo o DNA *barcoding* corroborou a separação de *H. commersoni* e *H. spiniger*, contudo, o valor de divergência interespecífica foi 1,33%, inferior ao sugerido por Pereira et al. (2013).

A análise de um maior número de indivíduos, uma criteriosa análise taxonômica e a utilização de marcadores moleculares mais específicos como D-loop, por exemplo, poderão auxiliar na elucidação de *H. isbrueckeri* 1, *H. isbrueckeri* 2, e da MOTU denominada aqui como *H. luteus/H. roseopunctatus*. Cabe ressaltar que a correta delimitação das espécies do gênero *Hypostomus* auxiliará a elucidar importantes informações para a conservação de estoques pesqueiros e para a utilização deste recurso como alternativa em aquicultura, possibilitando assim a adoção de práticas de manejo da piscicultura que evitem as misturas genéticas acidentais, assim como pela possibilidade da identificação de possíveis fraudes. As espécies do gênero *Hypostomus*, apesar da sua complexidade, apresentam grande potencial como recurso ornamental e pesqueiro.

## **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem as agências de fomento CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível superior), ao CNPq Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e a FAPESC (Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina). Ao LAPAD (Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce) do Departamento de Aquicultura, UFSC. Ao LFDGV/UFSC (Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal), pela cessão da infraestrutura necessária ao desenvolvimento deste trabalho. Ao Oscar Akio Shibatta, pelo tombamento dos *voucher* e a identificação dos espécimes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALJANABI, S. M.; MARTINEZ, I. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR- based techniques. **Nucleic Acids Research**, [s.l.], v. 25, n. 22, p.4692-4693, 15 nov. 1997.
- ANTUNES, R.S.P. *et al.* Utilização Do Gene Mitocondrial Citocromo C Oxidase I Para Distinguir duas Espécies de Zungaro (Siluriformes: Pimelodidae) De Duas Bacias Neotropicais. *In: X CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL*, São Lourenço. **Sociedade de Ecologia do Brasil**. 2011. Disponível em <http://www.seb-ecologia.org.br/xceb/r> Acesso em: 10 Jul. 2018.
- BELLAFRONTE, E. *et al.* DNA barcode of Parodontidae species from the La Plata river basin - applying new data to clarify taxonomic problems. **Neotropical Ichthyology**, [s.l.], v. 11, n. 3, p.497-506, set. 2013.
- BOUCKAERT, R. *et al.* **BEAST 2**: A Software Platform for Bayesian Evolutionary Analysis. *Plos Computational Biology*, [s.l.], v. 10, n. 4, e1003537, 10 abr. 2014.
- BUCKUP, P. A.; MENEZES, N. A.; GHAZZI, M. S. **CATÁLOGO DAS ESPÉCIES DE PEIXES DE ÁGUA DOCE DO BRASIL**. Rio de Janeiro: *Museu Nacional*, 2007. 195 p.
- CARDOSO, Y. P., *et al.* Origin of species diversity in the catfish genus *Hypostomus* (Siluriformes: Loricariidae) inhabiting the Paraná river basin, with the description of a new species. **Zootaxa**, v. 3453, n. 1, p.69–83, 05 set. 2012.
- CARDOSO, Y. P. *et al.* An integrated approach clarifies the cryptic diversity in *Hypostomus* Lacépède 1803 from the Lower La Plata Basin. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, [s.l.], v. 91, n. 2, e20180131, 25 abr. 2019.
- CARVALHO, C. E. V. *et al.* Distribuição de Mercúrio Total em Tecido Muscular de *Hypostomus affinis* (Steindachner, 1877) e *Hypostomus c.f. luetkini* (Barlenger, 1887) do Rio Muriaé, Itaperuna – RJ. **Journal Of The Brazilian Society Of Ecotoxicology**, [s.l.], v. 5, n. 1, p.49-54, set. 2010.
- CHEROBIM, A. M.; LAZZAROTTO, H.; LANGEANI, F. A new species of the catfish *Neoplecostomus* (Loricariidae: Neoplecostominae) from a coastal drainage in southeastern Brazil. **Neotropical Ichthyology**, [s.l.], v. 14, n. 4, e160015, 2016.
- COSTA-SILVA, G. J. *et al.* Using Different Methods to Access the Difficult Task of Delimiting Species in a Complex Neotropical Hyperdiverse Group. **Plos One**, [s.l.], v. 10, n. 9, e0135075, 2 set. 2015.
- DI PERSIA, D. H., NEIFF, J. J. The Uruguay River System. *In: DAVIS, B. R., WALKER, K. F. (Org.) The ecology of river systems*. Dordrecht: Dr. W. Junk Publishers, 1986, p. 599-621.

DRUMMOND, A. J. *et al.* Bayesian Phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. **Molecular Biology And Evolution**, [s.l.], v. 29, n. 8, p.1969-1973, 25 fev. 2012.

ESCHMEYER, W. N.; FONG, J. D. **SPECIES BY FAMILY/SUBFAMILY**. (<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>). Acesso 30 de Julho de 2018.

FERRARIS, C. J. Checklist of catfishes, recent and fossil (Osteichthyes: Siluriformes), and catalogue of siluriform primary types. **Zootaxa**, [s.l.], v. 1418, n. 1, p.1-628, 8 mar. 2007.

FONTANETO, D. *et al.* Independently Evolving Species in Asexual Bdelloid Rotifers. **Plos Biology**, [s.l.], v. 5, n. 4, e87, 20 mar. 2007.

GHAZZI, M. S. Nove espécies novas do gênero *Rineloricaria* (Siluriformes, Loricariidae) do rio Uruguai, do sul do Brasil. **Iheringia. Série Zoologia**, [s.l.], v. 98, n. 1, p.100-122, mar. 2008.

HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucl. Acids. Symp. Ser.** [s.l.], v.41, p.95-98. 1999.

INGENITO, L. F. S. *et al.* Two new species of *Rineloricaria* (Siluriformes: Loricariidae) from the rio Iguaçu basin, southern Brazil. **Neotropical Ichthyology**, [s.l.], v. 6, n. 3, p.355-366, 2008.

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. **Molecular Biology And Evolution**, [s.l.], v. 33, n. 7, p.1870-1874, 22 mar. 2016.

LARA, A. *et al.* DNA barcoding of Cuban freshwater fishes: evidence for cryptic species and taxonomic conflicts. **Molecular Ecology Resources**, [s.l.], v. 10, n. 3, p.421-430, maio 2010.

LIS, J. T. Fractionation of DNA fragments by polyethylene glycol induced precipitation. **Nucleic Acids Part I**, [s.l.], p.347-353, 1980.

LUJAN, N. K. *et al.* Multilocus molecular phylogeny of the suckermouth armored catfishes (Siluriformes: Loricariidae) with a focus on subfamily Hypostominae. **Molecular Phylogenetics And Evolution**, [s.l.], v. 82, p.269-288, jan. 2015.

LORSCHIEDER, C. A. *et al.* Karyotypic diversity of the armoured catfish genus *Hypostomus* (Siluriformes: Loricariidae) in the context of its occurrence and distribution. **Journal Of Fish Biology**, [s.l.], v. 87, n. 4, p.1099-1110, 10 set. 2015.

MACHADO, C. B. *et al.* DNA barcoding reveals taxonomic uncertainty in *Salminus* (Characiformes). **Systematics And Biodiversity**, [s.l.], v. 15, n. 4, p.372-382, 7 dez. 2016.

MALABARBA, L. R. *et al.* Fauna aquática: peixes. *In*: Boldrini II (ed) **Biodiversidade dos campos no planalto das araucárias**. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, p. 131-141, 2009.

MARTINEZ, E. R. M. **Estudo da evolução do gênero *Hypostomus* (Teleostei, Siluriformes, Loricariidae) com base e caracteres cromossômicos e seqüências de DNA**. Orientado por Cláudio de Oliveira.. 113 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Programa de Pós-Graduação em ciências Biológicas – Zoologia, Botucatu, 2009.

MAZZONI, R.; WEBER, C.; CARAMASCHI, U. Taxonomical revision of the species of *Hypostomus* Lacépède, 1803 (Siluriformes, Loricariidae) from the lower rio paraíba do Sul, State of Rio de Janeiro, Brazil. **Revue Suisse de Zoologie**, Suíça, v. 101, n.1, p. 1-16, 1994.

MELO, B. F. *et al.* Cryptic species in the Neotropical fish genus *Curimatopsis* (Teleostei, Characiformes). **Zoologica Scripta**, [s.l.], v. 45, n. 6, p.650-658, 11 mar. 2016.

MENEZES, N. A. *et al.* **Peixes de Água Doce da Mata Atlântica**: Lista Preliminar das Espécies e Comentários sobre Conservação de Peixes de água doce Neotropicais. São Paulo: Museu de Zoologia da Universidade, 2007.

MONAGHAN, M. T. *et al.* Accelerated Species Inventory on Madagascar Using Coalescent-Based Models of Species Delineation. **Systematic Biology**, [s.l.], v. 58, n. 3, p.298-311, 1 jun. 2009.

MONTOYA-BURGOS, J. I. *et al.* Phylogenetic relationships of the Loricariidae (Siluriformes) based on mitochondrial rRNA gene sequences. *In*: Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes. **Edipucrs**, Porto Alegre, Brazil, p. 363–374, 1998.

MONTOYA-BURGOS, J. I.; WEBER, C.; LE BAIL, P. Y. Phylogenetic relationships within *Hypostomus* (Siluriformes: Loricariidae) and related genera based on mitochondrial D-loop sequences. **Revue Suisse de Zoologie**, v. 109, n. 2, p. 369–382, 2002.

MONTOYA-BURGOS, J. I. Historical biogeography of the catfish genus *Hypostomus* (Siluriformes: Loricariidae), with implications on the diversification of Neotropical ichthyofauna. **Molecular Ecology**, [s.l.], v. 12, n. 7, p.1855-1867, jul. 2003.

NASCIMENTO, M. H. S. *et al.* DNA barcoding reveals high levels of genetic diversity in the fishes of the Itapecuru Basin in Maranhão, Brazil. **Genetics And Molecular Research**, [s.l.], v. 15, n. 3, gmr.15038476, 2016.

OLIVEIRA, J. C. S.; ISAAC, V. J. Diet Breadth and Niche Overlap Between *Hypostomus plecostomus* (Linnaeus, 1758) and *Hypostomus emarginatus* (Valenciennes, 1840) (Siluriformes) in the Coaracy Nunes Hydroelectric Reservoir, Ferreira Gomes, Amapá-Brazil. **Biota Amazônia**, [s.l.], v. 3, n. 2, p.116-125, 30 ago. 2013.

OYAKAWA, O. T.; AKAMA, A.; ZANATA, A. M. Review of the genus *Hypostomus* Lacépède, 1803 from rio Ribeira de Iguape basin, with description of a new species (Pisces, Siluriformes, Loricariidae). **Zootaxa**, [s.l.], v. 921, n. 1, p.1-27, 29 mar. 2005.

PAIN, E. S.; ORTIZ, L. S. **Hidrelétricas na bacia do rio Uruguai: guias para ONGs e movimentos sociais**. Porto Alegre: Núcleos Amigos da Terra, 2006.

PEREIRA, L. H. G. *et al.* DNA barcodes discriminate freshwater fishes from the Paraíba do Sul River Basin, São Paulo, Brazil. **Mitochondrial Dna**, [s.l.], v. 22, n. 1, p.71-79, 27 jan. 2011.

PEREIRA, L. H. G. *et al.* Can DNA barcoding accurately discriminate megadiverse Neotropical freshwater fish fauna? **Bmc Genetics**, [s.l.], v. 14, n. 1, p.20-34, 2013.

PONS, J. *et al.* Sequence-Based Species Delimitation for the DNA Taxonomy of Undescribed Insects. **Systematic Biology**, [s.l.], v. 55, n. 4, p.595-609, 1 ago. 2006.

PUGEDO, M. L. *et al.* Integrative taxonomy supports new candidate fish species in a poorly studied neotropical region: the Jequitinhonha River Basin. **Genetica**, [s.l.], v. 144, n. 3, p.341-349, 12 maio 2016.

RAMBAUT, A.; DRUMMOND, A. J. **Tracer, Version 1.5**. Univ. of Edinburgh. 2009. Disponível em: URL <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer/> Acesso em: 20 jun. 2018.

RAMBAUT, A. **FigTree 1.4. 2 Software**. Institute of Evolutionary Biology, Univ. Edinburgh. 2014. Disponível em: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/> Acesso em: 20 jun. 2018.

RAMIREZ, J. L.; GALETTI, P. M. DNA barcode and evolutionary relationship within *Laemolyta* Cope 1872 (Characiformes: Anostomidae) through molecular analyses. **Molecular Phylogenetics And Evolution**, [s.l.], v. 93, p.77-82, dez. 2015.

REIS, R. E.; WEBER, C.; MALABARBA, L. R. Review of the genus *Hypostomus* Lacépède, 1803 from Southern Brazil, with descriptions of three new species (pisces, Siluriformes, Loricariidae). **Revue Suisse Zool**, v. 97, n. 3, p.729-766, 1990.

REIS, R. E.; PEREIRA, E. H. L.; ARMBRUSTER, J. W. Delturinae, a new loricariid catfish subfamily (Teleostei, Siluriformes), with revisions of *Delturus* and *Hemipsilichthys*. **Zoological Journal Of The Linnean Society**, [s.l.], v. 147, n. 2, p.277-299, jun. 2006.

RODRIGUEZ, M. S. *et al.* Taxonomy of *Ixinandria* Isbrücker & Nijssen (Loricariidae: Loricariinae) based on morphological and molecular data. **Neotropical Ichthyology**, [s.l.], v. 6, n. 3, p.367-378, 2008.

ROXO, F. *et al.* *Rhinolekos capetinga*: a new cascudinho species (Loricariidae, Otothyriinae) from the rio Tocantins basin and comments on its ancestral dispersal route. **Zookeys**, [s.l.], v. 481, p.109-130, 4 fev. 2015.

SALES, N. G. *et al.* Hidden Diversity Hampers Conservation Efforts in a Highly Impacted Neotropical River System. **Frontiers In Genetics**, [s.l.], v. 9, p.1-11, 24 jul. 2018.

SILVA, R. N. **Diversidade espacial e temporal da ictiofauna do alto rio Uruguai: aliando técnicas de geoprocessamento**. Orientado por Alex Pires de Oliveira Nuñez. Florianópolis, 2014. 50 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias, Florianópolis, 2014.

SILVA, G. S. C. *et al.* Transcontinental dispersal, ecological opportunity and origins of an adaptive radiation in the Neotropical catfish genus *Hypostomus* (Siluriformes: Loricariidae). **Molecular Ecology**, [s.l.], v. 25, n. 7, p.1511-1529, 17 mar. 2016.

SHIBATTA, O. A. **Envio de Cascudos** [Mensagem pessoal]. Mensagem recebida por Ipsorrentino@gmail.com em 21 junho 2018.

SOUZA, C. S. *et al.* Genetic and Morphological Analyses Demonstrate That *Schizolecis guntheri* (Siluriformes: Loricariidae) Is Likely to be a Species Complex. **Frontiers In Genetics**, [s.l.], v. 9, p.1-9, 2 mar. 2018.

SORRENTINO, L. G. P. **Distribuição espacial e temporal de (*Hypostomus isbrueckeri* – Loricariidae, siluriforme) (Reis, Weber & Malabarba, 1990) na área de influência das usinas de Itá e Machadinho no Alto rio Uruguai, SC/RS, Brasil**. Orientado por Anita Rademaker Valença. Florianópolis, 2015. 34 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Aquicultura). Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Engenharia de Aquicultura, Florianópolis, 2015.

WARD, R. D *et al.* DNA barcoding Australia's fish species. **Philosophical Transactions Of The Royal Society B: Biological Sciences**, [s.l.], v. 360, n. 1462, p.1847-1857, 15 set. 2005.

ZANIBONI-FILHO, E.; SCHULZ, U. H. Migratory Fishes of the Uruguay River. *In*: CAROSFELD, J.; HARVEY, B. ROSS, C.; BAER, A. **Migratory fishes of South America**: biology, fisheries and conservation status. International Development Research Centre. World Fisheries Trust / The World Bank, 2003.

ZANIBONI-FILHO, E., *et al.* **Catálogo ilustrado de peixes do alto rio Uruguai**. Florianópolis: Editora da UFSC, 2004. 128 p.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A técnica do DNA *barcoding* corroborou para a complexa delimitação das espécies do gênero *Hypostomus* da bacia do Alto rio Uruguai. A identificação taxonômica das espécies do gênero *Hypostomus* provenientes do Alto rio Uruguai apresentaram inconsistências com a identificação morfológica em campo, resultando na ausência de *H. regani* e *H. ternetzi*. A complexidade na identificação das espécies do gênero salienta a necessidade de estudos conjuntos entre biologia molecular e taxonomia, permitindo a correta identificação dos indivíduos. O presente estudo indica a necessidade de aumentar o tamanho amostral, buscado amostrar as espécies previamente descritas para a bacia, permitindo assim confirmar ou não sua ocorrência.

## REFERÊNCIAS INTRODUÇÃO GERAL

- ARMBRUSTER, J. W. Phylogenetic relationships of the suckermouth armoured catfishes (Loricariidae) with emphasis on the Hypostominae and the Ancistrinae. **Zoological Journal Of The Linnean Society**, Londres, v. 141, p.1-80, 2004.
- BAGLEY, J. C. *et al.* Assessing Species Boundaries Using Multilocus Species Delimitation in a Morphologically Conserved Group of Neotropical Freshwater Fishes, the *Poecilia sphenops* Species Complex (Poeciliidae). **Plos One**, [s.l.], v. 10, n. 4, p.1-30, 7 abr. 2015.
- BENINE, R. C.; MARIGUELA, T. C.; OLIVEIRA, C. New species of Moenkhausia Eigenmann, 1903 (Characiformes: Characidae) with comments on the Moenkhausia oligolepis species complex. **Neotropical Ichthyology**, [s.l.], v. 7, n. 2, p.161-168, jun. 2009.
- BERTACO, V. A. *et al.* Inventory of the freshwater fishes from a densely collected area in South America—a case study of the current knowledge of Neotropical fish diversity. **Zootaxa**, [s.l.], v. 4138, n. 3, p.401-440, 18 jul. 2016.
- BOULENGER, G. A. Abstract of a report on a large collection of fishes formed by Dr. C. ternetz at various localities in Matto Grosso and Paraguay, with descriptions of new species. **Proceedings Of The Royal Society Of London**, 523-529. 1895.
- BRANDÃO, J. H. S. G. *et al.* DNA barcoding of coastal ichthyofauna from Bahia, northeastern Brazil, South Atlantic: High efficiency for systematics and identification of cryptic diversity. **Biochemical Systematics And Ecology**, [s.l.], v. 65, p.214-224, abr. 2016.
- BUCKUP, P. A.; MENEZES, N. A.; GHAZZI, M. S. **Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil**. Rio de Janeiro: Museu Nacional, 2007. 195 p.
- CARDOSO, Y. P., *et al.* Origin of species diversity in the catfish genus *Hypostomus* (Siluriformes: Loricariidae) inhabiting the Paraná river basin, with the description of a new species. **Zootaxa**, v. 3453, n. 1, p.69–83, 05 set. 2012.
- CARDOSO, Y. P. *et al.* An integrated approach clarifies the cryptic diversity in *Hypostomus* Lacépède 1803 from the Lower La Plata Basin. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, [s.l.], v. 91, n. 2, e20180131, 25 abr. 2019.
- CARVALHO, C. E. V. *et al.* Distribuição de Mercúrio Total em Tecido Muscular de *Hypostomus affinis* (Steindachner, 1877) e *Hypostomus c.f. luetkini* (Barlenger, 1887) do Rio Muriaé, Itaperuna – RJ. **Journal Of The Brazilian Society Of Ecotoxicology**, [s.l.], v. 5, n. 1, p.49-54, set. 2010.
- CHEROBIM, A. M.; LAZZAROTTO, H.; LANGEANI, F. A new species of the catfish *Neoplecostomus* (Loricariidae: Neoplecostominae) from a coastal drainage in southeastern Brazil. **Neotropical Ichthyology**, [s.l.], v. 14, n. 4, e160015, 2016.

CHIACHIO, M. C.; OLIVEIRA, C.; MONTOYA-BURGOS, J. I. Molecular systematic and historical biogeography of the armored Neotropical catfishes Hypoptopomatinae and Neoplecostominae (Siluriformes: Loricariidae). **Molecular Phylogenetics And Evolution**, [s.l.], v. 49, n. 2, p.606-617, nov. 2008.

COVAIN, R.; FISCH-MULLER, S. The genera of the Neotropical armored catfish subfamily Loricariinae (Siluriformes: Loricariidae). **Zootaxa**, [s.l.], v. 1462, n. 1, p.1-40, 30 abr. 2007.

DI PERSIA, D. H.; NEIFF, J. J. The Uruguay River System. *In*: DAVIS, B. R., WALKER, K. F. (Org.) **The ecology of river systems**. Dordrecht: Dr. W. Junk Publishers, 1986, p. 599-621.

ESCHMEYER, W. N.; FONG, J. D. **Species by family/subfamily**. Disponível em: <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>. Acesso em: 30 de Julho de 2018.

FONTANETO, D. *et al.* Independently Evolving Species in Asexual Bdelloid Rotifers. **Plos Biology**, [s.l.], v. 5, n. 4, e87, 20 mar. 2007.

GARAVELLO, J. C.; GARAVELLO, J. P. Spatial distribution and interaction of four species of the catfish genus *Hypostomus* Lacépède with bottom of Rio São Francisco, Canindé do São Francisco, Sergipe, Brazil (Pisces, Loricariidae, Hypostominae). **Brazilian Journal Of Biology**, [s.l.], v. 64, n. 3, p.103-141, ago. 2004.

GHAZZI, M. S. Nove espécies novas do gênero *Rineloricaria* (Siluriformes, Loricariidae) do rio Uruguai, do sul do Brasil. **Iheringia. Série Zoologia**, [s.l.], v. 98, n. 1, p.100-122, mar. 2008.

GODOY, M. P. **Poluição**: peixes e pesca: reconhecimento preliminar com descrição de duas espécies novas de peixes. Eletrosul, Florianópolis, p. 1-45, 1980.

HEBERT, P. D. N. *et al.* Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings Of The Royal Society Of London. Series B: Biological Sciences**, [s.l.], v. 270, n. 1512, p.313-321, 7 fev. 2003.

HENSEL, R. Beiträge zur Kenntniss der Wirbelthiere Südbrasilens. **Archiv Naturgesch**, [s.l.], p.50-91, 1870.

IHERING, R. V. Description of four new loricariid fishes of the genus *Plecostomus* from Brazil. **Ann. Mag .nat. Hist.** v.15, p.558-561. 1905.

INGENITO, L. F. S. *et al.* Two new species of *Rineloricaria* (Siluriformes: Loricariidae) from the rio Iguaçú basin, southern Brazil. **Neotropical Ichthyology**, [s.l.], v. 6, n. 3, p.355-366, 2008.

LORSCHIEDER, C. A. *et al.* Karyotypic diversity of the armoured catfish genus *Hypostomus* (Siluriformes: Loricariidae) in the context of its occurrence and distribution. **Journal Of Fish Biology**, [s.l.], v. 87, n. 4, p.1099-1110, 10 set. 2015.

- MACHADO, C. B. *et al.* DNA barcoding reveals taxonomic uncertainty in *Salminus* (Characiformes). **Systematics And Biodiversity**, [s.l.], v. 15, n. 4, p.372-382, 7 dez. 2016.
- MALABARBA, L. R. *et al.* Fauna aquática: peixes. *In*: Boldrini II (ed). Biodiversidade dos campos no planalto das araucárias. Ministério do **Meio Ambiente, Brasília**, p. 131-141, 2009.
- MARQUES, D. F. *et al.* Cytogenetic and DNA barcoding reveals high divergence within the trahira, *Hoplias malabaricus* (Characiformes: Erythrinidae) from the lower Amazon River. **Neotropical Ichthyology**, [s.l.], v. 11, n. 2, p.459-466, jun. 2013.
- MELO, B. F. *et al.* Cryptic species in the Neotropical fish genus *Curimatopsis* (Teleostei, Characiformes). **Zoologica Scripta**, [s.l.], v. 45, n. 6, p.650-658, 11 mar. 2016.
- MENEZES, N. A. *et al.* Peixes de Água Doce da Mata Atlântica: Lista Preliminar das Espécies e Comentários sobre Conservação de Peixes de água doce Neotropicais. **Museu de Zoologia da Universidade**, São Paulo, 2007.
- MONTOYA-BURGOS, J. I. *et al.* Phylogenetic relationships of the Loricariidae (Siluriformes) based on mitochondrial rRNA gene sequences. *In*: Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes. **Edipucrs**, Porto Alegre, Brazil, p. 363–374, 1998.
- MONTOYA-BURGOS, J. I.; WEBER, C.; LE BAIL, P. Y. Phylogenetic relationships within *Hypostomus* (Siluriformes: Loricariidae) and related genera based on mitochondrial D-loop sequences. **Revue Suisse de Zoologie**, [s.l.], v. 109, n. 2, p. 369–382, 2002.
- NASCIMENTO, M. H. S. *et al.* DNA barcoding reveals high levels of genetic diversity in the fishes of the Itapecuru Basin in Maranhão, Brazil. **Genetics And Molecular Research**, [s.l.], v. 15, n. 3, p.15038476, 2016.
- OLIVEIRA, J. S. S.; ISAAC, V. J. Diet Breadth and Niche Overlap Between *Hypostomus plecostomus* (Linnaeus, 1758) and *Hypostomus emarginatus* (Valenciennes, 1840) (Siluriformes) in the Coaracy Nunes Hydroelectric Reservoir, Ferreira Gomes, Amapá-Brazil. **Biota Amazônia**, [s.l.], v. 3, n. 2, p.116-125, 30 ago. 2013.
- PAIN, E. S.; ORTIZ, L. S. Hidrelétricas na bacia do rio Uruguai: guias para ONGs e movimentos sociais. **Núcleos Amigos da Terra**, Porto Alegre, Brasil, 2006.
- PANSONATO-ALVES, J. C. *et al.* Mapping five repetitive DNA classes in sympatric species of *Hypostomus* (Teleostei: Siluriformes). **Reviews In Fish Biology And Fisheries**, [s.l.], v. 23, n. 4, p. 477-489, 19 fev. 2013.
- PEREIRA, L. H. G. *et al.* DNA barcoding reveals hidden diversity in the Neotropical freshwater fish *Piabina argentea* (Characiformes: Characidae) from the Upper Paraná Basin of Brazil. **Mitochondrial Dna**, [s.l.], v. 22, n. 1, p.87-96, 27 jun. 2011.

PEREIRA, L. H. G. *et al.* Can DNA barcoding accurately discriminate megadiverse Neotropical freshwater fish fauna? **Bmc Genetics**, [s.l.], v. 14, n. 1, p.20-34, 2013.

PONS, J. *et al.* Sequence-Based Species Delimitation for the DNA Taxonomy of Undescribed Insects. **Systematic Biology**, [s.l.], v. 55, n. 4, p.595-609, 1 ago. 2006.

RAMIREZ, J. L.; GALETTI, P. M. DNA barcode and evolutionary relationship within *Laemolyta* Cope 1872 (Characiformes: Anostomidae) through molecular analyses. **Molecular Phylogenetics And Evolution**, [s.l.], v. 93, p.77-82, dez. 2015.

REIS, R. E.; WEBER, C.; MALABARBA, L. R. Review of the genus *Hypostomus* Lacépède, 1803 from Southern Brazil, with descriptions of three new species (pisces, Siluriformes, Loricariidae). **Revue Suisse Zool**, v. 97, n. 3, p.729-766, 1990.

REIS, R. E.; PEREIRA, E. H. L.; ARMBRUSTER, J. W. Delturinae, a new loricariid catfish subfamily (Teleostei, Siluriformes), with revisions of *Delturus* and *Hemipsilichthys*. **Zoological Journal Of The Linnean Society**, [s.l.], v. 147, n. 2, p.277-299, jun. 2006.

RIBOLLI, J. *et al.* DNA barcoding confirms the occurrence of *Rhamdia branneri* and *Rhamdia voulezi* (Siluriformes: Heptapteridae) in the Iguaçú River Basin. **Neotropical Ichthyology**, [s.l.], v. 15, n. 1, e160147, 2017.

ROXO, F. *et al.* *Rhinolekos capetinga*: a new cascudinho species (Loricariidae, Otothyriinae) from the rio Tocantins basin and comments on its ancestral dispersal route. **Zookeys**, [s.l.], v. 481, p.109-130, 4 fev. 2015.

ROXO, F. *et al.* Molecular systematics of the armored neotropical catfish subfamily Neoplecostominae (Siluriformes: Loricariidae). **Zootaxa**, [s.l.], v. 3390, n. 1, p.33-42, 17 jul. 2012.

RUBERT, M. **Estudos citogenéticos em espécies das tribos Hypostomini e Ancistrini (Loricariidae, Hypostominae)**. Orientado por Orlando Moreira Filho. São Carlos, 2011, 120 P. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Genética e Evolução, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. São Carlos. 2011.

SILVA, R. N. **Diversidade espacial e temporal da ictiofauna do alto rio Uruguai: aliando técnicas de geoprocessamento**. Orientado por Alex Pires de Oliveira Nuñez. Florianópolis, 2014. 50 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias, Florianópolis, 2014.

STOECKLE, M. Taxonomy, DNA, and the Bar Code of Life. **Bioscience**, [s.l.], v. 53, n. 9, p.796-797, 2003.

SORRENTINO, L. G. P. **DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E TEMPORAL DE (*Hypostomus isbrueckeri* –Loricariidae, Siluriforme) (REIS, WEBER & MALABARBA, 1990) NA ÁREA DE INFLUÊNCIA DAS USINAS DE ITÁ E MACHADINHO NO ALTO RIO URUGUAI, SC/RS, BRASIL.** Orientado por Anita Rademaker Valença. Florianópolis, 2015. 34 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Engenharia de Aquicultura). Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Engenharia de Aquicultura, Florianópolis, 2015.

ZANIBONI-FILHO, E.; SCHULZ, U. H. Migratory Fishes of the Uruguay River. *In*: CAROSFELD, J.; HARVEY, B. ROSS, C.; BAER, A. **Migratory Fishes of South America**: biology, fisheries and conservation status. International Development Research Centre. World Fisheries Trust / The World Bank, 2003.

ZANIBONI-FILHO, E. *et al.* Catálogo ilustrado de peixes do alto rio Uruguai. Florianópolis: **Editora da UFSC**, 2004. 128 p.

**APÊNDICE A – Fotos dos Voucher.**

Fotos dos voucher da MOTU *Hypostomus luteus* / *Hypostomus roseopunctatus*

4032



3545



4006



4090



4091



4093



4094



4095



4096



4092



3544



4088



4089



4073



3543



3560



3561



3565



3593



4000



Fotos dos voucher da MOTU *Hypostomus isbrueckeri* 1

3476



3540



3562



4003



3923



Fotos dos voucher da MOTU *Hypostomus isbrueckeri* 2

3541



3661

Fotos dos voucher da MOTU *Hypostomus commersoni* = *Hypostomus spiniger*

3372



3384



3589



3945



3657



3642



3680



Fonte: Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce (LAPAD) (2019).

**APÊNDICE B - Lista das sequências de *Hypostomus* obtidas no BOLD.**

<b>BOLD</b>	<b>Espécie (Bold)</b>	<b>Rio/Localidade</b>	<b>Bacia Hidrográfica</b>
FPSR082-09	<i>Corydoras natterer</i>		Bacia de Paraíba do Sul
GBGCA2792-13	<i>Hypostomus nigromaculatus</i>	Córrego Hortelã	Bacia do Rio Paranapanema
GBGCA2793-13	<i>Hypostomus nigromaculatus</i>	Córrego Hortelã	Bacia do Rio Paranapanema
GBGCA2794-13	<i>Hypostomus nigromaculatus</i>	Córrego Hortelã	Bacia do Rio Paranapanema
FPSR117-09	<i>Hypostomus affinis</i>		Bacia de Paraíba do Sul
FPSR118-09	<i>Hypostomus affinis</i>		Bacia de Paraíba do Sul
FPSR119-09	<i>Hypostomus affinis</i>		Bacia de Paraíba do Sul
MUCU027-13	<i>Hypostomus affinis</i>	Rio Pampã, Nanuque	Bacia do Rio Mucuri
MUCU036-13	<i>Hypostomus affinis</i>	Rio Pampã, Nanuque	Bacia do Rio Mucuri
MUCU045-13	<i>Hypostomus affinis</i>	Rio Mucuri, Nanuque	Bacia do Rio Mucuri
BSB292-10	<i>Hypostomus alatus</i>	Rio Urucuia	Bacia do São Francisco
BSB293-10	<i>Hypostomus alatus</i>	Rio Pandeiros	Bacia do São Francisco
BSB295-10	<i>Hypostomus alatus</i>	Rio Curimatai	Bacia do São Francisco
FUPR573-09	<i>Hypostomus ancistroides</i>	São Paulo	Bacia do Alto Paraná
GBGCA2801-13	<i>Hypostomus ancistroides</i>	Córrego Hortelã	Bacia do Rio Paranapanema
GBGCA2802-13	<i>Hypostomus ancistroides</i>	Córrego Hortelã	Bacia do Rio Paranapanema
GBGCA8651-15	<i>Hypostomus ancistroides</i>	Rio Corumbataí, São Paulo	Bacia do rio Corumbataí
PDCAP214-14	<i>Hypostomus ancistroides</i>	Rio Apertados, Rio Tibagi	Bacia do Alto Paraná
BSFFA498-07	<i>Hypostomus aspidolepis</i>	Rio Tuirá, Panamá	Bacia do Rio Tuirá
BSFFA499-07	<i>Hypostomus aspidolepis</i>	Rio Ipeti, Panamá	Bacia do Rio Bayano

<b>BOLD</b>	<b>Espécie (Bold)</b>	<b>Rio/Localidade</b>	<b>Bacia Hidrográfica</b>
BSFFA500-07	<i>Hypostomus aspidolepis</i>	Rio Zarati, Panamá	Bacia do Rio Cocle del Sur
BSFFA502-07	<i>Hypostomus aspidolepis</i>	Rio Mamoni, Panamá	Bacia do Rio Bayano
BSFFA872-13	<i>Hypostomus aspidolepis</i>	Rio Zarati, Panamá	Bacia do Rio Cocle del Sur
FPSR115-09	<i>Hypostomus auroguttatus</i>		Bacia de Paraíba do Sul
FPSR116-09	<i>Hypostomus auroguttatus</i>		Bacia de Paraíba do Sul
FPSR122-09	<i>Hypostomus auroguttatus</i>		Bacia de Paraíba do Sul
FPSR123-09	<i>Hypostomus auroguttatus</i>		Bacia de Paraíba do Sul
FPSR124-09	<i>Hypostomus auroguttatus</i>		Bacia de Paraíba do Sul
GBGC6640-09	<i>Hypostomus boulengeri</i>	Sem informação	Sem informação
FUPR557-09	<i>Hypostomus brevis</i>		Bacia do Alto Paraná
FUPR558-09	<i>Hypostomus brevis</i>		Bacia do Alto Paraná
FUPR559-09	<i>Hypostomus brevis</i>		Bacia do Alto Paraná
FUPR866-09	<i>Hypostomus brevis</i>		Bacia do Alto Paraná
FUPR878-09	<i>Hypostomus brevis</i>		Bacia do Alto Paraná
GBGCA12889-15	<i>Hypostomus carinatus</i>	Rio Baixo Nhamundá, Pará	Bacia do Rio Amazonas
GBGCA12890-15	<i>Hypostomus carinatus</i>	Rio Baixo Nhamundá, Pará	Bacia do Rio Amazonas
ANGBF8381-12	<i>Hypostomus cochliodon</i>	Rio Cuiabá	
FUPR861-09	<i>Hypostomus cochliodon</i>		Bacia do Alto Paraná
FARGB124-11	<i>Hypostomus commersoni</i>	Lagoa Adela, Buenos Aires	
FARGB323-11	<i>Hypostomus commersoni</i>		
FUPR871-09	<i>Hypostomus commersoni</i>		Bacia do Alto Paraná

<b>BOLD</b>	<b>Espécie (Bold)</b>	<b>Rio/Localidade</b>	<b>Bacia Hidrográfica</b>
GBGC6639-09	<i>Hypostomus commersoni</i>	Sem informação	Sem informação
LARI126-12	<i>Hypostomus commersoni</i>	Rio Paraná, Rosario, Argentina	
LARI218-13	<i>Hypostomus commersoni</i>	Rio Paraná, Rosário, Argentina	Bacia do Rio Paraná
LARI229-13	<i>Hypostomus commersoni</i>	Rio Paraná, Rosario, Argentina	
FUPR864-09	<i>Hypostomus derbyi</i>		Bacia do Alto Paraná
FUPR865-09	<i>Hypostomus derbyi</i>		Bacia do Alto Paraná
FUPR555-09	<i>Hypostomus heraldoi</i>		Bacia do Alto Paraná
FUPR562-09	<i>Hypostomus hermanni</i>		Bacia do Alto Paraná
FUPR563-09	<i>Hypostomus hermanni</i>		Bacia do Alto Paraná
FUPR569-09	<i>Hypostomus iheringii</i>	São Paulo	Bacia do Alto Paraná
GBMIN121749-17	<i>Hypostomus jaguribensis</i>	Sem informação	Sem informação
GBMIN132216-17	<i>Hypostomus jaguribensis</i>	Sem informação	Sem informação
GBMIN132217-17	<i>Hypostomus jaguribensis</i>	Sem informação	Sem informação
GBMIN132218-17	<i>Hypostomus jaguribensis</i>	Sem informação	Sem informação
GBMIN97011-17	<i>Hypostomus jaguribensis</i>	Sem informação	Sem informação
MNCE195-17	<i>Hypostomus jaguribensis</i>	Vazante do Açude Orós, Ceará	Bacia do Rio Jaguaribe
MNCE196-17	<i>Hypostomus jaguribensis</i>	Vazante do Açude Orós, Ceará	Bacia do Rio Jaguaribe
MNCE197-17	<i>Hypostomus jaguribensis</i>	Riacho Cruzado, Lavras de Mangabeira	Bacia do Rio Jaguaribe
MUCU026-13	<i>Hypostomus luetkeni</i>	Rio Pampã, Nanuque	Bacia do Rio Mucuri
MUCU034-13	<i>Hypostomus luetkeni</i>	Rio Pampã, Nanuque	Bacia do Rio Mucuri
MUCU072-13	<i>Hypostomus luetkeni</i>	Rio Pampã, Nanuque	Bacia do Rio Mucuri
MUCU084-13	<i>Hypostomus luetkeni</i>	Rio Mucuri, Nanuque	Bacia do Rio Mucuri
GBGCA12891-15	<i>Hypostomus macushi</i>	Rio Baixo Nhamundá, Pará	Bacia do Rio Amazonas
FUPR570-09	<i>Hypostomus nigromaculatus</i>	São Paulo	Bacia do Alto Paraná

<b>BOLD</b>	<b>Espécie (Bold)</b>	<b>Rio/Localidade</b>	<b>Bacia Hidrográfica</b>
FUPR571-09	<i>Hypostomus nigromaculatus</i>	São Paulo	Bacia do Alto Paraná
FUPR572-09	<i>Hypostomus nigromaculatus</i>	São Paulo	Bacia do Alto Paraná
GBMIN132219-17	<i>Hypostomus papariae</i>	Sem informação	Sem informação
MNCE198-17	<i>Hypostomus papariae</i>	Trairi	Bacia do Rio Trairi
BNAF165-09	<i>Hypostomus plecostomus</i>	Pet Shop, Quebec City, Canada	
BNAF166-09	<i>Hypostomus plecostomus</i>	Pet Shop, Quebec City, Canada	
GBGCA9579-15	<i>Hypostomus plecostomus</i>	Sem informação	Sem informação
GBGCA6803-15	<i>Hypostomus punctatus</i>	Sem informação	Sem informação
GBMIN121750-17	<i>Hypostomus pusarum</i>	Sem informação	Sem informação
GBMIN126471-17	<i>Hypostomus pusarum</i>	Sem informação	Sem informação
GBMIN132220-17	<i>Hypostomus pusarum</i>	Sem informação	Sem informação
GBMIN97012-1	<i>Hypostomus pusarum</i>	Sem informação	Sem informação
MNCE203-17	<i>Hypostomus pusarum</i>	Rio Paraíba, vazante da barragem Epitacio Pessoa	Bacia do Rio Paraíba
MNCE204-17	<i>Hypostomus pusarum</i>	Açude da ESEC do Serido, Serra Negra	Bacia do Rio Piranhas-Açu
MNCE205-17	<i>Hypostomus pusarum</i>	Açude da ESEC do Serido, Serra Negra	Bacia do Rio Piranhas-Açu
FUPR556-09	<i>Hypostomus regani</i>		Bacia do Alto Paraná
FUPR575-09	<i>Hypostomus regani</i>	Paraná	Bacia do Alto Paraná
FUPR576-09	<i>Hypostomus regani</i>	Paraná	Bacia do Alto Paraná
PDCAP253-14	<i>Hypostomus regani</i>	Rio Congonhas, Rio Tibagi	Bacia do Alto Paraná
PRP108-16	<i>Hypostomus regani</i>	Rio Tibagi, Rio Paranapanema	Bacia do Alto Paraná
FUPR564-09	<i>Hypostomus strigaticeps</i>		Bacia do Alto Paraná
FUPR860-09	<i>Hypostomus strigaticeps</i>		Bacia do Alto Paraná

<b>BOLD</b>	<b>Espécie (Bold)</b>	<b>Rio/Localidade</b>	<b>Bacia Hidrográfica</b>
FUPR868-09	<i>Hypostomus strigaticeps</i>		Bacia do Alto Paraná
FUPR869-09	<i>Hypostomus strigaticeps</i>		Bacia do Alto Paraná
FUPR879-09	<i>Hypostomus strigaticeps</i>		Bacia do Alto Paraná
FUPR880-09	<i>Hypostomus strigaticeps</i>		Bacia do Alto Paraná
FUPR976-09	<i>Hypostomus strigaticeps</i>	Paraná	Bacia do Alto Paraná
FUPR977-09	<i>Hypostomus strigaticeps</i>	Paraná	Bacia do Alto Paraná
GBGCA2797-13	<i>Hypostomus strigaticeps</i>	Córrego Hortelã	Bacia do Rio Paranapanema
GBGCA2798-13	<i>Hypostomus strigaticeps</i>	Córrego Hortelã	Bacia do Rio Paranapanema
PDCAP254-14	<i>Hypostomus strigaticeps</i>	Rio Congonhas, Rio Tibagi	Bacia do Alto Paraná
FUPR565-09	<i>Hypostomus topavae</i>	São Paulo	Bacia do Alto Paraná
FUPR566-09	<i>Hypostomus topavae</i>	São Paulo	Bacia do Alto Paraná
FUPR567-09	<i>Hypostomus topavae</i>	São Paulo	Bacia do Alto Paraná

Fonte: Elaborada pelo autor (2019).