



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE ESTUDOS COSTEIROS
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

VINÍCIUS CUNHA GORDO

**DNA BARCODING REVELA DIVERSIDADE MOLECULAR NA ESPÉCIE *Eleotris*
melanosoma Bleeker, 1853 (ELEOTRIDAE: GOBIIFORMES)**

BRAGANÇA-PARÁ

2026

VINÍCIUS CUNHA GORDO

DNA BARCODING REVELA DIVERSIDADE MOLECULAR NA ESPÉCIE *Eleotris melanosoma* Bleeker, 1853 (ELEOTRIDAE: GOBIIFORMES)

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Faculdade de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Pará – UFPA, Campus Universitário de Bragança como requisito final para obtenção do título de Graduado em Licenciatura Plena em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Nazareno Vallinoto de Souza, UFPA, Campus Bragança, Instituto de Estudos Costeiros.

Coorientadora: Prof. Dra. Aurycéia Jaquelyne Guimarães da Costa, AFYA, Campus Bragança, Faculdade de Ciências Médicas.

BRAGANÇA-PA

2026

VINÍCIUS CUNHA GORDO

DNA BARCODING REVELA DIVERSIDADE MOLECULAR NA ESPÉCIE *Eleotris melanosoma* Bleeker, 1853 (ELEOTRIDAE: GOBIIFORMES)

Data da aprovação: 16/07/2026

Conceito: EXCELENTE

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcelo Nazareno Vallinoto
Orientador – Instituto de Estudos
Costeiros/Universidade Federal do Pará

Profa. Dra. Aurycéia Jaquelyne Guimarães da Costa
Coorientadora – Afya Faculdade de Ciências Médicas

Ma. Carla Denise Bessa de Brito
Examinadora - Instituto de Estudos
Costeiros/Universidade Federal do Pará

Ma. Wanny Pâmela Gomes de Lima
Examinadora - Instituto de Estudos
Costeiros/Universidade Federal do Pará

BRAGANÇA-PA

2026

DEDICATÓRIA

À minha família, por tornar leve o peso dos caminhos, transformando cada obstáculo em motivo para seguir adiante. E, sobretudo, à minha mãe, Elida Fernandes, cujo amor imensurável permanece como luz constante, guiando-me mesmo quando o horizonte parecia distante.

AGRADECIMENTOS

À minha família, meu primeiro lar e refúgio constante, agradeço por ter sustentado meus passos quando o caminho parecia longo demais. Aos meus pais, pelo amor, pelos ensinamentos e por todos os esforços silenciosos que tornaram possível a minha formação. Em especial, à minha mãe, Elida Fernandes, por nunca deixar que me faltassem esperança, coragem ou afeto.

À minha coorientadora, Prof^ª. Dra. Aurycéia Jaquelyne Guimarães da Costa, expresso minha profunda gratidão. Este trabalho não existiria da forma como existe sem sua dedicação, paciência e confiança. Ao longo desse percurso, tive a oportunidade de aprender com sua competência, dedicação e generosidade, além de construir uma amizade que tornou essa caminhada ainda mais significativa.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcelo Nazareno Vallinoto de Souza, agradeço pela confiança depositada e por viabilizar a realização deste trabalho.

À Universidade Federal do Pará, ao Instituto de Estudos Costeiros (IECOS), à Faculdade de Ciências Biológicas e a todos os professores que fizeram parte da minha formação, agradeço pelos conhecimentos compartilhados, pelas oportunidades oferecidas e pelo compromisso com a ciência e a educação.

À minha grande amiga e companheira de graduação, Glória Maria, deixo um agradecimento que dificilmente caberia em palavras. Dividimos muito mais do que disciplinas, seminários, estágios e trabalhos; dividimos desafios, alegrias, medos, conquistas e uma parte importante da vida. Seu afeto, sua amizade e seu incentivo tornaram os dias mais difíceis mais leves. A universidade jamais teria sido a mesma sem você.

À Jenny Luz, Beatriz Oliveira, Alessandro Gabriel, Iasmin Mufarrej, Joyce Lima, Júlia Fernanda e Jamilly Pereira, dedico meu mais profundo agradecimento. Como bem canta Milton Nascimento, *"amigo é coisa para se guardar debaixo de sete chaves, dentro do coração"*, e é assim que guardarei cada um de vocês. Ao longo dessa etapa da minha vida, dividimos momentos inesquecíveis, desafios, conquistas e muitas alegrias. A amizade e o afeto de vocês foram meu porto seguro.

Em *O Senhor dos Anéis*, J.R.R. Tolkien nos ensina que nenhuma grande jornada é vencida pelo esforço de um único indivíduo, mas pela união, pela lealdade e pela força de uma verdadeira sociedade. Esta conquista é coletiva. Chegar até aqui só foi possível porque tive o

privilégio de caminhar ao lado de pessoas que, com apoio, incentivo e amizade, tornaram esse percurso mais leve e significativo. A todos vocês, minha mais sincera gratidão.

EPÍGRAFE

*"Eu tenho o dom de ir além, vou é correr,
O que tiver pra ver, eu quero ter."*

— Marina Sena, *Voltei Pra Mim*.

RESUMO

A família Eleotridae compreende peixes anfidromos conhecidos como "*sleepers*", cuja identificação taxonômica é historicamente complexa devido ao extremo conservadorismo morfológico e à ocorrência de espécies crípticas. O objetivo deste estudo foi diagnosticar o status taxonômico de diferentes populações de *Eleotris melanosoma* por meio de DNA Barcoding e da delimitação automatizada de espécies. Sequências do gene mitocondrial Citocromo C Oxidase Subunidade I (COI), totalizando um alinhamento de 573 pares de bases (pb) e abrangendo 14 espécies do gênero *Eleotris*, foram obtidas de bancos de dados públicos e analisadas por meio do método de agrupamento de Neighbor-Joining (K2P) e do algoritmo *Automatic Barcode Gap Discovery* (ABGD). A análise de distribuição de distâncias genéticas revelou um padrão bimodal marcante, evidenciando um hiato de código de barras (*barcode gap*) bem definido que estabeleceu um consenso estável de 20 Unidades Taxonômicas Operacionais Moleculares (MOTUs) para o gênero. A topologia filogenética demonstrou que *E. melanosoma* não compõe um clado homogêneo, dividindo-se em três linhagens geneticamente divergentes e geograficamente estruturadas: a Linhagem 1, correspondente a espécimes da Indonésia e Palau (divergência intraespecífica de 0,43%); a Linhagem 2, que abrange indivíduos da Polinésia Francesa e Ilhas Salomão, apresentando a maior divergência interna (1,3%); e a Linhagem 3, vinculada ao complexo *Eleotris diamsoi* na região de Madagascar, Mayotte e África do Sul (0,15%). A divergência genética interespecífica par a par (distância p) dentro do complexo atingiu 5,4% entre as Linhagens 1 e 2, e até 7,3% em relação à Linhagem 3, confirmando a existência de espécies crípticas sob o morfotipo clássico de *E. melanosoma*. Adicionalmente, as análises recuperaram clusters estruturados para *Eleotris fusca* e mantiveram as sequências de *Eleotris perniger* agregadas em uma única MOTU, embora sob uma divergência intraespecífica relativamente alta de 1,3%, sugerindo um processo de diferenciação geográfica incipiente ou fluxo gênico residual. Os resultados confirmam a robustez do gene COI combinado ao algoritmo ABGD como ferramentas moleculares fundamentais para refinar hipóteses evolutivas e guiar uma abordagem taxonômica integrativa na família Eleotridae.

Palavras-chave: Espécies crípticas. Taxonomia Integrativa. COI. ABGD. Diversidade. Delimitação de espécies.

ABSTRACT

The family Eleotridae comprises amphidromous fishes commonly known as "sleepers", whose taxonomic identification is historically complex due to extreme morphological conservatism and the occurrence of cryptic species. The objective of this study was to diagnose the taxonomic status of different populations of *Eleotris melanosoma* through DNA Barcoding and automated species delimitation. Sequences of the mitochondrial Cytochrome C Oxidase Subunit I (COI) gene, totaling an alignment of 573 base pairs (bp) and encompassing 14 species of the genus *Eleotris*, were retrieved from public databases and analyzed using the Neighbor-Joining (K2P) clustering method and the Automatic Barcode Gap Discovery (ABGD) algorithm. The distribution analysis of genetic distances revealed a striking bimodal pattern, showing a well-defined barcode gap that established a stable consensus of exactly 20 Molecular Operational Taxonomic Units (MOTUs) for the genus. The phylogenetic topology demonstrated that *E. melanosoma* does not compose a single homogeneous clade, dividing instead into three genetically divergent and geographically structured lineages: Lineage 1, corresponding to specimens from Indonesia and Palau (intra-specific divergence of 0.43%); Lineage 2, which encompasses individuals from French Polynesia and Solomon Islands, presenting the highest internal divergence (1.3%); and Lineage 3, linked to the *Eleotris diamsoi* complex in the region of Madagascar, Mayotte, and South Africa (0.15%). The inter-specific pairwise genetic divergence (p-distance) within the complex reached 5.4% between Lineages 1 and 2, and up to 7.3% in relation to Lineage 3, confirming the existence of cryptic species under the classical morphotype of *E. melanosoma*. Additionally, the analyses recovered structured clusters for *Eleotris fusca* and kept the sequences of *Eleotris perniger* aggregated into a single MOTU, albeit under a relatively high intra-specific divergence of 1.3%, suggesting an incipient geographic differentiation process or residual gene flow. The results confirm the robustness of the COI gene combined with the ABGD algorithm as fundamental molecular tools to refine evolutionary hypotheses and guide an integrative taxonomic approach within the family Eleotridae.

Keywords: Cryptic species. Integrative taxonomy. COI. ABGD. Diversity. Species delimitation.

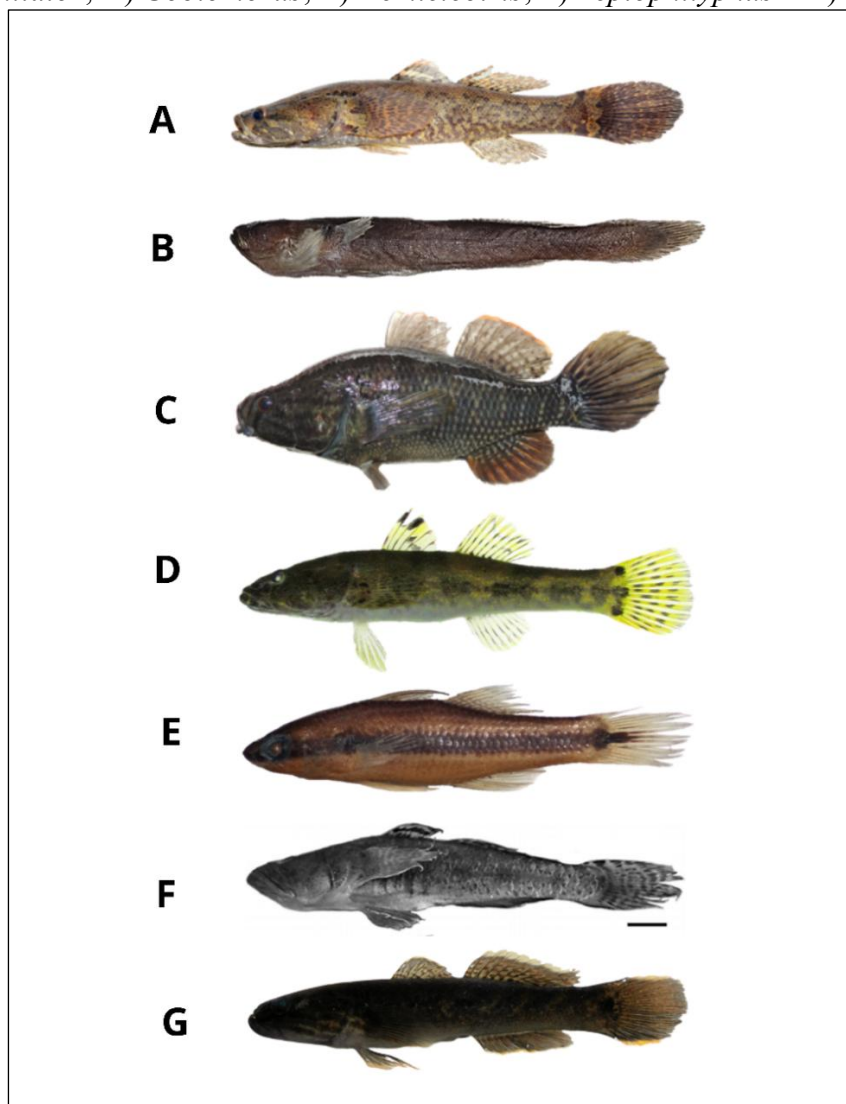
SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	1
JUSTIFICATIVA	5
OBJETIVOS	6
Objetivo Geral	6
Objetivos Específicos	6
MATERIAL E MÉTODOS	7
Análise das sequências	7
Análise de Delimitação de Espécies	7
RESULTADOS	8
Delimitação de espécies	8
DISCUSSÃO	12
CONCLUSÃO	14
REFERÊNCIAS	14
APÊNDICES	18

1. INTRODUÇÃO

Eleotridae (Bonaparte, 1835) é uma família de peixes pertencentes à ordem Gobiiformes e à subordem Gobioidi (NELSON *et al.*, 2016; FRICKE *et al.*, 2026) (Figura 1). Na literatura inglesa, os representantes da família são comumente conhecidos como *sleepers*, em referência ao comportamento de permanecerem relativamente imóveis sobre o substrato (MURDY; HOESE, 2002). Atualmente, esse grupo compreende a terceira família mais especiosa dentro dos gobioides, com 153 espécies organizadas em 22 gêneros válidos, ocupando uma posição de destaque em termos de diversidade, após Gobiidae e Oxudercidae (THACKER *et al.*, 2023; FRICKE, ESCHMEYER, VAN DER LAAN, 2026).

Figura 1. Representantes de alguns gêneros da família Eleotridae. Legenda: A) *Eleotris*; B) *Erotelis*; C) *Dormitator*; D) *Gobiomorus*; E) *Hemieleotris*; F) *Leptophilypnus* e G) *Guavina*.



Fonte: A. Guimarães-Costa e Arturo Angulo.

Os eleotrídeos possuem uma distribuição ampla e circumglobal, ocorrendo predominantemente em habitats costeiros, como manguezais, estuários e rios tropicais e subtropicais das regiões Afrotropical, do Índio-Pacífico e dos Neotrópicos (YOKOO *et al.*, 2006; GUIMARÃES-COSTA, 2016). Esses peixes apresentam um ciclo de vida anfídromo, caracterizado pela desova em água doce, seguida pela dispersão das larvas para o mar, onde passam por uma fase pelágica. Após esse estágio, as pós-larvas retornam aos rios, onde se desenvolvem até a fase adulta e completam o ciclo reprodutivo (MAEDA & TACHIARA, 2005; JARVIS *et al.*, 2018). Essa adaptação permite que os eleotrídeos ocupem tanto habitats dulcícolas quanto salobros (ARÉCHIGA-PALOMERA *et al.*, 2022).

Do ponto de vista morfológico, os eleotrídeos distinguem-se dos demais gobiídeos principalmente por apresentarem as nadadeiras pélvicas separadas, sendo o principal caráter diagnóstico que define a família e a diferencia dos Gobiidae. Outras características gerais incluem um corpo robusto, cabeça curta e larga, escamas grandes do tipo ciclóide ou ctenóide e linha lateral reduzida, substituída por fileiras de neuromastos livres (MURDY & HOESE, 1978). Entretanto, a identificação de espécies permanece desafiadora devido à conservação morfológica dentro da família (PEZOLD & CAGE, 2002) e à ocorrência de espécies crípticas (GUIMARÃES-COSTA *et al.*, 2017; MENNESSON & KEITH, 2017; THACKER *et al.*, 2023; UNMACK *et al.*, 2023).

As espécies do gênero *Eleotris* não são facilmente distinguíveis com base somente na morfologia, somente a combinação dos caracteres merísticos, como o número de escalas laterais e o padrão de neuromastos cefálicos podem permitir a distinção das espécies (PEZOLD & CAGE, 2002) (Figura 2).

Figura 2. Região cefálica das espécies *Eleotris perniger* e *Eleotris amblyopsis*. A comparação entre as imagens mostra os poros suborbitais destacados em pontos brancos, formando diferentes padrões de acordo com cada espécie.

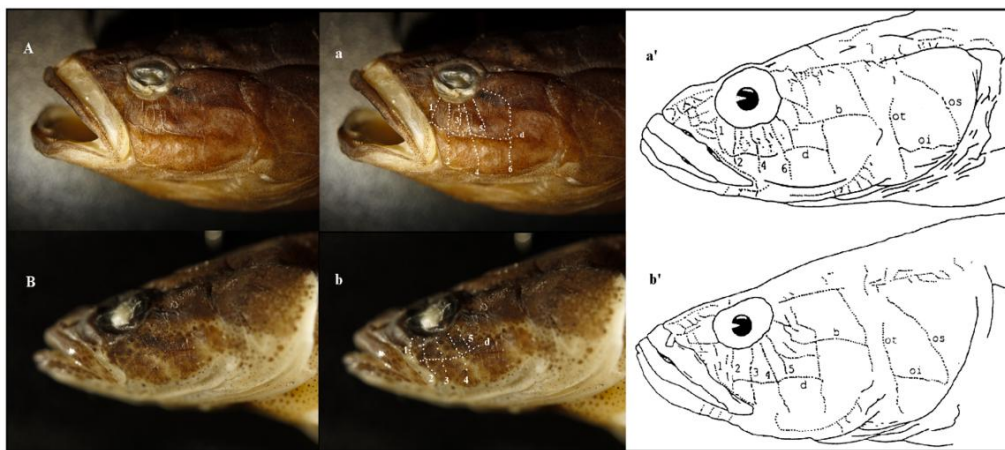


Foto: Aurycéia Guimarães. Esquema desenhado: Cedido pelos autores Pezold & Cage (2002).

Diante dessas limitações morfológicas, estudos moleculares têm revelado uma diversidade oculta como espécies morfológicamente indistinguíveis em diferentes gêneros de Eleotridae, evidenciando as limitações da taxonomia morfológica e reforçando a necessidade de abordagens complementares para uma classificação mais robusta, especialmente na distinção de espécies crípticas (GUIMARÃES-COSTA et al., 2016; GUIMARÃES-COSTA et al., 2017; MENNESSON et al., 2018; MENNESSON; KEITH, 2020; THACKER et al., 2023; ABDULMALIK-LABE; QUILANG, 2024).

Entre os 22 gêneros pertencentes à família Eleotridae, o gênero *Eleotris* compreende atualmente 24 espécies válidas (FRICKE; ESCHMEYER; VAN DER LAAN, 2026). Entre elas, destaca-se *Eleotris melanosoma* Bleeker, 1853 (Figura 4), espécie considerada amplamente distribuída na região do Indo-Pacífico, com registros em ambientes dulcícolas, salobros e marinhos do Oceano Índico Oriental e Pacífico Ocidental (FRICKE; ESCHMEYER; VAN DER LAAN, 2026). Entretanto, revisões taxonômicas recentes baseadas em evidências morfológicas demonstraram que a distribuição de *E. melanosoma*, em sentido estrito, é mais restrita do que se acreditava anteriormente, estando limitada ao Oceano Pacífico, com registros confirmados na Indonésia, Filipinas, Taiwan, Papua-Nova Guiné, Ilhas Salomão e Nova Caledônia, enquanto parte dos espécimes anteriormente identificados como *E. melanosoma* foi posteriormente atribuída a outros táxons (MENNESSON; KEITH, 2020; MENNESSON et al., 2021).

Figura 3. Distribuição geográfica de *Eleotris melanosoma* sensu stricto no Oceano Pacífico. Os pontos vermelhos representam os registros confirmados da espécie na Indonésia, Filipinas, Taiwan, Papua-Nova Guiné, Ilhas Salomão e Nova Caledônia.



Fonte: Elaborado pelo autor com base em Mennesson *et al.* (2021).

Figura 4. *Eleotris melanosoma*, proveniente de Bali, Indonésia (58 mm comprimento padrão).



Fonte: N. Hubert.

A espécie é frequentemente encontrada em estuários e nos trechos inferiores e médios de rios costeiros, associados a substratos arenosos, lodosos ou rochosos sob influência das marés (MENNESSON *et al.*, 2021). Morfologicamente, caracteriza-se por apresentar corpo alongado, cabeça deprimida e padrão característico de neuromastos cefálicos 2.3.4 (AKIHITO, 1967), caracteres importantes para a distinção entre espécies do gênero (MENNESSON *et al.*, 2021). Apesar disso, a elevada semelhança morfológica entre representantes de *Eleotris* dificultou, durante décadas, a delimitação taxonômica de *E. melanosoma*. Nesse contexto, revisões taxonômicas revelaram que o complexo *E. melanosoma* abriga diversidade genética previamente não reconhecida, possibilitando a delimitação de novas espécies e o reconhecimento de linhagens geneticamente distintas, o que reforça a importância da utilização de ferramentas moleculares, como o DNA Barcoding, na identificação e delimitação

taxonômica de espécies do gênero *Eleotris* (MENNESSON; KEITH, 2020; MENNESSON et al., 2021; SAHAMI; HABIBIE, 2021).

Nesse cenário, o DNA Barcoding destaca-se como uma ferramenta molecular padronizada revolucionária para identificação precisa de espécies, utilizando um fragmento curto e padronizado do gene mitocondrial Citocromo C Oxidase Subunidade I (COI). Esse fragmento, com cerca de 650 pares de base (pb), contém informações genéticas únicas que permitem diferenciar espécies com base nas variações em suas sequências nucleotídicas (HEBERT *et al.*, 2003; DESALLE & GOLDSTEIN, 2019). O gene COI vem sendo o marcador mais utilizado em peixes por sua universalidade, alta taxa de evolução mitocondrial e capacidade de discriminar espécies próximas com divergências interespecíficas de 2-5%, superando a variação intraespecífica inferior a 1% (WARD et al., 2005; MACIEL, 2021). Agregado ao DNA Barcoding, alguns métodos moleculares estão disponíveis para a delimitação automática de espécies com base em dados de um único locus, destacando o *Automatic Barcode Gap Discovery* (ABGD) (PUILLANDRE et al., 2012), um método que, baseado em limiares específicos de similaridade de sequências, identifica automaticamente a distância em que se localiza *barcode gap*, particionando o conjunto de dados em espécies candidatas.

2. JUSTIFICATIVA

A correta identificação das espécies e o mapeamento da biodiversidade global constituem pilares fundamentais para a ecologia, evolução e conservação ambiental. No entanto, a determinação taxonômica de peixes da ordem Gobiiformes, particularmente dentro da família Eleotridae, tem se mostrado historicamente complexa. O gênero *Eleotris* compreende peixes carnívoros amplamente distribuídos em sistemas estuarinos e de águas doces tropicais e subtropicais, exercendo papel ecológico central nesses ecossistemas. Apesar de sua relevância, a diagnose morfológica tradicional desses táxons enfrenta severas limitações em função de um conservadorismo fenotípico extremo, onde variações merísticas sobrepostas, a degradação de caracteres em espécimes fixados e a sutil diferenciação nos padrões de neuromastos cefálicos frequentemente mascaram a real riqueza de espécies crípticas e endêmicas.

Essa problemática reflete-se diretamente no cenário global de conservação. Espécies de ampla distribuição geográfica no Indo-Pacífico, como *Eleotris melanosoma*, vêm sendo tratadas pela comunidade científica como linhagens homogêneas, quando, na verdade, estudos taxonômicos e filogeográficos recentes têm demonstrado que esses morfotipos ocultam uma

expressiva diversidade evolutiva e linhagens independentes isoladas por barreiras biogeográficas. A incompreensão dessa diversidade oculta gera sérias implicações práticas: status de ameaça e listas vermelhas de extinção (IUCN) tornam-se imprecisos ao aglutinar múltiplas entidades biológicas sob um único nome taxonômico, negligenciando o manejo adequado de espécies raras ou de endemismo restrito.

Diante desse cenário de incerteza taxonômica, este estudo evidencia a necessidade de aplicar e validar ferramentas moleculares robustas e reprodutíveis, como a aplicação da região do gene COI (DNA Barcoding) combinado com algoritmos automatizados de delimitação de espécies (*Automatic Barcode Gap Discovery* - ABGD), para testar limites biológicos e refinar hipóteses evolutivas no gênero *Eleotris*.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

O objetivo deste estudo é diagnosticar o status taxonômico de diferentes populações de *Eleotris melanosoma* por meio de DNA Barcoding e da delimitação automática de espécies, utilizando uma abordagem comparativa com as demais espécies do gênero *Eleotris*.

3.2. Objetivos Específicos

- Obter sequências de DNA barcode (gene COI) de espécimes de *Eleotris* por meio de mineração de dados em bancos públicos (como GenBank e BOLD Systems), abrangendo diferentes localidades de sua área de distribuição;
- Calcular as distâncias genéticas intra e interespecíficas (distância p) para avaliar a existência e a magnitude do *barcode gap* (intervalo de código de barras) nas populações analisadas;
- Executar o algoritmo de delimitação baseado em distância ABGD (*Automatic Barcode Gap Discovery*) para identificar o número de Unidades Taxonômicas Operacionais Moleculares (MOTUs) dentro do gênero;
- Avaliar o status taxonômico e a distribuição geográfica das MOTUs identificadas para o complexo *Eleotris melanosoma*, validando a ocorrência de linhagens evolutivas independentes e potenciais espécies crípticas dentro deste táxon.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Análise das sequências

As sequências utilizadas nas análises foram obtidas dos bancos de dados BOLD Systems (<http://boldsystems.org/>) e GenBank (<http://ncbi.nlm.nih.gov/>). O conjunto de dados compreendeu 14 espécies reconhecidas para o gênero *Eleotris*, cuja distribuição abrange as regiões do Atlântico Noroeste e Região do Caribe, incluindo parte do Mar do Caribe, Golfo do México, costa da América Central, norte da América do Sul e o sudeste dos Estados Unidos; Pacífico Oriental Tropical, incluindo costa ocidental das Américas Central e do Sul; Indo-Pacífico Central e Ocidental e Pacífico Sudoeste, incluindo norte e leste da Austrália.

O alinhamento das sequências foi realizado de forma automática no software Geneious v8.0.5 (KEARSE et al., 2012). A estimativa da divergência intraespecífica considerou apenas sequências com identificação taxonômica confirmada em nível de espécie, sendo excluídos os registros identificados apenas em nível de gênero ou família. A matriz de sequências e a árvore filogenética pelo método *Neighbor-Joining* (SAITOU & NEI, 1987) foram construídas no MEGA 12 (KUMAR et al., 2024), empregando o modelo de substituição Kimura 2-parâmetros (K2P) (KIMURA, 1980). A robustez dos agrupamentos foi avaliada por meio de uma análise de bootstrap com 1.000 pseudorréplicas. As espécies *Guavina guavina*, *Erotelis smaragdus*, *Dormitator maculatus* e *Microphilypnus*, todos da família Eleotridae, foram alocados como *outgroup*.

Por fim, a árvore filogenética resultante foi visualizada, editada graficamente e exportada utilizando o software FigTree v1.4.4 (RAMBAUT, 2018).

4.2. Análise de Delimitação de Espécies

Para este estudo, foi aplicado o método de delimitação de espécie ABGD, o qual foi executado através da interface integrada do pacote iTaxoTools (v.1.0; STEINFARTZ et al., 2022). Como matriz de entrada, utilizou-se o alinhamento de sequências do gene COI em formato FASTA, sendo as distâncias genéticas par a par calculadas internamente sob o modelo de substituição nucleotídica de dois parâmetros de Kimura (K2P), com uma razão de transição/transversão (ts/tv) fixada em 2.0. Os parâmetros de busca do algoritmo foram configurados com valores de divergência intraespecífica *a priori* (P), variando entre um mínimo (P_{min}) de 0,0010 e um máximo (P_{max}) de 0,1000, distribuídos em 10 estágios filogenéticos. O parâmetro de largura relativa do hiato foi ajustado para $X = 1,0$ para otimizar a sensibilidade de

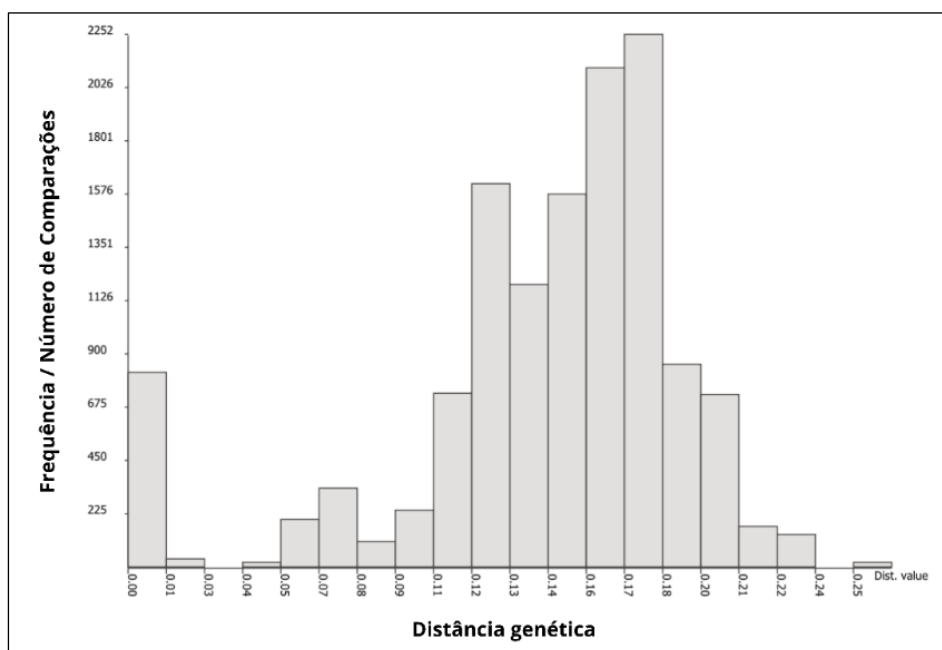
detecção do *barcode gap*, enquanto os demais parâmetros do programa foram mantidos sob as configurações padrão. As partições resultantes foram avaliadas quanto à sua estabilidade ao longo do gradiente de *P* para a definição do número final de unidades taxonômicas operacionais moleculares (MOTUs).

5. RESULTADOS

5.1. Delimitação de espécies

O conjunto de dados de gene COI foi composto por 573 pares de bases (pb). As figuras 5 e 6 mostram os resultados da análise do método ABGD. A análise de distribuição das distâncias genéticas por este método revelou um padrão bimodal marcante, caracterizado por um *gap* de código de barras (*barcode gap*) bem definido (Figura 5). O primeiro pico acumulou-se estritamente abaixo de 0,01, refletindo baixos índices de divergência intraespecífica, enquanto o bloco subsequente evidenciou distâncias interespecíficas expressivas distribuídas predominantemente entre 0,11 e 0,20.

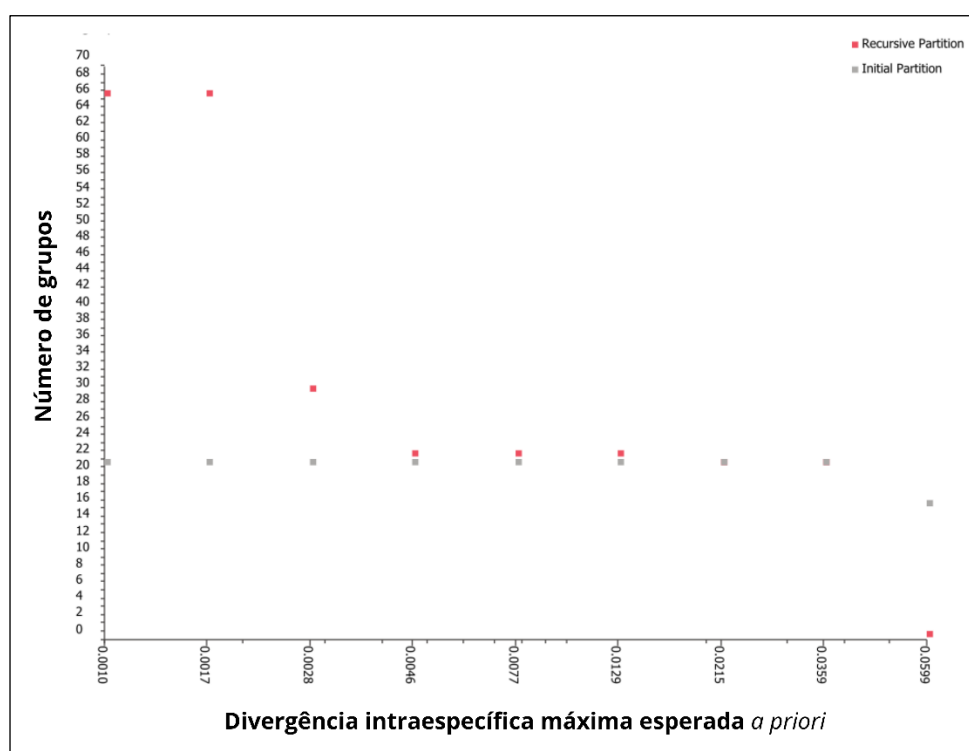
Figura 5. Histograma de frequências de distâncias genéticas pareadas para o gene COI em espécimes de *Eleotris*, baseadas no modelo de substituição Kimura 2-parâmetros (K2P). O eixo vertical representa o número de comparações e o eixo horizontal a distância genética.



Fonte: Imagem obtida dos resultados do método ABGD no programa iTaxoTools (v.1.0)

Essa clara separação foi corroborada pela análise de delimitação primária sob a configuração de $X=1.0$ na qual a partição inicial (*Initial Partition*) demonstrou estabilidade notável, fixando um consenso de exatamente 20 grupos taxonômicos moleculares operacionais (MOTUs) para o gênero *Eleotris* ao longo de uma ampla janela de divergência genética *a priori* ($P= 0,0010$ a $0,0129$). Embora a partição recursiva (*Recursive Partition*) tenha indicado uma intensa fragmentação populacional em valores extremamente baixos de P ($0,0010$) e $0,0017$, a mesma convergiu em direção ao modelo principal a partir de $P= 0,0046$ validando a robustez estatística e a confiabilidade do gene COI na discriminação das 20 linhagens moleculares identificadas.

Figura 6. Distribuição gráfica do número de grupos estimados pelo programa ABGD para o marcador mitocondrial COI em *Eleotris*. O eixo vertical indica a quantidade de grupos delimitados e o eixo horizontal exibe os valores de divergência máxima *a priori*. Quadrados cinzas detalham os resultados da partição inicial, enquanto os quadrados vermelhos indicam a estabilidade dos subgrupos via partição recursiva.



Fonte: Imagem obtida dos resultados do método ABGD no programa iTaxoTools (v.1.0).

A árvore de Neighbor-Joining baseada nestas sequências recuperou agrupamentos bem definidos para a maior parte das espécies de *Eleotris*, indicando que esse marcador apresentou

boa capacidade para discriminar espécies do gênero (Figura 7). Espécies como *E. fusca*, *E. perniger*, *E. pisonis*, *E. amblyopsis*, *E. oxycephala*, *E. acanthopoma*, *E. sumatraensis* e *E. lutea* formaram clados próprios, evidenciando diferenciação genética interespecífica.

A topologia evidenciou que os indivíduos de *Eleotris melanosoma* não se agruparam em um único clado homogêneo. Em vez disso, as sequências foram distribuídas em três diferentes clusters geneticamente distintos, os quais apresentaram, em grande parte, associação com sua origem geográfica: *Eleotris melanosoma* Linhagem 1, incluindo sequências de espécimes da Indonésia e Palau (Indo-Pacífico Ocidental) (ver cluster destacado em verde na topologia); *Eleotris melanosoma* Linhagem 2, que incluiu sequências de espécimes da Polinésia Francesa (Pacífico Central) e Ilhas Salomão (Indo-Pacífico Ocidental) (cluster azul); *Eleotris melanosoma* Linhagem 3, proveniente da África do Sul, Mayotte e Madagascar (cluster alaranjado). Esta última linhagem está identificada no BoldSystems e GenBank como *Eleotris melanosoma*, no entanto, ela faz parte de complexo *Eleotris diamsoi*.

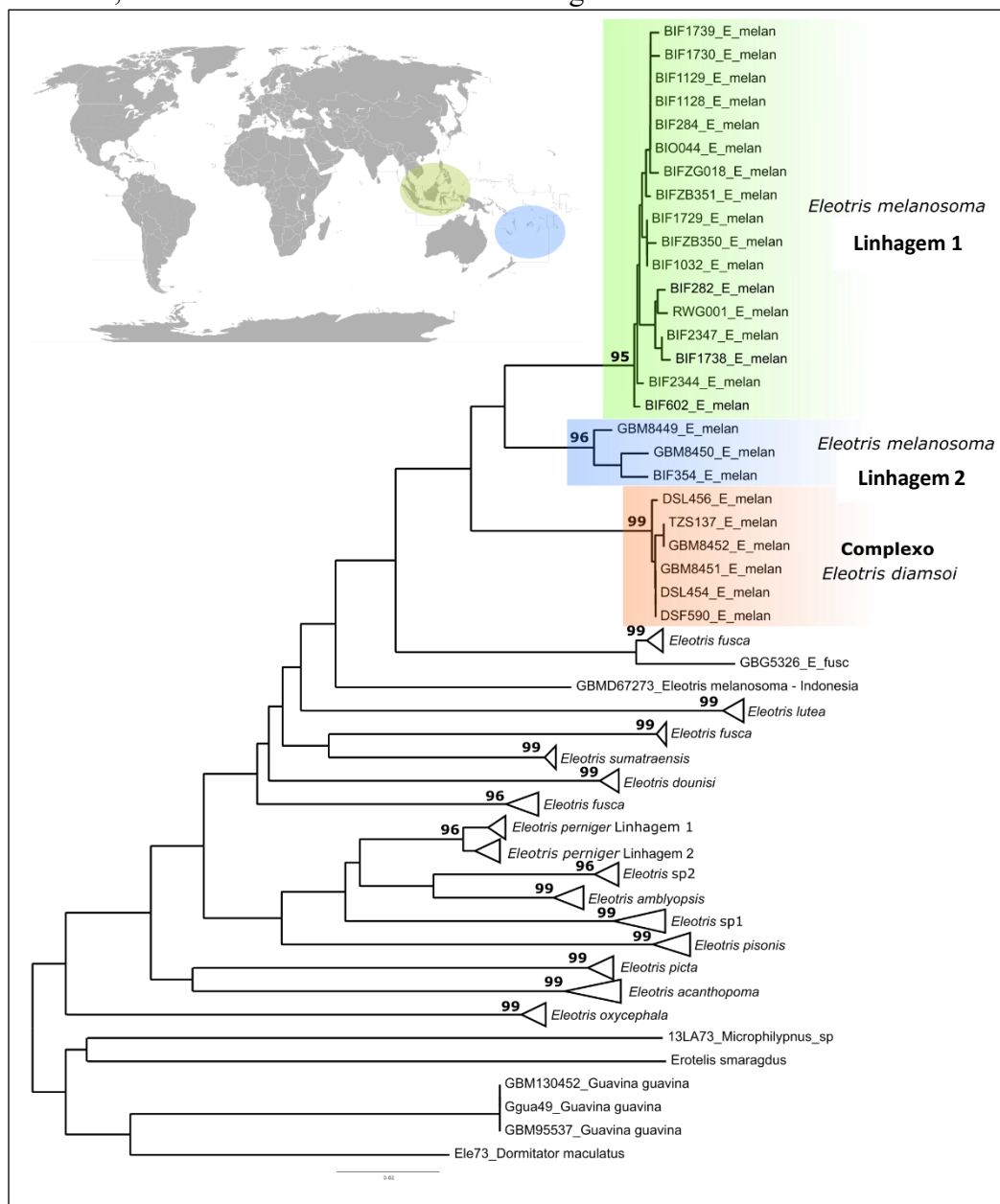
Em termos de divergências nucleotídicas, no complexo *Eleotris melanosoma*, a linhagem 2 apresentou o maior valor intraespecífico do grupo (1,3%), contrastando com os índices mais baixos das linhagens 1 (0,43%) e 3 (0,15%).

A análise das divergências genéticas interespecíficas (*p-distance*), revelou uma clara divergência evolutiva entre as diferentes linhagens de *Eleotris melanosoma* e as demais espécies do gênero *Eleotris* (Tabela 1 – nos APÊNDICES). Dentro do complexo, *E. melanosoma* Linhagem 1 apresentou divergência genética de 5,4% em relação à Linhagem 2 (a menor divergência observada entre os *Eleotris*), e de 7,3% em relação à Linhagem 3. Já a Linhagem 2 evidenciou divergência genética de 6,7% em relação à Linhagem 3.

Quando confrontadas com o restante do gênero, as linhagens de *E. melanosoma* mantiveram distâncias consistentemente elevadas, com destaque para o valor da divergência genética de *Eleotris oxycephala* e *E. melanosoma* Linhagem 2, que registrou o maior índice (21,7%).

A eficiência do gene COI como marcador de delimitação molecular para o complexo *Eleotris melanosoma* foi confirmada pela clara evidência do *barcoding gap*. A maior distância genética intraespecífica registrada foi de 1,3% (Linhagem 2), valor significativamente inferior à menor distância interespecífica observada no grupo, que foi de 5,4% entre as Linhagens 1 e 2.

Figura 7. Árvore filogenética parcial (*Neighbor-Joining/K2P*) do gene COI para o complexo *Eleotris melanosoma* associada à sua distribuição geográfica. À direita, clados coloridos destacam as diferentes linhagens moleculares delimitadas, com valor de *bootstrap* indicado no nó (95%). À esquerda, o mapa mundi delimita geograficamente, por meio de elipses correspondentes, as áreas de ocorrência de cada linhagem no Indo-Pacífico.



Fonte: Topologia produzida no programa MEGA 12 e editada nos programas FigTree v1.4.4 e InkScape (<https://inkscape.org/>).

6. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste estudo confirmam, de forma robusta, a existência de uma expressiva diversidade oculta no número de espécies do gênero *Eleotris*, corroborando a tendência amplamente documentada na literatura de que a real riqueza de táxons na família Eleotridae permanece subestimada (PEZOLD & CAGE, 2001; GUIMARÃES-COSTA et al., 2016a, 2016b; UNMACK et al. 2023).

Mennesson et al. (2021) confirmaram *E. melanosoma* como uma espécie restrita ao Oceano Pacífico (com ocorrência registrada em locais como Sumatra, Java, Bali, Ceram, Filipinas, Taiwan, Papua, Papua-Nova Guiné, Ilhas Salomão e Nova Caledônia). Este estudo foi baseado em caracteres morfológicos, e *E. melanosoma* foi diagnosticado pelo padrão de neuromastos suborbitais do tipo '2.3.4' (onde a segunda, terceira e quarta fileiras estendem-se ventralmente além da fileira horizontal *d*) e por um padrão opercular fechado (fileira *os* conectada com a fileira *oi*). Meristicamente, apresenta de 16–17 raios na nadadeira peitoral, 45–52 escamas na série lateral e 37–44 escamas na série pré-dorsal.

No presente estudo, nossa topologia filogenética a partir da análise molecular do gene mitocondrial COI revelou que os indivíduos identificados como *Eleotris melanosoma* não compõem um clado homogêneo, mas dividem-se em três clusters geneticamente divergentes e geograficamente associados. A Linhagem 1 (Indonésia/Palau) e a Linhagem 2 (Polinésia Francesa/Ilhas Salomão) apresentaram uma divergência interespecífica mútua de 5,4%, um valor substancialmente elevado que reflete o isolamento evolutivo gerado pelo estilo de vida anfídromo e pela restrita conectividade pelágica em ambientes de águas abertas, como observado no estudo de Mennesson et al. (2021). Essa acentuada diferenciação nucleotídica evidenciada aqui (que atinge até 7,3% em relação à Linhagem 3, vinculada ao complexo *Eleotris diamsoi* do Oceano Índico) demonstra a ocorrência de espécies crípticas dentro do morfotipo clássico de *E. melanosoma*.

Esse cenário de conservação morfológica extrema, em que barreiras geográficas promovem especiação sem correspondente diferenciação fenotípica externa, assemelha-se ao reportado para populações neotrópicas de eleotrídeos, como nos gêneros *Gobiomorus* e *Dormitator* (PEZOLD & CAGE, 2001; GALVÁN-QUESADA et al. 2016; GUIMARÃES-COSTA et al. 2016), reafirmando que o conservadorismo morfológico é uma característica evolutiva intrínseca ao grupo e que mascara a verdadeira biodiversidade global dos Gobiiformes.

A detecção precisa desta descontinuidade evolutiva foi viabilizada pelo método ABGD, cuja aplicação demonstrou ser uma ferramenta altamente eficiente e de suma importância na taxonomia molecular moderna. Ao modelar os limites biológicos da divergência intraespecífica a priori, o algoritmo ABGD identificou um padrão bimodal marcante na matriz de distâncias genéticas *par-a-par*, revelando um *barcode gap* bem definido e fixando um consenso estável de 20 Unidades Taxonômicas Operacionais Moleculares (MOTUs) para o gênero *Eleotris*. A relevância dessa abordagem reside na sua capacidade de contornar as limitações da taxonomia morfológica tradicional, a qual frequentemente incorre em erros devido à sobreposição de caracteres merísticos e à degradação de neuromastos em espécimes fixados (GOMES et al. 2015; GARCÍA-MELO et al. 2019; GUIMARÃES-COSTA et al. 2020).

Conforme demonstrado teoricamente, métodos baseados em distância como o ABGD são computacionalmente rápidos (PUILLANDRE et al. 2012), não dependem da premissa de um modelo filogenético ou de especiação estrito (como o modelo de Yule exigido pelo GMYC), e conseguem delimitar com precisão linhagens evolutivas independentes, desde que haja uma amostragem populacional representativa por táxon. Assim, os resultados reforçam o papel central do ABGD como uma etapa inicial automatizada e reprodutível na formulação de hipóteses de espécies, servindo como base indispensável para uma abordagem taxonômica integrativa que unifique dados genéticos, biogeográficos e morfológicos.

Em nosso estudo, também recuperamos uma forte estruturação genética em agrupamentos distintos para a espécie *Eleotris fusca*. No entanto, a presença desses clusters em *E. fusca* já havia sido documentada e recuperada em estudos filogeográficos e taxonômicos anteriores (GUIMARÃES-COSTA et al. 2016; MENNESSON & KEITH, 2017; MENNESSON et al. 2018).

Nosso estudo também aborda os limites da divergência intraespecífica em linhagens de ampla distribuição no Atlântico Ocidental, conforme observado para a espécie *Eleotris perniger*. No estudo de Guimarães-Costa et al. (2016), a análise de dados mitocondriais indicou a separação dessa espécie em dois grupos distintos, evidenciando uma divergência nucleotídica de 1,3% entre o clado formado por espécimes do México (Veracruz) + Caribe (Belize, Barbados, Panamá e Porto Rico) e o clado composto por indivíduos do Espírito Santo, no sudeste do Brasil. Em contrapartida, no presente estudo, a análise automatizada do ABGD recuperou todas as sequências de *E. perniger* agregadas em uma única MOTU. No entanto, o algoritmo validou esse agrupamento sob uma divergência intraespecífica relativamente alta de

1,3%. Nossa hipótese é que haja a manutenção de um fluxo gênico residual ou um processo de diferenciação geográfica incipiente que, embora expressivo na matriz de distâncias intra e interespecífica, ainda não foi suficiente para estabelecer um *barcode gap* nítido capaz de fragmentar o táxon em entidades evolutivas totalmente independentes pelo método ABGD.

7. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo demonstraram a eficácia do uso de ferramentas moleculares na resolução de complexidades taxonômicas históricas na família Eleotridae.

Diante das análises moleculares do marcador mitocondrial COI e da aplicação do algoritmo automatizado ABGD, conclui-se que a metodologia de *DNA Barcoding* associada à delimitação automática de espécies via ABGD mostrou-se uma estratégia robusta e altamente reprodutível, validando a existência de um código de barras válido (*barcode gap*) bimodal nítido e discriminando estavelmente 20 Unidades Taxonômicas Operacionais Moleculares (MOTUs) para o gênero *Eleotris*.

Além disso, verificamos que o morfotipo clássico atribuído a *Eleotris melanosoma* não representa uma linhagem evolutiva homogênea, mas sim um complexo que abriga expressiva diversidade críptica, fragmentado em três clusters geneticamente divergentes e correlacionados às suas respectivas distribuições biogeográficas no Indo-Pacífico e Oceano Índico.

As magnitudes de divergência interespecífica observadas entre as linhagens do complexo *E. melanosoma* (atingindo até 7,3%) suportam o *status* de espécies candidatas independentes, evidenciando o papel do ciclo anfídromo e das barreiras transoceânicas no isolamento genético críptico dessas populações.

Por fim, o algoritmo ABGD demonstrou sensibilidade metodológica refinada ao manter as populações do Atlântico de *Eleotris perniger* agregadas sob uma única MOTU, indicando a detecção de um processo de diferenciação geográfica incipiente ou fluxo gênico residual (sob divergência intraespecífica de 1,3%), sem que houvesse a consolidação de um hiato evolutivo completo capaz de cindir o táxon.

8. REFERÊNCIAS

ABDULMALIK-LABE, O. P.; QUILANG, J. P. DNA barcoding of common freshwater eleotrids (Gobiiformes: Eleotridae) in the Philippines, with a global comparison and notes on

their conservation and management. **Global Ecology and Conservation**, [S. l.], v. 53, e03014, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2024.e03014>. Acesso em: 24 out. 2025.

AKIHITO. On four species of the gobiid fishes of the genus *Eleotris* found in Japan. **Japanese Journal of Ichthyology**, v. 14, n. 4–6, p. 135–166, 1967. Disponível em: <https://doi.org/10.11369/jji1950.14.135>. Acesso em: 2 jul. 2026.

ARÉCHIGA-PALOMERA, M. A.; AMEZCUA-LÓPEZ, I. S.; RUÍZ-CAMPOS, G.; SANTOS, R. C. V. L. *Dormitator latifrons* (Richardson, 1844) a Pacific fat sleeper, but skinny in research: a scientometric study. **Latin American Journal of Aquatic Research**, [S. l.], v. 50, n. 3, p. 451-460, 2022. DOI: 10.3856/vol50-issue3-fulltext-2784. Disponível em: <https://doi.org/10.3856/vol50-issue3-fulltext-2784>. Acesso em: 24 nov. 2025.

DESALLE, R.; GOLDSTEIN, P. Review and Interpretation of Trends in DNA Barcoding. **Frontiers in Ecology and Evolution**, [S. l.], v. 7, art. 302, 10 set. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00302>. Acesso em: 19 de nov. 2025.

FRICKE, R.; ESCHMEYER, W. N.; VAN DER LAAN, R. (eds.). **Eschmeyer's Catalog of Fishes: Genera, Species, References**. California Academy of Sciences, 2026. Disponível em: <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>. Acesso em: 2 jul. 2026.

GALVÁN-QUESADA, S. et al. Molecular phylogeny and biogeography of the amphidromous fish genus *Dormitator* Gill 1861 (Teleostei: Eleotridae). **PLoS One**, 11.4, e0153538, 2016.

GARCÍA-MELO, J. E. et al. Species delimitation of neotropical Characins (Stevardiinae): Implications for taxonomy of complex groups. **PLoS One**, 14.6, e0216786, 2019.

GOMES, L. C. et al. Integrative taxonomy detects cryptic and overlooked fish species in a neotropical river basin. **Genetica**, 143.5, 581-588, 2015.

GUIMARÃES-COSTA, A. J. D. **Inferências genéticas na família Eleotridae (Gobiiformes: Gobioidae) da região Neotropical baseadas em dados mitocondriais e nucleares**. 2016. 108 f. Tese (Doutorado em Biologia Ambiental – Recursos Biológicos da Zona Costeira Amazônica) – Universidade Federal do Pará, Bragança, 2016.

GUIMARÃES-COSTA, A. et al. Molecular evidence of two new species of *Eleotris* (Gobiiformes: Eleotridae) in the western Atlantic. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, Orlando, v. 98, p. 52-56, 2016. DOI: 10.1016/j.ympev.2016.01.014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2016.01.014>. Acesso em: 24 nov. 2025.

GUIMARÃES-COSTA, A. et al. Exploring the molecular diversity of Eleotridae (Gobiiformes) using mitochondrial DNA. **Journal of Applied Ichthyology**, [v. 00], p. 1-7, jan. 2017. DOI: 10.1111/jai.13266.

GUIMARÃES-COSTA, A. et al. DNA Barcoding for the assessment of the taxonomy and conservation status of the fish bycatch of the northern Brazilian shrimp trawl fishery. **Frontiers in Marine Science**, 7, 566021, 2020.

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, 2003. DOI: 10.1098/rspb.2002.2218. Disponível em: <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>. Acesso em: 19 de nov. 2025.

JARVIS, M. G.; HARLAND, H. A.; WARBURTON, M. L.; CLOSS, G. P. The spawning and early life-history of a New Zealand endemic amphidromous eleotrid, bluegill bully (*Gobiomorphus hubbsi*). **New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research**, [S. l.], v. 52, n. 1, p. 55–68, 2018. DOI: 10.1080/00288330.2017.1356778. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00288330.2017.1356778>. Acesso em: 25 nov. 2025.

MACIEL, J. I. **Revisão bibliográfica de espécies de peixes identificadas com o auxílio do gene COI nas Américas**. 2021. 65 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2021.

MAEDA, K.; TACHIHARA, K. Recruitment of amphidromous sleepers *Eleotris acanthopoma*, *Eleotris melanosoma*, and *Eleotris fusca* into the Teima River, Okinawa Island. **Ichthyological Research**, [S. l.], v. 52, n. 4, p. 377–383, 2005. DOI: 10.1007/s10228-005-0289-z. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10228-005-0289-z>. Acesso em: 26 nov. 2025.

MENNESSON, M. I.; KEITH, P. Evidence of two species currently under the name of *Eleotris fusca* (Gobioidei: Eleotridae) in the Indian Ocean. **Cybium: Revue Internationale d'Ichthyologie**, v. 41, n. 2, p. 213–220, 2017.

MENNESSON, M. I. et al. Phylogeography of *Eleotris fusca* (Teleostei: Gobioidei: Eleotridae) in the Indo-Pacific area reveals a cryptic species in the Indian Ocean. **Conservation Genetics**, v. 19, n. 5, p. 1025–1038, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10592-018-1063-x>. Acesso em: 2 jul. 2026.

MENNESSON, M. I.; KEITH, P. *Eleotris* (Teleostei: Eleotridae) of the Indian Ocean: an overview with the description of three new species. **Cybium**, v. 44, n. 3, p. 185–203, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.26028/cybium/2020-443-002>. Acesso em: 2 jul. 2026.

MENNESSON, M. I. et al. *Eleotris* (Teleostei: Eleotridae) from Indonesia with description of three new species within the ‘*melanosoma*’ neuromast pattern group. **Pacific Science**, v. 75, n. 4, p. 469–496, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.2984/75.4.2>. Acesso em: 2 jul. 2026.

MURDY, E. O.; HOESE, D. F. Suborder Gobioidei Eleotridae: Sleepers. In: FISCHER, W. (ed.). **FAO Species Identification Sheets for Fishery Purposes: Western Central Atlantic (Fishing Area 31)**. Vols. 1–7. Roma: FAO, 1978. p. 1778–1779.

MURDY, E. O.; HOESE, D. F. Eleotridae: Sleepers. In: CARPENTER, K. E. (ed.). **The Living Marine Resources of the Western Central Atlantic**. v. 3. Roma: FAO, 2002. p. 1778–1780.

NELSON, J. S.; GRANDE, T. C.; WILSON, M. V. H. **Fishes of the World**. 5. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2016.

PEZOLD, F. L.; CAGE, B. A review of the spinycheek sleepers, genus *Eleotris* (Teleostei: Eleotridae), of the Western Hemisphere, with comparison to the West African species. **Tulane Studies in Zoology and Botany**, New Orleans, [S.l.], v. 31, n. 2, p. 12-40, 2002.

PUILLANDRE, N. et al. ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. **Molecular Ecology**, 21.8, 1864-1877, 2012.

SAHAMI, F. M.; HABIBIE, S. A. Diversity of species in making up Nike fish schools and a new record of *Eleotris melanosoma* in Tomini Paguyaman Bay, Gorontalo, Indonesia. **Biodiversitas**, v. 22, n. 12, p. 5459-5467, dez. 2021. DOI: 10.13057/biodiv/d221229.

STEINFARTZ, S. et al. iTaxoTools: An elegant, user-friendly and integrative DNA barcoding and taxonomic workbench for laboratories and classrooms. **Molecular Ecology Resources**, v. 22, n. 4, p. 1559-1569, 2022.

THACKER, C. E.; MCCRANEY, W. T.; HARRINGTON, R. C.; NEAR, T. J.; SHELLEY, J. J.; ADAMS, M.; HAMMER, M. P.; UNMACK, P. J. Diversification of the sleepers (Gobiiformes: Gobioidae: Eleotridae) and evolution of the root gobioid families. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 186, p. 107841, 2023.

THACKER, C. E.; GEIGER, D. L.; SHELLEY, J. J. Two new cryptic species of the freshwater fish genus *Gobiomorphus* (Gobiiformes: Gobioidae: Eleotridae) in New Zealand. **New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research**, v. 57, n. 1, p. 119–135, 2023. DOI: 10.1080/00288330.2021.2007959.

UNMACK, P. J. et al. Phylogeography of a widespread Australian freshwater fish, western carp gudgeon (Eleotridae: *Hypseleotris klunzingeri*): Cryptic species, hybrid zones, and strong intra-specific divergences. **Ecology and Evolution**, v. 13, n. 11, e10682, 2023. DOI: 10.1002/ece3.10682. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ece3.10682>. Acesso em: 14 nov. 2025.

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, 2005. DOI: 10.1098/rstb.2005.1716.

YOKOO, T.; KANOU, K.; MOTEKI, M.; KOHNO, H.; TONGNUNUI, P.; KUROKURA, H. Juvenile morphology and occurrence patterns of three *Butis* species (Gobioidae: Eleotridae) in a mangrove estuary, southern Thailand. **Ichthyological Research**, [S.l.], v. 53, p. 330-336, 2006. DOI: 10.1007/s10228-006-0354-2.

APÊNDICES

Tabela 1. Divergências nucleotídicas interespecíficas (p-distance) para as sequencias do gênero *Eleotris*, baseadas no gene COI.

	E. melanosoma Linhagem 2	E. melanosoma Linhagem 3	E. melanosoma Linhagem 1	<i>Eleotris</i> fusca 3	<i>Eleotris</i> sp4	<i>Eleotris</i> acanthopoma	<i>Eleotris</i> fusca 2	<i>Eleotris</i> fusca 1	<i>Eleotris</i> amblyopsis	<i>Eleotris</i> oxycephala	<i>Eleotris</i> picta	<i>Eleotris</i> lutea	<i>Eleotris</i> sp1	<i>Eleotris</i> sumatraensis	<i>Eleotris</i> pisonis	<i>Eleotris</i> perniger	<i>Eleotris</i> klunzingeri	<i>Eleotris</i> douniasi	<i>Eleotris</i> sp2
E. melanosoma - Linhagem 2																			
E. melanosoma - Linhagem 3	0,07																		
E. melanosoma - Linhagem 1	0,05	0,07																	
<i>Eleotris</i> fusca 3	0,08	0,11	0,11																
<i>Eleotris</i> sp4	0,10	0,10	0,11	0,12															
<i>Eleotris</i> acanthopoma	0,16	0,16	0,16	0,17	0,18														
<i>Eleotris</i> fusca 2	0,13	0,14	0,13	0,13	0,11	0,16													
<i>Eleotris</i> fusca 1	0,14	0,13	0,14	0,15	0,13	0,19	0,13												
<i>Eleotris</i> amblyopsis	0,16	0,14	0,17	0,16	0,15	0,19	0,13	0,16											
<i>Eleotris</i> oxycephala	0,20	0,18	0,18	0,20	0,22	0,20	0,18	0,24	0,18										
<i>Eleotris</i> picta	0,18	0,18	0,17	0,18	0,16	0,16	0,16	0,20	0,18	0,21									
<i>Eleotris</i> lutea	0,15	0,13	0,16	0,17	0,14	0,21	0,15	0,17	0,18	0,21	0,18								
<i>Eleotris</i> sp1	0,19	0,18	0,17	0,19	0,16	0,19	0,15	0,17	0,10	0,21	0,18	0,21							
<i>Eleotris</i> sumatraensis	0,11	0,10	0,12	0,12	0,10	0,17	0,11	0,11	0,13	0,21	0,17	0,15	0,17						
<i>Eleotris</i> pisonis	0,17	0,16	0,16	0,17	0,15	0,18	0,16	0,17	0,13	0,20	0,18	0,20	0,14	0,15					
<i>Eleotris</i> perniger	0,15	0,14	0,15	0,16	0,14	0,18	0,13	0,16	0,08	0,18	0,17	0,19	0,10	0,13	0,13				
<i>Eleotris</i> klunzingeri	0,14	0,14	0,14	0,16	0,12	0,17	0,06	0,16	0,17	0,18	0,18	0,16	0,19	0,11	0,17	0,16			
<i>Eleotris</i> douniasi	0,14	0,14	0,14	0,16	0,12	0,18	0,12	0,14	0,15	0,21	0,18	0,16	0,17	0,13	0,17	0,14	0,14		
<i>Eleotris</i> sp2	0,16	0,15	0,17	0,17	0,16	0,18	0,14	0,17	0,06	0,18	0,19	0,21	0,12	0,14	0,16	0,09	0,17	0,14	