Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"
Instituto de Biociências de Botucatu
Mestrado em Zoologia

BRUNO ALVES SOUSA COELHO

Integração e modularidade como mecanismos de diversificação em gêneros de Acestrorhamphidae (Teleostei: Characiformes).

Botucatu-SP
2025

BRUNO ALVES SOUSA COELHO

Integração e modularidade como mecanismos de diversificação em gêneros de Acestrorhamphidae (Teleostei: Characiformes).

Dissertação apresentada ao curso de pós-graduação em Ciências Biológicas: Zoologia, do Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Botucatu, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Zoologia.

Orientador: Prof. Dr.
Ricardo Cardoso Benine

Coorientadora: Dra. Lais Reia

Botucatu-SP
2025

C672i

Coelho, Bruno
Integração e modularidade como mecanismos de diversificação em gêneros de Acestrorhamphidae (Teleostei: Characiformes). / Bruno Coelho. -- Botucatu, 2025
48 p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu
Orientador: Ricardo Cardoso Benine
Coorientadora: Laís Reia

1. Morfometria. 2. Characiformes. 3. Integração. 4. Modularidade. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Integração e modularidade como mecanismos de diversificação em gêneros de Acestrorhamphidae (Teleostei: Characiformes).

AUTOR: BRUNO ALVES SOUSA COELHO
ORIENTADOR: RICARDO CARDOSO BENINE
COORIENTADORA: LAIS REIA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciências Biológicas (Zoologia), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. RICARDO CARDOSO BENINE (Participaçao Virtual)
Departamento de Biodiversidade e Bioestatistica / Instituto de Biociencias de Botucatu Unesp

Prof. Dr. GABRIEL DE SOUZA DA COSTA E SILVA (Participaçao Virtual)
Departamento de Biologia Estrutural e Funcional / Instituto de Biociências de Botucatu

Prof. Dr. BRUNO FEREZIM MORALES (Participaçao Virtual)
Ciências Biológicas e Ambientais / Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD

Botucatu, 28 de maio de 2025

gov.br Documento assinado digitalmente
WILLIAN GABRIEL MIRANDA
Data: 02/06/2025 16:12:52-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Willian Gabriel Miranda
Assistente Administrativo II da Seção Técnica de Pós-Graduação
Instituto de Biociências de Botucatu

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço ao meu orientador Dr. Ricardo Cardoso Benine, sem o qual a ideia deste trabalho não existiria, pelo constante incentivo, todos os ensinamentos, a confiança depositada em mim e pelas longas conversas e boas risadas.

Agradeço muito a minha co-orientadora Dra. Lais Reia pela enorme ajuda, atenção e paciência, não apenas no trabalho, mas com todas as dificuldades no caminho.

Agradeço aos meus grandes amigos de faculdade, que tive a sorte de conhecer no primeiro dia de graduação e com quem mesmo depois de oito longos anos e através de grandes distâncias, sempre encontro o apoio necessário.Sem vocês eu não teria chegado até aqui.

Aos meus pais, assim como à minha namorada, é claro, minha eterna gratidão, não só pelo constante apoio, mas pela companhia nos momentos bons e ruins e por sempre me incentivarem a seguir meu próprio caminho.

Ao resto de minha família, em especial aqueles com quem cresci e aqueles que já se foram, que me ajudam a esquecer dos problemas e escapar para lugares novos sempre que possível. Sem a vida que compartilhamos até agora, é bem possível que meu caminho fosse outro.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“You have power over your mind, not outside events, realize this and you will find strength.”
- Marcus Aurelius, Meditations.

RESUMO

A evolução de grupos hiperdiversos é marcada por altas taxas de especiação e diferenciação, geralmente impulsionadas por fatores externos, como mudanças ambientais. No entanto, a diversificação também depende de fatores internos, como a capacidade adaptativa e a integração morfológica. Alta integração significa que as estruturas evoluem de forma coordenada ao longo de um eixo principal, enquanto estruturas menos integradas evoluem como módulos independentes. A recém-proposta família Acestrorhamphidae (Teleostei: Characiformes) e suas subfamílias Acestrorhamphinae, Grundulinae e Rhoadsiinae formam um dos maiores clados de peixes neotropicais. Apesar de sua alta diversidade, a variação morfológica é surpreendentemente limitada. Este estudo utilizou Morfometria Geométrica e análises de modularidade e integralidade para investigar os fatores que influenciam a diversificação desse grupo. Foi observado um forte efeito integrativo na forma de corpo deste grupo, que aparenta configurar-se em um módulo cranial, pós-cranial e caudal. A PCA revelou um número limitado de morfotipos, corroborando a ideia de um clado hiperdiverso, mas com morfologia conservada. Esses resultados reforçam estudos anteriores que mostram como a integração morfológica pode acelerar a especiação, concentrando a adaptação ao longo de um eixo evolutivo, enquanto mantém a estabilidade morfológica do grupo.

Palavras Chave: Characiformes; Integração; Modularidade; Morfometria Geométrica.

ABSTRACT

The evolution of hyperdiverse groups is marked by high rates of speciation and differentiation, often driven by external factors, such as environmental changes. However, diversification also depends on internal factors, such as adaptive capacity and morphological integration. High integration means that structures evolve in a coordinated manner along a main axis, while less integrated structures evolve as independent modules. The newly proposed family Acestrorhamphidae (Teleostei: Characiformes) and its subfamilies Acestrorhamphinae, Grundulinae, and Rhoadsiinae form one of the largest clades of Neotropical fishes. Despite its high diversity, morphological variation is surprisingly limited. This study used Geometric Morphometrics, and analyses of modularity and integration to investigate the factors influencing the diversification of this group. A strong integrative effect on the body shape of the group was observed, which seems to be organized into a cranial, pre-caudal, and caudal modules. PCA revealed a limited number of morphotypes, supporting the idea of a hyperdiverse clade with conserved morphology. These results reinforce previous studies showing how morphological integration can accelerate speciation, focusing adaptation along a single evolutionary axis, while maintaining the group's morphological stability.

Keywords: Characiformes; Integration; Modularity; Geometric Morphometrics.

SUMÁRIO

1.0 INTRODUÇÃO. **7**

2.0 OBJETIVOS **15**

3.0 METODOLOGIA. **16**

3.1 Amostragem e documentação fotográfica **16**

3.2 Análises morfométricas. **17**

3.3 Análise de Componentes Principais (PCA). **20**

3.4 Análise de Modularidade. **20**

3.5 Análise de Integração. **21**

4.0 RESULTADOS . **22**

4.1 Outliers, GPA e PCA **22**

4.2 Modularidade **31**

4.3 Integração **33**

5.0 DISCUSSÃO. **35**

6.0 CONCLUSÃO **40**

REFERÊNCIAS **42**

1 - INTRODUÇÃO

A região Neotropical corresponde às zonas tropicais do continente americano que se estendem desde o norte da patagônia argentina até as regiões tropicais do sul do México, englobando a maior parte da América do Sul, América Central e as ilhas do Caribe (Morrone, 2017). Reconhecida como a área mais biodiversa do planeta, abriga cerca de um terço de toda a biodiversidade global, distribuída pelos mais diversos ecossistemas (Raven et al., 2020). Entre eles, destacam-se a Floresta Amazônica, o maior remanescente de floresta tropical do mundo, e oito das 34 regiões consideradas hotspots globais de biodiversidade. Os Andes Tropicais são frequentemente apontados como a região com a maior riqueza de espécies de anfíbios, aves e plantas (Myers et al., 2000), enquanto a América Central e as ilhas do Caribe possuem a maior diversidade conhecida de répteis escamados. A Amazônia, com sua enorme extensão, é frequentemente apontada como a principal fonte da biodiversidade neotropical, funcionando como centro de origem e dispersão das linhagens (Antonelli et al., 2018). Essa exuberância já despertava o interesse de naturalistas do século XIX, como Alexander von Humboldt, que estabeleceu os fundamentos da biogeografia documentando os gradientes florísticos nos Andes (Humboldt e Bonpland, 1805), Henry Walter Bates, pioneiro na proposta do mimetismo após mais de uma década estudando as borboletas da amazônia (Bates, 1863) e Alfred Wallace, cuja proposta de que os grandes rios amazônicos atuam como barreiras naturais à dispersão animal, foi crucial para a formulação da teoria evolutiva (Wallace, 1852).

A região abriga também a mais rica e diversa ictiofauna dulcícola do planeta, com mais de 6.000 espécies descritas e uma média de aproximadamente 100 novas espécies formalmente descritas todos os anos (Reis et al., 2016; Albert et al. 2020). Poucas regiões do mundo se comparam em termos de diversidade ictiológica, tanto em riqueza quanto em complexidade ecológica e endemismo. Essa impressionante variedade é dominada por três principais linhagens da superordem Ostariophysi, a segunda mais diversa entre os peixes ósseos, que juntas representam cerca de 80% dessa riqueza específica: os Siluriformes (bagres), Gymnotiformes (sarapós) e Characiformes (tetras, piranhas, entre outros) (Melo et al., 2022).

As origens e a trajetória dessa exuberante biodiversidade ainda são alvo de amplo debate, sobretudo devido às dificuldades para uma reconstrução do passado da região (Hoorn et al., 2010; Meseguer et al. 2021). Nos Neotrópicos as condições ambientais pouco favoráveis à fossilização, como a alta umidade e a acidez dos solos, a limitada exposição de afloramentos e a dificuldade de acesso a muitas áreas da Amazônia e de outras bacias tropicais levam à um registro fóssil esparso e fragmentado (Wing, 2009; Albert e Reis, 2011). Além disso, evidências recentes apontam que a biodiversidade neotropical não se originou a partir de poucos eventos isolados, mas emergiu como resultado de um conjunto extenso e contínuo de processos ecológicos e geológicos, iniciados por reorganizações paleogeográficas e eventos tectônicos durante o Neógeno, e modulados ao longo do tempo por variações climáticas ao longo do Pleistoceno (Antonelli e Sanmartín, 2011; Rull, 2011; Antonelli, 2021). Como resultado, possuímos apenas vislumbres pontuais sobre a cronologia e os padrões de diversificação da região, tornando difícil um bom entendimento dos principais fatores.

Embora não mutuamente excludentes, dois modelos macroevolutivos distintos são amplamente propostos para explicar a expansão da diversidade nos trópicos: o modelo de "museu" e o modelo de "berço" (do inglês, *cradle*). Vale destacar que, além desses, cenários alternativos vêm sendo propostos com base em descobertas recentes e incorporando fenômenos antes ignorados (McKenna e Farrel 2006; Meseguer et al. 2021), mas ainda assim os modelos de museu e berço permanecem como marcos teóricos centrais sobre o tema. O modelo de museu propõe que a diversidade atual resulta do acúmulo gradual e constante de linhagens ao longo de dezenas de milhões de anos, com taxas de especiação e extinção relativamente baixas e estáveis. Nesse contexto, a região Neotropical teria funcionado como um repositório de linhagens ancestrais preservadas ao longo do tempo, explicando a coexistência de grupos profundamente divergentes na história evolutiva (Wallace, 1895; Simpson, 1980). Por outro lado, o modelo de berço sugere que os trópicos atuam como centros ativos de diversificação, onde taxas elevadas de especiação geram surtos evolutivos mais recentes e rápidos, frequentemente impulsionados por eventos ambientais como o soerguimento dos Andes ou as reorganizações hidrográficas da Bacia Amazônica (Göschen, 1908; Bews, 1927).

Compreender se a grande radiação de um grupo ocorreu cedo ou tarde em sua história evolutiva é fundamental para uma boa compreensão dos mecanismos que atuaram e ainda

atuam na sua expansão. Durante muito tempo, estudos baseados nos registros fósseis disponíveis sustentaram a ideia de que a diversificação dos peixes neotropicais seguia o modelo de museu, atribuindo a origem das principais famílias a mais de 60 milhões de anos atrás (Lundberg, 1997; Hoorn et al., 2010). Contudo, abordagens mais recentes utilizando filogenias moleculares calibradas no tempo indicam uma realidade mais próxima do modelo de berço. Trabalhos como os de Melo et al. (2016), Ochoa et al. (2017), Roxo et al. (2019) e Fontenelle et al. (2021) sugerem que, embora as raízes taxonômicas dessa ictiofauna remontem ao Paleógeno e ao final do Cretáceo (Lundberg et al. 1998), os principais eventos de diversificação responsáveis pela riqueza atual teriam ocorrido em janelas geológicas muito mais recentes, refletindo a dinâmica do modelo de berço.

Os mecanismos que levam à grande variabilidade observada em grupos hiper-diversos, são complexos e ainda não bem compreendidos. Diversos fatores extrínsecos, como alterações ambientais abruptas ou eventos de extinção em massa, podem criar ou transformar oportunidades ecológicas, criando condições propícias para a diversificação das linhagens remanescentes (Stroud e Losos, 2016), pressões competitivas podem incentivar alterações de nicho ou ainda a ausência de fatores de extinção pode favorecer a persistência de linhagens por longos períodos, permitindo o acúmulo gradual de diversidade.

Fatores intrínsecos aos organismos também desempenham um papel crucial na promoção ou limitação dessa diversificação. A maior plasticidade fenotípica de alguns grupos, por exemplo, possibilita que ajustem mais facilmente sua morfologia ou fisiologia frente a novas pressões ambientais (Pfennig, 2010; Draghi e Whitlock, 2012). Da mesma forma, o surgimento de adaptações-chave, como modificações em estruturas sensoriais, locomotoras ou reprodutivas, pode expandir o número de oportunidades ecológicas disponíveis, facilitando a especiação (Wellborn e Langerhans, 2015). Ainda outro importante aspecto intrínseco destacado em estudos recentes é a covariação entre traços anatômicos, que pode se refletir em restrições ou flexibilidades impostas por fatores genéticos, de desenvolvimento ou funcionais. Essa covariação, por sua vez, está diretamente relacionada a dois conceitos fundamentais no estudo da evolução morfológica: a modularidade e a integração.

Integração morfológica refere-se a covariação entre diferentes partes de um organismo que estão funcional, genética ou ontogeneticamente interligadas, de forma que mudanças em

uma estrutura produzem alterações coordenadas nas demais (Klingenberg, 2008). Essa forte covariação é comum em regiões anatômicas envolvidas em funções complexas e interdependentes, por exemplo, o aparato locomotor ou estruturas sensoriais, em que o desempenho funcional depende da atuação conjunta de todas as partes (Sansalone, 2022). Quando essas estruturas estão altamente integradas, o organismo tende a apresentar uma coerência morfológica que pode ser vantajosa para determinadas funções, mas que, por outro lado, restringe a liberdade evolutiva do sistema. Isso ocorre porque a variação de um traço específico ou estrutura inevitavelmente gera consequências para a funcionalidade da parte ou do sistema como um todo. Altos níveis de integração são frequentemente interpretados como uma força conservadora na evolução morfológica, limitando os caminhos adaptativos possíveis e desacelerando as taxas de diversificação (Olson e Miller, 1958; Klingenberg 2014).

Modularidade, por sua vez, é a organização da estrutura corporal em unidades semi-independentes, chamados módulos, que apresentam uma maior covariação interna e relativa independência em relação às outras regiões do corpo (Simon, 1962; Zelditch e Goswami, 2021). Esse arranjo modular permite que diferentes partes do organismo respondam de formas distintas e simultâneas às diferentes pressões seletivas atuando sobre cada bloco, facilitando e acelerando mudanças adaptativas sem comprometer a integridade funcional do todo (Larouche, Zelditch e Cloutier, 2018). Por exemplo, em um peixe, a cabeça pode formar um módulo distinto do tronco ou da região caudal, permitindo que adaptações relacionadas à alimentação ocorram de forma independente daquelas associadas à natação. Por esta razão, a modularidade é tipicamente vista como um fator promotor da evolvabilidade, a capacidade de um organismo gerar variação com valor adaptativo (Bolker, 2000; Mitteroecker, 2009).

Dessa forma, espera-se que grupos com alto grau de modularidade apresentem uma distribuição no morfoespaço dispersa em múltiplas direções, refletindo a atuação relativamente independente dos diferentes módulos anatômicos. Essa dispersão indicaria a presença de vários eixos adaptativos simultâneos, a partir dos quais diferentes regiões do corpo podem responder de maneira autônoma a pressões seletivas distintas (Yang 2001; Larouche et al. 2018). Por outro lado, em grupos com forte integração morfológica, a tendência é de que as variações se concentrem ao longo de um único eixo principal de

covariação, com menor liberdade para explorar formas alternativas (Schluter 1996; Goswami et al. 2014).

Todavia, diversos estudos também demonstraram a capacidade de um alto sinal integrativo de agir como um fator acelerador para a variabilidade morfológica e a diversificação (Klingenberg, 2008; Hu et al. 2016; Felice et al., 2018; Hedrick et al 2019), facilitando a adaptação de traços ao longo desse eixo único no morfoespaço, onde a forte covariação de caracteres ao longo dele acelera modificações e permite que formas ou variações mais extremas sejam alcançadas mais rapidamente. Algo descrito de maneira impecável em Felice et al. (2018) como uma mosca em um tubo, a qual quando removida da capacidade de se movimentar em qualquer direção, se move mais rapidamente ao longo do eixo do tubo.

Associado a isso, trabalhos recentes têm revelado que muitos clados apresentam padrões de variabilidade morfológica que combinam elementos de modularidade e integração. Esses resultados sugerem que tais grupos podem estar explorando simultaneamente a flexibilidade conferida pela modularidade e a coerência estrutural imposta pela integração. Essa interação é bem ilustrada por Burns et al. (2023), que utilizam a metáfora de um poste com diversas placas apontando em direções distintas (Fig. 1). Nesse modelo, o poste central representa o eixo principal de integração, a estrutura coordenada e compartilhada entre módulos, enquanto as placas sinalizam os diferentes eixos secundários de variação associados à modularidade. Essa configuração permite que mudanças estruturais ocorram de forma coordenada ao longo de um eixo predominante, ao mesmo tempo em que há liberdade para variações localizadas e independentes entre os módulos.

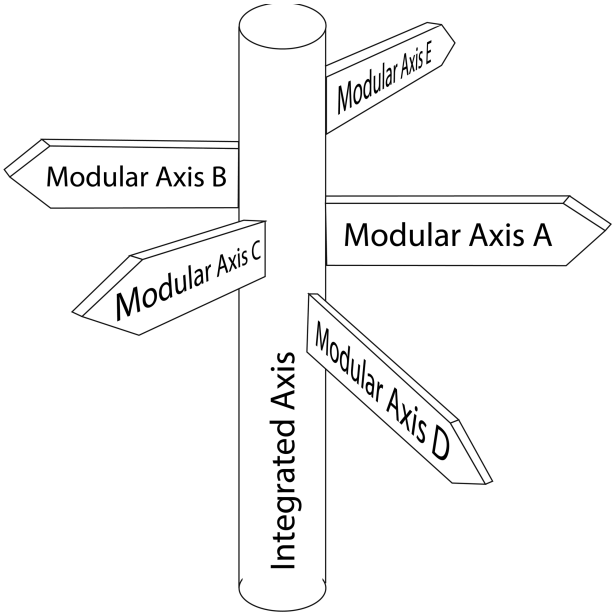


Figura 01 - Representação esquemática dos eixos de variação, contendo o eixo central e os diferentes eixos esperados da modularidade.
Fonte: Adaptado de Burns et al. (2023).

Essa ação conjunta entre integração e modularidade foi observada na ordem Characiformes, uma das ordens mais hiperdiversas de peixes ósseos de água doce, e cujos padrões morfológicos parecem sugerir que essa combinação pode ter desempenhado um papel bastante importante na diversificação do grupo (Burns e Sidlauskas, 2023). Predominantemente distribuídos na região Neotropical, e em menor grau no continente africano, os Characiformes englobam atualmente mais de 2.000 espécies descritas, apresentando uma impressionante variedade de formas corporais, adaptações ecológicas e trajetórias evolutivas (Malabarba e Malabarba, 2010). Há muito já se reconhece a impressionante diversidade das linhagens do clado (Eigenmann, 1903; Regan, 1911) cuja diversidade morfológica é tamanha que algumas de suas espécies não tem paralelos entre outros Actinopterygii, enquanto outras convergem com membros de clados completamente distintos (Burns e Sidlauskas, 2019). Essa variabilidade inclui desde grandes piscívoros de água doce, como o peixe-tigre africano (*Hydrocynus*), até pequenos tetras ornamentais amplamente comercializados no aquarismo.

Dentre a ordem, uma família que merece destaque é Characidae, recentemente reestruturada por Melo et al. (2024) que, com base em um compreensivo trabalho de filogenia molecular, reorganizou a antiga família, até então uma das maiores de peixes neotropicais

com mais de 1.200 espécies descritas, em quatro famílias: Spintherobolidae, Characidae sensu stricto, Stervadiidae e Acestrorhamphidae. Juntas, essas famílias abrangem um amplo espectro morfológico e ecológico e representam a espinha dorsal da diversidade de Characiformes na América do Sul. A distribuição geográfica do grupo é igualmente ampla, cobrindo toda a extensão da região neotropical, desde os rios subtropicais do norte da Patagônia argentina até bacias de água doce do sul dos Estados Unidos, com o principal centro de sua diversidade localizado nas drenagens sul-americanas, especialmente na bacia Amazônica e no escudo brasileiro.

A família Acestrorhamphidae, parcialmente representada na figura 02, permanece hiperdiversa, com 808 espécies (Fricke, Eschmeyer e Van Der Laan, 2025), representando mais da metade do número anteriormente incluído em Characidae. Incluídos no grupo estão alguns táxons bastante distintos, desde peixes predadores de maior tamanho como as espécies do gênero *Oligosarcus*, com significativas adaptações para a predação (Abelha et al., 2012), até espécies diminutas do gênero *Nematobrycon*, comumente encontradas em lojas de aquarismo. Ainda assim, ao contrário da enorme variedade morfológica observada dentro da ordem Characiformes como um todo, os membros dessas novas subfamílias são muito menos diversos, sendo em sua maioria peixes de pequeno porte, algumas das menores espécies atingindo menos de 3cm e as maiores raramente passando de 30 cm. São clados de morfologia altamente conservada, cuja variação limitada está geralmente associada a convergências adaptativas induzidas por eventos de miniaturização e fatores ecológicos como hábitos alimentares e natação (Mirande, 2010; Mirande et al., 2018). Com a melhor compreensão das relações filogenéticas do grupo, abre-se uma oportunidade valiosa para investigarmos mais a fundo como e quais mecanismos subjacentes estão atuando para promover e orientar a diversificação do grupo.

Nesse contexto, realizamos uma análise abrangente de morfometria geométrica com representantes de três subfamílias da recém-definida família Acestrorhamphidae: Grundulinae, Rhoadsiinae e Acestrorhamphinae, com o objetivo de caracterizar a distribuição dessas linhagens no morfoespaço e identificar a atuação de padrões de integração e modularidade. Embora a influência desses fatores já tenha sido demonstrada em estudos mais amplos envolvendo a ordem Characiformes como um todo (Burns et al, 2023), os Acestrorhamphidae oferecem um cenário particularmente interessante: trata-se de uma linhagem que, apesar de ocupar uma diversidade notável de nichos ecológicos ao

longo da região Neotropical, exibe uma variação morfológica comparativamente restrita. Essa aparente contradição sugere que a evolução do grupo pode estar sendo guiada por um eixo de integração dominante que impõe maior coerência estrutural às adaptações, enquanto módulos mais flexíveis permitem respostas localizadas a diferentes pressões seletivas, uma combinação que potencialmente sustenta a versatilidade ecológica do grupo ao mesmo tempo que mantém sua morfologia estável.

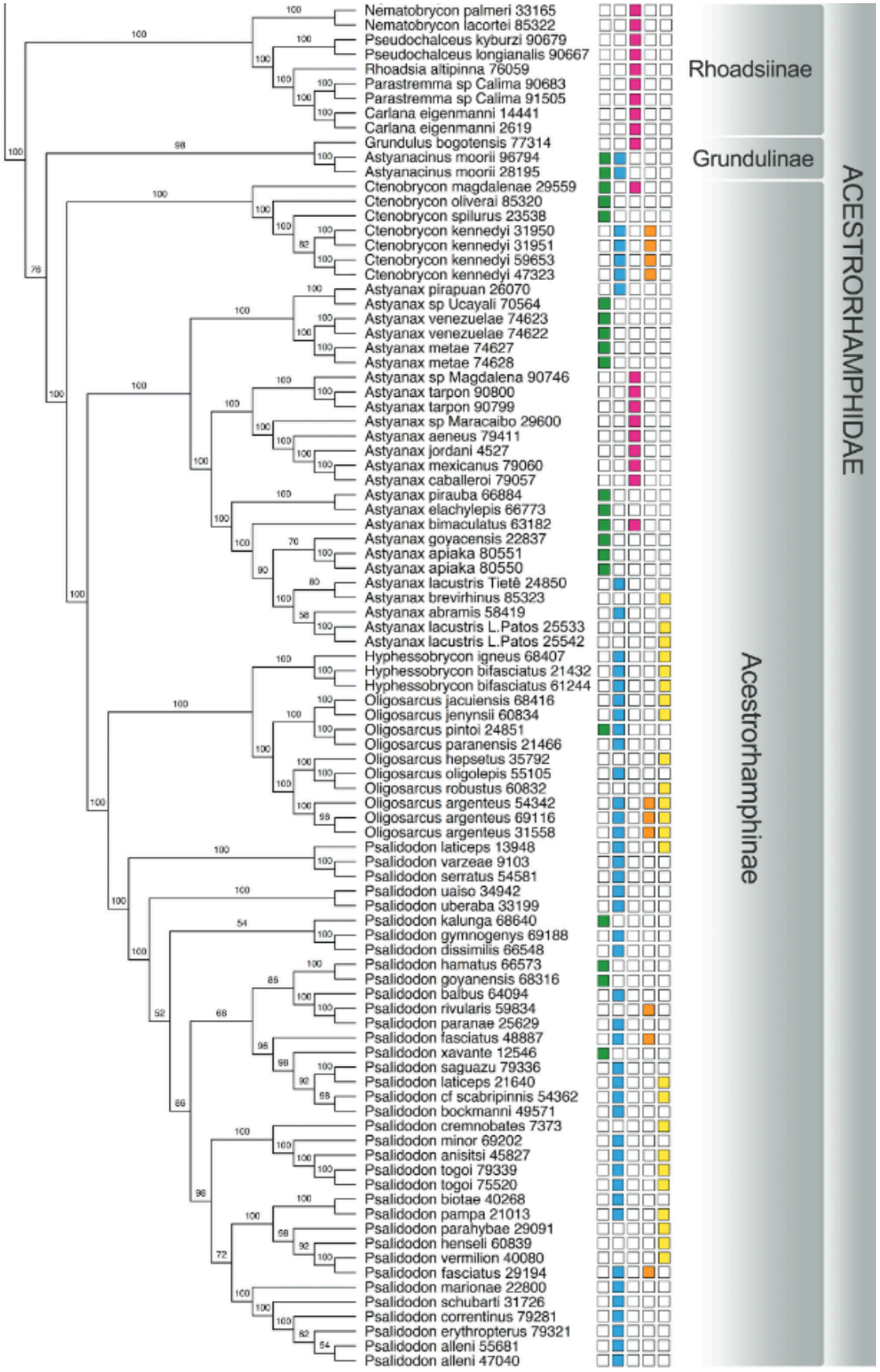


Figura 02 - Trecho da filogenia apresentada em Melo et al. (2024) contendo as subfamílias analisadas.

2- OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo aproveitar a recente reestruturação da família Characidae e o melhor entendimento das relações filogenéticas dos clados resultantes para investigar os mecanismos intrínsecos que contribuíram para a conservação morfológica em uma linhagem hiper-diversa de peixes. A partir de análises de morfometria geométrica, pretende-se mapear a diversidade de formas corporais, identificar os principais eixos de variação morfológica e suas possíveis implicações funcionais, além de avaliar o papel da modularidade e da integração morfológica na evolução do grupo.

Objetivos Específicos

1. Mapear e descrever a diversidade de formas corporais nos táxons analisados;
2. Identificar os principais eixos de variação morfológica;
3. Investigar a presença e a força de padrões de integração morfológica entre diferentes regiões do corpo;
4. Testar diferentes hipóteses de modularidade;
5. Produzir visualizações gráficas que representem adequadamente os padrões de variação, integração e modularidade encontrados.

3- METODOLOGIA

3.1- Amostragem e documentação fotográfica.

A etapa de amostragem e registro do material seguiu Burns e Sidlauskas (2019). Foram utilizados entre 3 e 30 indivíduos de cada táxon de interesse disponível, totalizando 344 espécimes, compreendendo 22 espécies de 9 gêneros. O material utilizado, listado no quadro 01, está depositado nas coleções do Laboratório de Biologia e Genética de Peixes (LBP) da Universidade Estadual de São Paulo (UNESP), câmpus de Botucatu e do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP) e inclui um lote proveniente da coleção Laboratório de Ictiologia Sistemática do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva of the Universidade Federal de São Carlos (LISDEBE). O material foi selecionado de acordo com o estado de preservação, o tamanho dos espécimes, a disponibilidade e identificação. Material que apresentava deformidades de fixação, danos ou outras distorções extremas da forma corporal que impedissem o posicionamento correto dos marcos anatômicos ou cuja identificação fosse duvidosa não foram utilizados mesmo quando disponíveis. Novamente seguindo Burns e Sidlauskas (2019) indivíduos juvenis ou de tamanho muito inferior ao esperado para adultos da espécie também não foram incluídos a fim de minimizar os efeitos alométricos do tamanho sobre a forma corporal (Fink e Zelditch 1995; Sidlauskas et al. 2011; Price et al., 2019,). Ainda assim, embora outros estudos não tenham encontrado relação significativa entre tamanho e forma do corpo em conjuntos de dados semelhantes (Burns e Sidlauskas, 2023), os dados foram posteriormente testados e corrigidos para remover qualquer influência alométrica presente.

O material foi então posicionado em uma superfície estável para a obtenção de uma foto da vista lateral esquerda de cada indivíduo, feitas através de uma câmera digital (Nikon D7000) e mantendo-se os mesmos padrões fotográficos ao longo do processo, com iluminação natural ou artificial quando necessária e sobre fundo milimetrado para uma fácil obtenção de escala constante bem como a deteção e correção, se necessário, de distorções causadas pelo efeito parallax (Mullin e Taylor, 2002; Klingenberg, C.P. , 2015).

Quadro 01- Lista das espécies analisadas neste estudo, com seus respectivos lotes de origem e número de exemplares utilizados.

Espécie	Coleção e número de lote	Nº de exemplares
Astyanacinus moorii	MZUSP78752	26
Astyanax bimaculatus	LBP3761	12
Astyanax lacustris	MZUSP041013	15
Ctenobrycon kennedyi	LBP13459	21
Ctenobrycon oliverai	LBP3061	10
Hemigrammus parana	MZUSP118677	29
Hyphessobrycon bifasciatus	MZUSP55159	27
Hyphessobrycon igneus	MZUSP057595	20
Oligosarcus argenteus	MZUSP37256 / MZUSP10114 / MZUSP109331	14
Oligosarcus hepsetus	MZUSP121293 / MZUSP58720 / MZUSP79371	10
Oligosarcus jenynsii	MZUSP42370 / MZUSP42371 / MZUSP63733 / MZUSP37262	9
Oligosarcus paranensis	MZUSP19506 / MZUSP106497 / MZUSP87582	13
Oligosarcus pintoi	MZUSP90627	11
Psalidodon anisitsi	MZUSP100477	23
Psalidodon fasciatus	LBP29771	10
Psalidodon goyacensis	MZUSP048273 / MZUSP50154	31
Psalidodon minor	LISDEBE2606	22
Psalidodon parahybae	MZUSP108094 / MZUSP110152	9
Psalidodon scabripinnis	MZUSP110272	21
Psalidodon xavante	MZUSP113861	12
Pseudochalceus longianalis	LBP24231	3
Rhoadsia altipinna	LBP9342	6

3.2- Análises morfométricas.

As análises morfométricas foram realizadas através do uso de marcos (landmarks) e semimarcos (semi-landmarks) anatômicos para a obtenção dos dados de forma (Dryden

e Mardia, 2016). Os marcos foram determinados de acordo com as metodologias de Sidlauskas et al. (2011) e Park et al. (2013) adaptadas para imagens não radiográficas e 16 semimarcos foram incluídos buscando representar da melhor forma possível a geometria corporal destes animais. Para a digitalização dos marcos foram utilizados os diferentes programas da família Tps (Rohlf, 2015), sobretudo os softwares TpsDig2 v2.17 e TpsUtil v1.83.

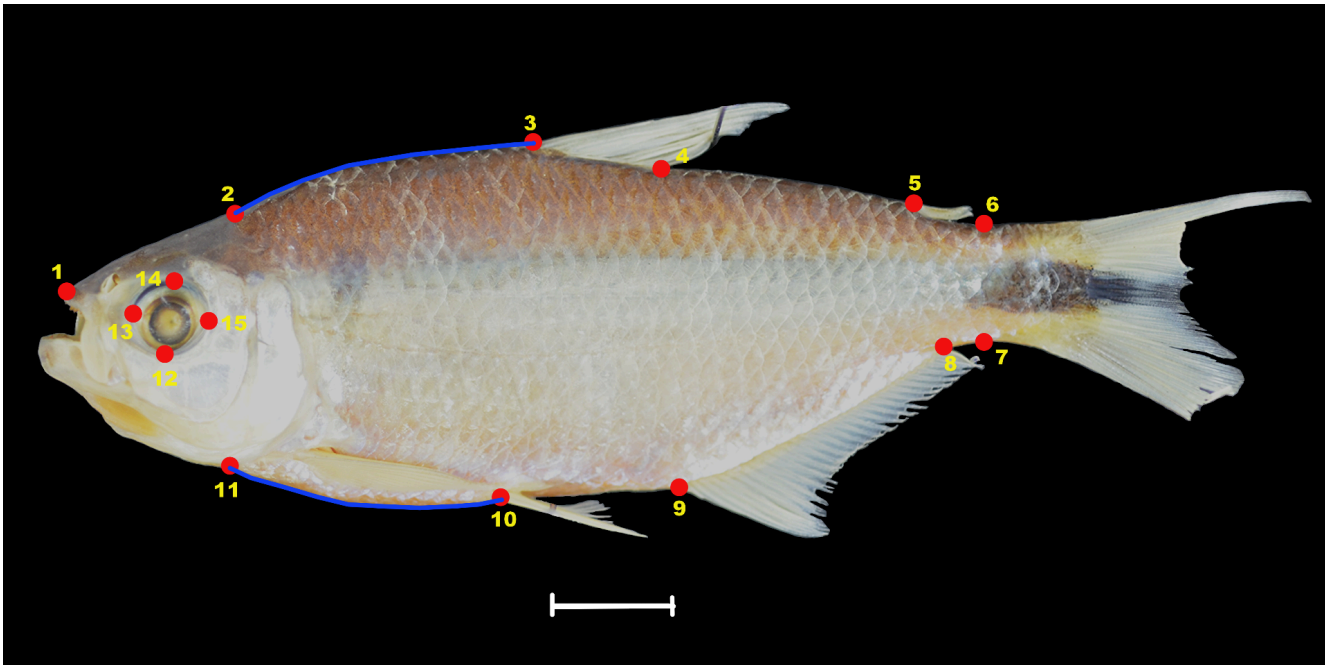


Foto 1 - Espécime de *Psalidodon fasciatus*, LBP29771, comprimento 8,51cm. Os landmarks utilizados estão na seguinte ordem: Extremidade anterior da cabeça; Final da crista supraoccipital; Inserções anterior e posterior da nadadeira dorsal; Inserção da nadadeira adiposa; Pontos com menor distância transversal do pedúnculo caudal; Inserções posterior e anterior da nadadeira anal; Inserção da nadadeira peitoral; Ponto de encontro entre o opéculo e a região ventral; Pontos médios da circunferência ocular. Também estão visíveis em azul as curvas analisadas (com seus semi-landmarks omitidos).

Com a digitalização concluída os dados foram analisados através do pacote geomorph v4.0.6 (Baken et al., 2021) para a linguagem de programação R (R core team, 2024). Esse pacote foi desenvolvido especificamente para análises de morfometria geométrica, oferecendo ferramentas para o alinhamento, visualização e análise estatística da variação morfológica com base em landmarks e semilandmarks. A primeira etapa foi o uso da função "plotOutliers" para a identificação e remoção de dados errôneos (outliers) e em seguida o uso da função “gpagen” para remover informações irrelevantes no estudo da forma, como tamanho e orientação, através de uma Análise Generalizada de Procrustes (GPA) pelos eixos principais, que utiliza o conceito de Superimposição de Procrustes para rotacionar, alinhar e escalonar os

landmarks, como ilustrado na figura 3, obtendo uma configuração consenso para os marcos e entregando o conjunto de coordenadas procrustes a serem utilizadas nas análises subsequentes (Goodall, 1991).

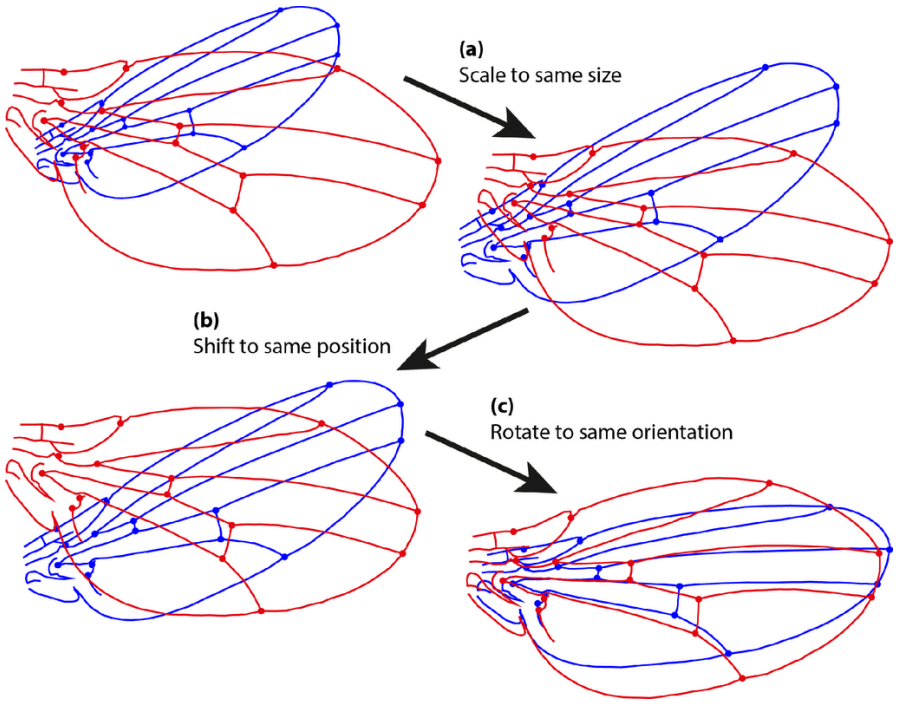


Figura 3 -Etapas de uma sobreposição de procrustes
Fonte: Adaptado de Klingenberg, C. P. (2015).

Em seguida, para averiguar os efeitos alométricos sobre os dados, empregamos a função "procD.lm" para conduzir uma regressão multivariada entre os grupos através das coordenadas procrustes obtidas, representando a geometria dos espécimes, e o tamanho, na forma do tamanho do centróide log-transformado. Desta forma, podemos observar melhor como se dão os efeitos do tamanho sobre a forma nos diferentes grupos e tomar as medidas necessárias para garantir que os dados analisados refletem apenas diferenças morfológicas reais entre eles. Essa função, quando comparada à funções semelhantes em softwares especializados, também nos permite melhor contornar os desafios inerentes à dados de alto número de variáveis (High-Dimensional Data) através da inclusão do "Randomization of Residuals in a Permutation Procedure" (RRPP). Como dados de morfometria geométrica incluem muitas variáveis (p) na forma de marcos anatômicos que compõem a forma de um único organismo (n) não é incomum que o número de variáveis exceda o número de observações, impossibilitando a aplicação de análises paramétricas como a MANOVA (Adams, Rohlf e Slice, 2013; Collyer e Adams, 2018b). Através da aleatorização dos resíduos da regressão, o processo RRPP produz distribuições amostrais que podem ser utilizadas para

qualquer cenário de dados, mesmo com distribuições de amostras e observações que violem as suposições paramétricas. Os resultados da regressão foram representados graficamente e os efeitos alométricos observados foram corrigidos utilizando-se os resíduos da regressão para as análises subsequentes, como recomendado por Klingenberg (2016).

3.3 Análises de Componentes Principais (PCA).

Ainda empregando o pacote geomorph, os dados corrigidos foram submetidos à uma Análise de Componentes Principais (PCA) através da função "gm.prcomp()". A análise PCA, de caráter exploratório, nos dá uma grande gama de resultados, em um primeiro nível ela nos permite avaliar, através de gráficos wireframe e scatterplots, os padrões de variação e agrupamento de dados complexos, reduzindo a dimensionalidade destes na forma dos componentes principais (PC), ao mesmo tempo também nos indica quais destes componentes melhor compõem a variação desses animais através dos valores percentuais de (*Eigenvalues*) de cada componente.

3.4 Análise de Modularidade.

Os landmarks utilizados estão relacionados à importantes caracteres funcionais nesses animais, mas tem sobretudo o objetivo de encontrar evidências que possam suportar uma das três teorias de modularidade propostas por Burns e Sidlauskas (2023): (1) Uma hipótese nula de apenas um módulo e covariância equivalente entre todas as partes do corpo, (2) uma hipótese de dois módulos, divididos entre cranial e pós-cranial e (3) a hipótese de três módulos divididos em cranial, pré-caudal e caudal. Na região cranial os landmarks selecionados estão associados às mecânicas e hábitos alimentares enquanto os marcos das regiões posteriores se relacionam principalmente à hidrodinâmica e natação destes animais.

A análise de modularidade foi conduzida através da função "modularity.test" que quantifica o grau de modularidade entre dois ou mais módulos hipotetizados e compara o resultado obtido ao esperado na hipótese nula de agrupamentos aleatórios de landmarks. O grau de modularidade é quantificado através do coeficiente CR (Covariance Ratio) e um sinal modular significante é encontrado quando o valor obtido é menor do que o observado na distribuição aleatória (tipicamente 1). Tal resultado implica em uma independência muito maior entre os módulos do que o esperado na hipótese nula (Adams, 2016). Para a

comparação entre diferentes hipóteses de modularidade uma alternativa ainda mais adequada é o uso do coeficiente de tamanho de efeito Z_{cr} (Adams e Collyer, 2019), que indica quantos desvios padrão de distância o resultado obtido está da média da distribuição aleatória, com valores mais negativos indicando evidências mais fortes de modularidade.

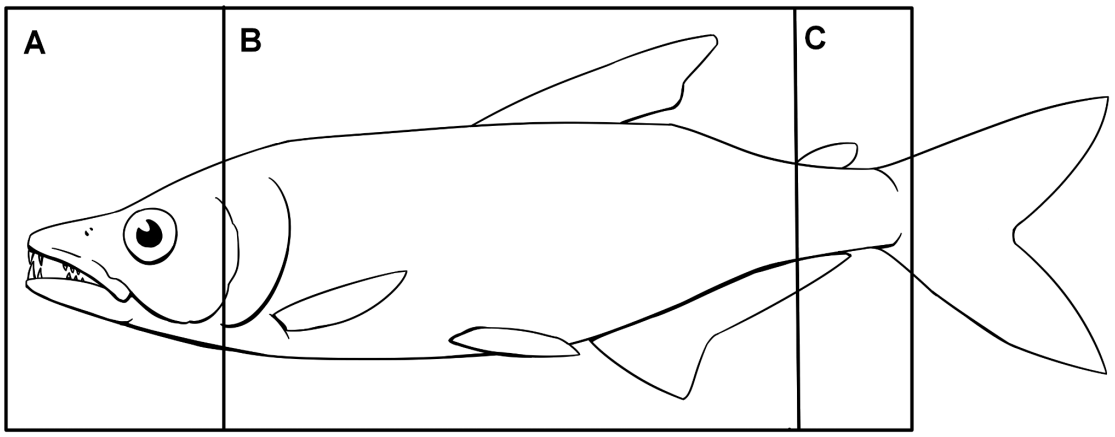


Figura 04- Configuração proposta para os módulos cranial, pré-caudal e caudal. Na hipótese de dois módulos, os conjuntos pré-caudal e caudal constituem um único bloco.

3.5 Análise de Integração

De maneira similar, a análise de integração morfológica foi conduzida por meio da função "integration.test", que emprega a Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (Partial Least Squares - PLS) para quantificar a covariação entre dois conjuntos de variáveis anatômicas, os módulos. Essa abordagem estima a correlação entre as variações de forma nos dois conjuntos e testa sua significância por meio de permutações aleatórias. Um sinal positivo de integração é identificado quando a correlação observada entre os módulos excede significativamente a distribuição nula gerada por permutação (Bookstein et al., 2003). Em outras palavras, a função avalia se a magnitude da covariação entre os módulos é maior do que seria esperada ao acaso.

As variações morfológicas representadas pelos extremos do eixo de integração foram visualizadas utilizando a função "picknplot.shape", que permite identificar e inspecionar graficamente os padrões de deformação ao longo do eixo PLS. Essa abordagem oferece uma forma intuitiva de compreender a natureza das covariações entre os módulos, especialmente útil para interpretar se a integração reflete transformações coordenadas na altura corporal, curvatura ou alongamento.

4-RESULTADOS

4.1- Outliers, GPA e PCA.

Durante a etapa de remoção de outliers, múltiplos espécimes apresentaram coordenadas procrustes acima do quartil da média dos dados, como representado na figura 05, indicando possíveis erros que exigiriam correção ou remoção. Contudo, após maior investigação ficou claro que todos os outliers observados pertenciam a um mesmo táxon e todos os indivíduos da espécie se encontravam significativamente distantes morfologicamente dos outros táxons analisados. A espécie em questão é *Ctenobrycon oliverai* - LBP3061, cuja morfologia corporal distinta, até mesmo quando comparada à espécies congêneres, já foi observada em outras análises anteriores. O gráfico das distâncias procrustes em relação à média, bem como um exemplo da variação observada nesses animais em relação à configuração consenso, estão representados abaixo na figura 06, ambos posteriores à correção alométrica.

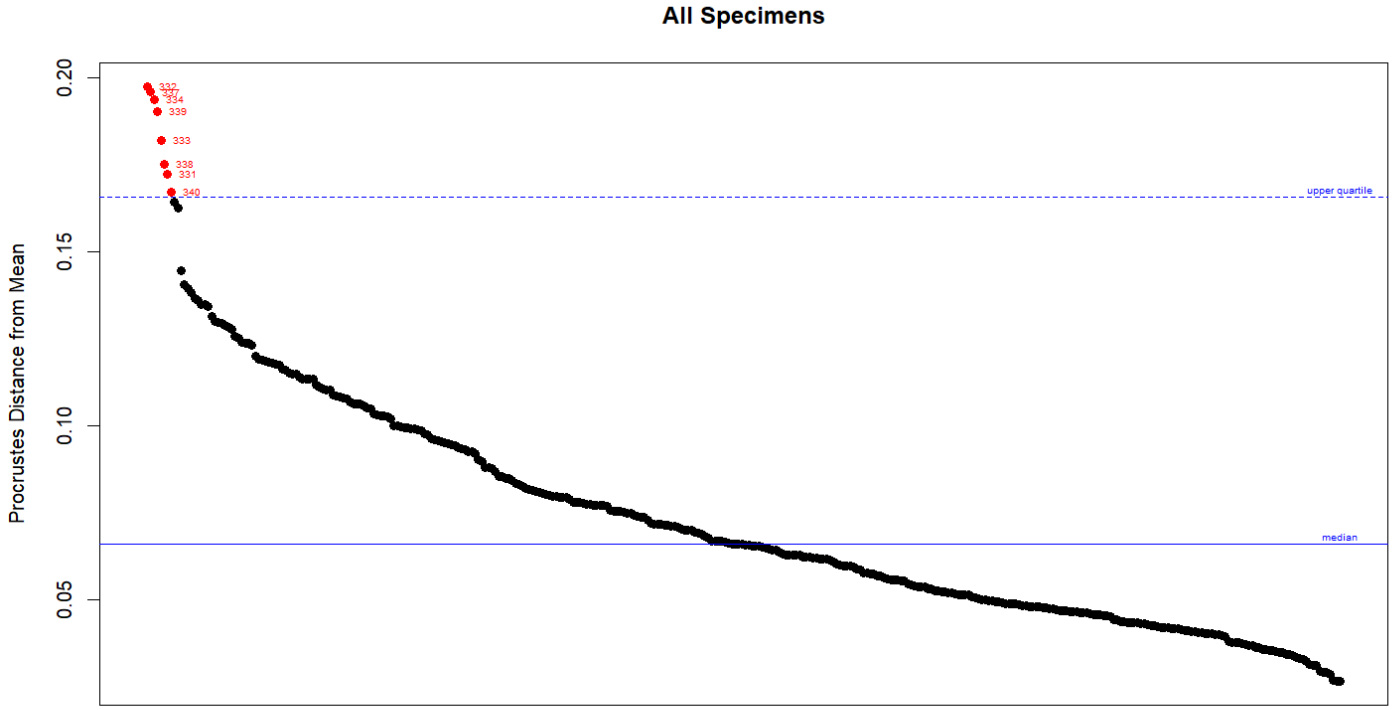


Figura 05 - Gráfico resultante da análise de outliers com os dados em questão ressaltados. Os dados se distribuem ao redor da média, qualquer dado acima do quartil superior é um possível outlier.

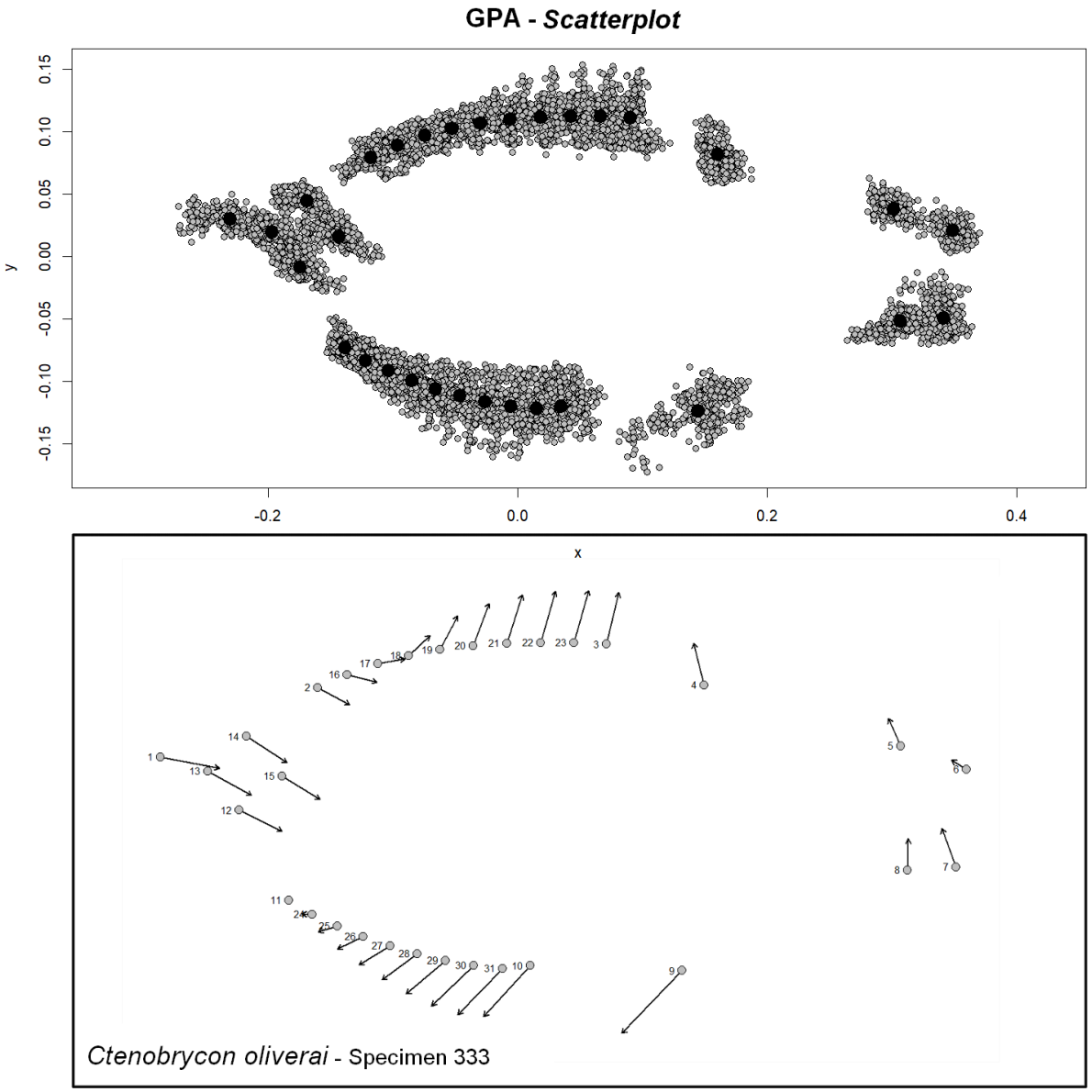


Figura 06 - **Acima**: Configuração das coordenadas de Procrustes após a GPA. Pontos em preto são os *landmarks* do consensus da forma, demais pontos representam *landmarks* observados em cada espécime analisado. **Abaixo**: Landmarks da forma do consenso e representações lollipop da variação apresentada por espécimes de *Ctenobrycon oliverai*- LBP3061.

Quando comparado à configuração consenso e ao restante dos dados em geral, *C. oliverai* apresenta um corpo significativamente mais alto e uma cabeça mais curta com uma boca ligeiramente superior. Na representação dos dados pós GPA (Figura 06) é possível observar toda a variação apresentada pelos conjuntos de marcos analisados, com alguns animais no extremo oposto da espécie destacada apresentando corpos mais fusiformes, com cabeças alongadas e pedúnculos caudais mais largos.

A regressão multivariada dos dados de Procrustes sobre o logaritmo do tamanho do centroide indicou um efeito alométrico estatisticamente significativo (Rsq = 0,091; F = 35,40; p < 0,001), confirmando que aproximadamente 9,1% da variação total na forma é explicada por variações no tamanho dos espécimes. Este resultado representa um efeito considerável em análises morfométricas e reforça a presença de alometria na morfologia corporal das espécies analisadas. A magnitude do efeito, expressa pelo escore padronizado Z = 4,94, corrobora a robustez estatística dessa relação.

Esse padrão é também evidenciado pelas correlações de Pearson entre os três primeiros componentes principais e o tamanho (log-centroid size), os quais permitem avaliar o quanto da variação de forma capturada por cada eixo está associada ao tamanho corporal. O componente principal 1 (PC1), responsável por 82,07% da variação total da forma antes da correção, apresentou uma correlação de Pearson moderada com o tamanho (r = 0,358). Embora esse valor não represente uma correlação forte, ele reforça a ideia de que, antes da correção, parte considerável da variação representada em PC1 reflete variação de forma relacionada ao tamanho. Em contrapartida, os componentes PC2 e PC3 apresentaram correlações muito próximas de zero (r = -0,047 e r = 0,023, respectivamente), indicando ausência de associação significativa com o tamanho. Esses eixos, portanto, são representativos de variação independente de alometria e podem refletir aspectos morfológicos relacionados a adaptações funcionais, filogenia ou história ecológica puramente.

O gráfico de coeficientes angulares derivados da regressão sobre o PC1, representado na figura 07, quando agrupado por táxons individuais ou gêneros, permite observar as tendências alométricas entre as diferentes populações. Nota-se que, com algumas exceções, há uma consistência nos padrões alométricos entre espécies do mesmo gênero, o que sugere a existência de restrições evolutivas compartilhadas na relação entre forma e tamanho. Essa tendência será mais detalhadamente explorada nas análises de componentes principais (PCA) realizadas após a correção alométrica, que permitirão avaliar se as estruturas de agrupamento morfológico permanecem evidentes mesmo na ausência da variação associada ao tamanho.

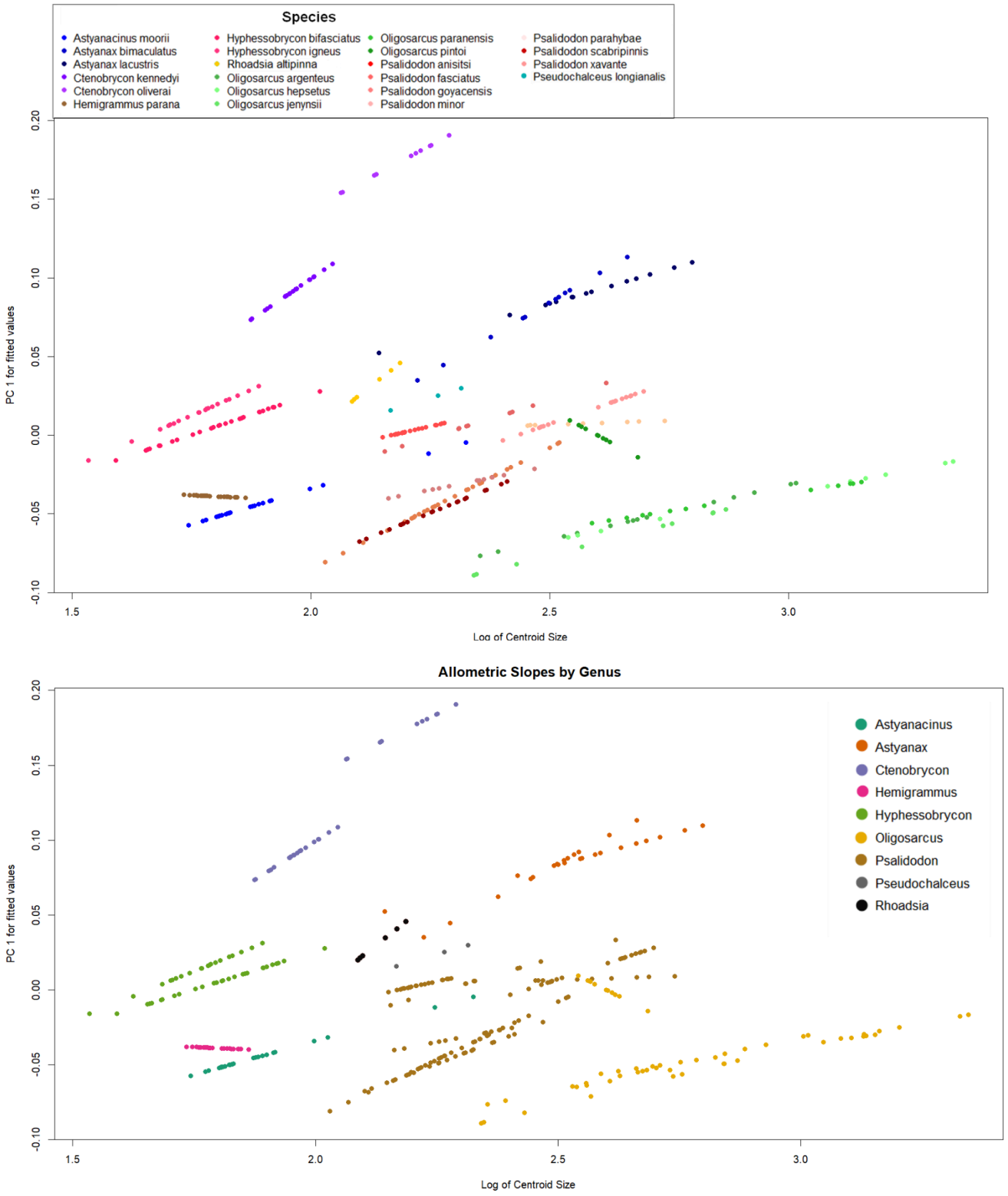


Figura 07 -Representação gráfica dos slopes alométricos para os táxons analisados. **Acima**, a relação entre o log do tamanho do centroide e os escores do primeiro componente principal da forma é exibida para todas as espécies individualmente. **Abaixo**, os dados foram agrupados por gênero, revelando tendências alométricas médias entre os principais grupos. As inclinações das retas refletem a direção e intensidade da mudança de forma associada ao tamanho.

Tabela 01 - Comparações pairwise dos slopes alométricos de forma (regressão da forma sobre o log do tamanho do centroide) entre os gêneros analisados.

Pair	Z	p-value
Astyanacinus : Ctenobrycon	4.26	0.001
Astyanax : Ctenobrycon	4.58	0.001
Astyanax : Oligosarcus	2.57	0.003
Astyanax : Psalidodon	2.14	0.014
Ctenobrycon : Hemigrammus	2.06	0.017
Ctenobrycon : Hyphessobrycon	5.47	0.001
Ctenobrycon : Oligosarcus	6.41	0.001
Ctenobrycon : Psalidodon	5.98	0.001
Oligosarcus : Psalidodon	5.59	0.001

A tabela apresenta os pares de gêneros que mostraram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0.05$), com seus respectivos valores de Z. As diferenças indicam trajetórias alométricas distintas entre os grupos, sendo o gênero *Ctenobrycon* o que mais se distancia dos demais, refletindo um efeito alométrico completamente distinto dos demais.

Os resíduos da regressão multivariada foram utilizados para a análise de componentes principais (PCA), de modo a explorar padrões de variação morfológica independentes do tamanho. A PCA resultante (Figuras 08 e 09) revelou três eixos principais de variação: PC1 (54,03%), PC2 (20,47%) e PC3 (7,21%), que juntos explicam 81,71% de toda a variação observada nos dados. Os 57 componentes restantes apresentaram contribuições individuais inferiores a 5% e, portanto, foram considerados menos relevantes do ponto de vista interpretativo. Os extremos morfológicos representados nos três primeiros componentes podem ser visualizados na Figura 10.

O componente principal 1 (PC1) representa a maior fração da variação residual de forma, embora tenha sofrido uma redução expressiva em sua representatividade após a correção alométrica — passando de aproximadamente 82,07% para 54,03%. Essa queda é consistente com a remoção de um padrão comum de variação associado ao tamanho corporal, o que reforça que boa parte da variação capturada inicialmente por PC1 refletia a alometria. Ainda assim, PC1 continua sendo o principal eixo de variação e diferencia morfologias

corporais mais alongadas e fusiformes (valores positivos) de corpos mais altos, robustos e com perfil circular (valores negativos). Esse padrão sugere uma forte separação entre espécies com hábitos natatórios potencialmente distintos ou adaptadas a diferentes nichos hidrodinâmicos.

O segundo componente (PC2), que explica 20,47% da variação, parece estar associado a variações sutis na posição e ângulo de inserção das nadadeiras pélvicas e anal, além de diferenças no comprimento da cavidade abdominal. Tais características podem estar relacionadas a adaptações de estabilidade e manobrabilidade em diferentes ambientes ou ao modo de natação predominante na espécie. O eixo PC3, responsável por 7,21% da variação, concentra variações mais discretas, especialmente relacionadas à posição e inclinação da nadadeira dorsal.

Esses resultados destacam a utilidade da PCA com dados corrigidos alometricamente para identificar padrões sutis de variação morfológica e potenciais agrupamentos. No entanto, a aplicação dessa abordagem também revelou algumas limitações práticas, especialmente relacionadas ao tamanho amostral de determinados táxons. A geração das elipses de confiança, utilizadas para representar visualmente a dispersão morfológica dentro dos grupos, requer um número mínimo de observações por grupo para que as estimativas estatísticas sejam válidas. Em casos como o de *Pseudochalceus longianalis*, cuja amostragem foi muito reduzida, a elipse correspondente não pôde ser gerada.

Além disso, embora a visualização por espécie permita uma resolução mais refinada da diversidade morfológica, o elevado número de grupos e a consequente sobreposição visual dos dados tornam a visualização dos resultados bastante difícil. Essa dificuldade motivou a produção de um gráfico complementar com os táxons agrupados por gênero.

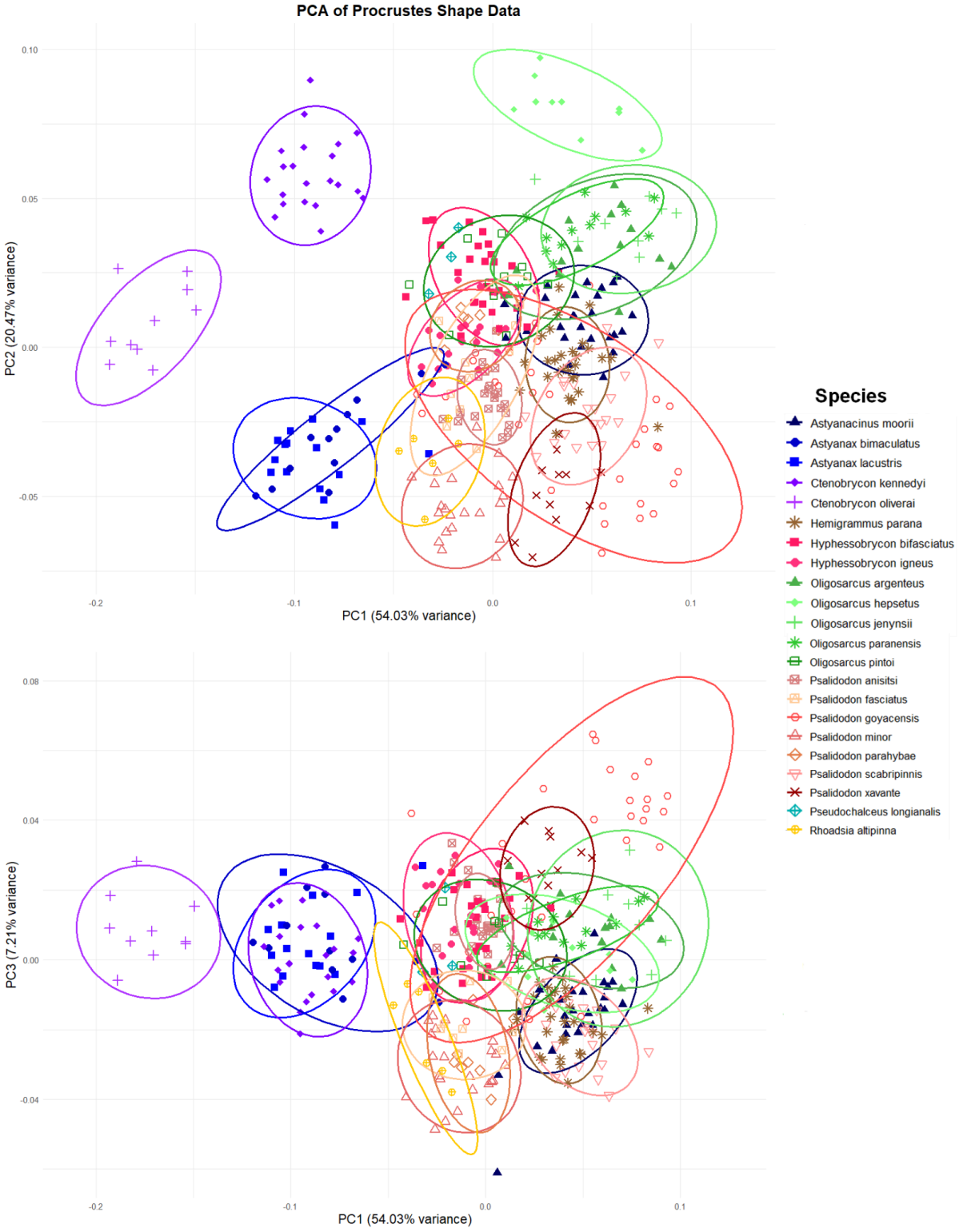


Figura 08 - Análise de Componentes Principais (PCA) baseada nos resíduos da regressão alométrica, com agrupamentos por espécie. Os gráficos representam a variação morfológica nos planos PC1 vs PC2 (acima) e PC1 vs PC3 (abaixo).



Figura 09 - Análise de Componentes Principais (PCA) baseada nos resíduos da regressão multivariada entre forma e tamanho, representando a variação morfológica independente da alometria para os gêneros analisados. O gráfico superior apresenta a projeção dos dados nos dois primeiros componentes (PC1 e PC2), enquanto o gráfico inferior exibe a projeção entre PC1 e PC3. As elipses indicam os agrupamentos por gênero, com base em 95% de confiança. As formas médias dos gêneros *Oligosarcus*, *Ctenobrycon* e *Psalidodon* são representadas por desenhos esquemáticos e destacam os extremos morfológicos capturados pela PCA.

A visualização da PCA agrupada por gênero (Figura 09) fornece uma representação mais clara dos padrões morfológicos entre os principais grupos analisados. Os agrupamentos formados por espécies congêneres tornam-se mais evidentes e reforçam a influência de fatores

evolutivos/genéticos na determinação da forma corporal. Desenhos representativos da morfologia típica dos animais que compõem os três grupos principais: *Oligosarcus*, *Ctenobrycon* e *Psalidodon*, foram incluídos para facilitar a interpretação das diferenças fenotípicas capturadas por cada um dos componentes principais. Observa-se, por exemplo, que os representantes do gênero *Oligosarcus* ocupam consistentemente a extremidade positiva do eixo PC1, apresentando corpos alongados, estreitos e hidrodinâmicos, coerentes com seu hábito predatório e maior porte corporal. Em contraste, as duas espécies de *Ctenobrycon* distribuem-se no extremo oposto do mesmo eixo, refletindo morfologias altamente compactas e profundas. Apesar de pertencerem ao mesmo gênero, esses dois táxons apresentam distância relativamente elevada no espaço morfométrico, o que reflete a já mencionada morfologia de *Ctenobrycon oliverai*, o mais profundo e circular entre todos os espécimes analisados.

Notavelmente, os indivíduos de *Psalidodon goyacensis* apresentam uma ampla dispersão ao longo do eixo PC3, ocupando aproximadamente dois terços do espaço de variação explicada por esse componente. Esse padrão pode refletir elevada variação intraespecífica associada a características mais sutis da morfologia, como a posição relativa e o ângulo de inserção da nadadeira dorsal, principais atributos capturados por esse eixo.

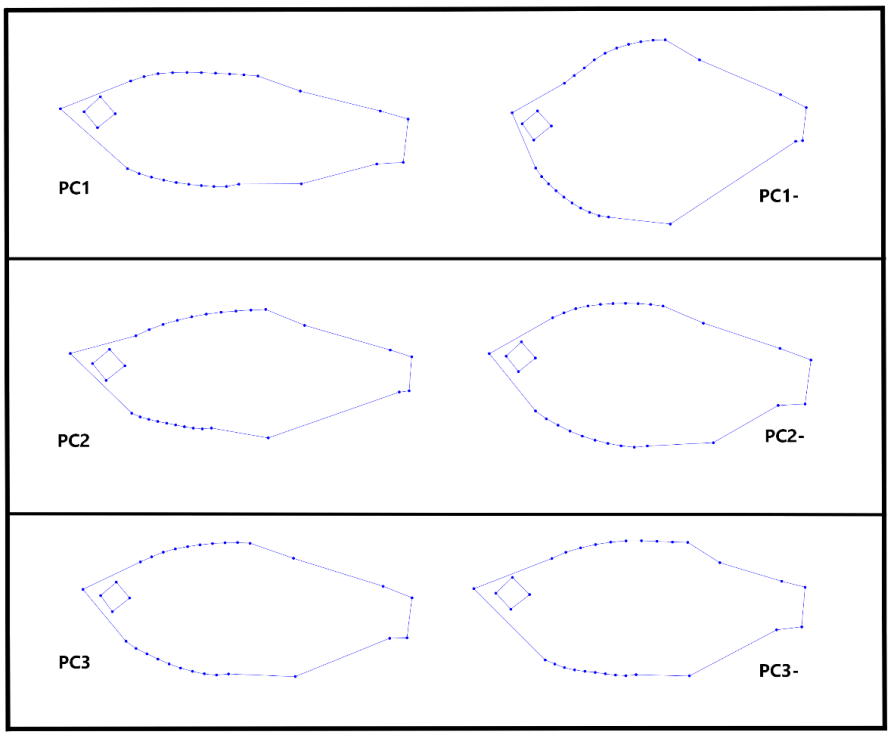


Figura 10 - Representação wireframe da variação morfológica observada nos valores extremos da distribuição dos dados ao longo dos três primeiros componentes principais.

4.2 - Modularidade

Todas as hipóteses de modularidade foram avaliadas por meio do coeficiente de covariação modular (CR), observado na figura 11, utilizando permutações aleatórias para estimar a significância estatística e o tamanho do efeito (Z_{CR}, sempre em comparação à hipótese nula de ausência de modularidade). Para a hipótese de dois módulos, que considera uma divisão entre regiões cranianas e pós-cranianas, foi obtido um valor de CR = 1.0001, com p = 0.014 e Z_{CR} = -2.33. Esses resultados indicam um sinal modular fraco ou completamente inexistente.

A hipótese de três módulos com a separação em regiões craniana, pós-craniana e caudal apresentou os resultados mais robustos. O valor de CR foi menor (CR = 0.906), acompanhado por um p-valor altamente significativo ($p < 0.001$) e um tamanho de efeito acentuadamente negativo (Z_{CR} = -3.85), o que caracteriza um forte sinal modular. Esse padrão indica que a estrutura corporal destes animais pode ser melhor descrita por três módulos semi-independentes.

A comparação direta entre modelos, por meio da função “compare.CR”, reforça essa conclusão. A hipótese de três módulos se diferencia significativamente da hipótese nula ($p < 0.001$) e também da hipótese de dois módulos (p = 0.029), com tamanhos de efeito mais negativos em todas as comparações. Embora a hipótese de dois módulos também seja significativamente distinta da nula (p = 0.020), seu sinal modular é consideravelmente mais fraco. Assim, os resultados indicam que a configuração com três módulos anatômicos representa a hipótese mais adequada para descrever a organização morfológica modular neste conjunto de dados, tanto em termos estatísticos quanto biológicos.

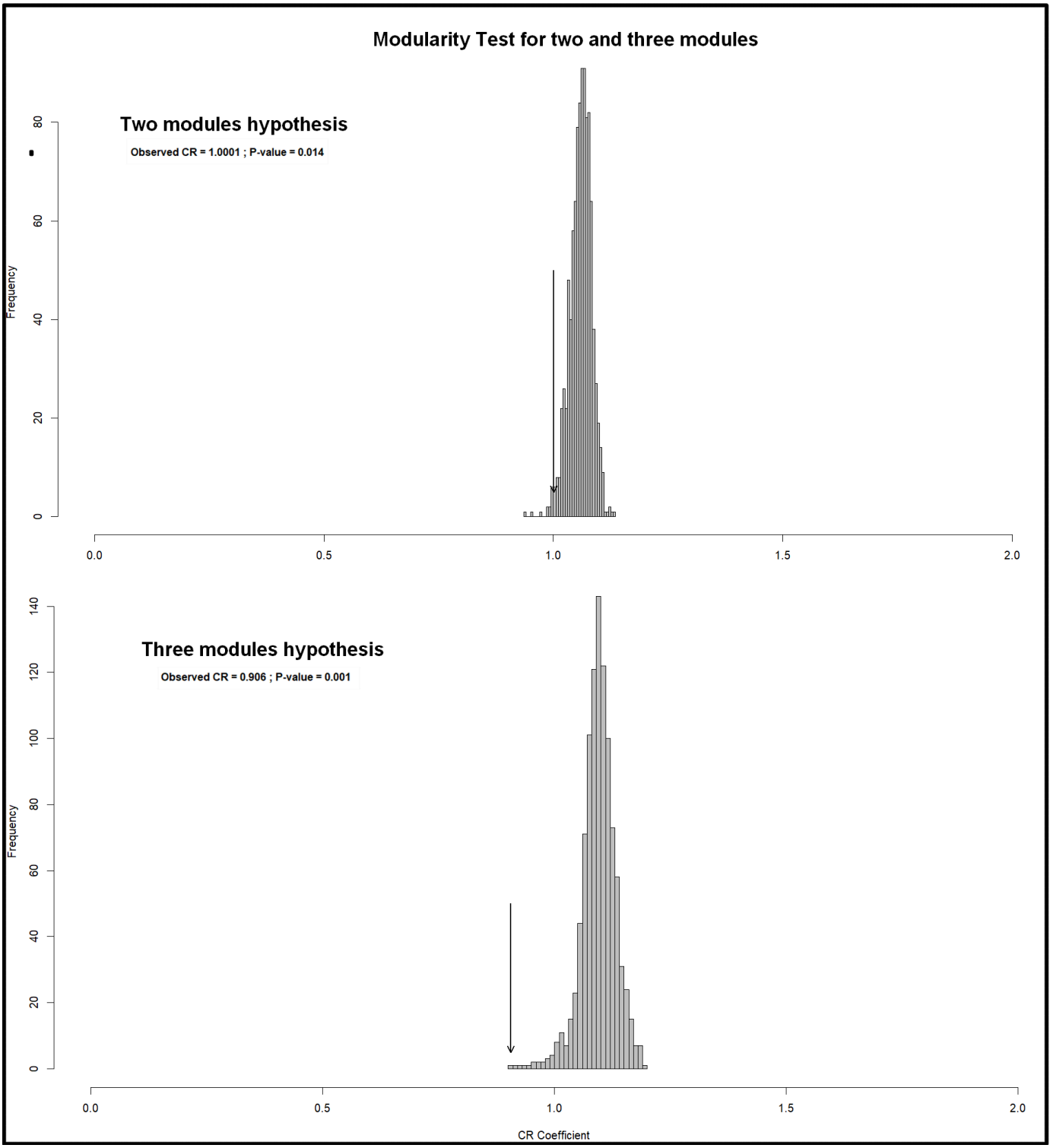


Figura 11 - Testes de modularidade para as hipóteses de dois e três módulos, baseados no coeficiente de covariação modular (CR) com 1000 permutações aleatórias. No painel superior, a hipótese de dois módulos apresentou CR = 1.0001 com p = 0.014, indicando sinal modular significativo, porém extremamente fraco. No painel inferior, a hipótese de três módulos resultou em CR = 0.906 e p = 0.001, com um valor observado notavelmente deslocado em relação à distribuição nula, evidenciando um forte sinal modular. A seta indica a posição do valor observado em ambas as distribuições.

4.3 - Integração

Nas análises de integração morfológica (Figura 12) ambas as hipóteses testadas, com dois e três módulos, revelaram sinais de integração altamente significativos entre os módulos definidos. Para a hipótese de dois módulos, que considera uma divisão entre regiões craniana e pós-craniana, o valor do coeficiente r-PLS foi de 0.9523 ($p < 0.001$), com tamanho de efeito $Z_{CR} = 8.71$, indicando uma integração morfológica extremamente forte entre essas regiões. O padrão visual observado nos escores do primeiro eixo de PLS reflete essa integração, com os dados alinhados de maneira estreita ao longo da regressão linear, evidenciando uma covariação estrutural intensa.

A hipótese alternativa, que considera três módulos (craniano, pós-craniano e caudal), também apresentou resultados significativos, embora com um nível de integração um pouco inferior (r-PLS = 0.8562; $p < 0.001$; $Z_{CR} = 8.58$). A média geral de r-PLS permanece elevada, reforçando que os módulos definidos compartilham um grau considerável de dependência estrutural. Contudo, os resultados parciais das comparações par a par (Tabela 02) indicam que a covariação é mais forte entre os módulos craniano e pós-craniano do que entre esses e a região caudal.

Esses resultados indicam que, independentemente da hipótese modular considerada, a morfologia dos táxons analisados é caracterizada por um elevado grau de integração entre regiões corporais, o que sugere restrições evolutivas compartilhadas e possíveis vínculos ontogenéticos ou funcionais entre os módulos analisados.

Tabela 02 - Estatísticas par-à-par (pairwise) para a hipótese de três módulos baseadas em 10000 permutações.

Módulos	**rPLS**	**Z_{CR}**
A-B	0.9549*	8.4527
A-C	0.7522*	6.9889
B-C	0.8613*	9.7918
Geral	0.8562*	8.57975

Nota: Asteriscos significam valor de $p < 0.001$.

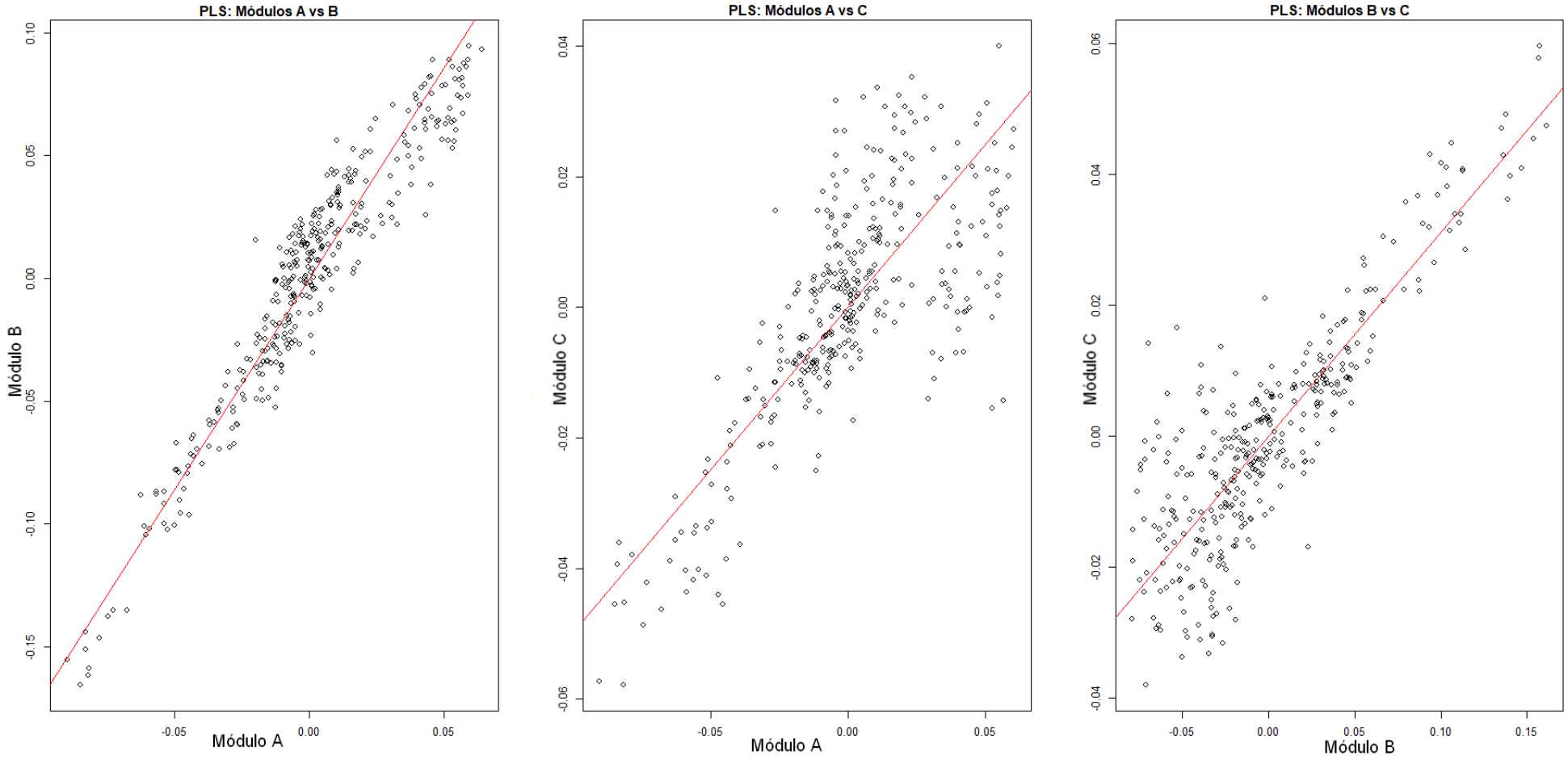


Figura 12 - Análise de Integração Morfológica entre os módulos craniano (A), pós-craniano (B) e caudal (C), com base na análise de mínimos quadrados parciais (PLS). Os gráficos mostram a covariância linear entre os escores do primeiro eixo de PLS para cada par de módulos, com a linha vermelha representando a regressão linear. Observa-se um padrão de co-variação particularmente forte entre os módulos A e B (r-PLS = 0.9549), seguido das combinações A–C e B–C, refletindo uma integração mais intensa entre as regiões anterior e média do corpo.

5 - DISCUSSÃO

5.1- Uma morfologia conservada e o suporte aos resultados filogenéticos.

Os resultados da análise de componentes principais (Fig. 09) reforçam a ideia de uma morfologia corporal altamente conservada nesses grupos. Apesar da clara formação de *clusters* entre espécies congêneres, a grande sobreposição entre muitos desses agrupamentos evidencia uma ocupação razoavelmente restrita do morfoespaço; Também observamos que metade de toda a variação de forma está concentrada ao redor de um eixo dominante principal (PC1), no qual quase a totalidade da variabilidade indexada está associada a corpos fusiformes ou compressiformes. Um resultado pouco surpreendente, dada a natureza fundamentalmente bi-dimensional desses animais, mas que, junto à baixa relevância observada nos eixos seguintes, parece indicar um número limitado de caminhos morfológicos sendo explorados por esses animais.

A distribuição dos táxons ao longo do eixo PC1 mostra uma forte tendência do grupo à morfologia alongada e pouco profunda, com exceções apenas entre os gêneros *Ctenobrycon* e *Astyanax*, posicionados na metade oposta do eixo e caracterizados por formas corporais mais altas e comprimidas. Mesmo espécies de maior porte, como os predadores ictiófagos do gênero *Oligosarcus* (Abelha et al., 2012), apresentam sobreposição morfológica com táxons diminutos e generalistas como os do gênero *Psalidodon* (Fonseca et al., 2022), sugerindo que fatores como hábitos alimentares ou eventos de miniaturização não são suficientes para explicar a baixa disparidade observada e que mecanismos funcionais ou ontogenéticos, como a ação integrativa proposta, podem estar por trás da manutenção da forma destes animais.

Vari (1998) já alertava para a dificuldade de distinguir morfologicamente espécies de diferentes linhagens dentro de grandes grupos neotropicais como a antiga família Characidae, o qual os Acestrorhamphidae pertenciam. Segundo o autor, essa estabilidade morfológica, apesar da diversidade taxonômica e ecológica, representa um desafio para a sistemática tradicional, uma vez que muitas delas compartilham um plano corporal geral que se manteve estável ou apresentam impressionante convergência de formas.

Um exemplo dessas dificuldades pode ser observado no gênero *Hyphessobrycon*, historicamente diagnosticado com base em caracteres de morfologia tradicional, mas que no

entanto, com o avanço dos estudos filogenéticos, se mostrou polifilético (Mirande, 2010, 2019, Melo et al., 2024, Oliveira et al., 2011). Atualmente o gênero possui espécies distribuídas entre as subfamílias Acestrorhamphinae, Thayeriinae e a própria Hyphessobryconinae, o que ilustra com clareza o grau de homoplasia morfológica e os limites da morfologia tradicional para capturar relações evolutivas profundas nesses peixes (Melo et al., 2024). Tal cenário reforça a necessidade de abordagens integrativas que aliem morfometria geométrica, dados moleculares e informações ecológicas para uma melhor compreensão da diversidade e evolução dos Characiformes neotropicais.

Complementarmente, Sidlauskas (2008) demonstra que, entre clados irmãos de Characiformes, há contrastes marcantes entre os padrões de diversificação morfológica: enquanto alguns grupos apresentam uma diversidade elevada, outros parecem experimentar estagnação morfológica, mesmo exibindo altas taxas de especiação. Esse processo de "diversificação interrompida" sugere que certas linhagens podem permanecer restritas a uma região reduzida do morfoespaço, talvez em função destas mesmas restrições ontogenéticas, possivelmente na forma de integração estrutural ou funcional.

Essa dissociação entre diversidade taxonômica e diversidade de forma também é discutida por Foote (1997), que argumenta que altas taxas de especiação não necessariamente implicam em alta disparidade morfológica. Em clados onde há forte integração entre partes do corpo ou em que as pressões seletivas favorecem um morfotipo funcional ideal, a especiação pode ocorrer majoritariamente por mecanismos genéticos, geográficos ou comportamentais, sem grande transformação fenotípica. No caso dos grupos analisados aqui, é possível que o plano corporal central, alongado e hidrodinâmico, funcione como uma solução estável e altamente adaptativa, levando à retenção de formas similares ao longo da diversificação da linhagem.

Os resultados da PCA também corroboram as novas combinações taxonômicas propostas por Melo et al. (2024) com base na filogenia molecular. As espécies *Psalidodon scabripinnis* e *P. minor*, anteriormente atribuídas ao gênero *Astyanax*, se agruparam de forma coesa com outros membros de *Psalidodon*, incluindo *P. parahybae* e *P. fasciatus*, propostos por Terán et al. (2020). De modo semelhante, *Astyanacinus moorii* se distancia morfologicamente de *Astyanax*, refletindo sua posição filogenética isolada. No caso de *Ctenobrycon*, observa-se que *Ctenobrycon kennedyi* mantém uma morfologia coerente com o gênero, enquanto *Ctenobrycon oliverai* se mostra bastante discrepante, um comportamento já

observado em análises anteriores com mais membros do gênero (Coelho et al, 2025, à publicar).

A análise dos coeficientes angulares da alometria apontou padrões de variação semelhantes para a maioria dos gêneros analisados, indicando trajetórias alométricas similares. No entanto, a análise estatística das comparações par-a-par entre os *slopes* revelou diferenças significativas entre diversos pares, indicando que, embora os padrões de crescimento sejam tipicamente conservados, existem algumas exceções. O gênero *Ctenobrycon* apresentou os maiores contrastes, diferenciando-se significativamente de *Astyanax*, *Psalidodon*, *Oligosarcus*, *Hemigrammus* e *Hyphessobrycon*, o que é condizente com sua morfologia consideravelmente distinta dos outros grupos. Diferenças significativas também foram observadas entre *Astyanax* e *Oligosarcus* e entre *Astyanax* e *Psalidodon*.

5.2 - Modularidade e integração em diferentes níveis

Assim como demonstrado por Burns e Sidlauskas (2023) para a ordem Characiformes como um todo, os resultados deste estudo apontam para a existência de um eixo de integração extremamente forte, responsável por orientar e acelerar transformações coordenadas no plano corporal de representantes da família Acestrorhamphidae. Este eixo organiza a variação morfológica predominante ao longo de um gradiente entre formas fusiformes e compressiformes, refletindo uma estrutura de covariação que conecta de forma consistente os módulos craniano e pós-craniano. Ao mesmo tempo, os resultados também sugerem a presença de modularidade, com suporte mais forte para a separação do módulo pós-craniano em duas regiões semi-independentes: a porção pré-caudal e a região caudal.

A representação gráfica dos efeitos integrativos (Figura 13) permite observar diretamente os padrões de covariação entre os módulos anatômicos. O par craniano-pós-craniano (A–B) exibe deformações altamente coordenadas, com continuidade nas torções ao longo do corpo, refletindo o maior valor de correlação observado (r-PLS = 0.9549). Já os pares A–C (cabeça e cauda) e B–C (tronco e cauda) revelam padrões de integração mais fracos, com deformações menos sincronizadas, especialmente no par A–C. Esses padrões são coerentes com a proximidade funcional e anatômica entre os módulos anteriores e a independência parcial da região caudal, frequentemente associada a pressões seletivas de locomoção.

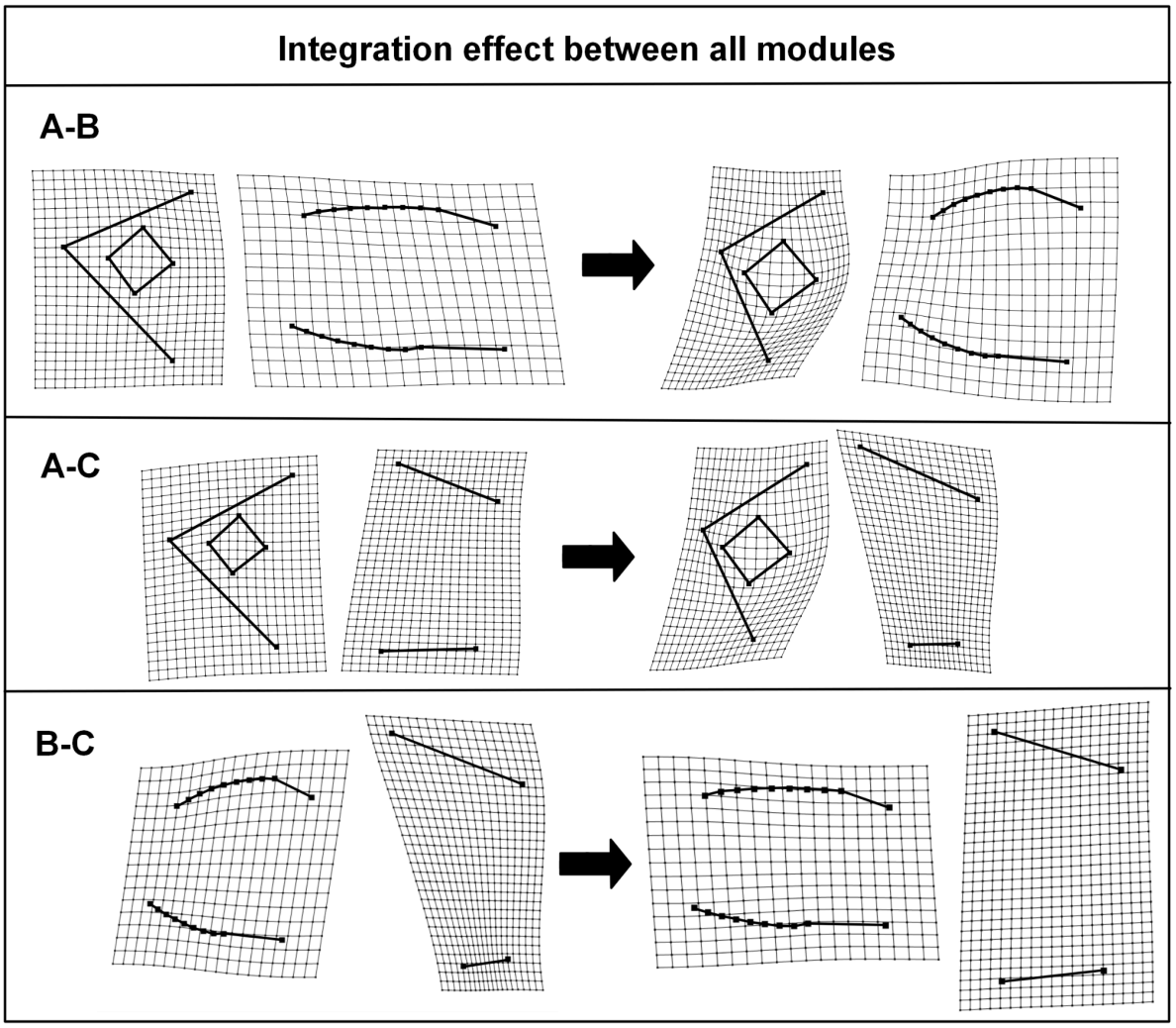


Figura 13 - Grades de deformação (warp grids) representando os efeitos integrativos entre os módulos craniano (A), pós-craniano (B) e caudal (C), com base na análise de mínimos quadrados parciais (PLS). As deformações nos grids indicam o padrão de covariação morfológica entre os módulos, destacando o eixo de integração dominante entre as regiões anteriores e a maior independência funcional da cauda.

Do ponto de vista teórico, a presença simultânea de integração forte e modularidade funcional é interpretada como uma estrutura que combina restrições evolutivas globais com flexibilidade regional. Em sistemas morfologicamente integrados, o eixo principal de covariação tende a orientar a maior parte das transformações fenotípicas, canalizando a evolução ao longo de trajetórias previsíveis. No entanto, a modularidade local permite que adaptações específicas ocorram de forma dissociada, especialmente em regiões com maior independência funcional, como a cauda. Esse equilíbrio entre coesão e dissociação morfológica está na base dos modelos propostos por Felice et al. (2018) e por Burns e Sidlauskas (2019, 2023), que discutem como a forma pode evoluir em sistemas altamente integrados.

Contudo, diferentemente do padrão observado em Burns e Sidlauskas (2023), no qual o eixo relacionado à profundidade corporal representou o segundo componente principal e explicou menos de 25% da variação, aqui esse mesmo eixo corresponde ao PC1 e explica mais de 50% da variação dentro dos grupos analisados. O segundo componente mais relevante (PC2), responsável por aproximadamente 24% da variação, também carrega elementos associados à profundidade corporal (Figura 9). Esses resultados sugerem que, embora a modularidade esteja presente, é a integração entre os módulos anteriores que exerce o papel predominante na organização da forma corporal em Acestrorhamphidae. Dessa forma, o padrão observado neste estudo se aproxima mais do conceito de "mosca em um tubo" (Felice et al., 2018), em que a evolução é altamente canalizada, do que do modelo de "poste com placas" proposto por Burns e Sidlauskas (2023), no qual a forma evolui com maior liberdade lateral a partir de um eixo central.

5.2 - Implicações funcionais do eixo integrativo dominante

A presença de um eixo de integração fortemente consolidado entre as regiões craniana e pós-craniana em Acestrorhamphidae sugere uma arquitetura funcional que, mais do que restringir, pode ter orientado a diversificação morfológica ao longo de um gradiente altamente eficiente do ponto de vista biomecânico. Em contextos ecológicos típicos de ambientes neotropicais como rios de correnteza variável, margens alagáveis e igarapés estreitos a manutenção de um perfil corporal coeso é fundamental para garantir uma natação eficiente. Isso se deve ao fato de que a especialização em um determinado tipo de nado geralmente compromete a capacidade de desempenho em outros modos locomotores, como demonstrado por Webb (1984) e Blake (2004). Nesse sentido, a forte covariação entre as regiões craniana e pós-craniana pode atuar como um mecanismo adaptativo para preservar a eficiência locomotora, evitando que essas partes do corpo se especializem simultaneamente para diferentes estilos de nado. Em contraste, a menor integração observada no módulo caudal oferece maior liberdade morfológica, permitindo alterações mais sutis que compartilhem uma forma geral de corpo, como aquelas associadas à natação sustentada de longa duração ou à aceleração explosiva, onde a principal diferença está no formato da nadadeira caudal e na espessura do pedúnculo caudal, como podemos observar também em Webb (1984).

Além do papel locomotor, essa integração estrutural pode ser essencial para a manutenção do equilíbrio corporal em face de alterações tróficas. Em peixes que apresentam

modificações cranianas voltadas à alimentação, como aumento da abertura bucal ou protrusão do rostro, a estabilidade morfológica do tronco precisa acompanhar tais alterações para evitar desequilíbrios hidrodinâmicos. A alta integração entre esses módulos assegura que tais mudanças sejam distribuídas ao longo do corpo, mantendo um centro de massa equilibrado e um perfil de nado eficiente. Essa característica pode explicar por que, mesmo entre espécies predadoras como *Oligosarcus* e formas generalistas diminutas como *Psalidodon*, a morfologia global do corpo permanece notavelmente estável.

6 – Conclusão

Os resultados obtidos neste trabalho reforçam a ideia de que as subfamílias estudadas, e potencialmente as demais subfamílias que integram Acestrorhamphidae, apresentam uma variedade morfológica bastante limitada frente a exuberante diversidade de espécies que as compõem, com a maior parte da variação fortemente canalizada ao longo de um único componente principal relacionado ao comprimento e profundidade do corpo. Mesmo com a remoção dos efeitos do tamanho, os grupos analisados demonstram padrões marcantes de uma morfologia conservada, indicando que a diversidade da linhagem evoluiu sob restrições estruturais persistentes. A investigação quanto à presença de integração atuando no grupo também suporta o observado nas análises de componentes principais, confirmando a presença de um forte efeito integrativo atuante no corpo destes animais, que organiza e orienta a transformação corporal de maneira altamente coordenada. Da mesma forma confirmou-se a presença de blocos modulares nesses táxons, embora ao que tudo indica, com um efeito reduzido e dominado pelo eixo de integração.

Ademais, mesmo diante da limitada variabilidade morfológica observada, o posicionamento e o agrupamento dos táxons no espaço morfológico mostraram-se notavelmente consistentes com as combinações taxonômicas propostas por Melo et al. (2024). As espécies atribuídas a novos agrupamentos filogenômicos se organizaram de forma coesa na PCA, revelando uma correspondência clara entre morfologia e filogenia. Isso fornece suporte adicional à reestruturação filogenética recente e indica que, mesmo quando a disparidade de forma é sutil, a morfometria geométrica é capaz de capturar sinais estruturais robustos e biologicamente informativos. Essa coerência entre o morfoespaço observado e as relações filogenéticas do grupo reforça, portanto, a utilidade da abordagem morfométrica como ferramenta complementar à análise molecular, sobretudo em grupos onde a homoplasia

e a morfologia conservada dificultam a aplicação de critérios tradicionais de diagnose taxonômica.

As respostas obtidas, sobretudo, permitem uma melhor compreensão sobre como o grupo se diversifica, fundamental não apenas para a sistemática e a biologia evolutiva, mas também para a conservação. Em ambientes cada vez mais fragmentados e sob crescente impacto antrópico, como os sistemas hídricos neotropicais, reconhecer a diversidade real das linhagens, suas restrições evolutivas e os caminhos possíveis de adaptação morfológica é um passo crucial para a formulação de estratégias de preservação mais eficazes. O bom entendimento da diversidade funcional e morfológica, mesmo quando sutil, pode representar a chave para determinar a resiliência ecológica de grupos inteiros. Assim, estudos como este contribuem não apenas para o avanço da ciência básica, mas também para a base conceitual sobre a qual se constrói a conservação da ictiofauna neotropical.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABELHA, M.C.F. et al. Population structure, condition and diet of *Oligosarcus paranensis* (Menezes & Géry, 1983) (Osteichthyes: Characidae) at two reservoirs in South Brazil. *Biota Neotropica*, v. 12, n. 1, 2012.

ADAMS, D.C.; COLLYER, M.L. Comparing the strength of modular signal, and evaluating alternative modular hypotheses, using covariance ratio effect sizes with morphometric data. *Evolution*, v. 73, n. 12, páginas 2352–2367, 2019.

ADAMS, D.C.; COLLYER, M.L. On the comparison of the strength of morphological integration across morphometric datasets. *Evolution*, v. 70, páginas 2623–2631, 2016.

ADAMS, D.C.; OTÁROLA-CASTILLO, E. Geomorph: an R package for the collection and analysis of geometric morphometric shape data. *Ecology and Evolution*, v. 4, n. 4, páginas 393–399, 2013.

ADAMS, D.; ROHLF, F.J.; SLICE, D.E. A field comes of age: geometric morphometrics in the 21st century. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*, v. 24, n. 1, páginas 7–14, 2013.

ALBERT, J.S.; REIS, R.E. Historical biogeography of Neotropical freshwater fishes. *Systematic Biology*, v. 61, n. 3, páginas 543–545, 2012.

ANTONELLI, A. The rise and fall of Neotropical biodiversity. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 199, n. 1, páginas 8–24, 2022.

BAKEN, E.K. et al. Geomorph v4.0 and gmShiny: enhanced analytics and a new graphical interface for a comprehensive morphometric experience. *Ecology and Evolution*, v. 12, n. 12, páginas 2355–2363, 2021.

BATES, H.W. *The naturalist on the River Amazons*. London: Murray, 1863.

BLAKE, R.W. Fish functional design and swimming performance. *Journal of Fish Biology*, v. 65, páginas 1193–1222, 2004.

BOLKER, J.A. Modularity in development and why it matters to Evo-Devo. *American Zoologist*, v. 40, páginas 770–776, 2000.

BOOKSTEIN, F.L. et al. Cranial integration in *Homo*: singular warps analysis of the midsagittal plane in ontogeny and evolution. *Journal of Human Evolution*, v. 44, páginas 167–187, 2003.

BURNS, M.D. et al. Simultaneous integration and modularity underlie the exceptional body shape diversification of characiform fishes. *Evolution*, v. 77, n. 3, páginas 746–762, 2023.

BURNS, M.D.; SIDLAUSKAS, B.L. Ancient and contingent body shape diversification in a hyperdiverse continental fish radiation. *Evolution*, v. 73, n. 3, páginas 569–587, 2019.

MCKENNA, D.D. e FARRELL, B.D.Tropical forests are both evolutionary cradles and museums of leaf beetle diversity. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 103 (29) páginas 10947-10951, 2006.

DOMENICI, P.; HALE, M.E. Escape responses of fish: a review of the diversity in motor control, kinematics and behaviour. *Journal of Experimental Biology*, v. 222, n. 18, p. jeb166009, 2019.

DRAGHI, J.A.; WHITLOCK, M.C. Phenotypic plasticity facilitates mutational variance, genetic variance, and evolvability along the major axis of environmental variation. *Evolution*, v. 66, n. 9, páginas 2891–2902, 2012.

FELICE, R.N. et al. A fly in a tube: macroevolutionary expectations for integrated phenotypes. *Evolution*, v. 72, n. 12, páginas 2580–2594, 2018.

FONTENELLE, J.P. et al. Biogeography of the Neotropical freshwater stingrays (Myliobatiformes: Potamotrygoninae) reveals effects of continent-scale paleogeographic change and drainage evolution. *Journal of Biogeography*, v. 48, n. 6, páginas 1406–1419, 2021.

FRICKE, R.; ESCHMEYER, W.N.; VAN DER LAAN, R. (eds.). *Eschmeyer's catalog of fishes: genera, species, references*. San Francisco: California Academy of Sciences, 2024.

GOODALL, C. Procrustes methods in the statistical analysis of shape. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)*, v. 53, n. 2, páginas 285–321, 1991.

GOSWAMI, A. et al. The macroevolutionary consequences of phenotypic integration: from development to deep time. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 369, n. 1649, p. 20130254, 2014.

HALLGRÍMSSON, B. et al. Integration and the developmental genetics of allometry. *Integrative and Comparative Biology*, v. 59, n. 5, páginas 1369–1381, 2019.

HEDRICK, B.P. et al. Morphological diversification under high integration in a hyper diverse mammal clade. *Journal of Mammalian Evolution*, v. 27, páginas 563–575, 2020.

HELFMAN, G. Fish. In: LEVIN, S. A. (Ed.)**.** *Encyclopedia of biodiversity.* 2. ed. San Diego: Academic Press, 2013. v. 3, p. 456–476.

HOORN, C. et al.Amazonia Through Time: Andean Uplift, Climate Change, Landscape Evolution, and Biodiversity. *Science*, Edição 330, páginas 927-931, 2010.

HU, Y. et al. Evolution in an extreme environment: developmental biases and phenotypic integration in the adaptive radiation of antarctic notothenioids. *BMC Evolutionary biology*, volume 16, artigo 142, junho de 2016.

KLINGENBERG, C.; MONTEIRO, L. Distances and Directions in Multidimensional Shape Spaces: Implications for Morphometric Applications. *Systematic Biology*, volume 54, páginas 678-688, setembro de 2005.

KLINGENBERG, C.P. Analyzing fluctuating asymmetry with geometric morphometrics: concepts, methods, and applications. *Symmetry*, v. 7, n. 2, páginas 843–934, 2015.

KLINGENBERG, C.P. Studying morphological integration and modularity at multiple levels: concepts and analysis. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 374, n. 1774, 2019.

KLINGENBERG, C.P. Size, shape, and form: concepts of allometry in geometric morphometrics. *Genes and Evolution*, volume 226, 2016, páginas 113-137.

LUNDBERG, J.G**.** Fishes of the La Venta fauna: additional taxa, biotic and paleoenvironmental implications. In: KAY, R. F. et al. (Eds.). *Vertebrate paleontology in the Neotropics: the Miocene fauna of La Venta Colombia.* Washington, D.C.: Smithsonian Institution Press, páginas 67–91, 1997.

LÓPEZ-FERNÁNDEZ, H. e WINEMILLER, K.O. Systematic resolution and ecological diversification in Neotropical cichlids: implications for the evolution of the Neotropical ichthyofauna. Copeia, páginas 623–639, 2007(3).MALABARBA, L.R.; MALABARBA, M.C**.** *Biology and physiology of freshwater Neotropical fish.* [S.l.]: Elsevier, 2020.

MALABARBA, M.C.; MALABARBA, L.R**.** Biogeography of Characiformes: an evaluation of the available information of fossil and extant taxa. In: NELSON, J. S.; SCHULTZE, H.-P.; WILSON, M.V. H. (Eds.). *Origin and phylogenetic interrelationships of teleosts.* München: Verlag Dr. Friedrich Pfeil, páginas 317–336, 2010.

MELO, B. et al. Accelerated Diversification Explains the Exceptional Species Richness of Tropical Characoid Fishes. *Systematic Biology*, volume 71, páginas 78–92, Janeiro de 2022.

MELO, B. et al. Cryptic species in the Neotropical fish genus Curimatopsis (Teleostei, Characiformes). *Zoologica Scripta*, volume 45, 2016, páginas 650-658.

MELO, B. et al. Phylogenomics of Characidae, a hyper-diverse Neotropical freshwater fish lineage, with a phylogenetic classification including four families (Teleostei: Characiformes). *Zoological Journal of the Linnean Society*, Volume 202, edição 1, Setembro 2024.

MESEGUER, A.S. et al. The Origins and Drivers of Neotropical Diversity. *bioRxiv*, outubro de 2021.

MIRANDE, J.M. Morphology, molecules and the phylogeny of Characidae (Teleostei, Characiformes). *Cladistics*, volume 35, junho de 2019, páginas 282-300.

MIRANDE, J.M. Phylogeny of the family Characidae (Teleostei: Characiformes): from characters to taxonomy. *Neotropical Ichthyology*, páginas 385-568, janeiro de 2010.

MITTEROECKER, P. The Developmental Basis of Variational Modularity: Insights from QuantitativeGenetics, Morphometrics, and Developmental Biology. *Evolutionary Biology*, volume 36, páginas 377–385, 2009.

MORRONE, J.J. Neotropical Biogeography: Regionalization and Evolution. Primeira edição, *CRC press*, 2017.

MULLIN e TAYLOR.The effects of parallax on geometric morphometric data. *Computers in Biology and Medicine*, volume 32, Edição 6, novembro de 2002.

MYERS, N. et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*,volume 403, páginas 853–858, 2000.

OCHOA, L.E. et al. Multilocus analysis of the catfish family Trichomycteridae (Teleostei: Ostariophysi: Siluriformes) supporting a monophyletic Trichomycterinae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, volume 115, páginas 71-91, Outubro 2017.

ORNELAS-GARCÍA ,C.P. et al.Trophic specialization and morphological divergence between two sympatric species in Lake Catemaco, Mexico. *Ecology and Evolution*, páginas 4867–4875, abril de 2018.

PALMA-SILVA, C. et al. Drivers of exceptional Neotropical biodiversity: an updated view. *Botanical Journal of the Linnean Society*, volume 199, edição 1, páginas 1–7, maio de 2022.

PARK, P. et al. Landmark-Based Geometric Morphometrics: What Fish Shapes Can Tell Us about Fish Evolution. *Proceedings of the Association for Biology Laboratory Education*, volume 34, páginas 361-371, 2013.

PFENNIG, D.W. et al. Phenotypic plasticity's impacts on diversification and speciation. *Trends in Ecology & Evolution*, volume 25, edição 8, páginas 459 - 467, 2010.

PIRAS, P. et al. Morphological integration and functional modularity in the crocodilian skull. *Integrative Zoology*, Julho de 2013.

PRICE, S.A. et al. Building a body shape morphospace of teleostean fishes. *Integrative and Comparative Biology*, volume 59, edição 3, páginas 716–730, Ano 2019.

QUINTO-SÁNCHEZ, M. et al. Developmental pathways inferred from modularity, morphological integration and fluctuating asymmetry patterns in the human face. *Scientific Reports* 8, página 963 ,2018.

RICHARDSON, J.E. et al. Rapid Diversification of a Species-Rich Genus of Neotropical Rain Forest Trees. *Science*, edição 293, páginas 2242-2245, 2001.

ROHLF, F.J. The tps series of software. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*, novembro de 2015.

ROXO, F. et al. Phylogenomic reappraisal of the Neotropical catfish family Loricariidae (Teleostei: Siluriformes) using ultraconserved elements. *Molecular Phylogenetics and evolution*, volume 135, Páginas 148-165, Ano 2019.

SANSALONE, A. et al. Trapped in the morphospace: The relationship between morphological integration and functional performance. *Evolution*, Volume 76, edição 9, páginas 2020–2031, 1 de setembro de 2022.

SANTOS, A., BERTACO, V. e LUCENA, C. Revisão taxonômica de Psalidodon eigenmanniorum (Cope) com base em análises morfométrica, merística e padrão de colorido (Characiformes: Characidae). *Iheringia, Série Zoológica*, volume 112, 2022.

SCHLUTER, D. Adaptive radiation along genetic lines of least resistance. *Evolution*, volume 50, páginas 1766–1774, 1996.

SIDLAUSKAS, B. Testing For Unequal Rates Of Morphological Diversification In The Absence Of A Detailed Phylogeny: A Case Study From Characiform Fishes. *Evolution*, volume 61, edição 2, páginas 299-316, fevereiro de 2007.

SIDLAUSKAS, B. et al. Dealing with allometry in linear and geometric morphometrics: a taxonomic case study in the Leporinus cylindriformis group (Characiformes: Anostomidae) with description of a new species from Suriname. *Zoological Journal of the Linnean Society*, volume 162, maio de 2011, páginas 103–130.

SIMON, H. The architecture of complexity: hierarchic systems. *Proceedings of the American Philosophical Society* 106, páginas 467–482, 1962.

STROUD, J.T. e LOSOS, J.B. Ecological opportunity and adaptive radiation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*,volume 47, páginas 507–532, 2016.

TERÁN, G., BENITEZ, M. e MIRANDE, J.M. Opening the Trojan horse: phylogeny of Astyanax, two new genera and resurrection of Psalidodon (Teleostei: Characidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, volume 190, dezembro de 2020, páginas 1217–1234.

TROYER, E.M. et al. Evolutionary innovation accelerates morphological diversification in pufferfishes and their relatives. *Evolution*, volume 78, edição 11, novembro de 2024, páginas 1869–1882.

VARI, R.P. Neotropical Ichthyology: An Overview. *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes*, páginas 1-12, editora EDIPUCRS, janeiro de 1998.

WAGNER, G., ALTENBERG, L. Perspective: Complex Adaptations And The Evolution Of Evolvability. Evolution, volume 57, edição 5, páginas 1076-1085, Maio de 2003.

WAGNER, G.P., PAVLICEV, M. e CHEVERUD, J.M. The road to modularity. *Nature Reviews Genetics*, páginas 921-31, dezembro de 2007.

WAKELING, J. Biomechanics of fast-start swimming in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, volume 131(1), páginas 31–40, 2001.

WALLACE, A.R. Tropical nature, and other essays. *Macmillan & Co,* 1868.

WEBB, P.W. Form and Function in Fish Swimming. *Scientific American*, volume 251(1), páginas 72-83, 1984.

WELLBORN, G.A. e LANGERHANS, R. B. Ecological opportunity and the adaptive diversification of lineages. *Ecology and Evolution*, páginas 176–195, 2015.

YANG, A.S. Modularity, evolvability, and adaptive radiations: a comparison of the hemi-and holometabolous insects. *Evolution and Development*, páginas 59–72, 2001.

ZELDITCH, M.L. e GOSWAMI, A. What does modularity mean? *Evolution and Development*, edição 23, páginas 377–403, 2021.