

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(ZOOLOGIA)

**Evolução do aparato bucal em Characidae (Teleostei:
Characiformes): uma abordagem morfométrica**

Nathália Cristina Soares

Botucatu, 2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(ZOOLOGIA)

**Evolução do aparato bucal em Characidae (Teleostei:
Characiformes): uma abordagem morfométrica**

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biotecnologia de Botucatu da Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho” como parte dos
requisitos para a obtenção do título de Mestre em
Ciências Biológicas, Área: Zoologia.

Nathália Cristina Soares

Botucatu, 2021

S676e Soares, Nathália Cristina
Evolução do aparato bucal em Characidae
(Teleostei:Characiformes): uma abordagem morfométrica /
Nathália Cristina Soares. -- Botucatu, 2021
60 p. : tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(Unesp), Instituto de Biociências, Botucatu
Orientador: Ricardo Cardoso Benine

1. Zoologia. 2. Peixes de água doce. 3. Análise de
componentes principais. 4. Morfometria. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do
Instituto de Biociências, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Ricardo Cardoso Benine

Prof. Dr. Oscar Akio Shibatta

Dr. Gabriel de Souza da Costa e Silva

*Dedico este trabalho à ciência brasileira e a todos
os meus colegas cientistas.*

Agradecimentos

Tenho muito a agradecer a todos que fizeram parte deste trabalho e estiveram comigo durante esta jornada. Escrevo essas palavras com muita alegria já com uma enorme saudade do que se passou. Nossas trajetórias são sempre marcadas por altos e baixos, e nesse tempo difícil pelo qual estamos passando fica mais fácil notar as coisas ruins do que as coisas boas. Por isso, meus agradecimentos são mais que especiais, pois, se não fossem pelas maravilhosas pessoas que se fizeram presentes no meu caminho, não sei o que seria deste trabalho, e muito menos de mim.

Definitivamente nada teria evoluído se não fosse pelo meu orientador, Ricardo. Não somente nesses dois anos (e meio) de mestrado como desde a graduação quando me recebeu como aluna de iniciação científica em 2017. Sua empolgação e curiosidade sempre foram contagiantes. A forma que o Ricardo conversa, em cada papo de laboratório ou de mesa de bar, você consegue sentir que ele não é simplesmente um pesquisador na biologia – ele vive aquilo. Uma postura realmente inspiradora. O laboratório cresceu e diversificou. É de se admirar um professor que se mostra tão apaixonado pela ciência.

Aos queridos amigos e colegas de laboratório, muito obrigada pelas nossas conversas, discussões, conselhos de vida e boas risadas. E vocês que lutem, mas a Lais é a minha preferida. Se tem uma pessoa que merece o mundo, é ela. Muitas vezes a senti como minha irmã mais velha. Que orienta, cuida, se mostra doce, paciente e inteligente. Agradeço também a todos os aluninhos de IC que em algum momento me pediram ajuda ou explicação; quando vocês entendiam o que eu falava, me sentia realizada por eu mesma ter entendido aquilo também a ponto de passar adiante. Uma coisa que eu realmente posso deixar de conhecimento para vocês, é o seguinte: Nunca se esqueçam de levar a licença de coleta para o campo. Muito obrigada, Mário, pela experiência realmente divertida, mas acho que podemos manter como aquelas experiências que só se faz uma vez na vida (quem viveu, viveu).

Agradeço também às minhas famílias, afinal tenho muitas, que sempre me apoiaram mesmo às vezes não entendendo nada do que eu falava sobre meus estudos e experimentos. Sorriram comigo, se entristeceram comigo, e agora sem saber o que vai acontecer a seguir ainda estão comigo. Para o meu melhor amigo, meu amorzinho, André, que sempre me apoiou e acreditou em mim mesmo quando

eu não acreditei, muito obrigada por estar ao meu lado a cada passo e por ser minha família em todos os momentos.

Para meus queridos amigos de Botucatu, dos quais eu já não me aguento de saudade. Não sei o que seria de mim sem vocês na minha vida, sem ter com quem compartilhar as crises, os medos, e principalmente as risadas, carinhos, e as ideias mais doidas que poderiam existir, como visitar a Base da Nuvem às dez da noite num mês de pleno inverno.

Aos meus amigos de fora do meio acadêmico que sempre torceram por mim e me fizeram companhia nos mais variados momentos de esparecimento (vulgo lolzinho e wakfu) com quem sempre pude contar para recarregar as energias.

A todos os professores que, de uma forma ou de outra, fizeram parte da construção desse trabalho, como o professor Francisco Assis de Mello que nos emprestou sua magnífica lupa para as fotos; o professor Cláudio Oliveira pelo material biológico emprestado através do LBP; os professores Felipe Amorim e Nicholas Ferreira de Camargo que juntos ofereceram uma espetacular disciplina sobre a técnica que aprendi e utilizei; professores Oscar Akio Shibatta e Gabriel de Souza da Costa e Silva que participaram das minhas bancas e me orientaram com firmeza e amizade.

Agradeço também a Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior) pelo financiamento e a UNESP, IBB e o antigo Departamento de Zoologia que permitiram que toda essa pesquisa pudesse ser desenvolvida.

Aviso

Este manuscrito faz parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas, Área de Zoologia, e não deve ser tomado como uma publicação científica formalizada. Portanto, informações inéditas, opiniões e hipóteses, não estão disponíveis na literatura científica. Os interessados devem estar cientes de que referências públicas ao conteúdo deste estudo devem ser feitas somente com aprovação prévia do autor.

Notice

This manuscript is part of the requirements for the Master Dissertation Degree in Biological Sciences, Zoology area, and should not be taken as a formalized scientific publication. Therefore, new information, opinions, and hypotheses, are not available in the scientific literature. Interested people ought to be aware that public references to this study should be done only after previous acceptance of the author.

Lista de Figuras

- Figura 1.** Modelo das morfologias dentárias identificadas, sendo cada dente o de número dois (2º) do osso dentário. Correspondem: **a.** *Ctenobrycon spilurus* (70.21mm CP), **b.** *Moenkhausia costae* (61.91mm CP), **c.** *Bryconamericus iheringii* (38.29mm CP), **d.** *Jupiaba acanthogaster* (47.46mm CP). Escala = 1µm17
- Figura 2.** Landmarks (LM) e curvas (CV) das peças **a.** maxilar, **b.** premaxilar e **c.** dentário pela vista lateral. Exemplar: *Astyanax rivularis*, CP = 46.13mm25
- Figura 3.** PCA do osso dentário, os dois eixos somam 86.22% da variação total. As grades de deformação expressam a variação da forma nas extremidades (-X), (+X), (-Y) e (+Y). *Astyanax lacustris* (20), *A. rivularis* (20) *Bryconamericus iheringii* (13), *Ctenobrycon spilurus* (20), *Deuterodon iguape* (18), *D. luetkenii* (15), *D. pedri* (20), *Gymnocorymbus ternetzi* (20), *Hemigrammus ora* (20), *Jupiaba acanthogaster* (20), *Moenkhausia costae* (20), *M. grandisquamis* (12), *M. intermedia* (20), *M. jamesi* (20), *Piabina argentea* (20), *Psalidodon fasciatus* (20), *Psellogrammus kennedyi* (20), *Tetragonopterus chalceus* (19), *T. denticulatus* (12)28
- Figura 4.** PCA do osso maxilar, os dois eixos somam 68.67% da variação total. As grades de deformação expressam a variação da forma nas extremidades (-X), (+X), (-Y) e (+Y). *Astyanax lacustris* (20), *A. rivularis* (20) *Bryconamericus iheringii* (14), *Ctenobrycon spilurus* (20), *Deuterodon iguape* (19), *D. luetkenii* (15), *D. pedri* (20), *Gymnocorymbus ternetzi* (20), *Hemigrammus ora* (20), *Jupiaba acanthogaster* (20), *Moenkhausia costae* (20), *M. grandisquamis* (12), *M. intermedia* (20), *M. jamesi* (20), *Piabina argentea* (20), *Psalidodon fasciatus* (20), *Psellogrammus kennedyi* (20), *Tetragonopterus chalceus* (20), *T. denticulatus* (12)30
- Figura 5.** PCA do osso premaxilar, os dois eixos somam 71.33% da variação total. As grades de deformação expressam a variação da forma nas extremidades (-X), (+X), (-Y) e (+Y). *Astyanax lacustris* (20), *A. rivularis* (20) *Bryconamericus iheringii* (14), *Ctenobrycon spilurus* (20), *Deuterodon iguape* (19), *D. luetkenii* (14), *D. pedri* (20), *Gymnocorymbus ternetzi* (20), *Hemigrammus ora* (20), *Jupiaba acanthogaster* (20), *Moenkhausia costae* (20), *M. grandisquamis* (12), *M. intermedia* (20), *M. jamesi* (20), *Piabina argentea* (20), *Psalidodon fasciatus* (20), *Psellogrammus kennedyi* (20), *Tetragonopterus chalceus* (20), *T. denticulatus* (12)32
- Figura 6.** Valores de centróide das peças ósseas analisadas. Dentário (349), Maxilar (352) e Premaxilar (351)34

Figura 7. Sequência consenso do osso dentário, cada cor representa uma morfologia dentária: azul – M1; verde – M2, vermelho – M3; cinza – M4	35
Figura 8. Sequência consenso do osso maxilar, cada cor representa uma morfologia dentária: azul – M1; verde – M2, vermelho – M3; cinza – M4	35
Figura 9. Sequência consenso do osso premaxilar, cada cor representa uma morfologia dentária: azul – M1; verde – M2, vermelho – M3; cinza – M4	36
Figura 10. CVA do osso dentário, os dois eixos somam 91.16% da variação total. Wilk's lambda = 0.02133. As grades de deformação expressam a variação da forma nas extremidades (-X), (+X), (-Y) e (+Y). Legenda: azul – M1 (100), verde – M2 (72), vermelho – M3 (104), cinza – M4 (73)	38
Figura 11. CVA do osso maxilar, os dois eixos somam 81.51% da variação total. Wilk's lambda = 0.01184. As grades de deformação expressam a variação da forma nas extremidades (-X), (+X), (-Y) e (+Y). Legenda: azul – M1 (100), verde – M2 (72), vermelho – M3 (106), cinza – M4 (74)	40
Figura 12. CVA do osso premaxilar, os dois eixos somam 82.82% da variação total. Wilk's lambda = 0.01056. As grades de deformação expressam a variação da forma nas extremidades (-X), (+X), (-Y) e (+Y). Legenda: azul – M1 (100), verde – M2 (72), vermelho – M3 (106), cinza – M4 (73)	42

Lista de Tabelas

Tabela 1. Relação entre posição filogenética e morfologia dentária das espécies....	18
Tabela 2. Relação de espécies com registros de hábitos alimentares presentes na literatura	20

Sumário

Resumo.....	12
Abstract	13
1. Introdução	14
2. Objetivos	17
3. Material e Métodos.....	17
3.1 Delimitação dos táxons e morfologia dentária	17
3.2 Dieta	19
3.3 Dissecção e preparação osteológica	23
3.4 Obtenção das imagens.....	24
3.5 Morfometria geométrica.....	24
3.6 Análise dos resultados	26
4. Resultados	26
4.1 Análise de componentes principais	26
4.1.1 Descrição dos eixos	26
4.1.2 Centróide	33
4.1.3 Consenso.....	34
4.2 Análise de variáveis canônicas	36
4.2.1 Descrição dos eixos	36
5. Discussão.....	43
5.1 Morfologia dos dentes, variação das peças ósseas e a dieta	43
5.2 Possíveis relações evolutivas dessas adaptações	46
6. Conclusões	47
7. Referências bibliográficas	48
8. Anexos.....	55
8.1 Anexo 1. Material examinado.....	55
8.2 Anexo 2. Especificações dos <i>landmarks</i>.	58

Resumo

Characidae é a mais diversificada família de peixes neotropicais e com grande potencial para estudos filogenéticos e evolutivos. Tradicionalmente, as características do aparato bucal de suas espécies são utilizadas em sua diagnose de forma qualitativa. Neste estudo, realizou-se a análise quantitativa das peças do aparato bucal, aliada a caracteres qualitativos dos dentes e registros ecológicos a respeito dos hábitos alimentares das espécies, a fim de compreender a evolução das variações morfológicas das estruturas envolvidas na captura alimentar, de modo comparativo, entre dezenove espécies da família. Foi observado que diferentes categorias dentárias associam-se com diferentes perfis morfológicos das peças dentário, maxilar e premaxilar, e que diferentes subfamílias de Characidae apresentam diferentes fatores principais que predominam no estabelecimento de suas adaptações, de modo que, para Tetragonopterinae o principal fator regente corresponde à ancestralidade comum, enquanto que para Stethaprioninae e Stevardiinae o fator ambiental se mostrou predominante. Além disso, verificou-se que as peças ósseas dentário e maxilar apresentam as maiores taxas de variação morfológica dentre as amostras.

Palavras-chave: análise multivariada; hábitos alimentares; morfometria geométrica; mandíbula; série *tps*.

Abstract

Characidae is the most diverse family of neotropical fishes and has great potential for phylogenetic and evolutionary studies. Traditionally, the characteristics of the oral apparatus of their species are used in their diagnosis in a qualitative way. In this study, a quantitative analysis of the pieces of the oral apparatus was carried out, combined with qualitative characters of the teeth and ecological records regarding the eating habits of the species, in order to understand the evolution of the morphological variations of the structures involved in food capture, comparatively, among nineteen species of the family. It was observed that different dental categories are associated with different morphological profiles of the dentary, maxillary and premaxillary bones, and also that different subfamilies of Characidae have different main factors that prevail in the establishment of their adaptations, so that, for Tetragonopterinae, the main ruling factor corresponds to common ancestry, while for Stethaprioninae and Stevardiinae the environmental factor was predominant. Furthermore, it was found that the dentary and maxillary bones present the highest rates of morphological variation among the samples.

Key words: feeding habits; geometric morphometrics; jaw; multivariate analysis; *tps* series.

1. Introdução

A família Characidae, pertencente à ordem Characiformes, corresponde atualmente a mais diversa família neotropical, ultrapassando a contagem de 1200 espécies válidas (Fricke, Eschmeyer & van der Lann, 2021). A região neotropical detém a maior diversidade de ictiofauna de todo o globo, tanto marinha como dulcícola, com uma representatividade superior a 9000 espécies, sendo que a diversidade de peixes continentais ocupa mais da metade desse valor, com cerca de 5100 espécies (Reis *et al.* 2016). Graças aos avanços científicos, por meio de técnicas moleculares para o estudo de filogenias, novas classificações são propostas continuamente. Filogenias com base em dados moleculares em conjunto com análises morfológicas tradicionais têm impactado de forma importante o entendimento da evolução de caracteres, além da identificação de novas espécies e reavaliação de hipóteses filogenéticas (Betancur *et al.* 2017). Tais estudos são responsáveis pelo aumento do número de espécies catalogadas e, por consequência, pelo aumento da biodiversidade conhecida.

Dada uma grande diversidade ao nível de espécies e sua vasta gama de estilos de vida, os teleósteos exibem uma diversidade surpreendente de planos corporais gerais e uma miríade de especializações morfológicas em todos os sistemas (Datovo & Vari, 2014). Em Characidae, as variações morfológicas observadas são relacionadas especialmente aos hábitos alimentares e reprodutivos das espécies (Mirande 2010, 2018), e podem ser associadas aos prováveis nichos ecológicos que elas ocupam. Frente a essas condições, diferentes caracteres de Characidae foram alvo de investigação em diversos estudos, como por exemplo, estudos anatômicos e histológicos de musculatura, ultraestrutura de espermatozoides e de órgãos do sistema digestivo (*e.g.* Ferreira *et al.*, 2011; Baicere-Silva *et al.* 2011; Datovo & Castro, 2012; Alonso *et al.*, 2015).

Quanto aos hábitos alimentares, as adaptações do aparato bucal se relacionam diretamente, dado que correspondem às estruturas utilizadas na captura do alimento (Helfman *et al.* 2009), e ainda, estudos demonstram que a forma da mandíbula pode não somente inferir informações sobre as preferências alimentares mas também discriminar os principais agrupamentos ecomorfológicos em diversos vertebrados (*e.g.* Kammerer *et al.* 2006; Anderson *et al.* 2011; Stubbs *et al.* 2013).

Em relação ao aparato bucal de Characidae, a análise morfológica dos ossos dentário, maxilar, premaxilar e dentes se mostra relevante desde os primórdios da taxonomia do grupo, sendo utilizada na diagnose para a distinção de espécies intragenéricas e também entre gêneros (e.g. *Astyanax* e *Deuterodon*), como tradicionalmente aplicado por Eigenmann em suas obras (1908, 1917, 1918). Embora a descrição desses caracteres seja bem detalhada em estudos taxonômicos, as relações dos hábitos alimentares com as variações morfológicas dessas estruturas ainda aparecem apenas ocasionalmente na literatura dentre os diversos gêneros de Characidae. Géry (1977) fez essa associação para *Deuterodon iguape*, cujos dentes achatados e multicuspidados do premaxilar poderiam auxiliar em sua dieta herbívora. Mais recentemente, Zanata *et al.* (2017) discutiram essa relação ecomorfológica para *Astyanax brucutu*, cuja morfologia do aparato bucal (dentes mamiliformes e maxilas encurtadas) pode ser associada ao hábito de durofagia.

A morfologia óssea do aparato bucal dos teleósteos é caracterizada pelas maxilas superiores (premaxilar, maxilar e supramaxilar) e inferiores (mandíbula), suspensório e palatino, além do conjunto de músculos, tendões e articulações que promovem a movimentação da boca (Weitzman 1962, Cailliet 1986, Castro e Vari 2004). Neste estudo morfológico, o foco se dá para as peças específicas da mandíbula, maxilar e premaxilar, que correspondem às peças descritas na maioria dos estudos taxonômicos de Characidae, sendo que dentre os representantes o premaxilar geralmente apresenta duas fileiras de dentes (e.g. *Odontostoechus lethostigmus*, *Oligosarcus jenynsii* apresentam somente uma fileira), o maxilar pode ou não apresentar dentes (*Hemigrammus ora* não possui dentes), e o dentário (componente da mandíbula) apresenta uma única fileira de dentes. Cada uma dessas peças é pareada, e no caso do premaxilar e dentário, há a união dos pares por meio de uma sínfise.

A mandíbula é a estrutura óssea que realiza o movimento de alavanca para a abertura oral em conjunto com a cinética do complexo de músculos que realizam a contração (Grubich *et al.* 2008), sistema qual foi utilizado como modelo por Westneat (1990, 1994) para predizer a transmissão de força e de movimento durante a alimentação em Perciformes. Quanto aos dentes, tratam-se de peças

cilíndricas inseridas nas referidas peças ósseas em questão, variando em número e na quantidade de cúspides, sendo que usualmente se apresentam de forma tri ou multicuspidada nos Characiformes em geral (Charcansky, 2006). Além disso, os dentes estão sujeitos a um ciclo de substituição ao longo da vida dos peixes (Roberts 1967; Berkovitz & Shellis 1978; Trapani 2001), e segundo com Roberts (1967), podem sofrer mudanças morfológicas durante o ciclo de vida, o que se reflete na relação entre os hábitos alimentares e o tipo de dentição.

A análise morfométrica do mecanismo de alimentação, ou seja, do aparato bucal, é uma maneira de examinar o significado funcional da variação estrutural (Westneat, 1995). Dada a composição do aparato bucal descrita acima, verifica-se que os caracteres morfológicos e ecológicos possuem uma relação recíproca, permitindo, dessa forma, uma análise ecomorfológica integrada capaz de apontar possíveis direções da adaptação evolutiva que os organismos percorrem (Klingenberg & Ekau 1996; Ríncon 1999). E ainda, a avaliação dos caracteres, tanto discretos quanto quantitativos, corrobora para o entendimento de como as mudanças evolutivas dos caracteres se correlacionam ao longo da história evolutiva dentro de uma árvore filogenética (Westneat, 1995). Tais análises são de grande importância para a compreensão de incógnitas da biologia evolutiva envolvendo inovações fenotípicas, ocupação e segregação de nichos, gerando extensas discussões sobre a origem e desenvolvimento de traços das populações sob aspectos de contingência histórica das espécies ou mesmo por determinismo evolutivo (Burns & Sidlauskas 2019; Foote 1997; Ricklefs 2010).

Neste estudo realizamos a comparação dos caracteres morfológicos do aparato bucal associados a observações ecológicas para buscar compreender a evolução dos referidos caracteres ao longo da filogenia de Characidae, sob as hipóteses de que essas adaptações podem ter surgido pela própria história evolutiva e relação filogenética das espécies, logo, pela ancestralidade comum; ou como resultado de uma semelhante seleção das características morfológicas a partir das condições oferecidas pelo ambiente, ou seja, por meio de convergência adaptativa.

2. Objetivos

O objetivo principal deste trabalho é investigar, de forma comparativa, diferentes clados da família Characidae quanto à variação das suas peças ósseas do aparato bucal, avaliando conjuntamente os dados a respeito da dieta registrada para as espécies amostradas. A investigação busca compreender se a variação morfológica pode ser diretamente relacionada às diferentes guildas tróficas mencionadas na literatura para estes representantes.

Uma vez compreendida a relação dos caracteres morfológicos e ecológicos, utilizar dessa associação para interpretar a história evolutiva das espécies amostradas e assim compreender melhor a filogenia proposta e a diversidade morfológica para essas espécies.

3. Material e Métodos

3.1 Delimitação dos táxons e morfologia dentária

Foram utilizadas dezenove espécies de Characidae, tendo em vista a distribuição filogenética de Mirande (2018). Cada espécie foi avaliada, primeiramente, de acordo com suas características morfológicas dos dentes de forma qualitativa (Tabela 1), a partir dos dados de Mirande (2010). Os aspectos observados foram: tamanho da base (larga *ou* estreita), alinhamento das cúspides (arco côncavo *ou* alinhadas/reto) e inserção (não/levemente pedunculado *ou* pedunculado). Destacamos que, as espécies *Psalidodon fasciatus* e *Deuterodon luetkenii* foram revisadas após o início deste estudo, momento em que foram selecionadas como *Astyanax fasciatus* e *Hyphessobrycon luetkenii* respectivamente. Especificações quanto ao material examinado pode ser consultado na seção Anexos (1).



Figura 1. Modelo das morfologias dentárias identificadas, sendo cada dente o de número dois (2º) do osso dentário. Correspondem: **a.** *Ctenobrycon spilurus* (70.21mm CP), **b.** *Moenkhausia costae* (61.91mm CP), **c.** *Bryconamericus iheringii* (38.29mm CP), **d.** *Jupiaba acanthogaster* (47.46mm CP). Escala = 1µm.

Tabela 1. Relação entre posição filogenética e morfologia dentária das espécies.

Espécie	Classificação (Mirande, 2018)	Morfologia dentária
<i>Ctenobrycon spilurus</i>	Stethaprioninae/ Gymnocharacini	M1 – Dentes de base larga, cúspides dispostas em arco côncavo e inserção não pedunculada. Em especial, a formação do arco possui ângulos pronunciados, sendo mencionadas como forma de “U” (Vari & Harold, 2001).
<i>Hemigrammus ora</i>	Stethaprioninae	
<i>Moenkhausia jamesi</i>	Stethaprioninae/ Stethaprionini	
<i>Piabina argentea</i>	Stevardiinae/ Diapomini	
<i>Psellogrammus kennedyi</i>	Stethaprioninae/ Gymnocharacini	
<i>Gymnocorymbus ternetzi</i>	Stethaprioninae/ Stethaprionini	M2 – Dentes de base estreita, cúspides dispostas em arco e inserção não pedunculada. Essa condição também está associada a uma maior quantidade e comprimento de rastros branquiais (<i>obs. pes.</i>)
<i>Moenkhausia costae</i>	Stethaprioninae/ Stethaprionini	
<i>Moenkhausia intermedia</i>	Stethaprioninae/ Stethaprionini	
<i>Tetragonopterus denticulatus</i>	Tetragonopterinae	
<i>Psalidodon fasciatus</i>	Stethaprioninae	M3 – Dentes de base larga, cúspides dispostas em arco côncavo e
<i>Astyanax lacustris</i>	Stethaprioninae/	

	Gymnocharacini	inserção não pedunculada. Diferencia-se de M1 em relação ao tamanho e, principalmente, pela oclusão dentária, que em M3 a concavidade do arco das cúspides é menos pronunciada.
<i>Astyanax rivularis</i>	Stethaprioninae	
<i>Bryconamericus iheringii</i>	Stevardiinae/ Diapomini	
<i>Moenkhausia grandisquamis</i>	Stethaprioninae/ Stethaprionini	
<i>Tetragonopterus chalceus</i>	Tetragonopterinae	
<i>Deuterodon iguape</i>	Stethaprioninae/ Grundulini	M4 – Dentes de base estreita, cúspides dispostas de modo alinhado e inserção levemente pedunculada. Essa morfologia também pode ser chamada de <i>dente espatular</i> (Charcansky, 2006).
<i>Deuterodon pedri</i>	Stethaprioninae/ Grundulini	
<i>Deuterodon luetkenii</i>	Stethaprioninae/ Stethaprionini	
<i>Jupiaba acanthogaster</i>	Stethaprioninae/ Stethaprionini	

3.2 Dieta

Foi consultada a partir da literatura disponível as características ecológicas das dezenove espécies do estudo, no que diz respeito ao conteúdo alimentar encontrado em seus estômagos e intestinos. Para M1, descrita acima, não foi identificada a dieta somente de *Hemigrammus ora*; para M2 somente a dieta de *Moenkhausia intermedia* foi identificada; para M3, apenas para *Bryconamericus iheringii* não houve identificação, e para M4, somente para *Deuterodon iguape* foi identificado. Para as espécies com ausência de dados, a interpretação de suas dietas seguiu de acordo com o grupo dentário (M1, M2, M3 ou M4) atribuído às espécies, ou seja, sua alimentação foi considerada semelhante às espécies de um mesmo grupo cujos dados foram identificados.

Tabela 2. Relação de espécies com registros de dieta presentes na literatura.

Espécie	Dieta	Literatura	Categoria trófica
<i>Astyanax lacustris</i>	Demonstra amplo espectro alimentar, com 24 itens de origens animal e vegetal	da Silva <i>et al.</i> 2012.	Onívora
<i>Astyanax rivularis</i>	55% dos itens alimentares identificados como autóctones, incluindo: alga, larva de Diptera, ninfas de Ephemeroptera, larva de Trichoptera; e 45% identificados como alóctones, incluindo: fragmentos de plantas vasculares e insetos terrestres	Cassati & Castro, 1998	Onívora
<i>Bryconamericus iheringii</i>	—		
<i>Ctenobrycon spilurus</i>	Consome principalmente zooplâncton, além de plantas, vermes, insetos e crustáceos	Mills & Vevers, 1989	Carnívora

<i>Deuterodon iguape</i>	¹ Consome itens vegetais ² Consome larvas de diptera e insetos alóctones ³ Predominância de itens vegetais (sementes) durante a estação seca ⁴ Consome detritos e algas filamentosas ⁵ Acesso à alga e fragmentos orgânicos de superfícies rochosas	¹ Géry, 1977 ² Escalante, 1987 ³ Mazzoni & Rezende, 2002 ⁴ Deus & Pettere-Junior, 2003 ⁵ Gonçalves & Cestari, 2018	Onívora (herbívora ^{1,3} /carnívora ² /detritívora ⁴ /onívora ⁵)
<i>Deuterodon luetkenii</i>	—		
<i>Deuterodon pedri</i>	—		
<i>Gymnocorymbus ternetzi</i>	Alimenta-se de vermes, pequenos crustáceos e insetos	Mills & Vevers, 1989	Carnívora
<i>Hemigrammus ora</i>	—		
<i>Jupiaba acanthogaster</i>	—		
<i>Moenkhausia costae</i>	—		
<i>Moenkhausia grandisquamis</i>	Consome predominantemente insetos aquáticos	Dary <i>et al.</i> 2017	Insetívora
<i>Moenkhausia</i>	¹ Se alimenta de insetos,	¹ Sazima, 1986	Onívora

<i>intermedia</i>	sementes e algas. ² Como principais itens, observa-se de 25.1%–29.5% de matéria orgânica, 17%–29.6% de insetos e 17.4%–17.9% de zooplâncton	² Esteves & Junior, 1994.	
<i>Moenkhausia jamesi</i>	Consome majoritariamente itens vegetais (72%), e entre os itens animais destacam-se cladóceros e insetos (23%)	Pereira, 2010	Herbívora
<i>Piabina argentea</i>	Alimenta-se primariamente de fitoplâncton e de diversos grupos de insetos aquáticos em diferentes estágios. A análise estomacal revela a presença de pedaços de insetos, pequenas sementes intactas e cortadas, e pequenas porções de fitoplâncton	Vari & Harold, 2001.	Onívora
<i>Psalidodon fasciatus</i>	Consome plantas e microcrustáceos	Arcifa et al. 1991.	Zooplanctívora

<i>Pselogrammus kennedyi</i>	¹ Consome insetos e microcrustáceos ² Consome material vegetal e algas ³ Altera a dieta entre matéria vegetal e animal conforme a disponibilidade do ambiente	¹ Rezende & Pereira, 2002. ² Ximenes <i>et al.</i> 2011. ³ Fiori <i>et al.</i> 2016.	Onívora (insetívora e zooplantívora ¹ /h erbívora ² /algívora e invertívora ³)
<i>Tetragonopterus chalceus</i>	Consome itens de origem animal e vegetal em proporções similares - onívoro	Ferreira & Santos, 2006.	Onívora
<i>Tetragonopterus denticulatus</i>	—		

3.3 Dissecção e preparação osteológica

Os exemplares foram dissecados pela técnica de Weitzman (1974). A dissecção foi realizada antes da preparação osteológica, poupando, dessa forma, o restante do espécime para outras análises futuras. Cada exemplar dissecado recebeu um código de identificação (voucher) e cada conjunto de peças (3) dissecadas recebeu um código de identificação correspondente. As peças do aparato bucal em questão foram extraídas sempre do lado direito do espécime. Ao extrair as peças de interesse, os conjuntos passaram por uma bateria de preparação osteológica para diafanização (reação enzimática e coloração), adaptada a partir da técnica postulada de Taylor & Van Dyke (1985). Uma vez finalizada a coloração, as peças foram armazenadas em tubos contendo glicerina 100%. Contagens e medidas utilizadas nos estudos taxonômicos seguem Fink & Weitzman (1974).

Para cada espécie foram dissecados 20 exemplares sempre que possível. *Bryconamericus iheringii* (14), *Deuterodon iguape* (19), *D. luetkenii* (15), *Moenkhausia grandisquamis* (12) e *Tetragonopterus denticulatus* (12), foram em menor quantidade por razão de disponibilidade. Ao todo 352 exemplares foram

dissecados, sendo obtidas 1.052 peças ósseas (349 amostras de dentários, 352 amostras de maxilares e 351 amostras de premaxilares). As variações dos números de cada peça se dão em função de deterioração de material durante o processo de diafanização (perda de 3 dentários e 1 premaxilar).

3.4 Obtenção das imagens

Cada peça óssea foi fotografada pela vista lateral direita. Como forma de padronização das imagens, as peças foram fotografadas sobre um suporte de E.V.A. O material E.V.A. foi escolhido por apresentar uma superfície estável para o posicionamento das peças, evitando divergências entre os ângulos das fotografias. Para todas as capturas de imagens, as estruturas foram posicionadas no plano central (vertical e horizontal) do quadro de imagem e, em todas as imagens foi utilizada uma régua graduada, padronizada em um (1) milímetro, para escalonamento dos pixels em função do tamanho em milímetros. As imagens foram geradas, com uso de estereomicroscópio, diretamente no computador com auxílio do programa AxioVision (versão 4.8), um software destinado para trabalhos de microscopia de alta qualidade.

3.5 Morfometria geométrica

As análises de morfometria geométrica são com base na definição de forma ("shape") a partir das fotografias em 2D obtidas das peças em todas as suas configurações geométricas, exceto tamanho, posição e orientação (Klingenberg *et al.* 2012) utilizando os marcos anatômicos (*landmarks*) e semi-marcos anatômicos (*semi-landmarks*) para extração da informação da forma através da Superimposição de Procrustes (Dryden & Mardia, 1998). Para o dentário, 6 *landmarks* e 15 *semi-landmarks* foram plotados em cada imagem; para o maxilar, 4 *landmarks* e 20 *semi-landmarks*; para o premaxilar, 5 *landmarks* e 12 *semi-landmarks* (Figura 2). Esses marcos anatômicos foram determinados após várias tentativas prévias de análise de variação morfológica, até resultarem no conjunto que melhor expressava essa variação, considerando os três diferentes tipos de *landmarks* existentes. Para a realização das análises, foram utilizados os programas da série tps: *tpsUtil*, *tpsDig*, *tpsRelw* e *tpsRegr*, além dos programas *Past* (executável gratuito) e *Microsoft Excel®*. O software *tpsUtil* (Rohlf, 2008) foi utilizado para ordenar as imagens

digitalizadas de mesma estrutura bucal em um mesmo arquivo no formato TPS; para determinar os *semi-landmarks*; e para reconfigurar arquivos na extensão NTS.

O software *tpsDig* (Rohlf, 2006) foi utilizado para registrar os *landmarks* e curvas (posteriormente pontuadas como *semi-landmarks*) em cada imagem digitalizada. Os programas *tpsRelw* e *tpsRegr* forneceram os dados de Centróide, Sequência Consenso, Matriz Peso, grades de deformação (*thin plates*) e gráficos de distribuição das amostras no morfoespaço. Análises de componentes principais (PCA) e de variáveis canônicas (MANOVA/CVA) foram realizadas por meio do software *Past*. O programa *Microsoft Excel®* (versão 2010) foi utilizado sumariamente para a ordenação dos dados e modificações estéticas dos gráficos. Especificações sobre os *landmarks* e *semi-landmarks*, consulte Anexos (2).

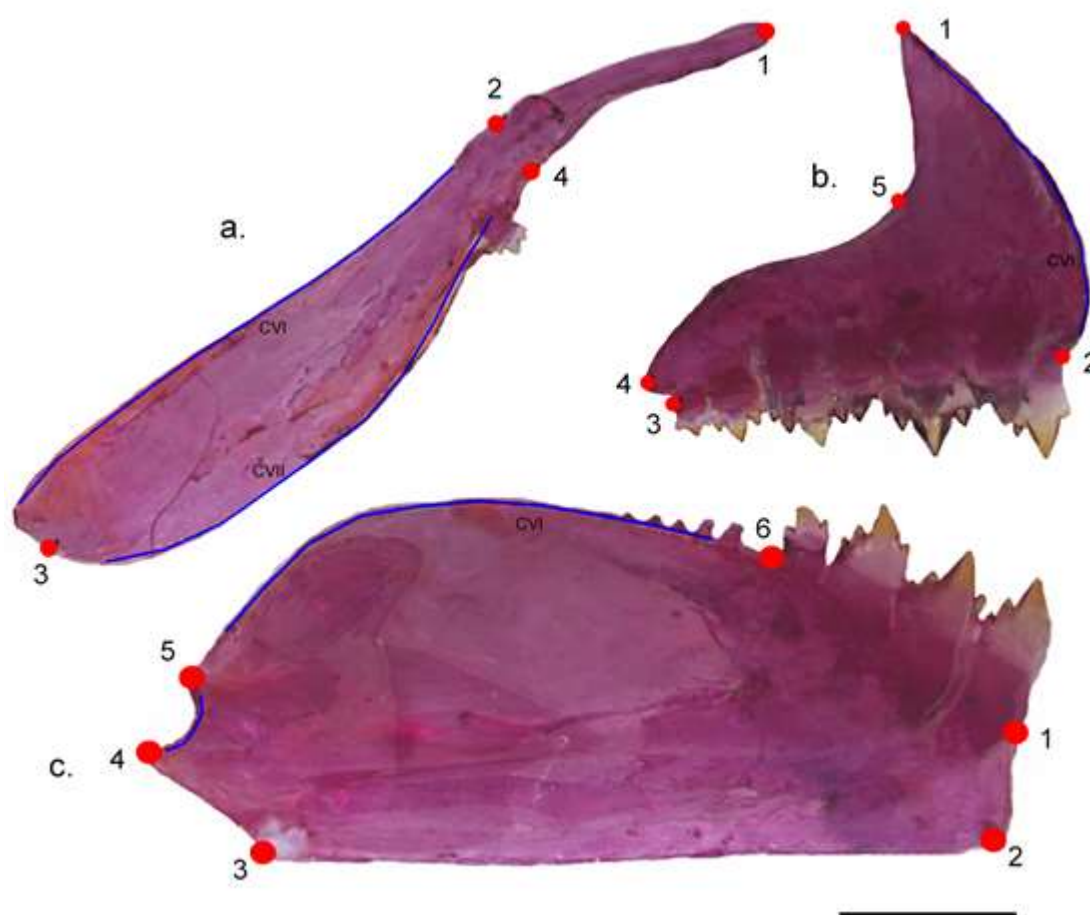


Figura 2. *Landmarks* (LM) e curvas (CV) das peças **a.**maxilar, **b.**premaxilar e **c.**dentário pela vista lateral. Exemplar: *Astyanax rivularis*, CP = 46.13mm.

3.6 Análise dos resultados

A partir dos conjuntos de dados e matrizes de covariância geradas, foram feitas análises de componentes principais (PCA), um tipo de análise exploratória, para verificar a distribuição das espécies elencadas dentro do morfoespaço separadamente para cada peça do aparato bucal aqui estudada. Também foi realizada a análise de variáveis canônicas (CVA), uma análise discriminatória, com este mesmo conjunto de dados para avaliar a relação entre os diferentes agrupamentos apontados pela PCA.

A análise de componentes principais (PCA) e a análise de variáveis canônicas (CVA) são duas análises de ordenação que funcionam de forma muito semelhante matematicamente. Ambas constroem um sistema de coordenadas a partir de inúmeras variáveis, restringindo a variação em uma quantidade menor de eixos, de modo a indicar as direções onde ocorrem as maiores taxas de variação observadas. A diferença crucial entre estas análises é a prerrogativa de grupos, utilizada no caso da CVA (Aguirre *et al.* 2018; Monteiro & dos Reis, 1999; Zelditch *et al.* 2004).

Além disso, foram examinadas sequências Consenso e Centróide dentro de cada uma das análises.

4. Resultados

4.1 Análise de componentes principais

Abaixo seguem as análises de PCA das peças ósseas dentário (Figura 3), maxilar (Figura 4) e premaxilar (Figura 5) em conjunto com suas respectivas grades de deformação dentro do morfoespaço calculado. As espécies com mesma morfologia dentária (Tabela 1) foram coloridas com a mesma paleta de cores base de tal modo: M1 (base larga, arco côncavo pronunciado, não pedunculado) se encontra na cor azul (claro/ escuro); M2 (base estreita, arco côncavo, não pedunculado) se encontra na cor verde (claro/escuro); M3 (base larga, arco côncavo, não pedunculado) na cor vermelha (claro/escuro); e M4 (base estreita, alinhamento reto, levemente pedunculado) na cor cinza (claro/escuro).

4.1.1 Descrição dos eixos

Começando pelo osso dentário, no primeiro eixo (X) verifica-se a variação no tamanho da linha de inserção dentária e estreitamento da porção rostral,

especificamente entre a distância dos *landmarks* 1 e 2. No sentido positivo do eixo X (+X) há menor comprimento da linha inserção dentária combinada com maior estreitamento da porção rostral, enquanto que no sentido negativo (-X) ocorre o inverso, com aumento do comprimento da linha de inserção dentária e menor estreitamento da porção rostral. Já no segundo eixo (Y) a principal variação ocorre em relação à altura total do osso, sendo menor no sentido positivo (+Y) e maior no sentido negativo (-Y). Quanto ao posicionamento das espécies no gráfico, o dentário demonstrou a menor taxa de sobreposição entre os intervalos marcados, sendo, portanto, a peça óssea com maior taxa de variação morfológica. É possível verificar o agrupamento das espécies no gráfico em função de sua morfologia dentária, mas cabe atribuir destaque para *Astyanax lacustris* e *Tetragonopterus denticulatus* a seguir. As espécies da paleta azul, correspondendo à M1, agrupam-se na metade superior do gráfico e em uma conformação horizontal linear, ou seja, em um gradiente no sentido esquerda/direita do gráfico entre os intervalos de cada espécie. As espécies da paleta verde, M2, agrupam-se no lado esquerdo do gráfico e com grande sobreposição, diferentemente do que ocorre para M1; exceto *T. denticulatus* que ocupa uma posição mais próxima do centro e em sobreposição com a congênere *T. chalcus*, pertencente à M3. As espécies da paleta vermelha, M3, agrupam-se na porção central do gráfico em conformação horizontal semelhante ao que se observa para M1, porém menos expressiva. Há o deslocamento de *A. lacustris* em direção à porção superior do gráfico, juntamente aos representantes da M1: *Ctenobrycon spilurus* e *Psellogrammus kennedyi*. As espécies da paleta de cor cinza, M4, ocupam uma posição inferior no gráfico, mas não ocorre um distanciamento relevante da porção central como verificado para as M1 e M2. O intervalo de *Deuterodon luetkenii* encontra-se difuso entre as espécies de M3 na porção central do gráfico, enquanto que as demais espécies de M4 apresentam porções de seus intervalos distintos, levemente posicionados à direita-inferior do gráfico.

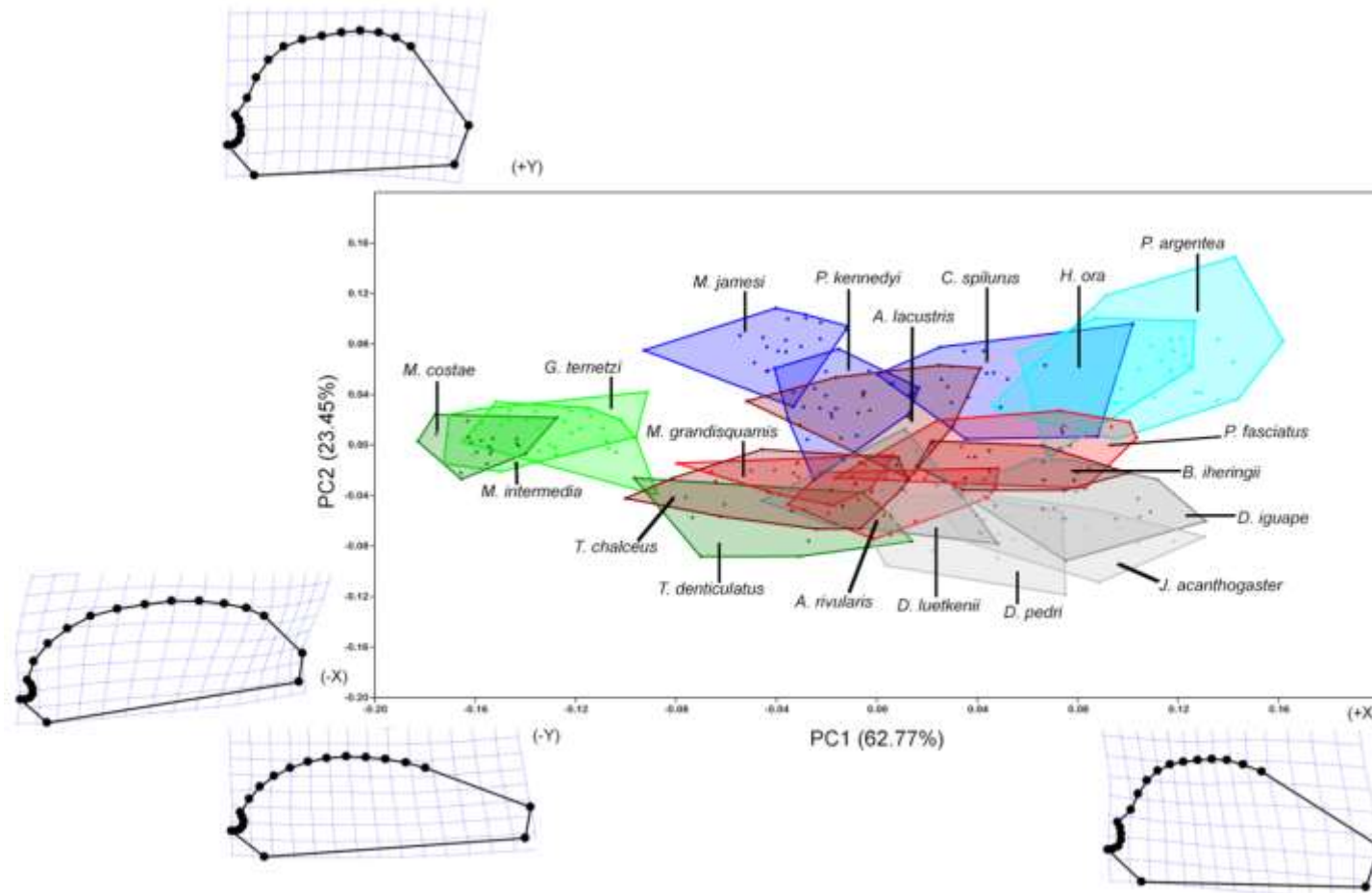


Figura 3. PCA do osso dentário, os dois eixos somam 86.22% da variação total. As grades de deformação expressam a variação da forma nas extremidades (-X), (+X), (-Y) e (+Y). *Astyanax lacustris* (20), *A. rivularis* (20) *Bryconamericus iheringii* (13), *Ctenobrycon spilurus* (20), *Deuterodon iguape* (18), *D. luetkenii* (15), *D. pedri* (20), *Gymnocorymbus ternetzi* (20), *Hemigrammus ora* (20), *Jupiaba acanthogaster* (20), *Moenkhausia costae* (20), *M. grandisquamis* (12), *M. intermedia* (20), *M. jamesi* (20), *Piabina argentea* (20), *Psalidodon fasciatus* (20), *Psellogrammus kennedyi* (20), *Tetragonopterus chalcus* (19), *T. denticulatus* (12).

Quanto ao maxilar, a sobreposição das espécies é razoavelmente maior em relação ao dentário, mas a polarização entre as morfologias ainda é observada. No primeiro eixo (X) ocorre a variação no comprimento do processo maxilar e na largura do osso, em que se observa no sentido positivo (+X) um menor comprimento do processo maxilar combinada com maior largura do osso, enquanto que no sentido negativo (-X) há maior comprimento do processo maxilar combinada com menor largura do osso. Para o segundo eixo (Y) ocorre a variação no comprimento total do osso, não sendo de forma restrita a uma porção específica como observada no eixo X. Neste caso, no sentido positivo do eixo (+Y) ocorre o maior comprimento total, enquanto que no sentido negativo (-Y) menor comprimento total. Em relação à disposição das espécies ao longo do gráfico, os destaques cabem a M1 e M2 (paletas azul e verde respectivamente), cada qual ocupando as regiões periféricas do gráfico, sendo M1 do lado esquerdo, e M2 do lado direito. As categorias M3 e M4 (paletas vermelha e cinza respectivamente) novamente se encontram difusas na região central do gráfico, embora exista a tendência de M4 restringir-se na metade inferior do gráfico. De forma repetida, as espécies *T. denticulatus* e *T. chaldeus* encontram-se associadas. E ainda, observa-se que a espécie *Psalidodon fasciatus*, M3, apresenta o maior intervalo de variação dentre todas as espécies amostradas de modo a unir as espécies centrais com as espécies da região esquerda do gráfico.

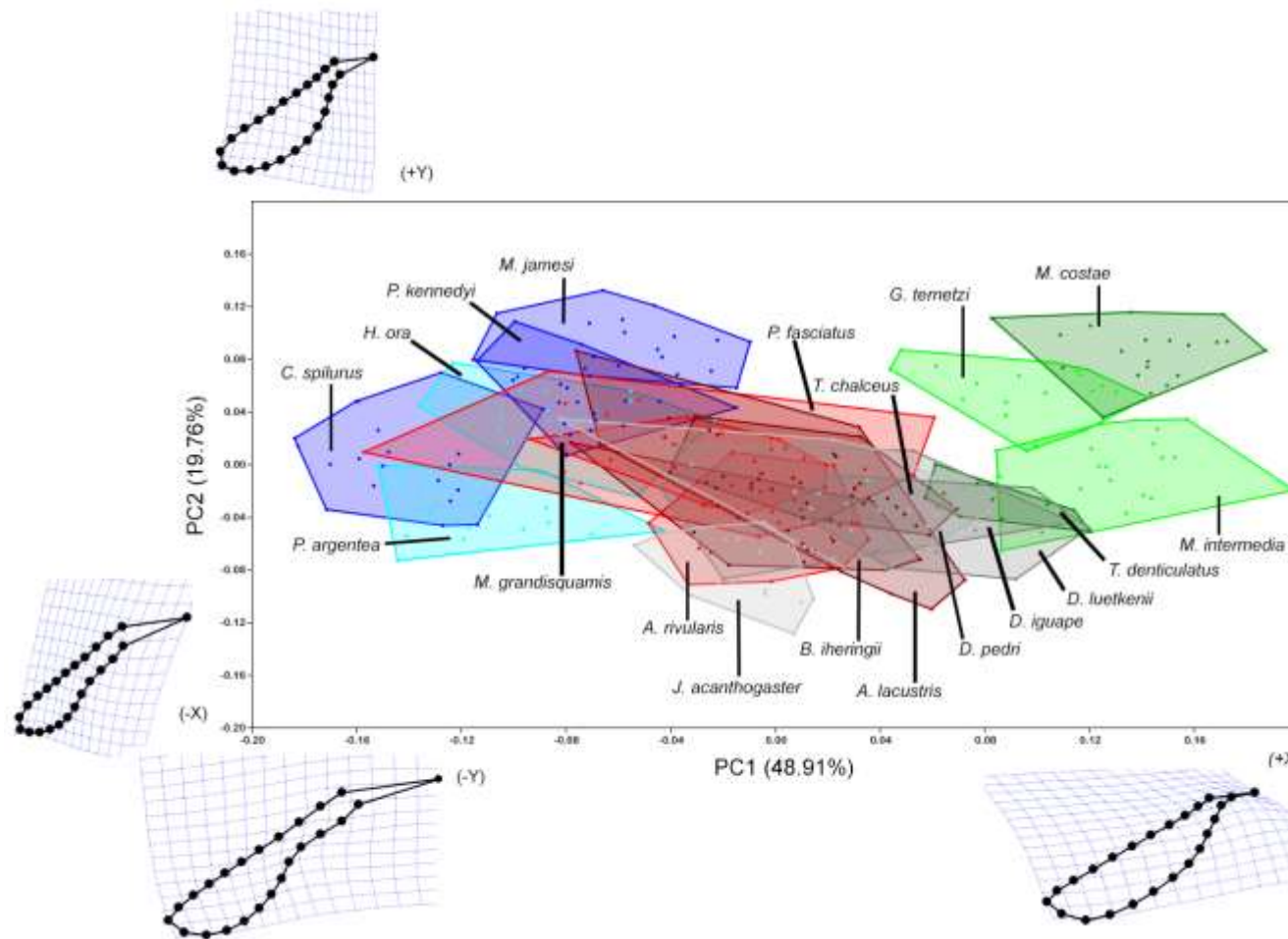


Figura 4. PCA do osso maxilar, os dois eixos somam 68.67% da variação total. As grades de deformação expressam a variação da forma nas extremidades (-X), (+X), (-Y) e (+Y). *Astyanax lacustris* (20), *A. rivularis* (20) *Bryconamericus iheringii* (14), *Ctenobrycon spilurus* (20), *Deuterodon iguape* (19), *D. luetkenii* (15), *D. pedri* (20), *Gymnocorymbus ternetzi* (20), *Hemigrammus ora* (20), *Jupiaba acanthogaster* (20), *Moenkhausia costae* (20), *M. grandisquamis* (12), *M. intermedia* (20), *M. jamesi* (20), *Piabina argentea* (20), *Psalidodon fasciatus* (20), *Psellogrammus kennedyi* (20), *Tetragonopterus chalcus* (20), *T. denticulatus* (12).

Já para o premaxilar, no primeiro eixo (X) há a variação no comprimento total do osso combinada com a modificação na altura do processo premaxilar, havendo menor comprimento no sentido positivo do eixo (-X) junto à maior altura do processo, enquanto há maior comprimento no sentido negativo (-X) junto à menor altura do processo premaxilar. Para o segundo eixo (Y) há variação no perfil da curvatura rostral do osso (CVI), que no sentido positivo do eixo (+Y) verifica-se um perfil mais arredondado, enquanto que no sentido negativo (-Y) tende ao plano/achatado. Na representação gráfica do premaxilar ocorre o maior grau de sobreposição entre as espécies, evidenciando que a taxa de variação morfológica deste osso é notavelmente baixa em relação aos outros dois ossos comparados. As categorias M1, M2 e M3 encontram-se ocupando majoritariamente a região central do gráfico, com pequenas tendências de polarização de M1 para o lado direito e da M2 para o lado esquerdo do gráfico. A categoria M4 correspondeu a única morfologia que ocupou unicamente um lado, sendo este o lado esquerdo do gráfico, mas ainda se observa grande sobreposição com as espécies de M2 e M3. Diferentemente do ocorrido para o dentário e maxilar, as espécies *T. denticulatus* e *T. chalceus* ocuparam posições opostas na área gráfica no premaxilar.

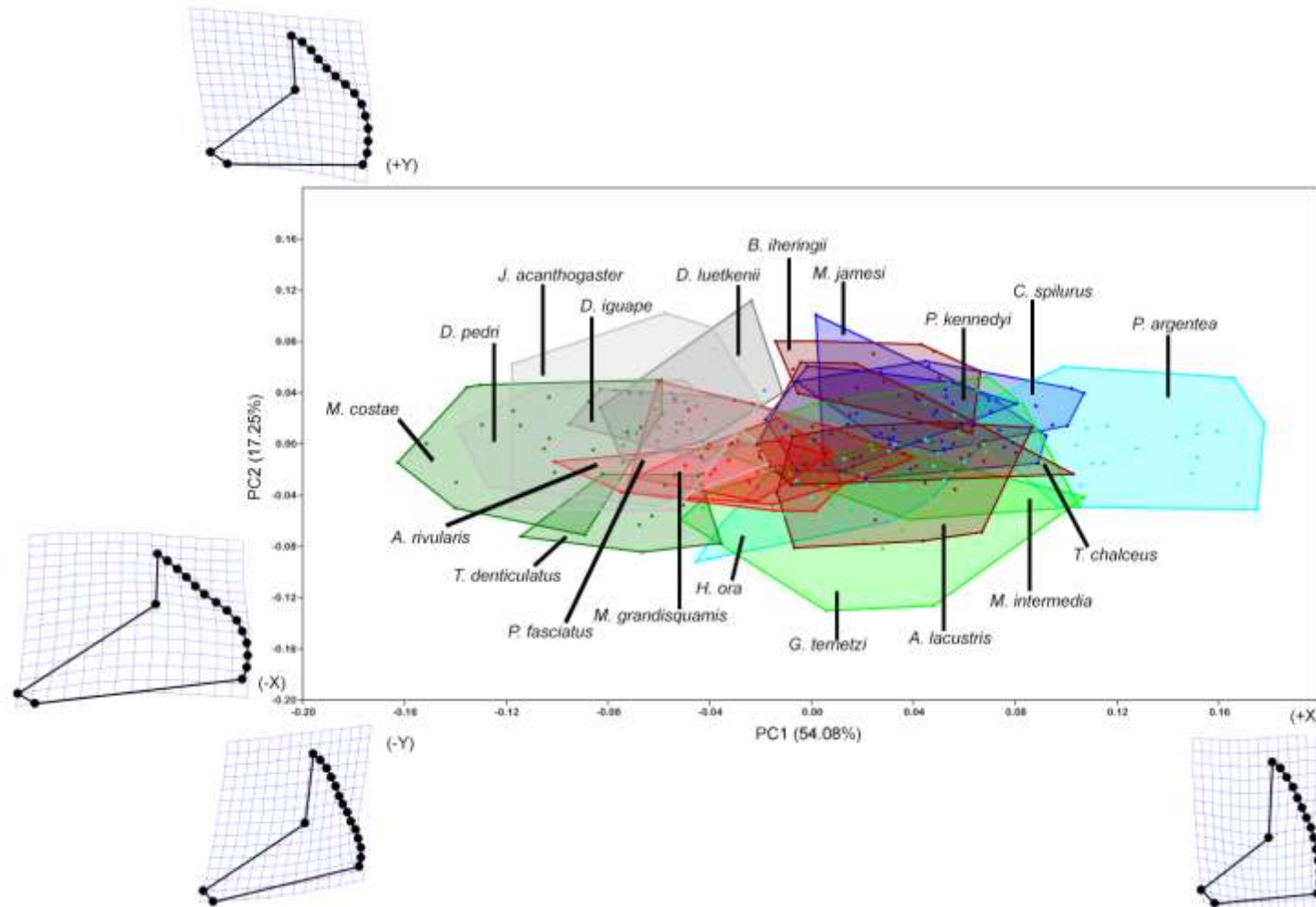


Figura 5. PCA do osso premaxilar, os dois eixos somam 71.33% da variação total. As grades de deformação expressam a variação da forma nas extremidades (-X), (+X), (-Y) e (+Y). *Astyanax lacustris* (20), *A. rivularis* (20) *Bryconamericus iheringii* (14), *Ctenobrycon spilurus* (20), *Deuterodon iguape* (19), *D. luetkenii* (14), *D. pedri* (20), *Gymnocorymbus ternetzi* (20), *Hemigrammus ora* (20), *Jupiaba acanthogaster* (20), *Moenkhausia costae* (20), *M. grandisquamis* (12), *M. intermedia* (20), *M. jamesi* (20), *Piabina argentea* (20), *Psalidodon fasciatus* (20), *Psellogrammus kennedyi* (20), *Tetragonopterus chalcus* (20), *T. denticulatus* (12).

4.1.2 Centróide

O Centróide representa o ponto médio entre todos os pontos de cada figura, ou seja, corresponde à coordenada cartesiana que representa a média de todas as coordenadas (X,Y) para cada imagem processada pelo programa *tpsDig*. O Centróide se trata de uma medida de tamanho matematicamente independente da forma (Zelditch *et al.* 2004). Abaixo (Figura 6) seguem os valores para cada peça óssea, agrupadas de acordo com a morfologia dentária descrita pela Tabela 1 e identificadas por cores. Numa comparação feita entre as diferentes morfologias, os menores valores de centróide significam que o afastamento dos *landmarks* em relação ao ponto central (0,0) é menor, o que corresponde a menores dimensões de área em comparação com centróides de maiores valores, logo, verifica-se que M1 tende a apresentar menores dimensões em suas peças ósseas, principalmente quando comparado com a M2. Desse modo, os valores de centróide complementam os resultados indicados pelos gráficos de PCA onde as categorias M1 e M2 ocuparam polos opostos no morfoespaço, indicando essas morfologias como divergentes. E ainda, verificou-se que as peças ósseas dentário e maxilar demonstraram grande oscilação de valores entre os grupos, enquanto o osso premaxilar apresentou uma tendência linear. Esses dados sugerem que a taxa de variação morfológica entre as peças ósseas difere significativamente, sendo mais expressivas para o dentário e maxilar; dados quais complementam os resultados indicado nos gráficos de PCA (Figuras 3, 4 e 5) em que se verificaram diferentes taxas de sobreposição entre os ossos, sendo menores para dentário e maxilar.

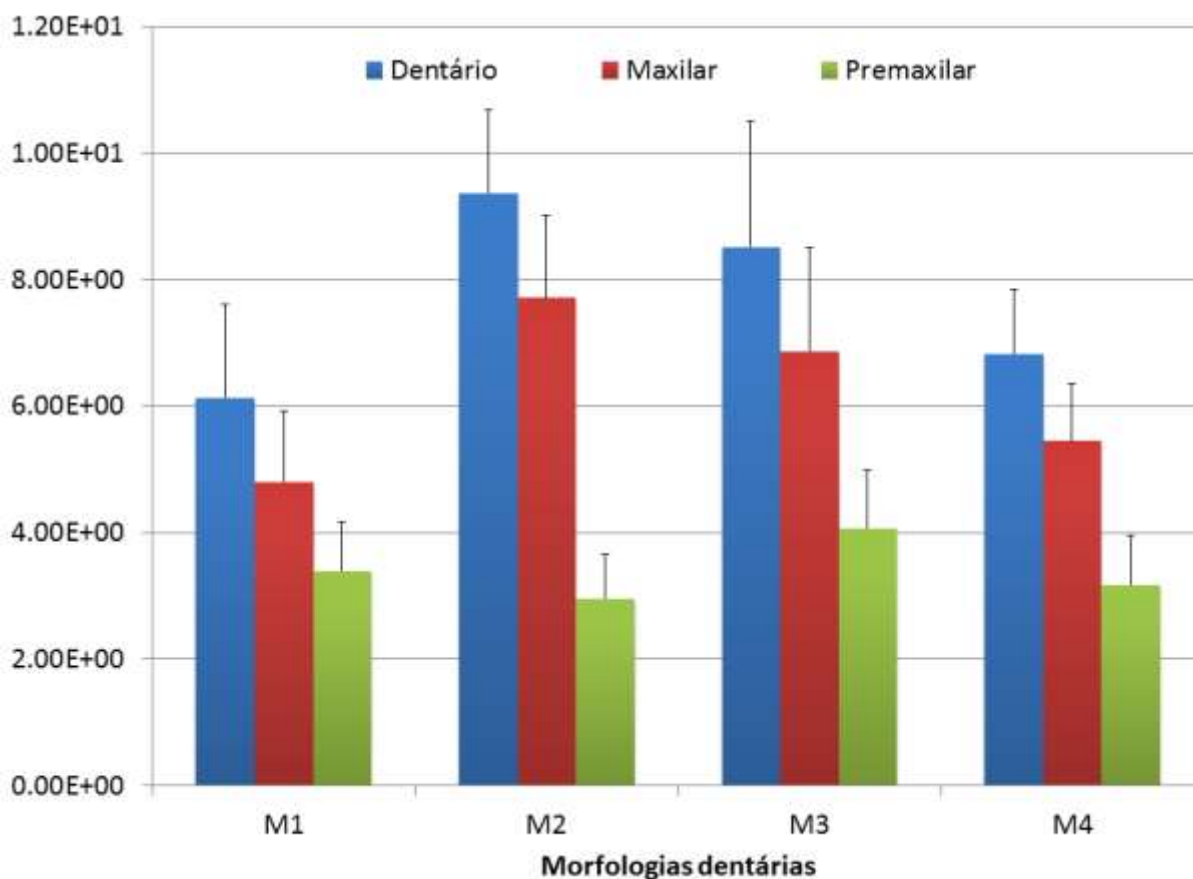


Figura 6. Valores de centróide das peças ósseas analisadas. Dentário (349), Maxilar (352) e Premaxilar (351).

4.1.3 Consenso

As sequências Consenso expressam a configuração média da forma a partir de todos os landmarks presentes na análise. Sobre o dentário (Figura 7) podemos verificar que, em média, M1 (azul) possui conformação mais estreita, de modo que a proporção entre comprimento vs. altura favorece mais este último fator. Para M2 (verde) ocorre o inverso: uma conformação mais alongada em que a proporção comprimento vs. altura favorece mais o primeiro fator. M3 (vermelha) perpassa pelas médias de todas as demais configurações, representando a morfologia média entre as quatro categorias. Já M4 se aproxima de uma configuração mista entre as M2 e M3 e afastando-se de M1, bem como observado nos gráficos de PCA acima.

Para o maxilar (Figura 8) observa-se como destaque a largura do osso pela M2 (verde) e as dimensões mais restritas para M3 (vermelha).

Por fim, para o premaxilar (Figura 9) as configurações se sobrepõem de tal modo que não é possível identificar um padrão específico para cada morfologia, embora caiba destacar que M1 novamente se mostrou como a peça mais estreita

em relação aos grupos e que M4 apresentou o menor processo premaxilar somada à maior linha de inserção dentária entre os grupos.

Esses dados complementam a interpretação dada para os valores de centróide, de modo que, conforme as oscilações entre os valores diminuem, menores são as divergências observadas entre os consensos.

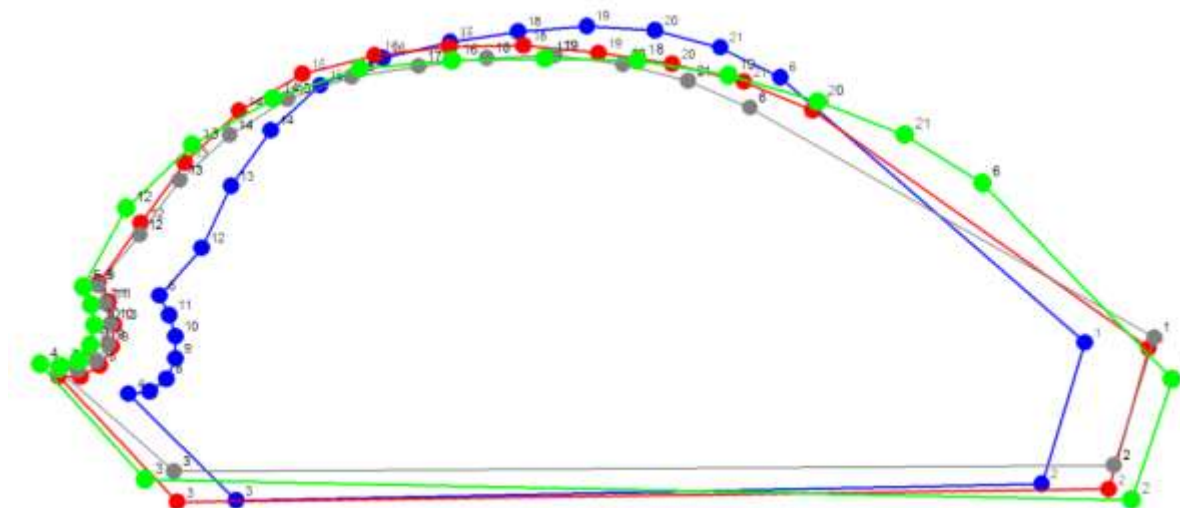


Figura 7. Sequência consenso do osso dentário, cada cor representa uma morfologia dentária: azul - M1; verde - M2, vermelho - M3; cinza - M4.

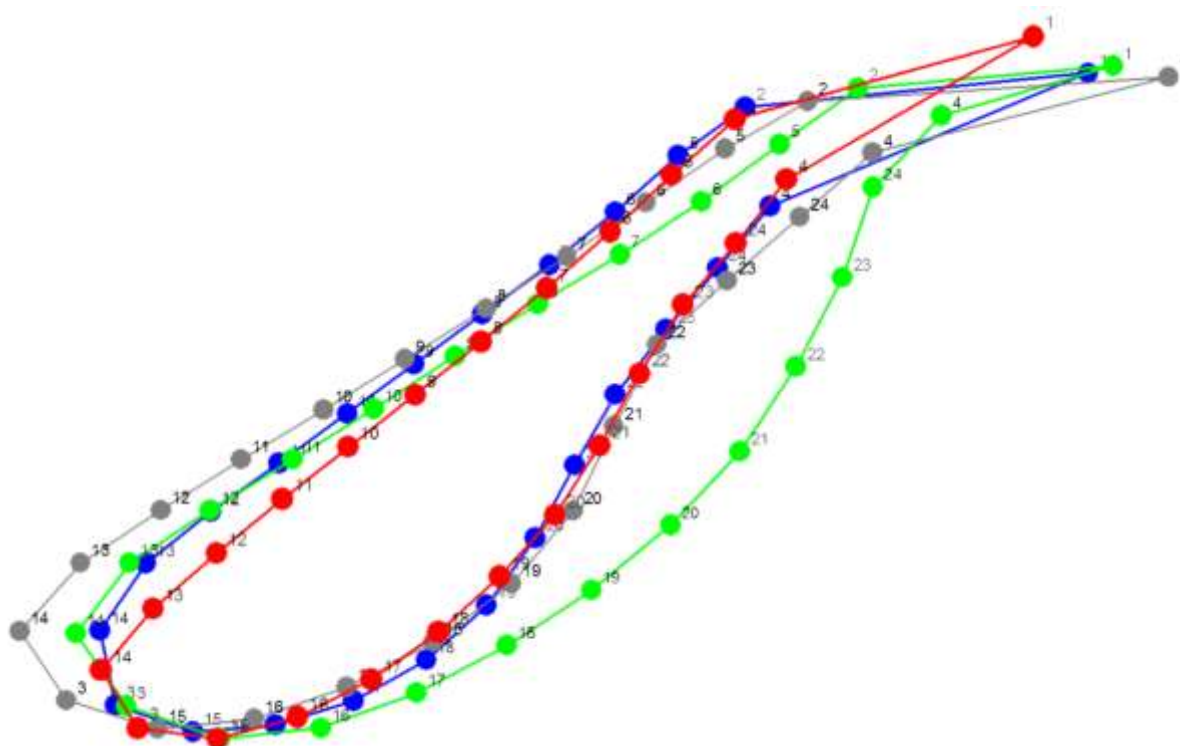


Figura 8. Sequência consenso do osso maxilar, cada cor representa uma morfologia dentária: azul - M1; verde - M2, vermelho - M3; cinza - M4.

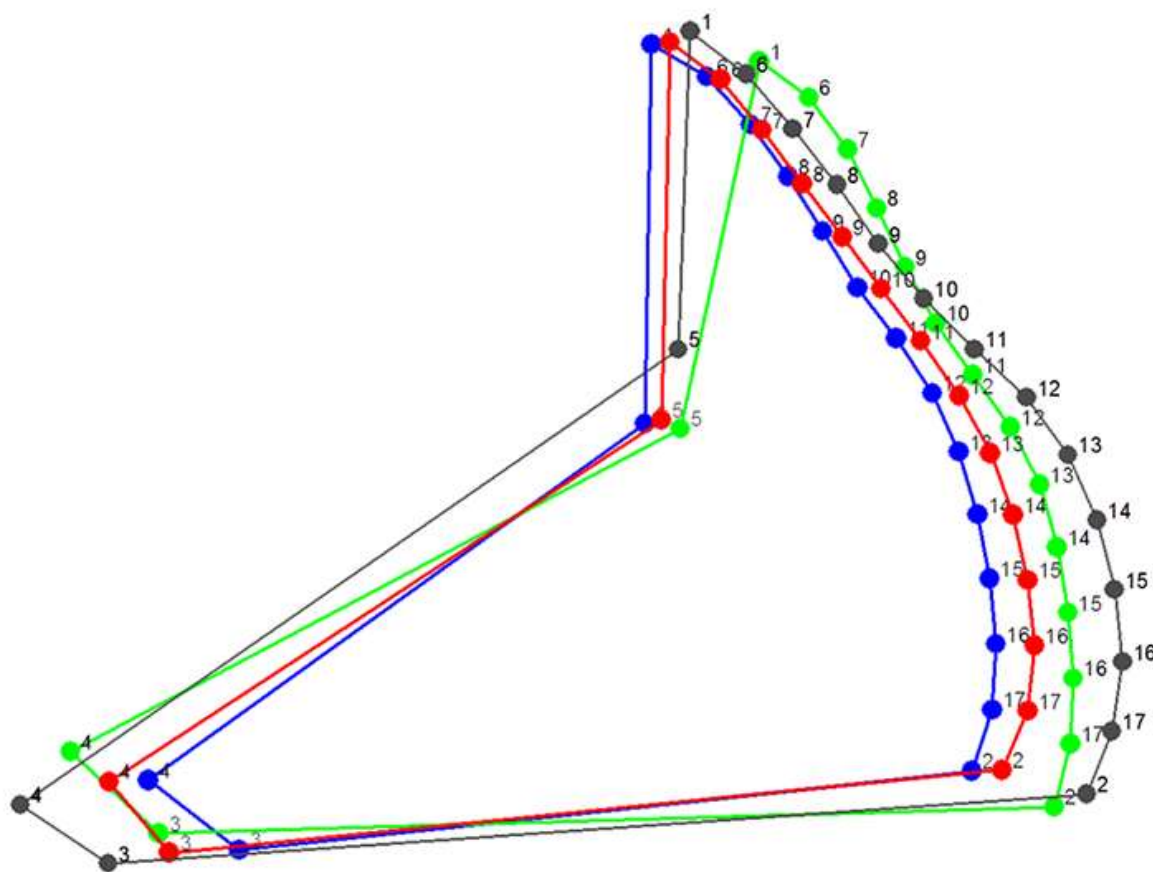


Figura 9. Sequência consenso do osso premaxilar, cada cor representa uma morfologia dentária: azul - M1; verde - M2, vermelho - M3; cinza - M4.

4.2 Análise de variáveis canônicas

Abaixo seguem as análises de CVA das peças ósseas dentário (Figura 10), maxilar (Figura 11) e premaxilar (Figura 12) em conjunto com suas respectivas grades de deformação dentro do morfoespaço calculado. Dada a distribuição obtida pela PCA, onde pudemos verificar certo grau de polarização dos dados, as espécies com morfologias ósseas semelhantes foram alocadas dentro de um mesmo grupo para investigar a relação das amostras de modo discriminatório.

4.2.1 Descrição dos eixos

De início, para o osso dentário (Figura 10) verifica-se no primeiro eixo (X) a variação na extensão da curva dorsal do osso (CVI), afetando diretamente o tamanho da linha de inserção dentária. No sentido positivo do eixo (+X), a extensão de curva é reduzida, implicando em maior tamanho da linha de inserção dentária. Já

no sentido negativo (-X) há prolongamento da curva com restrição do tamanho da linha de inserção dentária. Para o segundo eixo (Y) ocorre variação do comprimento total do osso, sendo menor no sentido positivo (+Y), e maior no sentido negativo (-Y). Sobre a disposição dos grupos nota-se que M3 ocupa um espaço central e de intersecção entre as demais morfologias, de modo que todas as demais interagem com a morfologia central, mas não entre elas. As categorias M1 e M2 ocupam polos opostos do gráfico, sendo a primeira na porção direita e deslocada para a metade superior, e a segunda na porção esquerda medial do gráfico. A categoria M4 também se encontra em oposição, vertical em relação à M1 (inferior vs. superior) e horizontal em relação à M2 (direita vs. esquerda). Na zona de intersecção entre [M1–M3] as espécies que interagem são *Ctenobrycon spilurus* e *Psellogrammus kennedyi* (M1) com *Astyanax lacustris* e *Bryconamericus iheringii* (M3); Entre [M2–M3] as espécies são *Gymnocorymbus ternetzi*, *Moenkhausia costae* e *Tetragonopterus denticulatus* (M2) com *T. chalceus* (M3); Entre [M3–M4] ocorrem *A. rivularis* e *B. iheringii* (M3) com *Deuterodon luetkenii* e *D. pedri*.

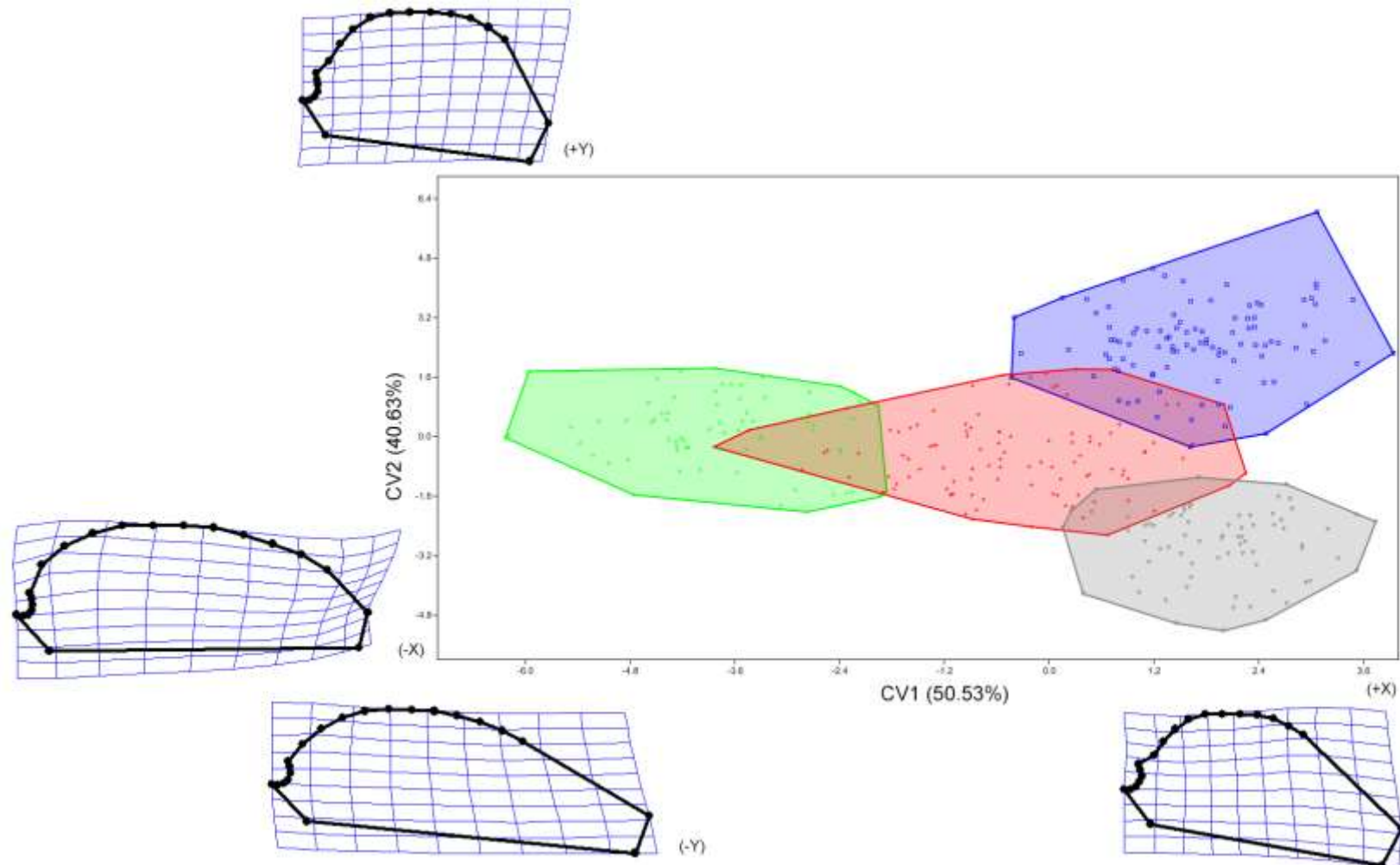


Figura 10. CVA do osso dentário, os dois eixos somam 91.16% da variação total. Wilk's lambda = 0.02133. As grades de deformação expressam a variação da forma nas extremidades (-X), (+X), (-Y) e (+Y). Legenda: azul – M1 (100), verde – M2 (72), vermelho – M3 (104), cinza – M4 (73).

Sobre o maxilar (Figura 11) no primeiro eixo (X) ocorre variação do processo maxilar quanto ao seu comprimento e largura, afetando diretamente a extensão da curvatura rostral do osso (CVII). No sentido positivo do eixo (+X) ocorre menor comprimento e menor largura do processo maxilar, provocando a extensão da curvatura rostral, enquanto que no eixo negativo (-X) ocorre o inverso, com maior comprimento e largura do processo, e redução da curvatura rostral. No segundo eixo ocorre variação no perfil da curvatura rostral (CVII), de modo a afetar a largura do osso como um todo. No sentido positivo do eixo (+Y) os ângulos de curvatura tendem ao raso (180°) e assim promovem um perfil aplainado com menor largura do osso. Enquanto que no sentido negativo (-Y) os ângulos tendem ao obtuso (entre 180° e 90°), promovendo um perfil curvado e com maior largura do osso. De forma semelhante ao dentário, M3 ocupa um espaço central e de intersecção entre as morfologias, entretanto, nesse caso se verifica uma maior proximidade entre as diferentes morfologias de modo a ocorrer pequenas áreas de intersecção entre algumas delas. Em ordem de maior relevância (pelo tamanho da área e quantidade de amostras na zona de intersecção), verificamos intersecções entre [M2–M4], [M1–M3], [M2–M3], [M3–M4] e [M1–M4]. A interação [M2–M4] mostrou-se a mais robusta ao constatar a presença de todas as espécies de M2 interagindo com três das quatro espécies de M4, sob a qual somente *Jupiaba acanthogaster* não participa da zona de intersecção. Sobre [M1–M3] ocorrem as espécies *Hemigrammus ora* (M1) e *A. lacustris* (M3) em que a área de intersecção é relevante. A interação [M2–M3] conta com as espécies *G. ternetzi*, *M. costae* e *T. denticulatus* (M2) com *T. chalcus* (M3) da mesma forma em que ocorre para o osso dentário (Figura 10). A relação [M1–M4] expressa apenas uma amostra de cada morfologia promovendo a interação, representada pelas espécies *Piabina argentea* (M1) e *D. pedri* (M4). Por último, a relação [M1–M4] ainda que a área de representação seja relevante, ocorre a presença de um único exemplar de *D. iguape* (M4) alocado com diversas espécies da M1, sugerindo que tal exemplar seja um *outlier*.

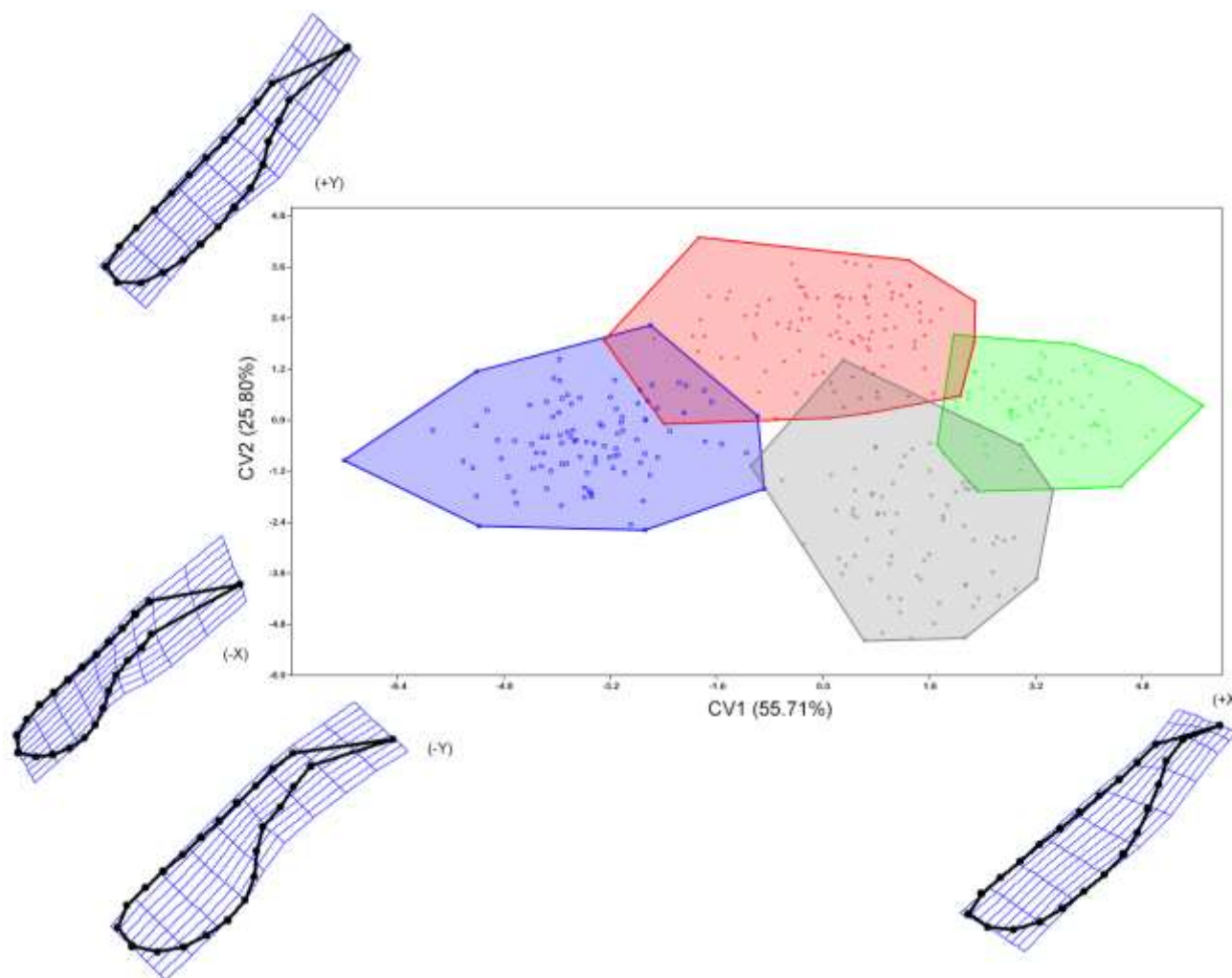


Figura 11. CVA do osso maxilar, os dois eixos somam 81.51% da variação total. Wilk's lambda = 0.01184. As grades de deformação expressam a variação da forma nas extremidades (-X), (+X), (-Y) e (+Y). Legenda: azul – M1 (100), verde – M2 (72), vermelho – M3 (106), cinza – M4 (74).

Para o premaxilar (Figura 12) o primeiro eixo (X) demonstra variação da altura das porções dorsal e ventral do osso. No sentido positivo do eixo (+X) a porção dorsal se destaca com maior altura do processo premaxilar, acompanhada da restrição da porção ventral. Já no sentido negativo do eixo (-X) a porção ventral se destaca com a maior altura, enquanto que o processo premaxilar passa por restrição na porção dorsal. No segundo eixo (Y) ocorre variação na porção rostral do osso, onde se verifica maior largura do processo premaxilar e perfil de curvatura rostral sinuoso (com ondulação) no sentido positivo do eixo (+Y), e menor largura com perfil de curvatura rostral linear (sem ondulação) no sentido negativo (-Y). Sobre a disposição no gráfico, existe uma grande intersecção entre todas as morfologias amostradas, o que indica a baixa diferenciação entre elas. Entretanto, evidenciamos a seguir as espécies que não ocorrem nas zonas de intersecção: *P. argentea* (M1), *M. costae* (M2) e *J. acanthogaster* (M4). Quanto à M3, as espécies apresentaram uma distribuição uniforme dentro do intervalo morfológico amostrado.

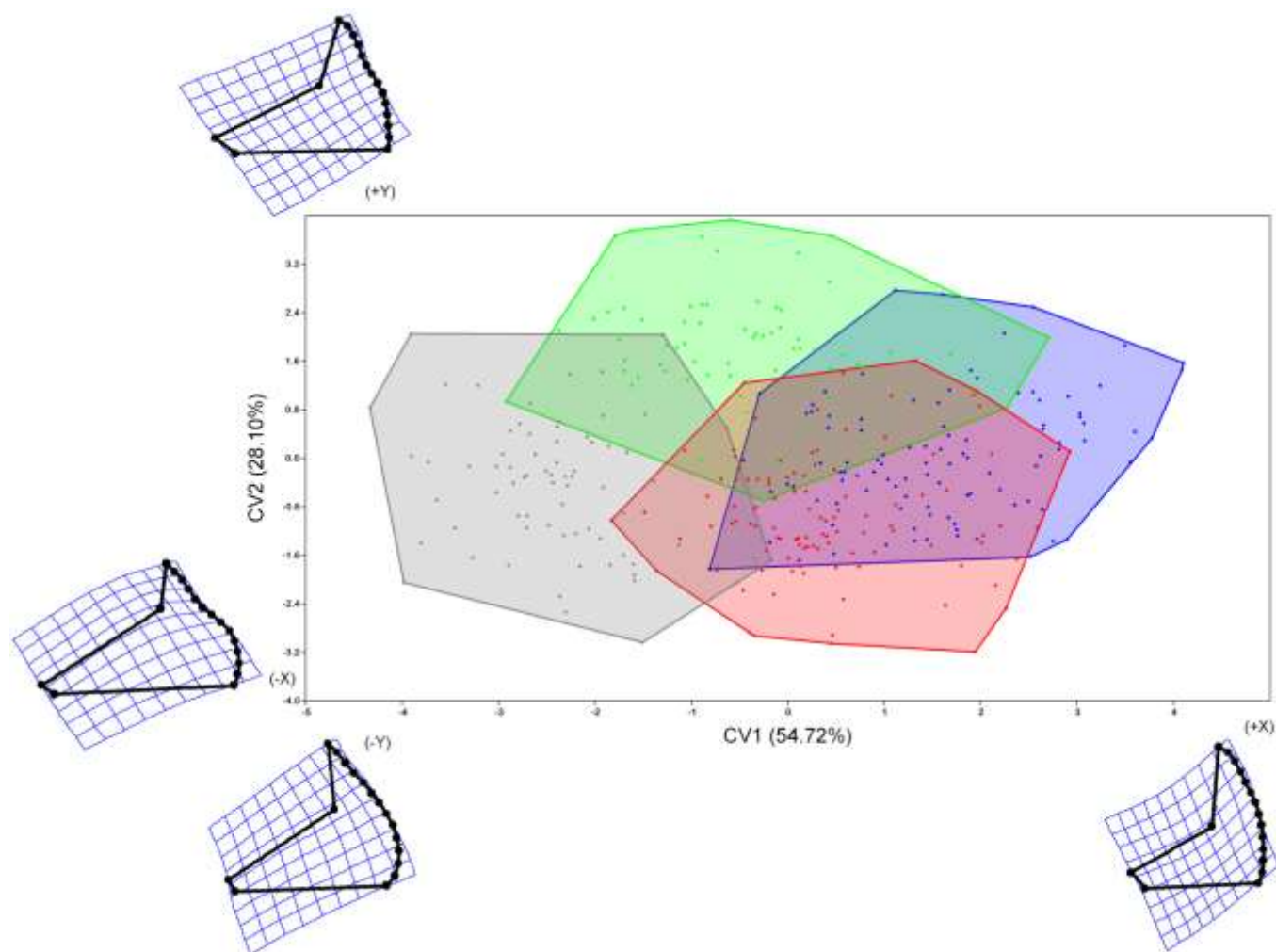


Figura 12. CVA do osso premaxilar, os dois eixos somam 82.82% da variação total. Wilk's lambda = 0.01056. As grades de deformação expressam a variação da forma nas extremidades (-X), (+X), (-Y) e (+Y). Legenda: azul – M1 (100), verde – M2 (72), vermelho – M3 (106), cinza – M4 (73).

Dado o grau de sobreposição entre as morfologias dentárias amostradas, é possível afirmar que o dentário representa a peça óssea na qual melhor pode ser evidenciada uma tendência morfológica, ou seja, um *perfil*. Verificou-se a segregação das espécies em função de suas semelhanças morfológicas apesar de suas linhagens, exceto para as amostras de *Tetragonopterus*, em que foram identificadas diferenças em relação aos dentes, mas sua posição no gráfico obedece mais à filogenia do que às semelhanças morfológicas com outras espécies de mesma categoria dentária. Quanto ao maxilar, a segregação ocorreu com menor intensidade comparada ao dentário, mas ainda é possível observar algumas tendências específicas dentro das diferentes morfologias dentárias, como por exemplo, para M2 cujo maxilar se distingue pela largura do osso e redução do processo maxilar; M4 com largura do osso como um todo (incluindo a porção do processo), M1 em que há aumento da largura do processo maxilar, mas com redução da largura para o restante do corpo do osso; e M3 com perfil plástico dentre as morfologias amostradas. Por ultimo, o premaxilar demonstrou alta taxa de sobreposição entre as morfologias, o que indica baixa taxa de diferenciação entre as espécies. Resultado esperado após a verificação dos dados de centróide e consenso.

5. Discussão

5.1 Morfologia dos dentes, variação das peças ósseas e a dieta

Através dos resultados foi possível identificar uma associação entre as diferentes morfologias dentárias com a variação das peças ósseas que contém os dentes. Os dentes descritos como M1, de base larga, cúspides dispostas em arco e inserção não pedunculada, foram identificados nas espécies *Ctenobrycon spilurus*, *Hemigrammus ora*, *Moenkhausia jamesi*, *Psellogrammus kennedyi* e *Piabina argentea*. A disposição do arco dessa morfologia, ainda que côncavo como ocorre para M2 e M3, é intensificada ou mais pronunciada, de modo que a oclusão dos dentes também adquirem uma característica diferenciada, semelhante ao que ocorre para dentes molariformes (Zanata *et al.* 2017). A mandíbula dessas espécies apresentou variação morfológica no sentido de compactação horizontal (figuras 3, 7 e 10), havendo menor

comprimento e maior altura. O maxilar também apresentou uma identidade no sentido de estreitamento, onde se verificou menor largura do osso, e comparado com as demais morfologias notou-se maior comprimento do processo maxilar, porção que se conecta com o premaxilar (Figura 8). O premaxilar também demonstrou estreitamento horizontal (Figuras 5, 9 e 12), porém as variações dessa peça óssea de modo geral são menos evidentes (Figura 6). A partir dos estudos de Westneat (1990, 1994, 1995) sobre a cinética da mandíbula e o movimento de alavanca, podemos supor que o menor comprimento do dentário demonstrado para M1 promove maior força de compressão durante a mordedura, o que permitiria a obtenção de alimentos mais rígidos. De acordo com os dados levantados sobre a dieta (Tabela 2), essas espécies apresentam grande diversidade de classificações, como carnívoria, herbívoria, zooplantívoros, entre outros. Entretanto, entre os registros aparecem alguns itens em comum como crustáceos e insetos, e fragmentos de plantas superiores (gimnospermas e angiospermas), em especial como é descrito para *P. argentea* com “*pequenas sementes intactas e cortadas*” (de Godoy 1975, in Vari & Harold 2001). Dessa forma, estabelecemos aqui a associação da morfologia das peças ósseas dessas espécies (M1) com itens alimentares animais e vegetais ditos como “duros”, tais como exoesqueletos e sementes.

Para M2, dentes com base estreita, cúspides em arco e inserção não-pedunculada e que abrigou as espécies *Gymnocorymbus ternetzi*, *M. costae*, *M. intermedia* e *Tetragonopterus denticulatus*, observou-se a variação das peças ósseas no sentido de alongamento e com diminuição da linha de inserção dentária (Figuras 3 a 12, exceto 6*). Não somente, essa morfologia de dentes é associada com uma maior quantidade de rastros branquiais (*obs. pes.*). Comparando com M4, cujos dentes também são reduzidos em tamanho, a linha de inserção dentária nos ossos dentário e premaxilar (Figuras 3, 5, 7, 9, 10 e 12) nesse caso é reduzida, o que pode ser um indício de que a alimentação em M2 não demandaria tanto o uso direto dos dentes como deve ocorrer para M4 que possui uma linha de inserção dentária estendida. Dentário e maxilar apresentaram os maiores comprimento e largura, respectivamente, dentre as morfologias representadas. E ainda para o maxilar, houve redução do

tamanho do processo maxilar (Figuras 4, 8 e 11). Em soma, a literatura indica o consumo de itens diminutos, tanto de origem vegetal quanto animal (algas, plantas, zooplâncton). A partir desses dados podemos supor que a alimentação dessas espécies ocorre principalmente através da sucção simples e filtração das partículas alimentares. Espécies que possuem com boca tubular, como *Prochilodus lineatus* ou *Eucinostomus gula*, (Rotta 2003; Zahorcsak *et al.* 2000) tendem a apresentar peças ósseas alongadas. No caso desta última, a atividade de sucção é ainda mais especializada dado que ocorre a protrusão bucal, e essa ampliação de tamanho pode ser associada ao comprimento do osso hiomandibular e também pela expansão lateral dos ossos operculares (Bemvenuti & Fischer 2010).

Em M3, dentes de base larga, cúspides em arco e inserção não-pedunculada e que diferencia-se de M1 por conta do tamanho e grau de curvatura do arco das cúspides (pronunciado em M1), foram alocadas as espécies *Astyanax lacustris*, *A. rivularis*, *Bryconamericus iheringii*, *M. grandisquamis*, *Psalidodon fasciatus* e *T. chalceus*. Portanto essa morfologia se trata da maior representatividade do estudo. Os gráficos enunciaram que existe um perfil morfológico para as peças ósseas desse grupo, entretanto, esse perfil se sobrepõe com os demais em algum ponto da distribuição dentro do morfoespaço. Podemos atribuir a essa identidade uma posição de interconexão entre as amostras, pois foi observado que essa morfologia ocupa majoritariamente a posição central nos gráficos de PCA e CVA (Figuras 3 a 12, exceto 6*) e que promove a interconexão entre as demais morfologias que demonstram algum grau de diferenciação. Foi verificada para M3 uma razão de proporção entre as dimensões de comprimento/altura (dentário e premaxilar, figuras 3, 5, 10 e 12) e comprimento/largura (maxilar, figuras 4 e 11). A literatura indica uma grande diversidade de guildas e itens alimentares para as espécies desse grupo, sendo classificados predominantemente como onívoros (Arcifa *et al.* 1991, Cassati & Castro 1998, Dary *et al.* 2017, da Silva *et al.* 2012, Ferreira & Santos 2006). A relação que podemos fazer entre as características morfológicas com as ecológicas, neste caso, é de que essa morfologia corresponde, em potencial, a uma forma genérica com capacidade de ingerir diversos itens alimentares, logo, não representa um grau de especialização.

Por último, M4 composta por dentes de base estreita, cúspides alinhadas e inserção levemente pedunculada contou com as espécies *Deuterodon iguape*, *D. luetkenii*, *D. pedri* e *J. acanthogaster*. Através da amostragem do morfoespaço pode-se supor que essa morfologia apresenta características “híbridas”. Como já foi dito anteriormente, um aspecto relevante do osso dentário para M4 é sobre seu alongamento, tal qual ocorre para M2, mas junto com uma extensão da linha de inserção dentária, semelhante à M3 (Figura 7). Já o maxilar tende a ser largo semelhante à M2, porém, com comprimento do processo maxilar maior, tal qual M1 (Figura 8). Essas condições morfológicas associadas à sua característica única de dentes espatulares permitem fazer uma leitura singular sobre seu hábito alimentar. Foi constatado entre as espécies desta morfologia o consumo de detritos e algas filamentosas, esta última podendo ser obtida através de superfícies rochosas (Gonçalves & Cestari 2018). Dessa forma, o alongamento das peças ósseas, que se aproxima da forma de tubo como em M2, em soma de maior quantidade de dentes poderia favorecer o uso destes para realizar a raspagem de superfícies e assim obter as partículas alimentares e associar estas espécies ao hábito detritívoro (Rotta, 2003).

5.2 Possíveis relações evolutivas dessas adaptações

A partir da investigação da variação morfológica das peças ósseas e da distribuição das espécies no morfoespaço, estima-se que a evolução dessas adaptações obedeceu tanto a ancestralidade das espécies quanto às oportunidades ecológicas que o ambiente propiciou, mas de forma diferenciada dentre as amostras. Observou-se para as espécies de *Tetragonopterus* diferenciação quanto aos seus dentes, sendo M2 para *T. denticulatus* e M3 para *T. chalceus*, entretanto, nas peças ósseas com maiores taxas de variação essas espécies não apresentaram divergências significativas, ao passo que para o premaxilar, que possui baixa taxa de variação, houve grau de diferenciação entre elas. Esses resultados demonstram que o fator de ancestralidade comum em Tetragonopterinae se sobressaiu na adaptação morfológica do aparato bucal de seus representantes.

Já para as espécies em Stethaprioninae a distribuição sugere que as oportunidades ecológicas têm papel importante nas adaptações morfológicas,

de modo que as diferenças sobre os dentes se apresentaram em correlação com as variações das peças ósseas, podendo-se traçar perfis morfológicos a partir das sequências amostradas (descritos no tópico acima). Pudemos evidenciar uma diferenciação entre as espécies de *Moenkhausia* (*M. jamesi* x *M. costae* + *M. intermedia*) que além das diferenças sobre os dentes, também se distinguiram quanto às peças ósseas. Ainda, *M. intermedia* se mostrou mais próximo morfológicamente de *G. ternetzi* do que seu clado irmão, *M. costae* nas análises dos três ossos.

Em Stevardiinae, embora as amostras de *Bryconamericus* e *Piabina* se posicionarem em um mesmo sentido do gráfico, não há sobreposição entre seus intervalos de variação morfológica, como observado em Tetragonopterinae. Confirmando, dessa forma, as diferenças quanto às suas peças do aparato bucal além da morfologia dentária. Portanto, o fator ambiental se mostrou importante também para esta subfamília tal qual ocorre para Stethaprioninae. Através da morfologia, *P. argentea* se mostrou significativamente próxima de *C. spilurus* e *H. ora*, enquanto *B. iheringii* assemelhou-se de *A. lacustris* e *P. fasciatus*.

6. Conclusões

Diferentes adaptações morfológicas podem surgir em Characidae tanto em função da ancestralidade comum como por meio das oportunidades ambientais de modo diferenciado entre os clados, sob os quais observamos o fator ancestralidade como principal para Tetragonopterinae, e ambiental como principal para Stethaprioninae e Stevardiinae.

O perfil das peças ósseas do grupo M3 se configurou como um potencial perfil genérico dentre as morfologias amostradas pela análise discriminatória. Os perfis M1 e M2 se demonstraram como configurações antagônicas uma da outra.

As peças ósseas dentário e maxilar apresentam maiores taxas de variação morfológica.

7. Referências bibliográficas

Aguirre W, Jiménez-Prado P. 2018. Guía práctica de Morfometría Geométrica Aplicaciones en la Ictiología. Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Esmeralda (PUCESE). Esmeraldas, Ecuador, 104 pp.

Alonso F, Mirande JM, Pandolfi M. 2015. Gross anatomy and histology of the alimentary system of Characidae (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes) and potential phylogenetic information. *Neotropical Ichthyology*, vol. 13(2), 273–286.

Anderson PS, Friedman M, Brazeau MD, Rayfield EJ. 2011. Initial radiation of jaws demonstrated stability despite faunal and environmental change. *Nature*, 476, 206–209.

Arcifa MS, Northcote TG, Froehlich O. 1991. Interactive ecology of two cohabiting characin fishes (*Astyanax fasciatus* and *Astyanax bimaculatus*) in an eutrophic Brazilian reservoir. *Journal of Tropical Ecology*, 7, 257–268.

Baicere-Silva CM, Ferreira KM, Malabarba LR, Benine RC, Quagio-Grassiotto I. 2011. Spermatid characteristics and sperm evolution on the subfamily Stevardiinae (Ostariophysi: Characiformes: Characidae). *Neotropical Ichthyology*, vol. 9(2), 377–392.

Bemvenuti MA, Fischer LG. 2010. Peixes: Morfologia e Adaptações. *Cadernos de Ecologia Aquática*, vol. 5(2), 31–54.

Berkovitz BK, Shellis RP. 1978. A longitudinal study of tooth succession in piranhas (Pisces: Characidae) with an analysis of the tooth replacement cycle. *Journal of Zoology*, 184, 545–561.

Betancur-R R, Wiley E, Arratia G, Acero A, Bailly N, Miya M, Lecointre G, Ortí G. 2017. Phylogenetic classification of bony fishes. *BMC Evolutionary Biology*, 17–162.

Burns MD, Sidlauskas BL. 2019. Ancient and contingent bod shape diversification in a hyperdiverse continental fish radiation. *Evolution*, 73, 569–587.

Cailliet, GM, Love, MS, Ebeling, AW. 1986. *Fishes: a field and laboratory manual on their structure, identification and natural history*. Waveland Press Inc, 1^oedition, 202 pp.

Cassati L, Castro RM. 1998. A fish community of the São Francisco River headwaters riffles, southeastern Brazil. *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, vol. 9(3), 229–242.

Castro RMC, Vari RP. 2004. Detritivores of the South American Fish Family Prochilodontidae (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes): A Phylogenetic and Revisionary Study. *Smithsonian Contributions to Zoology*, 1–189.

Charcansky A. 2006. *Estudo Comparado da Dentição em Representantes da Ordem Characiformes (Teleostei, Ostariophysi, Otophysi)*. Dissertação de Mestrado, Porto Alegre, PUCRS, 198 pp.

Dary EP, Ferreira E, Zuanon J, Ropke CP. 2017. Diet and trophic structure of the fish assemblage in the mid-course of the Teles Pires River, Tapajós River basin, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, vol. 15(4), e160173.

da Silva, Pessoa EK, da Costa SA, Chellappa NT, Chellappa S. 2012. Ecologia alimentar de *Astyanax lacustris* (Osteichthyes: Characidae) na Lagoa do Piató, Assu, Rio Grande do Norte, Brasil. *Biota Amazônia*, vol. 2(1), 74–82.

Datovo A, Castro RMC. 2012. Anatomy and evolution of the mandibular, hyopalatine, and opercular muscles in characiform fishes (Teleostei: Ostariophysi). *Zoology*, vol. 115(2), 84–116.

Datovo A, Vari RP. 2014. The adductor mandibulae muscle complex in lower teleostean fishes (Osteichthyes: Actinopterygii): Comparative anatomy synonymy, and phylogenetic implications. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 171, 554–622.

Deus CP, Pettere-Junior M. 2003. Seasonal diet shifts of seven fish species in an Atlantic Rainforest stream in Southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, vol. 63(4), 579–588.

Dryden IL, Mardia KV. 1998. *Statistical shape analysis*. Wiley. Chichester, UK.

Eigenmann CH. 1908. Preliminary descriptions of new genera and species of tetragonopterid characids. (Zoological Results of Thayer Expedition). *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology*, 52, 91–106.

Eigenmann CH. 1917. The American Characidae [Part 1]. *Memoirs of the Museum of Comparative Zoology*, 43, 1–102.

Eigenmann CH. 1918. The American Characidae [Part 2]. *Memoirs of the Museum of Comparative Zoology*, 43, 103–208.

Escalante HA. 1987. Alimentación de *Bryconamericus Ihering* y *Jenynsia Lineata* (Osteichthyes) en Sierra de La Ventana (Argentina). *Museo de Historia Natural de Valparaíso*, 18, 101–108.

Esteves KE, Junior PG. 1994. Feeding ecology of *Moenkhausia intermedia* (Pisces, Characidae) in a small oxbow lake of Mogi-Guaçu river, São Paulo, Brazil. *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie*, 25, 2198–2204.

Ferreira KM, Menezes NA, Quagio-Grassiotto I. 2011. A new genus and two new species of Stevardiinae (Characiformes: Characidae) with a hypothesis on their relationships based on morphology and histological data. *Neotropical Ichthyology*, vol. 9(2), 281–298.

Ferreira MP, Santos AC. 2006. Variação sazonal, recrutamento e hábitos alimentares de *Tetragonopterus chalceus* Spix & Agassiz, 1829 (Characiformes: Characidae), no Rio Santo Antônio, Bahia, Brasil. *Revista Brasileira de Zoociências*, vol. 8(2), 117–123.

Fiori LF, Alves GH, Hahn NS, Benedito E. 2016. Influence of feeding plasticity on the fitness of small Neotropic characids. *Iheringia, Série Zoologia*, 106, e2016006.

Fink WL, Weitzman SH. 1974. The so-called Cheirodontin fishes of Central America with descriptions of two new species (Pisces: Characidae). *Smithsonian Contributions to Zoology*, 172, 1–46.

Foote M. 1997. The evolution of morphological diversity. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 28, 129–152.

Fricke R, Eschmeyer WN, van der Lann R. 2021. Eschmeyer's catalog of fishes: genera, species, references. (<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>). Electronic version accessed 25 jun 2021.

Géry J. 1977. *Characoids of the world*. TFH Publications, Neptune City, 672 pp.

Gonçalves CS, Cestari C. 2018. Grazing on the lambari fish *Deuterodon iguape* is associated with mouth morphology. *Zoologischer Anzeiger – A Journal of Comparative Zoology*, 274, 127–130.

Grubich JR, Rice AN, Westneat MW. 2008. Functional morphology of bite mechanics in the great barracuda (*Sphyraena barracuda*). *Zoology*, vol. 11(1), 16–29.

Hammer O, Harper DA, Ryan PD. 2001. Past: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*, vol. 4(1), 1–9.

Helfman GS, Collette BB, Facey DE, Bowen W. 2009. *The Diversity of Fishes: Biology, Evolution and Ecology*. Wiley-Blackwell, 2^o edition, 720 pp.

Kammerer CF, Grande L, Westneat MW. 2006. Comparative and developmental functional morphology of the jaws of living and fossil gars (*Actinopterygii: Lepisosteidae*). *Journal of Morphology*, 267, 1017–1031.

Klingenberg C, Duttke S, Whelan S, Kim M. 2012. Development plasticity, morphological variation and evolvability: a multilevel analysis of morphometric

integration in the shape of compound leaves. *Journal of Evolutionary Biology*, vol. 25(1), 115–129.

Klingenberg C, Ekau W. 1996. A combined morphometric and phylogenetic analysis of an ecomorphological trend: pelagization in Antarctic fishes (Perciformes: Nototheniidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 59, 143–177.

Mazzoni R, Rezende CF. 2002. Seasonal diet shift in a Tetragonopterinae (Osteichthyes, Characidae) from Ubatiba River, RJ, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, vol. 63(1), 69–74.

Mills D, Vevers G. 1989. The tetra encyclopedia of freshwater tropical aquarium fishes. Tetra Press, New Jersey, pp. 208. **In:** Fishbase (<https://www.fishbase.in/search.php>)

Mirande JM. 2010. Phylogeny of the family Characidae (Teleostei: Characiformes): from characters to taxonomy. *Neotropical Ichthyology*, vol. 8(3), 385–568.

Mirande JM. 2018. Morphology, molecules and the phylogeny of Characidae (Teleostei, Characiformes). *Cladistics*, 35, 282–300.

Monteiro LR, dos Reis SF. 1999. Princípios de morfometria geométrica. Ribeirão Preto. Editora Holos, capítulo 5.

Pereira PR. 2010. Estrutura trófica de assembleias de peixes em praias do trecho médio dos rios Araguaia e Tocantins, Estado do Tocantins, Brasil. Dissertação de Mestrado, Manaus, INPA, 65 pp.

Reis RE, Albert JS, Di Dario F, Mincarone MM, Petry P, Rocha LA. 2016. Fish biodiversity and conservation in South America. *Journal of Fish Biology*, 89, 12–47.

Rezende EK, Pereira RA. 2002. Peixes insetívoros e zooplancatófagos da planície inundável do rio Miranda, Pantanal, Mato Grosso do Sul. Corumbá: Embrapa Pantanal, Boletim de Pesquisa, 17, 40 pp.

Ricklefs RE, 2010. Evolutionary diversification, coevolution between populations and their antagonists, and the filling of niche space. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107, 1265–1272.

Ríncon PA. 1999. Uso do micro-habitat em peixes de riachos: métodos e perspectivas. **In:** Caramaschi EP, Mazzoni R, Peres-Neto PR. 1999. *Ecologia de Peixes de Riachos*. Série Oecologia Brasiliensis, PPGE-UFRJ. Rio de Janeiro, Brasil, vol. VI.

Roberts TR. 1967. Tooth formation and replacement in Characoid fishes. *Stanford Ichthyology Bulletin*, vol. 8(4), 231–247.

Rohlf, FJ. 2006. Tps Dig2. Version 2.10. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook. Disponível em: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>.

Rohlf, FJ. 2008. Tps Util. Version 1.40. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook. Disponível em: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>.

Rotta MA. 2003. Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura. Corumbá: Embrapa Pantanal, 1º edição, 48 pp.

Sazima I. 1986. Similarities in feeding behavior between some marine and freshwater fishes in two tropical communities. *Journal of Fish Biology*, vol. 29(1), 53–65.

Stubbs TL, Pierce SE, Rayfield EJ, Anderson PS. 2013. Morphological and biomechanical disparity of crocodile-line archosaurs following the end-Triassic extinction. *Proceedings of The Royal Society B*, 280, 20131940.

Taylor WR. Van Dyke GC. 1985. Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage. *Cybium*, 9, 107–119.

Trapani J. 2001. Position of Developing Replacement Teeth in Teleosts. *Copeia*, 1, 35–51.

Vari RP, Harold AS. 2001. Phylogenetic study of the Neotropical fish genera *Creagrutus* and *Piabina* Reinhardt (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes), with revision of the Cis-Andean species. *Smithsonian Contributions to Zoology*, 1–239.

Weitzman SH. 1962. The osteology of *Brycon meeki*, a generalized characid fish, with an osteological definition of the family. *Stanford Ichthyological Bulletin*, vol. 8 (1), 1–77.

Weitzman SH. 1974. Osteology and evolutionary relationships of the Sternoptychidae, with a new classification of stomiatoid families. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, vol. 153(3), 327–478.

Westneat MW. 1990. Feeding Mechanics of Teleost Fishes (Labridae; Perciformes): A Test of Four-Bar Linkage Models. *Journal of Morphology*, vol. 205 (3), 269–295.

Westneat MW. 1995. Feeding, Function, and Phylogeny: Analysis of Historical Biomechanics in Labrid Fishes Using Comparative Methods. *Systematic Biology*, vol. 44(3), 361–383.

Westneat MW. 1994. Transmission of force and velocity in the feeding mechanisms of labrid fishes (Teleostei: Perciformes). *Zoomorphology*, vol. 114 (2), 103–118.

Ximenes LQ, Mateus LA, Penha JM. 2011. Variação temporal e espacial na composição de guildas alimentares da ictiofauna em lagoas marginais do Rio Cuiabá, Pantanal Norte. *Biota Neotropica*, vol. 11 (1), 205–215.

Zahorcsak P, Silvano RAM, Sazima I. 2000. Feeding biology of a guild of benthivorous fishes in a sandy shore on south-eastern Brazilian coast. *Revista Brasileira de Biologia*, vol. 60(3), 511–518.

Zanata AM, Lima FCT, di Dario F, Gerhard P. 2017. A new remarkable and Critically Endangered species of *Astyanax* Baird & Girard (Characiformes: Characidae) from Chapada Diamantina, Bahia, Brazil, with a discussion on durophagy in the Characiformes. *Zootaxa*, vol. 4232 (4), 491–510.

Zelditch ML, Swiderski DL, Sheets HD, Fink WL. 2004. Geometric morphometrics for biologists: a primer. New York. Elsevier Academic Press, part II, chapter 7.

8. Anexos

8.1 Anexo 1. Material examinado

Psolidodon fasciatus (Astyanax fasciatus): LBP 19373 (3 ex. 64.66 – 69.8mm CP) Brasil, São Paulo, Salto, Rio Piraí (Drenagem Rio Tietê) 23°12'15.7"S, 47°13'46.9"W, DF Souza, R Devidé, A Nobile; LBP 24430 (17 ex. 43.98–61.48mm CP) Brasil, São Paulo, Botucatu, Riacho Cana-de-açúcar (Drenagem Rio Paraná) 48°27'55.0"S, 23°02'56.0"W, Pedro S Manoel, Sílvio C Almeida, Hamilton A Rodrigues. ***Astyanax lacustris***: número do tombo em haver (4 ex. 51.24–65.68mm CP) Brasil, São Paulo, Botucatu, Rio Capivara (Drenagem Rio Tietê) 22°45'24.9"S, 48°21'56.2"W, Mário; LBP 11553 (16. ex 38.91–55.02mm CP) Brasil, Bahia, Jenipatuba, riacho sem nome (Drenagem Rio São Francisco) 09°55'28.4"S, 37°07'22.5"W, M Mehanna, JA Senhorine, JO Junqueira. ***Astyanax rivularis***: LBP 11759 (3 ex. 54.94–62.53mm CP) Brasil, Minas Gerais, Carmo do Parnaíba, afluyente Córrego Água Limpa (Drenagem Rio São Francisco) 18°53'14.3"S, 46°13'36.4"W, R Devidé, GJC Silva, R Britzke; LBP 10258 (17 ex. 39.31–65.34mm CP) Brasil, Minas Gerais, São Roque de Minas, Córrego da Usina (Drenagem Rio São Francisco) 20°15'51.7"S, 46°20'57.5"W, JA Senhorini, PC Cecarelli, JO Junqueira, R Devidé, R Rocha. ***Bryconamericus inheringii***: LBP 19735 (14 ex. 42.63–33.95mm CP) Brasil, São Paulo, Salto, Rio Piraí (Drenagem Rio Tietê/Paraná) 23°11'11.8"S, 47°14'19.5"W, DF Souza, R Devidé, A Nobile. ***Ctenobrycon spilurus***: LBP 22519 (7 ex. 62.62–83.95mm CP) Colômbia, Amazonas, Leticia, Lago Yahuaraca (Drenagem Rio Amazonas) 04°11'45.6"S, 69°57'20.9"W, C Oliveira, BF Melo, JM Marin, G Aricari; LBP 22364 (13 ex. 45.55–62.48mm CP) Colômbia, Amazonas, Leticia, Quebrada Yahuaraca (Drenagem Rio Amazonas) 04°11'25.7"S, 69°57'00.5"W, C Oliveira, BF Melo, JM Marin, G Aricari. ***Deuterodon iguape***: LBP 6828 (4 ex. 40.12–44.60mm CP) Brasil, São Paulo, Miracatu, Rio Fau (Drenagem Ribeira do

Iguape) 24°12'44.1"S, 47°28'61.6"W, C Oliveira, M Alexandrou, JC Alves, JM Henrique; LBP 3866 (16 ex. 36.62–54.84mm CP) Brasil, São Paulo, Ubatuba, afluenta Rio da Fazenda (Drenagem Atlântico) 23°20'43.6"S, 44°50'53.6"W, C Oliveira, MCC de Pinna, ERMI Martinez. ***Deuterodon pedri***: LBP 8342 (4 ex. 47.27–64.24mm CP) Brasil, Minas Gerais, Carlos Chagas, Rio Mucuri (Drenagem Costeira) 17°41'42.4"S, 40°46'11.3"W, C Oliveira, GJC Silva, FF Roxo, TNA Pereira; LBP 3466 (16 ex. 33.66–44.80mm CP) Brasil, Rio de Janeiro, Campo dos Goytacazes, afluenta Córrego Juvêncio (Drenagem Rio Itabapoana) 21°20'46.3"S, 41°20'10.0"W, C Oliveira, AL Alves, MC Chiachio, OT Oyakawa, M Ghazzi. ***Gymnocorymbus ternetzi***: LBP 8443 (8 ex. 46.65–35.33mm CP) Brasil, Mato Grosso, Cáceres, Lagoa marginal do Rio Paraguai (Drenagem Rio Paraguai) 16°03'13.6"S, 57°48'31.8"W, R. Devidé, JCP Alves, VP Cruz, GJC Silva, W Troy. LBP 30 (6 ex. 41.81–33.77mm CP) Brasil, Mato Grosso do Sul, Corumbá, Rio Miranda (Drenagem Rio Paraguai) 19°34'63.0"S, 57°01'12.3"W, C. Oliveira, RA Torres, FP Foresti, PC Fenerich, ML. Carvalho, O Froehlich. LBP 4966 (3 ex. 41.11– 37.92mm CP) Brasil, São Paulo, Luis Antonio, Lagoa do Diogo (Drenagem Rio Mogi-Guaçu) 21°37'26.7"S, 47°48'22.6"W, C Oliveira, RMC Castro, LHG Pereira, HF dos Santos, ACM de Aquino. (Msc Bárbara) (3 ex.). ***Hemigrammus ora***: LBP 21201 (20 ex. 28.26–36.34mm CP) Brasil, Amapá, Base Aérea do Amapá, igarapé Balneário Raso (Drenagem Rio Amazonas) 02°05'25.6"N, 50°53'19.8"W, C Oliveira, BF Melo. ***Deuterodon luetkenii*** (***Hyphessobrycon luetkenii***): LBP 3380 (15 ex. 28.61–39.76mm CP) Brasil, Rio Grande do Sul, Pelotas, Arroio dos Corrientes (Drenagem Atlântico) 31°28'46.3"S, 52°12'46.9"W, R Teixeira, F Mendonça, R Devidé, M Azevedo, L de Rosa. ***Jupiaba acanthogaster***: LBP 25915 (3 ex. 47.79–55.74mm CP) Brasil, Mato Grosso, Paranatinga, Rio Culuene (Drenagem Rio Xingu) 13°50'50.8"S, 53°15'40.2"W, NF Junior, N Estevão, FA Machado; LBP 7541 (4 ex. 47.81–55.53mm CP) Brasil, Mato Grosso, Campo Novo dos Parecis, Rio Verde (Drenagem Rio Amazonas) 14°33'24.8"S, 57°48'43.9"W, WP Troy; LBP 25968 (3 ex. 48.09– 52.10mm CP) Brasil, Mato Grosso, Campinápolis, Rio Culuene (Drenagem Rio Xingu) 13°50'55.7"S, 53°15'26.7"W, NF Junior, N Estevão, FA Machado; LBP 25938 (10 ex.

43.68–57.15mm CP) Brasil, Mato Grosso, Paranatinga, Rio Culuene (Drenagem Rio Xingu) 13°50'50.8"S, 53°15'40.2"W, NF Junior, N Estevão, FA Machado. ***Moenkhausia costae***: LBP 10454 (12 ex. 59.56–63.92mm CP) Brasil, Minas Gerais, Paracatu, Lago Marginal (Drenagem Rio São Francisco) 17°13'01.1"S, 46°23'44.7"W, JA Senhorini, JO Junqueira, M Mehanna; LBP 277 (4 ex. 44.58–50.09mm CP) Brasil, Minas Gerais, Três Marias, Represa de Três Marias (Drenagem Rio São Francisco) 18°13'66.1"S, 45°14'85.7"W, C. Oliveira; LBP 10399 (4 ex. 21.73–22.62mm CP) Brasil, Minas Gerais, Buritizeiro, córrego Joaninha (Drenagem Rio São Francisco) 17°19'32.4"S, 44°46'01.0"W, JA Senhorini, JO Junqueira, M Mehanna. ***Moenkhausia grandisquamis***: LBP 5380 (6 ex. 56.9–50.5mm CP) Brasil, Amapá, Laranjal do Jari, Igarapé do Uirtapuru (Drenagem Rio Jari/Amazonas) 00°33'51.0"S, 52°34'45.0"W, A Akama, C Oliveira; LBP 10911 (6 ex. 49.88–43.18mm CP) Brasil, Rondônia, Porto Velho, Rio Jaci-Paraná (Drenagem Rio Madeira/Amazonas) 09°15'23.3"S, 64°23'13.6"W, C Oliveira, M Alexandrou, GJC Silva, M Taylor. ***Moenkhausia intermedia***: LBP 17196 (3 ex. 52.83–57.36mm CP) Brasil, Goiás, Britânia, Rio Vermelho (Drenagem Rio Araguaia) 15°10'23.2"S, 51°09'27.1"W, R Devidé, B Melo, JHM Martinez, GSC Silva; LBP 9821 (7 ex. 44.94–58.06mm CP) Brasil, Mato Grosso do Sul, Miranda, Rio Miranda (Drenagem Rio Paraguai) 19°34'58.3"S, 57°01'18.9"W, C Oliveira *et. al.*; LBP 3503 (4 ex. 69.78–75.79mm CP) Brasil, São Paulo, Birigui, Rio Tietê (Rio Paraná) 21°06'25.2"S, 50°15'52.7"W, R Teixeira, HB Ribeiro; LBP 11216 (3 ex. 59.94–69.51mm CP) Brasil, São Paulo, Anhembi, Lagoa Cabeça de Boi (Drenagem Rio Tietê) 22°49'50.7"S, 48°06'37.0"W, Jaciara VK Paes, Rosângela Zaganini, André Batista Nobile, Ricardo AS Teixeira; LBP 4518 (2 ex. 48.41–51.68mm CP) Brasil, Mato Grosso, Barra do Garça, Rio Corrente (Drenagem Rio Araguaia) PC Vénere, V Garutti; LBP (1 ex. 77.28mm CP) Brasil, São Paulo, Reginópolis, Rio Batalha (Drenagem Rio Paraná) 21°53'17.0"S, 49°13'31.0"W, RK Azevedo. ***Moenkhausia jamesi***: MZUSP 49507 (53.8–46.7mm CP) Brasil, Amazonas, Boca do Acre, Rio Purus (Drenagem Rio Amazonas) Instituto de Meio Ambiente do Acre. ***Piabina argentea***: número do tombo em haver, (2 ex. 43.47–44.32mm CP) Brasil, São Paulo, Botucatu, Rio Capivara (Drenagem Rio Tietê) 22°45'24.9"S,

48°21'56.2"W, Mário; LBP 17579 (5 ex. 50.34–65.12mm CP) Brasil, Minas Gerais, Sapucaí Mirim, riacho sem nome (Drenagem Rio Paraná) 22°44'38.4"S, 45°43'31.3"W, GJC Silva, R Devidé, C Araya, CN Nascimento; LBP 7680 (5 ex. 45.48–65.98mm CP) Brasil, Goiás, Bela Vista de Goiás, Rio Arapuca (Drenagem Rio Parnaíba) 17°05'58.0"S, 48°45'41.5"W, C Oliveira, LHG Pereira, GA Lopes, MF Pazian; LBP 3928 (8 ex. 60.78–72.23mm CP) Brasil, São Paulo, Salesópolis, Rio Paraitinguinha (Drenagem Rio Tietê) 23°31'25.6"S, 45°53'22.7"W, R Paiva, J Carlos, R Devidé, A Polleto.

Psellogrammus kennedyi: LBP 13448 (20 ex. 38.29–43.30mm CP) Brasil, Mato Grosso, Poconé, Rio Cuiabá (Drenagem Rio Paraguai) 17°47'59.0"S, 57°23'41.0"W, R Britzke, LR Gaspar, BF Melo. ***Tetragonopterus chalcus***: LBP 25600 (10 ex. 41.45–53.89mm CP) Brasil, Tocantins, Paranaíba, córrego Lajinha (Drenagem Rio Tocantins) R Devidé, B Melo, C Araya, GSC Silva; LBP 25936 (3 ex. 52.68–59.55mm CP) Brasil, Mato Grosso, Paranatinga, Rio Culuene (Drenagem Rio Xingu) 13°50'50.8"S, 53°15'40.2"W, NF Junior, N Estevão, FA Machado; LBP 25371 (3 ex. 53.92–59.92mm CP) Brasil, Rondônia, Primavera de Rondônia, Lago Rio Pimenta Bueno (Drenagem Rio Madeira) 11°54'13.0"S, 61°14'08.1"W, DPH Oliveira, CDSJ; LBP 25414 (2 ex. 70.59–71.46mm CP) Brasil, Rondônia, Primavera de Rondônia, Lago Rio Pimenta Bueno (Drenagem Rio Madeira) 11°54'11.1"S, 61°14'12.5"W, DPH Oliveira, CDSJ; LBP 17193 (2 ex. 35.10–37.40mm CP) Brasil, Goiás, Britânia, Rio Vermelho (Drenagem Rio Araguaia) 15°10'23.2"S, 51°09'27.1"W, R Devidé, B Melo, JHM Martinez, GSC Silva.

Tetragonopterus denticulatus: MZUSP 095625 (12 ex. 43.91–61.29mm CP) Brasil, Mato Grosso, Paranaíba, Rio Teles Pires (Drenagem Tapajós) 09°27'07.0"S, 56°30'46.0"W, LM Sousa, AL Neto-Ferreira.

8.2 Anexo 2. Especificações dos *landmarks*.

Peça óssea	Especificação	Classificação do Landmark
Dentário	Landmark 1: raiz do primeiro dente	Tipo I
	Landmark 2: curvatura máxima ventral-rostral	Tipo II

	Landmark 3: extremidade ventral-caudal	Tipo II
	Landmark 4: ponto de articulação ventral com o osso quadrado	Tipo II
	Landmark 5: ponto de articulação dorsal com o osso quadrado	Tipo II
	Landmark 6: raiz do último dente	Tipo I
	Curva 1: curva da articulação com o osso quadrado (5 pontos)	Tipo III
	Curva 2: curva dorsal (10 pontos)	Tipo III
Maxilar	Landmark 1: extremidade dorsal	Tipo II
	Landmark 2: curvatura máxima dorsal	Tipo II
	Landmark 3: extremidade ventral	Tipo II
	Landmark 4: curvatura máxima ventral	Tipo II
	Curva 1: curvatura caudal (10 pontos)	Tipo III
	Curva 2: curvatura rostral (10 pontos)	Tipo III
Premaxilar	Landmark 1: Extremidade dorsal	Tipo II

	Landmark 2: raiz do primeiro dente da fileira interna	Tipo I
	Landmark 3: raiz do último dente da fileira interna	Tipo I
	Landmark 4: extremidade caudal	Tipo II
	Landmark 5: curvatura máxima caudal	Tipo II
	Curva 1: curvatura rostral (12 pontos)	Tipo III