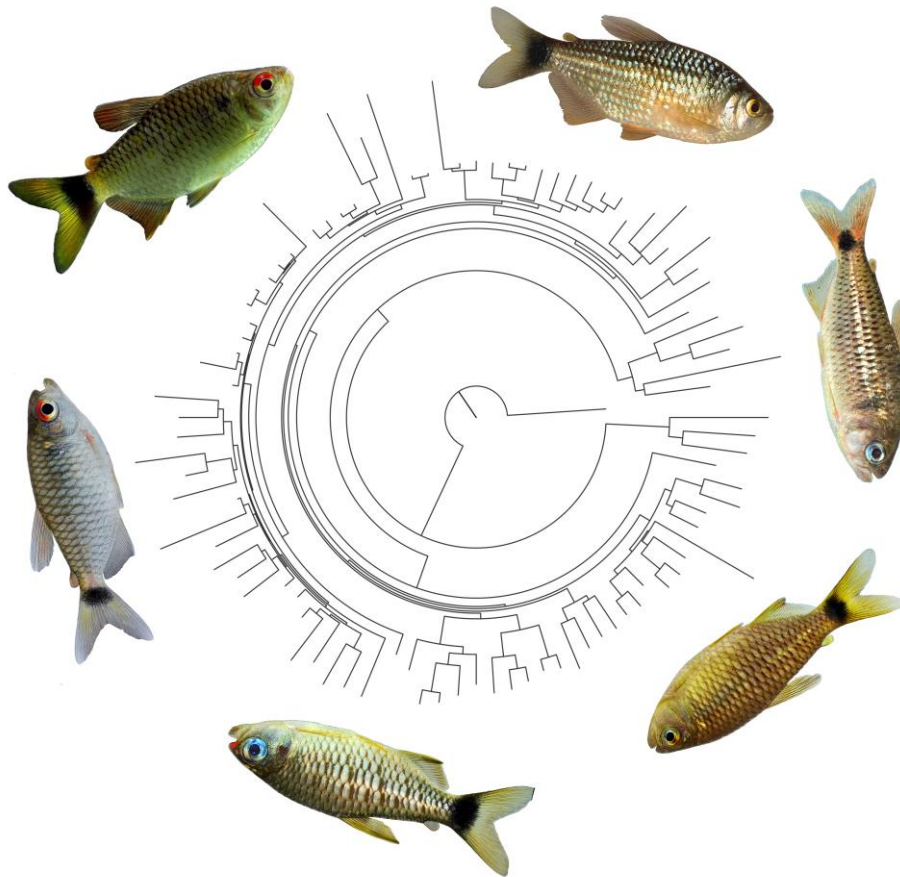


UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(ZOOLOGIA)

**Diversidade e Evolução das espécies do gênero *Bario* Myers, 1940
(Characiformes: Characidae)**

LAIS REIA



Botucatu-SP
2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
SETOR DE ZOOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(ZOOLOGIA)

**Diversidade e Evolução das espécies do gênero *Bario* Myers, 1940
(Characiformes: Characidae)**

Discente: Ma. Lais Reia
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Cardoso Benine
Coorientador: Dr. Fábio Fernandes Roxo

Tese apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências
Biológicas (Zoologia) do Instituto
de Biociências de Botucatu,
Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, como
parte dos requisitos para a
obtenção do título de Doutor.

**Botucatu-SP
2022**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Reia, Lais.

Diversidade e evolução das espécies do gênero *Bario* Myers, 1940 (Characiformes: Characidae) / Lais Reia. - Botucatu, 2023

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu
Orientador: Ricardo Cardoso Benine
Coorientador: Fábio Fernandes Roxo
Capes: 20405006

1. Peixes tropicais - Evolução. 2. Biodiversidade.
3. Análise cladística. 4. Characiformes.

Palavras-chave: Biodiversidade; Delimitação de espécies;
Peixes neotropicais; Sistemática.

AVISO

Esta tese é parte dos requerimentos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas, Zoologia, e como tal, não deve ser vista como uma publicação no senso do Código Internacional de Nomenclatura Zoológica (apesar de disponível publicamente sem restrições). Desta forma, quaisquer informações inéditas, opiniões e hipóteses, bem como nomes novos, mudanças taxonômicas não estão disponíveis na literatura zoológica. Pessoas interessadas devem estar cientes de que referências públicas ao conteúdo deste estudo, na sua presente forma, somente devem ser feitas com a aprovação prévia do autor.

NOTICE

This thesis is a partial requirement for the PhD degree in Biological Sciences with emphasis in Zoology and, as such, should not be considered as a publication in the sense of the International Code of Zoological Nomenclature (although it is available without restrictions). Therefore, any new information, opinions, and hypotheses, as well as new names, taxonomic changes are not available in the zoological literature. Interested people are advised that any public reference to this study, in its current form, should only be done after previous acceptance of the author.

***“Nada na biologia faz sentido,
exceto à luz da evolução”.***

Theodosius Dobzhansky

Agradecimentos

Ao longo desses anos de doutorado algumas pessoas foram de fundamental importância para meu crescimento pessoal e intelectual, deixo aqui os meus mais sinceros agradecimentos a elas.

Primeiramente agradeço ao meu orientador Dr. Ricardo C. Benine pela amizade e aprendizado ao longo desses anos.

Ao meu coorientador Dr. Fábio F. Roxo pela amizade e orientação com os dados filogenômicos.

Ao professor Dr. Claudio Oliveira, por todo suporte necessário para o desenvolvimento das análises utilizando dados moleculares.

Quero agradecer ao meu amor Gabriel S. Costa e Silva por toda a parceria, suporte emocional e companheirismo, durante esses anos. Foram muitas conversas e discussões a respeito dessa tese e não consigo por em palavras a minha total gratidão a você.

Aos meus familiares, meu pai Luciano Reia, minha mãe Maria A. Reia, meus irmãos Leticia e Leonardo Reia, minhas tias e tios, primas e primos, meus avós, por todo apoio, suporte e companheirismo.

A família Costa e Silva, Lilian, Rodrigo, Vinícius, Clarice, Brasilio, Luciano e Andressa por todo o incentivo, apoio e companheirismo.

Aos meus amigos de laboratório do LIB, James G. Ayala, Ana Maria Vicensotto, Mario V. B. Gardinal, Nathalia Soares, Mateus Giovanni e do LBP, Camilia S. Souza, Angélica Dias, Jefferson Crispim, Eric Ywamoto, Bruno Morales, Giovana Ribeiro, Beatriz Boza, Beatriz Dorini, Mariana Kuranaka, Gabriela Omura, Fabilene G. Paim, Najila Nolie, Cristiano N. do Nascimento, Luis Ricardo R. Silva, Tiago Faria, Silvana Melo, e Victória D. P. Silva, por toda a convivência, conselhos e também ensinamentos da técnica de bancada.

Aos amigos do grupo de discussões do LBP, Bruno Melo, Gabriel Costa e Silva, Rafela Ota, Bruno Morales, Cristhian Conde, Jefferson Crispim e Camila S. Souza, por todo o conhecimento transmitido.

Aos meus amigos de longa data que sempre estiveram atentos para me ouvir, e que torceram por mim ao longo desses anos, Mariele Coral, Pedro Batista, Juliana Zanoló, Priscila Andrade, Ana Liz Uchida, Jéssica Colavite, Gabriel P. Botero, Tayná R. Gastaldi, Marina G. Petrolli, Even Taira, Patrícia Máximo, Oscar Pereira.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela bolsa concedida para o desenvolvimento desta tese.

E por fim, mas não menos importante a Deus e a todas as minhas crenças.

Resumo

Characidae, a família mais diversa da ordem Characiformes, representa um quarto de toda a diversidade de peixes encontrada na bacia Amazônica, contando atualmente com 142 gêneros e mais de 1.000 espécies descritas. Dentre os gêneros dessa família está *Bario*, que conta com apenas uma espécie distribuída pela bacia Amazônica. Estudos filogenéticos realizados nas duas últimas décadas têm apontado uma íntima relação entre *Bario* e algumas espécies de *Moenkhausia*. As espécies deste último gênero foram consideradas relacionadas a *Bario* compõem o grupo denominado complexo “*Moenkhausia oligolepis/M. sanctaefilomenae*”. Este grupo inclui quinze espécies e é definido por apresentar um padrão característico de colorido, o qual é caracterizado por apresentar um corpo reticulado formado por concentrações de cromatóforos escuros nas margens distais das escamas, uma mancha verticalmente alongada na região umeral, e o pedúnculo caudal com uma mancha escura precedida de uma região mais clara. Recentemente foi proposto um subgrupo para o complexo *M. oligolepis/M. sanctaefilomenae*, denominado “*Moenkhausia oligolepis*” que inclui as espécies *M. oligolepis*, *M. australis*, *M. forestii*, *M. sanctaefilomenae* e *B. steindachneri*. Estas espécies são amplamente distribuídas pela região cisandina e têm sido consideradas um complexo de espécies devido às suas altas taxas de divergência genéticas e baixa disparidade fenotípica, o que torna o grupo um ótimo modelo para o estudo de espécies crípticas em peixes Neotropicais. Diante disso, este estudo possui dois objetivos principais: (I) testar quantas e quais são as espécies existentes dentro do subgrupo *Moenkhausia oligolepis* através de análises de delimitação molecular de espécies e, com base em análises morfológicas da forma do corpo, coloração, e dados merísticos determinar se essas espécies possuem disparidade fenotípica; (II) inferir as relações filogenéticas entre as espécies do gênero *Bario* e as espécies que compõem o complexo “*M. oligolepis/M. sanctaefilomenae*” e testar a monofilia das espécies do subgrupo *Moenkhausia oligolepis* a luz de dados genômicos. O resultado da delimitação de espécies indicou 35 espécies para o gênero *Bario*, sendo que 19 dessas são espécies crípticas de *B. oligolepis*. Nossa filogenia demonstrou a monofilia do gênero *Bario*, agora incluindo as espécies *B. steindachneri*, *B. oligolepis*, *B. sanctaefilomenae*, *B. australis* e *B. forestii*. Também foi revelada a natureza polifilética de *B. oligolepis* indicando que os caracteres tradicionalmente utilizados para diagnosticar as espécies

do grupo *B. oligolepis* não têm sinal filogenético. Além disso, foi constatada uma rápida radiação no gênero e verificamos o tempo de diversificação dos clados encontrados, bem como suas possíveis rotas de colonizações. Este estudo avança no conhecimento evolutivo das espécies do gênero *Bario* e ressalta a importância de se trabalhar com dados integrativos em estudos evolutivos para grupos complexos.

Palavras chave: peixes neotropicais, biodiversidade, sistemática, delimitação de espécies.

Abstract

Characidae, the most diverse family in the order Characiformes, represents a quarter of all fish diversity found in the Amazon basin, currently with 142 genera and more than 1000 described species. *Bario* is a monotypic characid genus distributed throughout the Amazon basin. Phylogenetic studies carried out in the last two decades have pointed to a close relationship between *Bario* and some species of *Moenkhausia*. This last genus was considered related to *Bario* belong to a group called “*Moenkhausia oligolepis/M. sanctaefilomenae*”. This group includes 15 species that share a typical color pattern, which is characterized by a higher concentration of dark chromatophores in the distal margins of the scales, a vertically-elongate humeral blotch, and a conspicuous dark blotch on the caudal peduncle preceded by a lighter area. Recently, some authors proposed a subgroup within *M. oligolepis/M. sanctaefilomenae*, named *M. oligolepis*, which includes the species *M. oligolepis*, *M. australis*, *M. forestii*, *M. sanctaefilomenae*, and *B. steindachneri*. The species *M. oligolepis*, *M. australis*, *M. forestii*, and *M. sanctaefilomenae* are widely distributed in the cis-Andean region and have been considered a species complex due to their high rates of genetic divergence and low phenotypic disparity, which makes the group an excellent model for the study of cryptic species in Neotropical fish. Therefore, this study has two main objectives: (I) to test how many and which species exist within the subgroup *Moenkhausia oligolepis* through molecular species delimitation analyses and, from morphological analyses, through body shape, coloration, and meristic data to determine if these species have any phenotypic disparity; (II) to test the phylogenetic relationships between the genus *Bario* and the species and the species that compose the “*M. oligolepis/M. sanctaefilomenae*” as well as the monophyly of the species of the subgroup *Moenkhausia oligolepis* in the light of genomic data. The result of species delimitation recovered 35 species for the genus *Bario*, 19 of which are cryptic species of *B. oligolepis*. Our phylogeny recovered the monophyly of the genus *Bario*, now including the species *B. steindachneri*, *B. oligolepis*, *B. sanctaefilomenae*, *B. australis*, and *B. forestii*. The polyphyletic status of *B. oligolepis* was also revealed indicating that the characters traditionally used to diagnose species of the *B. oligolepis* group does not have a phylogenetic signal. Furthermore, a rapid radiation was found in the genus and we verified the time of diversification of the clades found, as well as

their possible colonization routes. This study advances in the evolutionary knowledge of species of the genus *Bario* and highlights the importance of working with integrative data in evolutionary studies for complex groups.

Keywords: Neotropical fish, biodiversity, systematics, species delimitation.

Sumário

Introdução geral	10
Capítulo 1	15
1. Introdução	18
2. Material e Métodos	21
2.1. Amostragem	21
2.2. Dados moleculares	23
2.2.1. Extração	23
2.3. Análise dos dados morfológicos	24
3. Resultados	25
3.1. Análise filogenética, delimitação de espécies e distância genética	25
3.2. Análises morfológicas	28
4. Discussão	31
4.1. Espécies crípticas no grupo “ <i>Moenkhausia oligolepis</i> ”	33
4.2. Taxonomia de <i>Moenkhausia australis</i> e <i>Moenkhausia forestii</i>	36
4.3. Múltiplas colonizações	37
5. Conclusão	38
6. Agradecimentos	38
7. Referências	38
8. Material suplementar	42
Capítulo 2	68
1. Introdução	72
2. Material e Métodos	76
2.1. Amostragem	77
2.2. Extração do DNA e Sequenciamento	78
2.3. Análise dos dados brutos	80
2.4. Particionamento dos Dados e Análise Filogenética	80

2.5. Estimativa de tempo de divergência	81
3. Resultados e Discussão	82
3.1. Rápida radiação antiga no gênero <i>Bario</i>	85
3.2. Relações filogenéticas em Stethaprioninae	86
3.3. Relações filogenéticas do grupo “ <i>Moenkhausia cosmops</i> ”	87
3.3.1. Gênero nov.	88
3.4. O gênero <i>Bario</i> e suas relações filogenéticas	90
3.4.1. <i>Bario</i> Myers, 1940	91
4. Conclusão	96
5. Agradecimentos	96
6. Referências	96
7. Material Suplementar	103

Introdução geral

A Região Neotropical abriga a maior diversidade de espécies de peixes de água doce do mundo (40%), com mais de 6.255 espécies válidas, e com estimativas que apontam que esse número pode alcançar em torno de 9.000 espécies (Albert *et al.*, 2020; Birindelli & Sidlauskas, 2018; Reis *et al.*, 2016). Essa grande diversidade é representada principalmente por três ordens de peixes ostariofisianos, que somam juntas cerca de 77% de todos os peixes neotropicais de água doce do mundo: os Characiformes (e.g., lambaris, piranhas, trairás, dourados, entre outros), os Siluriformes (e.g., cascudos e bagres), e os Gymnotiformes (e.g., tuiuiús e poraquês) (Albert *et al.*, 2011). Para além da enorme diversidade de espécies, a Região Neotropical também abriga os grupos de peixes com a maior disparidade fenotípica e diversidade funcional do planeta (Su *et al.*, 2018).

Characiformes é a segunda ordem mais diversa da Região Neotropical, composta por 23 famílias e 2.197 espécies, ficando atrás apenas da ordem Siluriformes (Fricke *et al.*, 2022). Recentemente, um estudo avaliando a diversificação de Characiformes identificou altas taxas de diversificação, a partir do Oligoceno, em três grandes clados de Characiformes: Serrassalmidae, Anostomidae e Characidae (Melo *et al.*, 2021). Segundo os autores, possivelmente há três classes de potenciais aceleradores responsáveis por essa alta diversificação: tamanho pequeno e baixa vagilidade, alta variação ecomorfológica, e coloração diversa. Os três potenciais aceleradores foram identificados em Characidae (Melo *et al.*, 2021), que é de longe a família mais diversa da ordem, atualmente com 1244 espécies (Fricke *et al.*, 2022). Characidae representa um quarto de toda a diversidade encontrada na bacia Amazônica (Dagosta & de Pinna, 2019) e atualmente é constituída por oito subfamílias e 142 gêneros (Fricke *et al.*, 2022), dentre eles o gênero *Bario*, objeto do presente estudo.

Bario Myers, 1940 possui um histórico taxonômico bastante complexo e tem o seu início a partir da descrição de *Tetragonopterus lineatus* por Steindachner (1891) com base em dois exemplares provenientes de Iquitos, Peru. O autor definiu a espécie com base nos seguintes caracteres: “corpo com cor amarelo acastanhado; sete listras longitudinais marrom-escuras no

corpo; uma grande mancha marrom-escuro na caudal; mancha umeral indistinta; linha lateral com 31 escamas, cinco séries de escamas transversais acima da linha lateral e quatro abaixo” (traduzido, Steindachner, 1891). Posteriormente, Eigenmann (1893) se atentou que o nome *T. lineatus* estava pré-ocupado por uma espécie descrita por Perugia (atualmente válida como *Astyanax lineatus*) e substituiu *T. lineatus* por *T. steindachneri*. Em 1917, o próprio Eigenmann transferiu essa espécie para um novo gênero monotípico *Entomolepis*, com base nos seguintes caracteres: “escamas crenadas, uma escama ampliada em cada lado da base do espinho supraoccipital, linha lateral completa pouco curvada, maxilar com poucos dentes e suborbital deixando uma estreita área nua na bochecha”, traduzido. O autor ressalta que *Entomolepis* difere de *Moenkhausia* por apresentar as escamas crenadas (vs. “entire scales”) (Eigenmann, 1917). Posteriormente, em 1940, Myers propõem o nome *Bario* em substituição a *Entomolepis*, uma vez que esse nome estava pré-ocupado em Crustacea (*Entomolepis* Brady).

Bario está presente nas bacias do rio Tapajós, rio Beni-Madre de Dios, médio e baixo rio Madeira, tributários de escudo do rio Madeira, rio Juruá, rio Putumayo, canal principal do rio Amazonas, e rio Capim (Dagosta & de Pinna, 2019). Atualmente, *Bario* é monotípico, apesar de estudos filogenéticos utilizando dados moleculares, morfológicos, e integrativos apontarem para uma íntima relação entre *Bario* e as seguintes espécies de *Moenkhausia*: *M. oligolepis* Günther, *M. sanctaefilomenae* Steindachner, *M. forestii* Benine, Mariguela & Oliveira e *M. australis* Eigenmann (Benine, 2004; Mariguela *et al.*, 2013; Mirande 2009, 2010, 2019). No entanto, até o momento não houve uma alocação dessas espécies de *Moenkhausia* para *Bario*.

O gênero *Moenkhausia* foi proposto por Eigenmann (1903) e posteriormente redefinido por ele mesmo com base nos seguintes caracteres: lobos da nadadeira caudal coberto por pequenas escamas; pré-maxilar com duas séries de dentes, sendo a interna com cinco dentes multicuspidados e linha lateral completa (Eigenman, 1917). Estudos filogenéticos com base em dados moleculares e morfológicos propostos nas duas últimas décadas têm demonstrado a natureza polifilética do gênero (Benine, 2004; Mariguela *et al.*, 2013; Mirande, 2009, 2010, 2019).

Moenkhausia oligolepis, *M. sanctaefilomenae* e *M. pyrophthalma* Costa foram sugeridas por Costa (1994) como intimamente relacionadas entre si com base no padrão de colorido que compartilham, que consiste em um corpo reticulado formado por concentrações de cromatóforos

escuros nas margens distais das escamas, uma mancha verticalmente alongada na região umeral, e pedúnculo caudal com uma mancha escura precedida de uma região mais clara. Posteriormente, esse grupo foi nomeado por Lima *et al.* (2007) como “*Moenkhausia oligolepis*/*M. sanctaefilomenae*” e outras espécies com o mesmo padrão de coloração foram descritas ou sugeridas como relacionadas ao grupo, tais como: *M. cotinho* Eigenmann, *M. diktyota* Lima & Toledo-Piza, *M. cosmops* Lima, Britski & Machado, *M. forestii*, *M. lineomaculata* Dagosta, Marinho & Benine, *M. uirapuru* Lima & Ohara, *M. pirahan* Mathubara & Toledo-Piza e *M. andrica* Reia, Oliveira & Benine. Na descrição de *M. uirapuru*, Ohara & Lima (2015) sugerem uma estreita relação entre *M. uirapuru*, *M. cosmops*, *Hemigrammus skolioplatus* e as espécies do grupo *M. oligolepis*, incluindo *H. skolioplatus* ao grupo. Dentre essas espécies, algumas diferenças são observadas em relação ao colorido, no entanto, o padrão reticulado se mantém em todas.

Recentemente, Reia *et al.* (2019) propuseram um subgrupo do complexo “*M. oligolepis*/*M. sanctaefilomenae*”, denominado *M. oligolepis*, composto pelas espécies *M. australis*, *M. forestii*, *M. oligolepis*, *M. sanctaefilomenae* e *Bario steindachneri*, cuja principal característica é o grau de achatamento na região pré e pós-pélvica (comprimida lateralmente no grupo “*Moenkhausia oligolepis*” vs. achatada ventralmente nas demais espécies).

As espécies deste subgrupo estão amplamente distribuídas pela região neotropical. *Moenkhausia oligolepis* ocorre na bacia Amazônica, rio Orinoco, rio Mearim, rio Paraguai, rios costeiros da Guiana, Guiana Francesa, Suriname e Amapá (AP); *M. sanctaefilomenae* é distribuída para a bacia dos rios Parnaíba, São Francisco e alto rio Paraná; *M. australis* para as bacias dos rios Paraguai, Madeira, Uruguai e alto Paraná na região do Mato Grosso do Sul (Reia *et al.*, 2019); *M. forestii* é encontrada nos rios Paraguai, Madeira e alto Paraná (Benine *et al.*, 2009, Reia, 2018); por fim, *B. steindachneri* é distribuído para a bacia Amazônica como mencionado anteriormente.

Para compreender a diversidade e evolução das espécies do gênero *Bario*, partindo da hipótese de que *Bario* é relacionado ao grupo “*Moenkhausia oligolepis*” (Benine, 2004; Mariguela *et al.*, 2013; Mirande 2009, 2010, 2019) este estudo foi dividido em dois capítulos. O primeiro é intitulado “Espécies crípticas em lambari olho de fogo subgrupo *Moenkhausia oligolepis* (Characiformes: Characidae)”. Este capítulo responde quantas e quais são as espécies

existentes dentro do grupo “*Moenkhausia oligolepis*” e “*Moenkhausia cosmops*” e também quais os processos evolutivos que têm limitado a evolução fenotípica para as várias espécies crípticas encontradas no grupo “*Moenkhausia oligolepis*”. O segundo capítulo é intitulado “Filogenia e diversificação das espécies do gênero *Bario* Myers, 1940 (Characiformes: Characidae) utilizando os elementos ultraconservados do genoma”. Este capítulo traz uma hipótese de relações filogenéticas e discussão a respeito da diversificação do grupo. E este estudo representa um grande avanço na compreensão da evolução molecular e fenotípica das espécies do gênero *Bario* e ressalta a importância de se trabalhar com dados integrativos em estudos evolutivos quando o grupo é considerado complexo.

Referências.

- Albert, J. S., Petry, P., & Reis, R. E. (2011). Major biogeographic and phylogenetic patterns. In J. S. Albert & R. E. Reis (Eds.), *Historical biogeography of Neotropical freshwater fishes* (pp. 21–57). University of California Press.
- Albert J.C., Tagliacollo, V.A., Dagosta, F.C.P., 2020. Diversification of Neotropical Freshwater Fishes. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 51, 27–53. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-011620-031032>.
- Benine, R.C., 2004. Análise filogenética do gênero *Moenkhausia* (Characiformes: Characidae) com uma revisão dos táxons do alto Rio Paraná. Tese de doutorado não publicada, 358 pp. Universidade Estadual Paulista, São Paulo, Brasil.
- Benine, R.C., Mariguela, T.C., Oliveira, C. (2009) New species of *Moenkhausia* Eigenmann, 1903 (Characiformes: Characidae) with comments on the *Moenkhausia oligolepis* species complex. *Neotrop Ichthyol.* 7(2): 161-168.
- Birindelli J.L., Sidlauskas B.L., 2018. Preface: how far has Neotropical Ichthyology progressed in twenty years? *Neotrop. Ichthyol.* 16(3), e180128.
- Costa, W.J.E.M., 1994. Description of two new species of the genus *Moenkhausia* (Characiformes: Characidae) from the central Brazil. *Zoologischer Anzeiger.* 232, 21–29.
- Dagosta, F.C.P., de Pinna, M.C., 2019. The fishes of the Amazon: distribution and biogeographical patterns, with a comprehensive list of species. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* 431, 1–163
- Eigenmann, C.H., 1893. Catalogue of the fresh-water fishes of Central America and southern Mexico. *Proc Unit Stat Nat Mus.* 16(925), 53–60.
- Eigenmann, C H., 1903. New genera of South America fresh-water fishes, and new names for some old genera. *Smith Miscel Col.* 45, 144–148.
- Eigenmann, C.H., 1917. The American Characidae—I. *Mem Mus Comp. Zool.* 43(1), 1–102, 16 pls.
- Fricke, R., Eschmeyer, W. N. & Fong, J. D. 2022. ESCHMEYER'S CATALOG OF FISHES: GENERA/SPECIES BY FAMILY/SUBFAMILY. (<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>). Electronic version accessed 30 May 2022.

- Lima, F.C.T., Britski, H.A., Machado, F.A., 2007. A new *Moenkhausia* (Characiformes: Characidae) from central Brazil, with comments on the area relationship between the upper rio Tapajós and upper rio Paraguai systems. *aqua*, Inter J Ichthyol. 13(2), 45–54.
- Mariguela, T.C., Benine, R.C., Abe, K.T., Avelino, G.S. & Oliveira, C. (2013) Molecular phylogeny of *Moenkhausia* (Characidae) inferred from mitochondrial and nuclear DNA evidence. *J Zool Syst Evol Res*, 5(4), 327–332.
- Mirande, J.M., 2009. Weighted parsimony phylogeny of the Family Characidae (Teleostei: Characiformes). *Cladistics*. 25(6), 574–613.
- Mirande, J.M., 2010. Phylogeny of the family Characidae (Teleostei: Characiformes) from characters to taxonomy. *Neotrop Ichthyol*. 8(1), 385–568.
- Mirande, J.M., 2019. Morphology, molecules and the phylogeny of Characidae (Teleostei, Characiformes). *Cladistics*. 35(1), 282–300. <https://doi.org/10.1111/cla.12345>.
- Melo, B.F., Sidlauskas, B.L., Near, T.J., Roxo, F.F., Ghezelayagh, A., Ochoa, L. E., ... Oliveira, C., 2021. Accelerated diversification explains the exceptional species richness of tropical Characoid fishes. *Syst. Biol.* 71(1),78–92. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syab040>
- Myers, G.S. 1940. Suppression of some preoccupied generic names of fishes (*Kessleria*, *Entomolepis*, *Pterodiscus* and *Nesiotes*), with a note on *Pterophyllum*. *Stanford Ichthyological Bulletin*. 2, 35–36.
- Ohara, W.M., Lima, F.C.T., 2015. *Moenkhausia uirapuru*, a new species from the upper rio Guaporé, Chapada dos Parecis, Mato Grosso, Brazil (Teleostei: Characidae). *Ichthyol. Explor. Freshwaters*. 26(2), 159–170.
- Reia, L., 2018. Revisão Taxonômica das espécies do grupo *Moenkhausia oligolepis* (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes), Unpublished MSc. Dissertação, Universidade Estadual Paulista, 1-95.
- Reia, L., Vicensotto, A. M. P. F., Oliveira, C., & Benine, R. C., 2019. Taxonomy of *Moenkhausia australis* Eigenmann, 1908 (Characiformes, Characidae) with a discussion on its phylogenetic relationships. *Zootaxa*. 4688, 213–231. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4688.2.3>.
- Reis R., Albert J., Di Dario F., Mincarone M., Petry P., Rocha L., 2016. Fish biodiversity and conservation in South America. *J. Fish Biol.* 89, 12–47.
- Steindachner, F., 1891. Fische von dem canarischen Archipel, aus den Flüssen Südamerika's und von Madagascar unter dem Titel: 'Ichthyologische Beiträge' (XV). *Anzeiger der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften, Wien, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Classe*, 28(18), 171–174.
- Steindachner, F., 1907. Über eine neue Psilichthys-Art, *Ps. cameroni* aus dem Flusse Cubatao im Staate S. Catharina, Brasilien. *Anz Kaiser Akad Wisse Math-Nat Wiss Kl*, 44(6), 82–85.
- Su G, Villéger S, Brosse S. 2019. Morphological diversity of freshwater fishes differs between realms, but morphologically extreme species are widespread. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 28, 211–21.

Capítulo 1

Espécies crípticas em lambari olho de fogo, subgrupo “*Moenkhausia oligolepis*” (Characiformes: Characidae)

Resumo

Um dos maiores desafios da biologia evolutiva é compreender o significado de espécie. Na prática, a delimitação de uma espécie é facilitada quando uma determinada linhagem acumula altas taxas de divergência morfológica e genética. No entanto, nem sempre a divergência genética é acompanhada por divergência morfológica, resultando no surgimento das chamadas espécies crípticas. O termo “espécie críptica” foi proposto para espécies que são muito similares ou idênticas entre si e reprodutivamente isoladas. O grupo “*Moenkhausia oligolepis*” é um modelo promissor para o estudo de espécies crípticas na Região Neotropical, pois vem sendo tratado como um complexo de espécies por apresentar altas distâncias genéticas e baixa disparidade fenotípica. O grupo é composto por cinco espécies válidas, *M. oligolepis*, *M. sanctaefilomenae*, *M. forestii* e *M. australis*, amplamente distribuídas na região cisandina e popularmente conhecidas como lambari ou piaba olho de fogo. Dessa forma, o objetivo deste estudo é testar quais e quantas espécies compõem o grupo a partir de métodos de delimitação de espécies com base no gene Citocromo Oxidase I (COI) e, a partir de análises da forma do corpo, coloração e de dados merísticos, determinar se essas espécies possuem disparidade morfológica. Nossos resultados revelaram 36 espécies para o grupo com baixa variação na forma do corpo. Dessas, 19 espécies são crípticas de *M. oligolepis*, e surpreendentemente, muitas dessas espécies ocorrem na mesma bacia hidrográfica, porém não são relacionadas filogeneticamente, sugerindo a ocorrência de múltiplas colonizações. Por fim, foram identificados dois possíveis processos evolutivos que atuaram de maneira distintas e que contribuíram para a baixa disparidade fenotípica do gênero, são eles estase e divergência recente.

Palavras chaves: Espécies crípticas, peixes neotropicais de água doce; diversidade, disparidade fenotípica, evolução de peixes.

Abstract

One of the biggest challenges in evolutionary biology is the comprehension of the meaning of species. In practice, the delimitation of a species is facilitated when a certain lineage accumulates high rates of morphological and genetic divergences. However, genetic divergence is not always accompanied by morphological divergence, resulting in the emergence of cryptic species. The term cryptic species was proposed for species that are very similar or identical, but reproductively isolated. The “*Moenkhausia oligolepis*” group is a promising model for the study of cryptic species in the Neotropical region because has been treated as a species complex due to its high genetic distances and low phenotypic disparity. The group is composed of five valid species, *M. oligolepis*, *M. sanctaefilomenae*, *M. forestii* e *M. australis*, widely distributed in the cis- Andean region, popularly known as tetras. Thus, this study aims to test which and how many species compose the “*Moenkhausia oligolepis*” group through the species delimitation method using the Cytochrome Oxidase I (COI) gene, and from body shape, color, and meristic analysis to determine whether these species have morphological disparity. Our results revealed 36 species for “*Moenkhausia oligolepis*” group with low variation in body shape. Of these 36, 19 are cryptic species of *M. oligolepis* and surprisingly many of these species occur in the same basin, but are not phylogenetically related, suggesting the occurrence of multiple colonizations. Finally, two possible evolutionary processes were identified that acted in different ways and that contributed to the low phenotypic disparity of the genus, stasis and recent divergence.

Key words: Cryptic species, Neotropical freshwater fish, diversity, phenotypic disparity, fish evolution.

1. Introdução

A compreensão do significado de espécies é sem dúvida nenhuma um dos temas mais debatidos dentro da biologia evolutiva. Não é à toa que existem mais de 40 conceitos de espécies (De Queiroz, 2007), embora, muitos deles sejam bastante similares entre si. Geralmente, a tarefa de delimitação de uma espécie é facilitada quando comparamos espécies que divergiram a tempo suficiente para acumularem diferenças morfológicas, genéticas, comportamentais, entre outras (De Queiroz, 2007). No entanto, existem casos especiais em que, apesar das espécies terem tido tempo suficiente de evolução e acumulado diferenças genéticas significativas, não apresentam disparidade fenotípica.

Essas espécies com baixa ou nenhuma disparidade fenotípica têm sido tratadas historicamente como espécies crípticas. O termo se popularizou a partir de Mayr (1970) que definiu espécies crípticas ou “*simbling species*” como “populações naturais, morfológicamente semelhantes ou idênticas que são reprodutivamente isoladas”. Apesar do termo ter se popularizado a partir de Mayr, o primeiro reconhecimento de espécies crípticas é bastante antigo e foi feito pelo clérigo William Derham em aves do gênero *Phylloscopus* em 1718 (Winker, 2005).

Nos últimos 20 anos, graças ao avanço das análises moleculares, tem se reconhecido um grande número de espécies crípticas (Struck *et al.*, 2018). No entanto, o conceito de espécies crípticas tem se afastado do conceito original proposto por Mayr (1970). Esse desvio de entendimento ocorreu a partir do trabalho de Bickford *et al.* (2007), que define espécie críptica como “duas ou mais espécies distintas que são erroneamente classificadas (e escondidas) sob o nome de uma única espécie”. Portanto, para esse autor, espécies crípticas seriam apenas artefatos de práticas taxonômicas (espécies pouco ou mal estudadas morfológicamente) e não compreendidas como linhagens com baixa ou nenhuma disparidade fenotípica.

Contudo, trabalhos recentes têm tratado o conceito de espécies crípticas que tem se aproximado do entendimento como proposto por Mayr, no sentido de que, as espécies crípticas

não seriam artefatos de práticas taxonômicas (Struck *et al.*, 2018; Struck & Cerca 2019), mas produto de processos evolutivos ligados a três mecanismos que atuam diretamente no fenótipo: 1) divergência recente; 2) paralelismo ou convergência (evolução repetida); e 3) estase (Struck *et al.* 2018, Struck & Cerca 2019; Swift *et al.* 2016). Struck *et al.* (2018) e Struck & Cerca (2019) propõem dois passos fundamentais para o reconhecimento de espécies crípticas: (1) demonstrar que as linhagens em questão sejam claramente espécies distintas através de um conjunto de métodos de delimitação de espécies a partir de dados genéticos; (2) demonstrar estatisticamente que essas linhagens não apresentam diferenças morfológicas significativas comparando com seus parentes não crípticos que tiveram tempo semelhante de diversificação.

Estudos realizados com peixes neotropicais de água doce sugerindo a existência de espécies crípticas nos últimos anos aumentaram drasticamente (Brito *et al.*, 2021; Costa & Amorim, 2018; Guimarães *et al.*, 2019; Melo *et al.*, 2016; Pereira *et al.*, 2013; Ribolli *et al.*, 2021; Souza *et al.*, 2020). Porém, a maior parte desses estudos trata o termo seguindo o conceito proposto por Bickford *et al.* (2007), mais compatível com a ideia de “diversidade escondida” (“hidden diversity”) (e.g. Brito *et al.*, 2021; Costa & Amorim, 2018; Guimarães *et al.*, 2019; Pereira *et al.*, 2013; Ribolli *et al.*, 2021), com poucas exceções (e.g. Melo *et al.*, 2016; Souza *et al.*, 2020).

O gênero neotropical *Moenkhausia* Eigenmann tem sido reconhecido como um grupo polifilético (Mariguela *et al.* 2013; Mirande, 2009, 2010, 2018) e atualmente possui 98 espécies válidas distribuídas na região cisandina (Frick *et al.*, 2022). Dentre as espécies de *Moenkhausia* se destaca um grupo conhecido como “*Moenkhausia oligolepis*/*M. sanctaefilomenae* complex” (como nomeado por Lima *et al.*, 2007). Costa (1994) propõem este grupo baseado no padrão de colorido compartilhado entre as espécies *M. oligolepis* Günther, *M. sanctaefilomenae* Steindachner e *M. pyrophthalma* Costa, sugerindo uma íntima relação entre elas. O padrão consiste em um corpo reticulado formado por concentrações de cromatóforos escuros nas margens distais das escamas, uma mancha verticalmente alongada na região umeral e pedúnculo caudal com uma mancha escura precedida de uma região mais clara (Costa, 1994). Atualmente, inclui 15 espécies: *M. australis* Eigenmann, *M. cotinho* Eigenmann, *M. diktyota* Lima & Toledo-Piza, *M. cosmops* Lima, Britski & Machado, *M. forestii* Benine, Mariguela & Oliveira, *M. lineomaculata* Dagosta, Marinho & Benine, *M. uirapuru* Lima & Ohara, *M. pirahan* Mathubara

& Toledo-Piza, *M. andrica* Reia, Oliveira & Benine, *M. oligolepis*, *M. pyrophthalma*, *M. sanctaefilomenae* e *Hemigrammus skolioplatus* Bertaco & Carvalho. As espécies *M. parecis* Ohara & Marinho e *M. cambacica* Marinho, Ohara & Dagosta também apresentam o padrão de colorido mencionado acima e, por isso, aqui estão sendo consideradas como parte do grupo.

Reia *et al.* (2019) propuseram um subgrupo ao grupo “*M. oligolepis*/*M. sanctaefilomenae* complex”, nomeado “*Moenkhausia oligolepis*” composto pelas espécies *M. australis*, *M. forestii*, *M. oligolepis*, *M. sanctaefilomenae* e *Bario steindachneri* (incluindo o gênero *Bario* ao grupo). A principal característica que distingue o subgrupo “*Moenkhausia oligolepis*” das demais espécies (*M. cotinho*, *M. diktyota*, *M. cosmops*, *M. lineomaculata*, *M. uirapuru*, *M. pirahan*, *M. andrica*, *M. parecis* e *M. cambacica*) aqui reconhecidas como subgrupo “*Moenkhausia cosmops*” é o grau de achatamento da região pré e pós-pélvica (comprimida lateralmente no grupo “*Moenkhausia oligolepis*” vs. achatada ventralmente “grupo *Moenkhausia cosmops*”). As espécies do subgrupo “*Moenkhausia oligolepis*”, exceto *B. steindachneri* são conhecidas popularmente como lambari ou piaba olho de fogo.

O grupo “*Moenkhausia oligolepis*” possui representantes distribuídos por toda região cisandina e conta atualmente com cinco espécies válidas: *Bario steindachneri* Eigenmann, presente nas bacias dos rios Tapajós, Beni-Madre de Dios, médio e baixo Madeira, tributários de escudo do rio Madeira, Juruá, Putumayo, canal principal do Rio Amazonas, e Capim (Dagosta & de Pinna, 2019); *M. australis* (Eigenmann) é encontrada nas bacias dos rios Paraguai, Madeira, Uruguai e alto Paraná na região do Mato Grosso do Sul (Reia *et al.*, 2019); *M. forestii* (Benine, Mariguela & Oliveira) nos rios Paraguai, Madeira e alto Paraná (Benine *et al.*, 2009; Reia, 2018); *M. sanctaefilomenae* (Steindachner) na bacia dos rios Parnaíba, São Francisco e alto rio Paraná e por fim, *M. oligolepis* (Steindachner) na bacia Amazônica, rios Orinoco, Mearim, Paraguai, rios costeiros da Guiana, Guiana Francesa, Suriname e Amapá (AP) (Lima *et al.*, 2003, Benine *et al.*, 2007, Guimarães *et al.*, 2016).

O grupo “*Moenkhausia oligolepis*” é um excelente modelo para o estudo de espécies crípticas em peixes neotropicais. Benine *et al.* (2009), na descrição de *M. forestii* utilizando caracteres morfológicos e moleculares, foram os primeiros a tratar o grupo como um complexo de espécie. Mais tarde, Reia *et al.* (2019), também em um trabalho utilizando dados morfológicos e moleculares, comenta a baixa disparidade fenotípica e a alta divergência genética

encontrada em algumas espécies do grupo, bem como a não efetividade de alguns caracteres utilizados para diagnosticar essas espécies. No entanto, esses trabalhos citados acima contaram com uma baixa representatividade geográfica, principalmente de *M. oligolepis*, uma espécie amplamente distribuída pela região neotropical. Além disso, nenhum desses estudos utilizam ferramentas estatísticas para testar o grau de diferenças morfológicas entre as linhagens encontradas. Diante disso, o objetivo deste estudo foi testar quantas e quais são as espécies existentes dentro do grupo “*Moenkhausia oligolepis*” através de análises de delimitação molecular de espécies a partir de uma ampla amostragem do grupo, com representantes de praticamente todas as principais bacias hidrográficas Sul-Americanas. Além disso, verificamos se existe disparidade fenotípica entre as espécies evidenciadas pelas análises de delimitação utilizando o grupo “*Moenkhausia cosmops*” para um comparativo de disparidade fenotípica e genética para a inferência de espécies crípticas no grupo “*Moenkhausia oligolepis*”.

2. Material e Métodos

2.1. Amostragem

Amostras de tecidos e vouchers utilizadas neste estudo estão depositadas nas seguintes coleções: Laboratório de Biologia e Genética de Peixes (LBP), UNESP, Botucatu, SP; Museu de Zoologia da Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA; Universidade do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS; Academy of Natural Science of Philadelphia (ANSP), Filadélfia, Estados Unidos; e Royal Ontario Museum (ROM), Department of Natural History, Toronto, Canadá (Tab. Suplementar 1). O mapa indica a distribuição das amostras aqui sequenciadas e das sequências do Genbank do grupo “*Moenkhausia oligolepis*” e do grupo “*Moenkhausia cosmops*” (Fig. 1). Os espécimes utilizados nas análises morfológicas (Material Suplementar 4) estão depositados nas seguintes coleções brasileiras: Laboratório de Biologia e Genética de Peixes, UNESP, Botucatu, São Paulo, (LBP); Departamento de Zoologia e Botânica (DZSJRP), IBILCEUNESP, São José do Rio Preto, SP; Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus, AM; Laboratório de Ictiologia de Ribeirão Preto (LIRP), FFCLRPUSP, Ribeirão Preto, SP; Museu Nacional (MNRJ), Universidade Federal de Rondônia

(UFRO), Porto Velho, RO; UFRJ, Rio de Janeiro, RJ; Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP), São Paulo, SP; Museo de Historia Natural (MUSM), Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Peru. Este material é proveniente das principais bacias da América do Sul, representando uma ampla amostragem do grupo “*Moenkhausia oligolepis*”. As espécies do grupo “*Moenkhausia cosmops*” compõem o clado irmão do grupo “*Moenkhausia oligolepis*” (capítulo 2) e aqui são utilizadas em uma comparação de disparidade fenotípica e genética, afim de testar a hipótese de espécies crípticas proposta por Struck *et al.* (2018) e Struck & Cerca (2019), que visa uma comparação com parentes não crípticos. Utilizamos sequências disponíveis no Genbank de *M. forestii*, *M. oligolepis*, *M. sanctaefilomenae*, *M. australis* e de espécies que compõem o seu grupo irmão.



Figura 1. Distribuição das amostras sequenciadas e das sequências disponíveis no Genbank. Losango vermelho: *M. oligolepis*; Cruz croxa: *M. australis*; Quadrado azul turquesa: *Hemigrammus skolioplatus*; Círculos: rosa: *M. sanctaefilomenae*; verde: *M. forestii*; azul: *B. steindachneri*; cinza: *M. cambacica*; laranja: *M. parecis*; azul turquesa: *M. cotinho* rio Xingu; marrom: *M. uirapuru*; amarela: *M. cosmops*; lilás: *M. andrica*;

2.2. Dados moleculares

2.2.1. Extração

A extração do DNA seguiu Ivanova *et al.* (2006) e as sequências parciais do gene mitocondrial Citocromo Oxidase subunidade I (COI) foram amplificadas por reação em cadeia polimerase (PCR), com os primers FishF1/R1 e FishF2/R2 descritos por Ward *et al.* (2005), FishF6/R7 descritos por Jennings *et al.* (2019) e L6252/H7271 descritos por Melo *et al.* (2011). As reações foram realizadas em um volume de reação de 12.5 µL contendo 1.25 µL de 10× PCR buffer, 0.40 µL MgCl₂ (50 mM), 0.30 µL dNTPs (2 mM), 0.25 µL de cada primer (5 µM), 0.20 µL de PHT Taq DNA polymerase (Phoneutria), 2 µL de DNA (200 ng) e 7.85 µL de ddH₂O. A reação de PCR consistiu em uma desnaturação inicial (5 min á 95°C), seguida por 30 ciclos de desnaturação da cadeia (1 min á 95°C), hibridização do primer (45 s á 52°C), extensão do nucleotídeo (1 min á 68°C), e uma extensão final (10 min á 68°C). Todo produto de PCR foi checado usando gel de agarose 1% e foram purificados com ExoSap-IT (USB Corporation) seguindo as instruções manuais. O produto purificado de PCR foi submetido a reação de sequenciamento usando o Big Dye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Applied Biosystems, Austins, USA), em seguida foi purificado novamente através da precipitação com etanol e por fim sequenciado utilizando o 3500-Genetic Analyzer (Applied Biosystems) no IBTEC, no Instituto de Biociências na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Botucatu.

A partir das sequências individuais, foi realizado o consenso entre os frageos do COI sequenciados na direção *forward* e *reverse* usando o programa Geneious 7.1.4 (Kearse *et al.*,

2012) e foram alinhados pelo algoritmo Muscle (Edgar, 2004). Afim de avaliar se houve ocorrência de saturação foi feito o teste por meio do programa DAMBE 7.2.1 (Xia 2018). A variação nucleotídica, padrão de substituição, melhor modelo de evolução nucleotídica, e a distância genética intra, interespecífica e média foram calculadas no programa MEGA v7 (Kumar *et al.*, 2016). A análise de máxima verossimilhança (ML) foi realizada com o modelo GTRGAMMA (Stamatakis, 2006) e dez corridas alternativas de árvores iniciais a partir do método de parcimônia através do programa RAxML v8.1.3 (Stamatakis, 2014) foram realizadas. O método de *bootstrap* foi utilizado através da função autoMRE, que permite o critério de parada se as pseudoréplicas atingem valores de suporte estáveis o suficiente (Pattengale *et al.*, 2010), o qual gerou 500 pseudoréplicas. A árvore resultante da análise de verossimilhança foi utilizada para a análise de delimitação de espécies PTP (Poisson Tree Process, website species.h-its.org/server). Para análise de delimitação de espécies ASAP, utilizamos o modelo de Jukes-Cantor (JC69) (Assemble Species by Automatic Partitioning, Puillandre *et al.*, 2021, website <https://bioinfo.mnhn.fr/abi/public/asap/asapweb.html>). Em ambas as análises de delimitação (i.e., na utilização do modelo de delimitação) a raiz não foi incluída e utilizamos os parâmetros em *default*.

2.3. Análises dos dados morfológicos

Com base nos resultados da análise filogenética e de delimitação de espécies molecular foram realizadas 18 contagens e 19 medidas tradicionais para testar se existe diferença na morfologia entre essas linhagens genéticas. As medidas foram tomadas por meio de um paquímetro digital (precisão de 0,1 mm) e, assim como as contagens, foram efetuadas sob um estereomicroscópio, seguindo a metodologia de Fink & Weitzmann (1974), com exceção da altura da cabeça, o qual foi medida verticalmente na região posterior do espinho occipital e da contagem de séries de escamas abaixo da linha lateral em que seguimos Petrolli & Benine (2015).

Foram medidos 30 espécimes de cada espécie, com exceção de *B. steindachneri* rio Amazonas (2), rio Tapajós (1), rio Madeira (10), *M. forestii* (27), *M. sanctaefilomenae* rio São

Francisco (21), rio Tocantins-Preto (17), *M. oligolepis* espécie 1(7), *M. oligolepis* espécie 2(6), *M. oligolepis* espécie 3(1), *M. oligolepis* espécie 4(5), *M. oligolepis* espécie 7 (5), *M. oligolepis* espécie 8(13), *M. oligolepis* espécie 10 (16), *M. oligolepis* 15 (1), *M. oligolepis* espécie 16(12), *M. oligolepis* espécie 17(20), *M. oligolepis* espécie 20(10), *M. oligolepis* espécie 21(10), *M. oligolepis* espécie 23(15), *M. oligolepis* espécie 24(16), *M. lineomaculata* (11), *M. uirapuru* (3) e *M. cosmops* (15). Não foi obtido acesso a lotes das espécies 5, 6, 12, 14, e 22 de *M. oligolepis*, apenas aos tecidos ou sequências disponíveis no Genbak, por isso, não foi inserido nenhum representante nas análises morfológicas. Informações a respeito de cada lote analisado nesta seção estão em Material Suplementar 4.

Foram organizados três conjuntos de dados para avaliar a distribuição da forma das espécies no morfo espaço: I) entre o grupo “*Moenkhausia oligolepis*” e o grupo “*Moenkhausia cosmops*”; II) entre as espécies do grupo “*Moenkhausia oligolepis*”; III) entre as espécies do grupo “*Moenkhausia cosmops*”. A partir das medidas com os dados brutos efetuamos a transformação log-ratio através da função “AitTrans” Aitchison Transformation (Aitchison, 1986) do pacote Pstat (<https://rdrr.io/cran/Pstat/man/>) para remover o efeito de tamanho. Em seguida, conduzimos a Análise de Componentes Principais (PCA) usando a função “prcomp” para checar a variação geral no morfoespaço. Todas as análises foram realizadas no programa R Studio version 2021.09.1 (RStudio Team, 2016).

3. Resultados

3.1. Análise filogenética, delimitação de espécies e distância genética

A nossa matriz molecular final para o gene COI é composta por 589 pb e 265 sítios variáveis, a partir de 205 sequências. A composição de frequência de nucleotídeos foi de 27.7% de adenina, 31.2% de citosina, 21.9% de guanina e 37.8% de timina. A matriz está ausente de inserções, deleções e códons de parada, como também está ausente de saturação nas transições ou transversões, dado aos valores maiores de Iss.cSym comparado ao Iss.cAsym.

As análises de delimitação de espécies utilizadas aqui, ASAP e PTP, apontaram para um total de 45 espécies para o grupo “*Moenkhausia cosmops*” e “*Moenkhausia oligolepis*”, mas com delimitações diferentes (Fig. 2). Nós optamos pelo método ASAP para determinar quais são as espécies dentro do grupo de estudo devido ao fato de o método PTP indicar espécies diferentes para espécimes do mesmo lote e que não apresentam nenhuma distância genética (Figura suplementar 2). O ASAP delimitou nove espécies para o grupo “*Moenkhausia cosmops*”, apontando duas espécies para *M. cosmops*, (ausência de localidade e rio Verde-Madeira) e três espécies em *M. andrica* (rio Arinos, rio Papagaio e rio do Sangue). No grupo “*Moenkhausia oligolepis*”, a análise ASAP reconheceu mais de uma linhagem para todas as espécies, exceto em *M. forestii*. Foram três linhagens delimitadas para *B. steindachneri*, uma para cada drenagem: rios Amazonas, Madeira, e Tapajós; três para *M. australis*, uma dos rios Paraguai e Madeira, outra do rio Parnaíba e outra encontrada em todo o restante do alto rio Paraná e o rio Uruguai; três para *M. sanctaefilomenae*, uma em cada bacia: rio Parnaíba, rio São Francisco e rio do Sono (bacia do rio Tocantins) + rio Preto (bacia do rio São Francisco, bem próximo ao rio do Sono); 26 para *M. oligolepis*. Para facilitar a exposição e discussão dos nossos resultados as espécies de *M. oligolepis* foram enumeradas de 1 a 26 (Fig. 2).

As distâncias genéticas foram calculadas através do modelo Tamura Nei (TN92) + G, classificado como o segundo melhor modelo, pois, o GTR+G+I que foi o primeiro, não está disponível para cálculo de distância genética no MEGA. A distância média encontrada para os dois grupos analisados foi de $16.4\% \pm 0.18$. Podemos observar que, tanto para o grupo “*Moenkhausia cosmops*” quanto para o grupo “*Moenkhausia oligolepis*”, foram encontrados altos valores de distância genética entre as espécies (Tabela suplementar 2). O maior valor interespecífico geral foi de $27.7\% \pm 0.049$ entre *M. oligolepis* espécie 24 (rio Jaci Paraná) e *M. cambacica* rio Machado e o menor foi de $1.7\% \pm 0.007$ entre *M. oligolepis* espécie 2 (rio Branco RR) e *M. oligolepis* espécie 3 (rio Negro e canal do Cassiquiare) (Tabela suplementar 2). O menor valor encontrado entre as espécies do grupo *M. cosmops* é de $4.7\% \pm 0.012$ entre *M. andrica* rio Arinos e *M. andrica* rio Papagaio-Sangue e o maior valor é de $20.1\% \pm 0.036$ entre *M. andrica* e *M. cosmops* rio Verde-Madeira. Para o grupo “*Moenkhausia oligolepis*”, o menor valor de distância genética apresentado foi de $1.7\% \pm 0.007$ entre *M. oligolepis* espécie 2 (rio Branco RR) e *M. oligolepis* espécie 3 (rio Negro e canal do Cassiquiare) e o maior valor foi de

24.6%±0.042 entre *M. australis* rio Paranaíba e *M. oligolepis* espécie 19 (rio Araguaia-alto Xingu). Todas as distâncias estão apresentadas na Tabela suplementar 2.

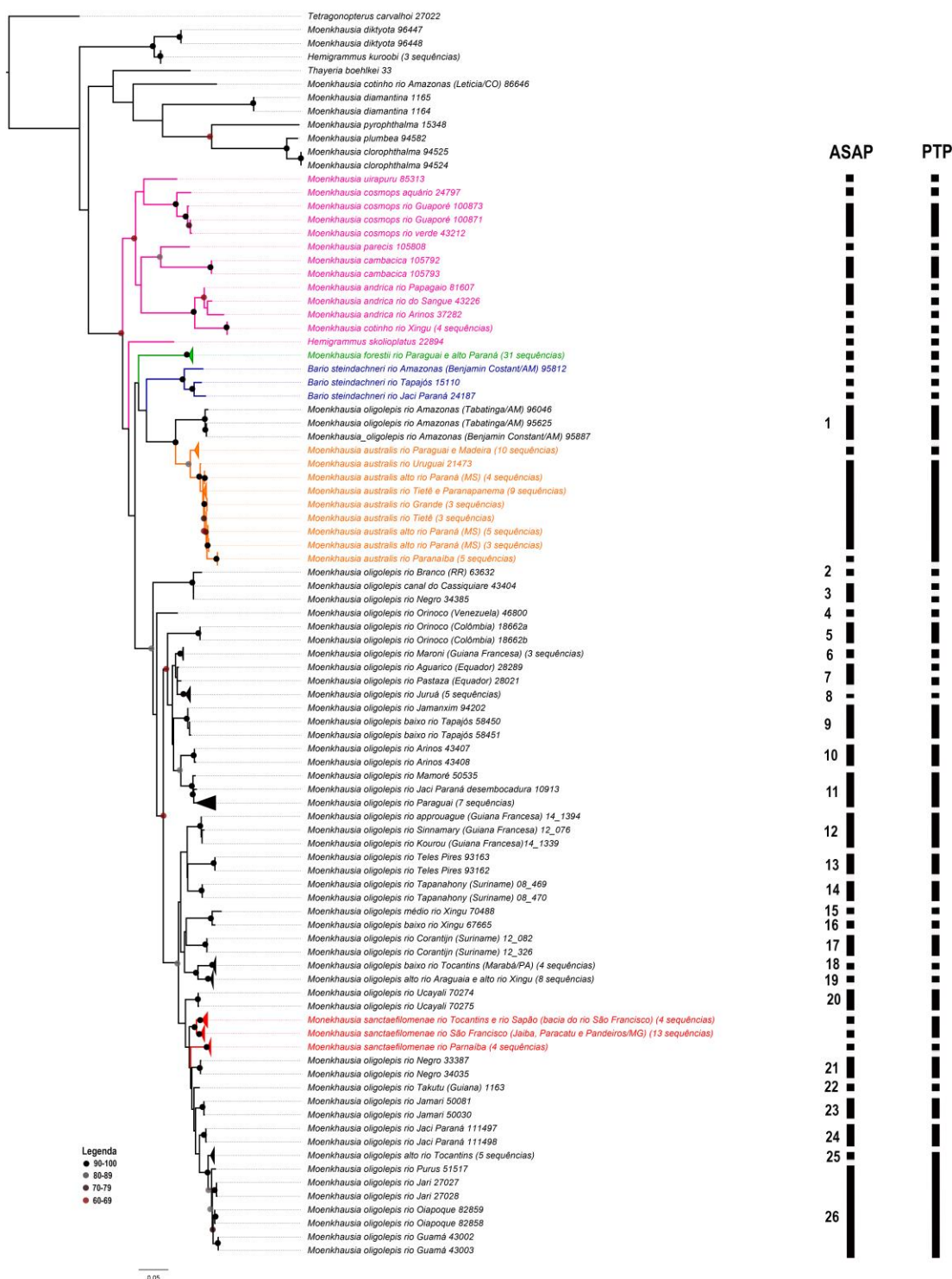


Figura 2. Árvore de Verossimilhança-ML do grupo “*Moenkhausia cosmops*” (cor rosa) e do grupo “*Moenkhausia oligolepis*” baseado no gene COI. As barras verticais representam o número de linhagens reconhecidas pelas análises ASAP e PTP. Os valores abaixo de 60% de bootstrap não

foram exibidos. Os números de 1 á 26 ao lado das barras do ASAP representam ás espécies de *Moenkhausia oligolepis*.

1.1. Análises morfológicas

As análises morfológicas foram realizadas em três conjuntos de dados: I) entre o grupo “*Moenkhausia oligolepis*” e o grupo “*Moenkhausia cosmops*”; II) entre as espécies do grupo “*Moenkhausia oligolepis*”; III) entre as espécies do grupo “*Moenkhausia cosmops*”. No primeiro conjunto de dados os dois primeiros componentes principais (PC1: 25.3% e PC2: 16.2%) explicam 41.5% da variação total da forma (Fig. 3). As medidas que tiveram maior contribuição na diferenciação dos grupos no morfoespaço no PC1 para a direita foram: altura do corpo (0.8204018), comprimento da nadadeira peitoral (0.6118808) e base da nadadeira anal (0.7689828). Essas medidas atraíram o grupo “*Moenkhausia oligolepis*” para a direita. Enquanto que as medidas: distância pré-peitoral (-0.6470056), comprimento do pedúnculo caudal (-0.7016305), comprimento da cabeça (-0.8526255) e comprimento da maxila superior (-0.7124177) atraíram o grupo “*Moenkhausia cosmops*” para a esquerda. No PC2 para a direita foram: distância pré-anal (0.6003226) e origem dorsal-caudal (0.6768117) e para a esquerda: comprimento da nadadeira anal (-0.7200988) e diâmetro da orbita (-0.7159099) (Tabela suplementar 3).

No segundo conjunto de dados os dois primeiros componentes principais (PC1: 24.7% e PC2: 12.1%) explicam 36.8% da variação total da forma (Fig. 4). As medidas que tiveram maior contribuição na diferenciação dos grupos no morfoespaço no PC1 para a direita foram: distância pré-peitoral (0.6361147), comprimento da nadadeira anal (0.6155664), comprimento da cabeça (0.7954515) e diâmetro da orbita (0.8426877), já para a esquerda foram: altura do corpo (-0.7838145), altura do pedúnculo caudal (-0.6081226) e olho-origem da dorsal (-0.7112407) (Tabela suplementar 3). No PC2 apenas uma medida teve alta contribuição e foi para a direita a distância pré-pélvica (0.8030576) que aponta uma tendência de separação no morfoespaço de *M. oligolepis* espécie 24 (Fig. 4).

Em nosso terceiro conjunto de dados os dois primeiros componentes principais (PC1: 28.9% e PC2: 14.1%) explicam 43% da variação total da forma (Fig. 5). As medidas que tiveram

maior contribuição na diferenciação dos grupos no morfoespaço no PC1 para a direita foram: comprimento da nadadeira anal (0.6298454), diâmetro da orbital (0.8495416) e comprimento da maxila superior (0.7397563). Para a esquerda foram: altura do corpo (-0.7611809), altura do pedúnculo caudal (-0.6536126), base da nadadeira dorsal (-0.7126033) e origem da dorsal-origem caudal (-0.9001469) que atraíram a maior parte dos pontos de *M. andrica* rio Arinos para a esquerda. No PC2, foram apenas para o lado direito: comprimento padrão (0.6137595), distância pré-pélvica (0.7604701), distância pré-peitoral (0.6713341) e distância pré-anal (0.6279143) e são essas medidas que apontam uma tendência de separação no morfoespaço de *M. lineomaculata*.

As análises morfológicas com a forma do corpo demonstram uma maior variação no morfoespaço entre as espécies do grupo “*Moenkhausia cosmops*” comparado com as espécies do grupo “*Moenkhausia oligolepis*” (Fig. 3). Esse resultado pode ser melhor visualizado no conjunto individual de cada grupo (Fig. 4 e 5), onde podemos identificar cada espécie por cor.

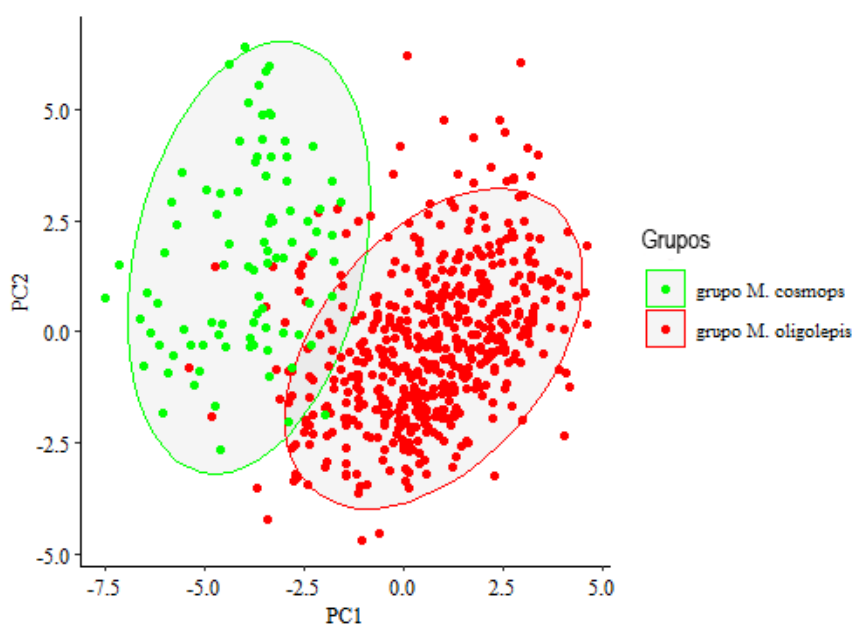


Figura 3. Análise de Componentes Principais (PCA) do conjunto de dados I espécies do grupo “*Moenkhausia oligolepis*” e grupo “*Moenkhausia cosmops*” utilizando 22 medidas.

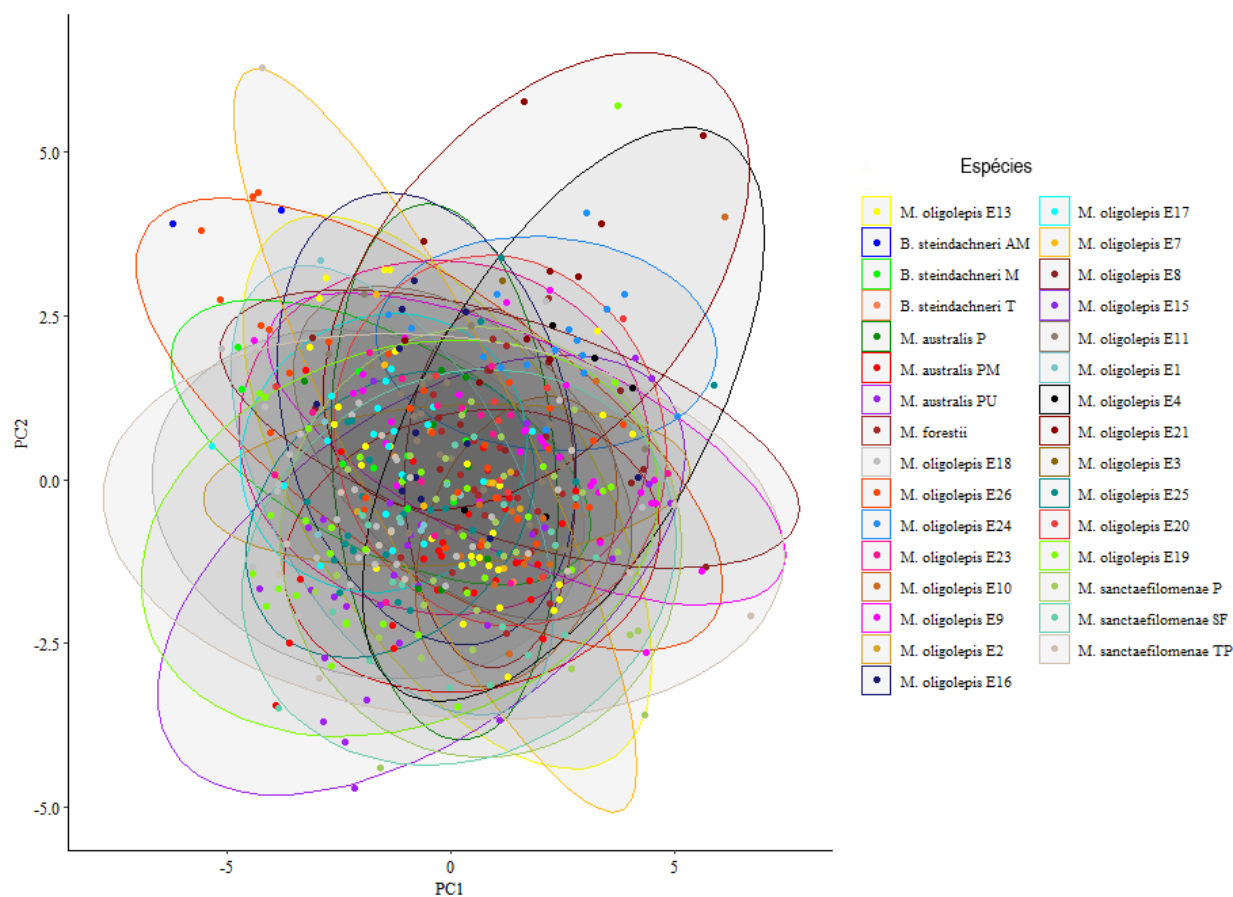


Figura 4. Análise de Componentes Principais (PCA) do conjunto de dados II espécies do grupo “*Moenkhausia oligolepis*” utilizando 22 medidas. *Bario steindachneri* AM = do rio Amazonas, M = do rio Madeira, T = do rio Tapajós; *M. australis* P= do rio Paranaíba, PM = do rio Paraguai e Madeira e PU = do alto rio Paraná e Uruguai; *M. sanctaefilomenae* P = do rio Paranaíba, SF = do rio São Francisco, TP = do rio Tocantins e Preto.

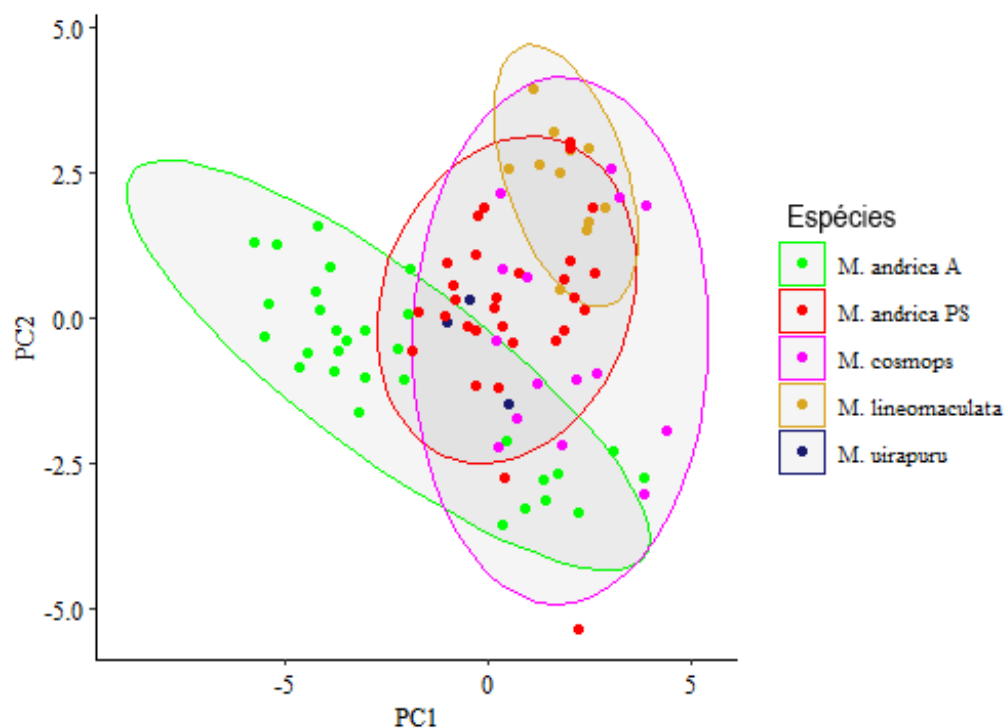


Figura 5. Análise de Componentes Principais (PCA) do conjunto de dados III espécies do grupo “*Moenkhausia cosmops*”. *Moenkhausia andrica* A = do rio Arinos, PS= do rio Papagaio e Sangue.

4. Discussão

A análise de delimitação através do método ASAP revelou a existência de nove linhagens para o grupo “*Moenkhausia cosmops*” (Fig. 3). *Moenkhausia cosmops* e *M. andrica* foram delimitadas em mais de uma espécie. No que diz respeito a *M. cosmops*, esse fato deve ser melhor investigado, já que a sequência apontada como outra espécie tem a localidade incerta. Quanto a *M. andrica*, em sua descrição, os autores apontaram algumas variações morfológicas identificadas por drenagem, como presença de pequenos dentes cônicos no dentário apenas em exemplares do rio Papagaio e a presença de ganchos ósseos apenas em exemplares do rio do Sangue e Arinos em diferentes períodos do ano (Reia *et al.*, 2021). Contudo, não há

correspondência entre as espécies aqui reconhecidas (uma para os rios Papagaio-Sangue e outra para o rio Arinos) com as variações morfológicas de *M. andrica*.

As distâncias genéticas entre as espécies válidas para o grupo “*Moenkhausia cosmops*” são extremamente altas, variando entre 8% (*M. cotinho* rio Xingu e *M. andrica* rios Papagaio-Sangue) e 24% (*M. andrica* e *M. cosmops* rio Verde-Madeira). Já a distância entre as duas espécies reconhecidas dentro de *M. andrica* é de 4.7%, ou seja, é relativamente baixa quando comparada as distâncias encontradas para o grupo como um todo, que sugere um caso de especiação recente. Além disso, no segundo capítulo desta tese vimos que a divisão entre espécimes do rio Papagaio e Arinos se deu por volta de 1.3 milhão de anos, corroborando que essas linhagens se separaram recentemente.

Nossas análises revelaram a natureza polifilética de *M. cotinho*. A linhagem do rio Amazonas em Letícia (Colômbia) é intimamente relacionada com *Thayeria* e outras espécies de *Moenkhausia*, enquanto que a linhagem do alto rio Xingu de Querência (MT) é parte do clado “*Moenkhausia cosmops*”. Recentemente, *M. cotinho* foi revisada por Mathubara & Toledo-Piza (2020), onde os autores sugerem como localidade tipo as redondezas de Manaus (AM), que corresponde à linhagem do rio Amazonas em nosso estudo. Análises morfológicas mais aprofundadas com a população do alto rio Xingu devem ser realizadas para uma possível descrição formal dessa espécie.

As demais espécies, *M. uirapuru*, *M. parecis*, *M. cambacica* e *H. skolioplatus* foram reconhecidas, cada uma, como uma única espécie através do método de delimitação molecular, concordando com os dados morfológicos. (Bertaco & Carvalho, 2005; Ohara & Lima, 2015; Ohara, & Marinho 2016; Marinho *et al.*, 2021). As espécies do grupo “*Moenkhausia cosmops*” possuem profundas diferenças fenotípicas, tais como diferenças no tamanho e no formato da mancha no pedúnculo caudal, tamanho da mancha umeral, tamanho do maxilar, número de séries de escamas acima e abaixo da linha lateral e presença e ausência de listras ao longo do corpo (Bertaco & Carvalho, 2005; Dagosta *et al.*, 2015; Lima *et al.*, 2007; Ohara & Lima, 2015; Ohara, & Marinho 2016; Marinho *et al.*, 2021; Reia *et al.*, 2021). Ou seja, essas espécies estão em concordância com o modelo nulo, onde espera-se que a disparidade morfológica aumente proporcionalmente com o tempo de divergência (Struck *et al.*, 2018).

4.1. Espécies crípticas no grupo “*Moenkhausia oligolepis*”

Atualmente, o grupo “*Moenkhausia oligolepis*” conta com cinco espécies válidas: *B. steindachneri*, *M. forestii*, *M. australis*, *M. sanctaefilomenae* e *M. oligolepis* (Reia *et al.*, 2019). Nossa análise utilizando o método de ASAP sugere a existência de 36 espécies nesse grupo. Em *B. steindachneri*, foram delimitadas três espécies, uma do alto Amazonas, outra do rio Tapajós e outra do rio Madeira. Como nós não tivemos acesso a um número suficiente de exemplares para as análises morfológicas, ainda não é possível afirmar se essas linhagens de *B. steindachneri* são realmente crípticas ou se possuem diferenças morfológicas. Uma única espécie foi revelada para *M. forestii* concordando com a sua descrição original (Benine *et al.*, 2009). Três espécies foram reveladas para *M. australis*, uma no rio Paraguai e Madeira, outra no rio Paranaíba e outra distribuída em todo o restante do alto rio Paraná mais rio Uruguai, discordando de Reia *et al.* (2019) que consideraram *M. australis* como uma única espécie amplamente distribuída pelas bacias do rio Paraguai, Madeira, Uruguai e alto rio Paraná (alto rio Paraná em parte, apenas região do Mato Grosso do Sul). Aqui também foram delimitadas três espécies para *M. sanctaefilomenae*, uma no rio Parnaíba, outra no rio São Francisco e outra no rio do Sono (bacia do rio Tocantins) e rio Preto (São Francisco). Por fim, em *M. oligolepis* foram reconhecidas 26 espécies, sendo este o grupo mais diverso.

Reia (2018) revisou *Moenkhausia oligolepis*, utilizando dados merísticos e morfométricos tradicionais, que incluiu 19 espécies de *M. oligolepis* (exceto 5, 6, 12, 14, 22 e 24) utilizadas nesse estudo, não sendo encontrada nenhuma diferença morfológica significativa entre elas. Todas essas espécies reconhecidas como *M. oligolepis* possuem exatamente o mesmo padrão de colorido, linha lateral completa, 5/5 séries de escamas e 28–33 escamas perfuradas na linha lateral. Portanto, essas espécies possuem alta disparidade genética (Tabela suplementar 2) e ausência de disparidade fenotípica, se mostrando um típico caso de espécies crípticas (Mayr, 1970; Struck *et al.*, 2017; Struck & Cerca, 2018). Também não foram observadas diferenças nas contagens, medidas ou forma entre as três espécies indicadas para *M. sanctaefilomenae* e *M. australis*, sugerindo que essas espécies também se enquadram na definição de espécies crípticas.

De acordo com Struck *et al.* (2018, 2019), três processos evolutivos podem resultar no surgimento de uma espécie críptica: (1) divergência recente – as espécies não tiveram tempo

suficiente de acumular diferenças fenotípicas; (2) paralelismo ou convergência – as espécies possuem fenótipos similares graças a paralelismos e convergências (evolução repetida); e (3) estase – espécies retêm um fenótipo similar por milhões de anos. As três espécies reconhecidas para *M. australis* e *M. sanctaefilomenae* apresentam baixa distância genética comparadas com as demais espécies do grupo, variando de 4.5% a 3.1% em *M. australis* e 5.9% a 2.7% em *M. sanctaefilomenae*. Além disso, o tempo de divergência é de aproximadamente 3.8 milhões de anos até 2.6 milhões de anos entre espécies de *M. australis* e 3.6 milhões de anos (entre Parnaíba e as demais) até 1.3 milhões de anos (entre São Francisco e Tocantins) em espécies de *M. sanctaefilomenae* (Capítulo 2), sugerindo divergência recente como causa para a baixa disparidade fenotípica dessas espécies.

Das 36 espécies indicadas em *M. oligolepis*, apenas 13 apresentam distância genética menor que 5% e são casos de espécies intimamente relacionadas ou da mesma bacia, as demais possuem altas taxas de divergência genética (Tabela suplementar 2), indicando uma divergência antiga (dado o modelo neutro de evolução molecular). Além disso, como pode ser visto no Capítulo 2, o tempo de divergência é de aproximadamente 8.7 milhões de anos até cerca de 3 milhões de anos entre essas espécies. Em contraste, o grupo “*Moenkhausia cosmops*”, que é grupo irmão do grupo “*Moenkhausia oligolepis*”, e que, portanto, abriga espécies que possuem o mesmo tempo de divergência das espécies de *M. oligolepis*, sofreram maior diversificação morfológica. Assim sendo, fica evidente que esses dois grupos sofreram processos distintos de diversificação morfológica.

Todas as espécies crípticas encontradas em *M. oligolepis* mantiveram a forma ancestral do grupo (ver diagnose de *M. oligolepis* acima), indicando que a estase morfológica foi o processo evolutivo que atuou na restrição a disparidade fenotípica. Dois principais mecanismos têm sido propostos para explicar a ausência de disparidade fenotípica em espécies geneticamente divergentes (1) conservadorismo de nicho e (2) restrições no desenvolvimento (Futuyma, 2010). Por hora é difícil afirmar qual desses dois mecanismos têm atuado na restrição morfológica, mas é possível que o conservadorismo de nicho possa ser uma explicação plausível. Esse modelo considera que a estase ocorre em resposta a condições físicas estáveis em escala de tempo geológico (Struck & Cerca, 2019). Os indivíduos pertencentes a *M. oligolepis* são encontrados e coletados em sua maioria em ambientes lênticos muitas vezes em lagoas marginais de grandes

rios. Dessa forma, podemos imaginar um cenário onde, apesar das profundas mudanças geomorfológicas que levaram essas linhagens a várias regiões biogeográficas da América do Sul, elas mantiveram o habitat conservado, principalmente em regiões de terras baixas, onde é mais comum encontrarmos esse tipo de ambiente.

Das 35 espécies aqui apontadas para o grupo *M. oligolepis*, podemos reconhecer apenas seis morfotipos: *B. steindachneri*, *M. australis*, *M. forestii*, *M. sanctaefilomenae*, *M. oligolepis* e *M. oligolepis* espécie 24. Dessa forma, dentre as 20 espécies de *M. oligolepis* analisadas integrativamente aqui, só foram detectados caracteres diagnósticos para a espécie *M. oligolepis* 24, sendo esta a única a não se encaixar como um caso de espécies crípticas, e podendo ser formalmente descrita no futuro. Por hora, não foram analisadas morfologicamente as espécies 5, 6, 12, 14 e 22 para afirmar se são espécies crípticas. Dentre todas as espécies indicadas molecularmente do morfótipo *Moenkhausia oligolepis*, aquela que corresponde ao material tipo de *M. oligolepis* é a espécie 22, composta por amostras do rio costeiro Corantijn, no Suriname. Apesar de não termos inserido nenhuma amostra de rios costeiros da Guiana, localidade tipo de *M. oligolepis* (Günther, 1864), provavelmente essa espécie da bacia costeira do Suriname é muito próxima aos exemplares que ocorrem na Guiana, visto que essas localidades fazem parte de uma mesma ecoregião (Abel *et al.*, 2008). Aqui conseguimos levantar fortes evidências da existência de 19 espécies crípticas dentro do grupo *M. oligolepis*, no entanto, decidimos não descrever formalmente essas espécies pela ausência caracteres diagnósticos, um imperativo definido pelo Código de Nomenclatura Zoológica Internacional, art. 13.1.1., que determina que todo novo nome publicado depois de 1930 deva “ser acompanhado por uma descrição ou definição que declare em palavras os caracteres que pretendem diferenciar o táxon”.

As análises de componentes principais demonstraram que as espécies do grupo *M. oligolepis* ocupam um morfoespaço menor em relação as espécies do grupo *M. cosmops* (Fig 3), e que, portanto, são menos diversas quanto na forma do corpo do que as espécies do grupo *M. cosmops*. Esse resultado corrobora nossa hipótese de que as espécies do grupo *M. oligolepis* sofreram uma limitação morfológica (*morphological constrain*) e, portanto, uma diminuição da disparidade fenotípica também em sua morfologia externa quando comparado as espécies que compõe o grupo irmão.

O grupo “*Moenkhausia cosmops*” apresentam distribuição restrita a cabeceiras de riachos que drenam a Chapada dos Parecis, região de escudo brasileiro (Bertaco & Carvalho, 2005; Dagosta *et al.*, 2015; Lima *et al.*, 2007; Ohara, & Marinho 2016; Marinho *et al.*, 2021; Ohara & Lima, 2015; Reia *et al.*, 2021). A Chapada dos Parecis é conhecida por seu alto grau de endemismo (Dagosta & de Pinna 2018; Carvalho & Bertaco 2006; Bristki & Lima, 2007; Lima *et al.*, 2007; Pastana & Dagosta, 2014; Ohara & Lima 2015) possivelmente por constituir de muitas corredeiras e cachoeiras (Dagosta & de Pinna, 2018; Bristki & Lima, 2007). Mudanças geomorfológicas nessa região podem ter favorecido a diversificação morfológica desse grupo.

4.2. Taxonomia de *Moenkhausia australis* e *Moenkhausia forestii*

Moenkhausia sanctaefilomenae foi descrita para o rio Parnaíba por Steindachner (1907). Porém, desde a ampla revisão do American Characidae realizada por Eigenmann (1917), esta espécie é reconhecida nos rios Parnaíba, São Francisco e La Plata. Contudo, estudos taxonômicos com o grupo “*Moenkhausia oligolepis*” identificaram outras espécies para o rio Paraguai, baixo Paraná e Uruguai (Benine *et al.*, 2009; Mirande *et al.*, 2020; Reia *et al.*, 2019), restringindo *M. sanctaefilomenae* apenas para o rio Parnaíba, São Francisco e alto rio Paraná. Reia *et al.* (2019) ressaltam que a morfologia dos espécimes do alto rio Paraná é mais similar a *M. sanctaefilomenae* do que *M. australis* e por isso, reconhecem os espécimes dessa bacia com *M. cf. sanctaefilomenae*. Nossos resultados apontam que os exemplares que Reia *et al.* (2019) reconhecem como mais similares a *M. sanctaefilomenae*, são na verdade *M. australis*. Dessa forma, são encontradas no alto rio Paraná apenas *M. australis*, que está amplamente distribuída por toda essa bacia e *M. forestii* um pouco mais restrita em regiões de planícies e rios do Mato Grosso do Sul como proposto em sua descrição (Benine *et al.*, 2009).

Alguns estudos de levantamento de espécies para o alto rio Paraná têm sugerido que *M. australis* e *M. forestii* não seriam espécies nativas na bacia, já que exemplares dessas espécies só têm sido coletados na região após a construção do reservatório de Itaipu (Benine *et al.*, 2009; Ota *et al.*, 2018; Reis *et al.*, 2020). De acordo com esses trabalhos, somente *M. sanctaefilomenae* é considerada como nativa do alto rio Paraná (Ota *et al.*, 2018; Reis *et al.*, 2020). Contrariamente,

nossos resultados apontam que os espécimes anteriormente identificados como *M. sanctaefilomenae* são na verdade morfotipos de *M. australis*. Dessa forma, *M. australis* passa a ser, a partir desse trabalho, considerada como nativa para a bacia do alto Paraná. Adicionalmente, em nosso Capítulo 2, encontramos tempo de divergência de ~2.6M (Plioceno) entre *M. australis* do rio Paraguai e *M. australis* do alto rio Paraná e um tempo de ~1.1M (Pleistoceno) entre *M. forestii* da bacia do Paraguai e *M. foresti* da bacia do Paraná. Esses resultados sugerem que eventos biogeográficos históricos (como captura de cabeceira por exemplo) possibilitaram a colonização dessas espécies do Paraguai no alto Paraná e não a construção de Itaipu, construída a somente 40 anos atrás.

Nossos resultados apontaram ausência de divergência genética (COI) entre amostras de *M. australis* da bacia do rio Paraguai e do rio Madeira, diferentemente da distância intraespecífica de *M. australis* apresentada por Reia *et al.* (2019), que é de 5%. Aqui, nós notamos que a sequência de número 40229 do alto rio Paraguai, utilizada por Reia *et al.* (2019) possui erros de sequenciamento e, portanto, foi retirada da análise, o que ocasionou na ausência de divergência genética entre as duas bacias.

4.3. Múltiplas colonizações

Nossos resultados evidenciaram que várias espécies crípticas de *M. oligolepis*, que não são filogeneticamente próximas, ocorrem em uma mesma bacia (rio Negro: Espécie 2 e 21; rio Madeira: Espécie 11 e 23; rio Tapajós: Espécie 9 e 13; rio Xingu: Espécie 16 e 19; rio Orinoco: Espécie 3 e 4). Tagliacollo *et al.* (2015) argumentam que a existência de assembleias parafiléticas em uma determinada bacia, é um forte indicativo de eventos de capturas de cabeceira. Muitas bacias hidrográficas sul-americanas foram invadidas e colonizadas várias vezes independentemente por espécies crípticas de *M. oligolepis*. Essa constatação contraria o pressuposto assumido em vários trabalhos taxonômicos com base em métodos tradicionais que cada bacia hidrográfica guarda uma única espécie. Se notarmos, esses trabalhos sempre trazem uma tabela com dados e medidas de espécimes por bacia. No entanto, como vimos aqui, é possível que uma mesma bacia abrigue espécies geneticamente distintas, mas que são

morfologicamente semelhantes. Esse exemplo demonstra a grande importância em se trabalhar com dados integrativos, principalmente em grupos taxonômicos complexos.

5. Conclusão

Nossos resultados reconhecem 19 espécies crípticas de *M. oligolepis* que ocuparam as suas áreas de distribuição através de múltiplas colonizações. Também foram reconhecidas três espécies crípticas para *M. australis*, *M. sanctaefilomenae* e *B. steindachneri*. A baixa disparidade fenotípica do grupo “*Moenkhausia oligolepis*” é confirmada e hipotetizamos dois possíveis processos para essa similaridade morfológica: I- Estase, a grande maioria das espécies mantiveram a forma ancestral, em espécies de *M. oligolepis*; II- divergência recente – as espécies não tiveram tempo suficiente de acumular diferenças fenotípicas, como é o caso *M. australis* e *M. sanctaefilomenae*.

6. Agradecimentos

Nós agradecemos a Aléssio Datovo e Michel Gianetti (MZUSP), Carlos Alberto Santos de Lucena (MCP), Flávio Bockmann (LIRP), Lúcia H. Rapp Py Daniel e Renildo R. de Oliveira (INPA), Oscar A. Shibatta e José L. Birindelli (MZUEL), Hernan Ortega (MUSM), Carolina Doria (UFRO), Erling Holm e Natan Lujan (ROM), Mark Sabaj (ANSP), Priscila Camelier e Angela Zanata (UFBA), Claudio Oliveira (LBP), Cristiano Moreira (MNRJ), Luis Malabarba e Juliana M. Wingert (UFRS) pela assistência curatorial e empréstimo de espécimes e ou tecidos. Ao William Ohara, por enviar os exemplares da espécie *M. oligolepis* 24. E a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES pela bolsa concedida.

7. Referências

Abell, R., Thieme, M.L., Revenga, C., Bryer, M., Kottelat, M., Bogutskaya, N., Coad, B., Mandrak, N., *et al.* 2008. Freshwater Ecoregions of the World: A New Map of Biogeographic Units for

- Freshwater Biodiversity Conservation. *BioScience*, 58(5), 403-414. <https://doi.org/10.1641/B580507>.
- Aitchison, J., 1986. The statistical analysis of compositional data (Vol. XII, p. 416). London, UK and New York, NY: Chapman and Hall.
- Babicki, S., Arndt, D., Marcu, A., Liang, Y., Grant, J.R., Maciejewski, A., Wishart, D.S., 2016. Heatmapper: web-enabled heat mapping for all. *Nucl. Acids Res.* 44, W147–W153. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw419>.
- Bickford, D., Lohman, D.J., Sodhi, N.S., Ng, P.K.L., Meier, R., Winker, K., Ingram, K.K., Das, I., 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends Ecol. Evol.* 22, 148–155. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.11.004>
- Benine, R.C., Mariguela, T.C., Oliveira, C., 2009. New species of *Moenkhausia* Eigenmann, 1903 (Characiformes: Characidae) with comments on the *Moenkhausia oligolepis* species complex. *Neotrop Ichthyol.* 7(2), 161–168
- Bertaco, V. A. & T. Carvalho. 2005. New characid fish, *Hemigrammus skolioplatus* (Characiformes: Characidae) from upper rio Tapajós drainage, Central Brazil. *Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS, série Zoologia.* 18, 141–150
- Brito, P.S., Guimarães, E.C., Guimarães K.L.A., Rodrigues, L.R.R., Anjos, M.R., Katz, A.M., Carvalho-Costa, L.F., Ottoni, F.P. 2021. Cryptic speciation in populations of the genus *Aphyocharax* (Characiformes: Characidae) from eastern Amazon coastal river drainages and surroundings revealed by single locus species delimitation methods. *Neotrop Ichthyol.* 19(4): e210095. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2021-0095>.
- De Queiroz, K., 2007. Species Concepts and Species Delimitation. *Syst Biol.* 56(6), 879–886. <https://doi.org/10.1080/10635150701701083>.
- Costa, W.J.E.M., Amorim, P.F. 2018. A new miniature cryptic species of the seasonal killifish genus *Spectrolebias* from the Tocantins River basin, central Brazil (Cyprinodontiformes, Aplocheilidae). *Zoosyst. Evol.* 94(2): 359–368. <https://doi.org/10.3897/zse.94.28085>.
- Edgar, R.C., 2004. Muscle: A multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. *BMC Bioinformatics*, 5:1–19. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-5-113>.
- Eigenmann, C.H., 1917. The American Characidae—I. *Mem Mus Comp. Zool.* 43(1), 1–102, 16 pls.
- Fink, W.L., & Weitzman, S.H., 1974. The so-called Cheirodontin fishes of Central America with descriptions of two new species (Pisces: Characidae). *Smith Contributions Zool*, 172:1–46.
- Fricke, R., Eschmeyer, W. N., & Van der Laan, R. 2022. Eschmeyer's catalog of fishes: Genera, species, references. Retirado de <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>.
- Futuyma, D.J., 2010. Evolutionary constraint and ecological consequences. *Evolution* 64(7), 1865–1884.
- Gunther, A. 1864. *Catalogue Physostomi, Containing the Families Siluridae, Characinidae, Haplochitonide, Sternoptychidae, Scopelidae, Stomiidae.* Catalogue of the Fishes in the British Museum. London, 500pp.
- Guimarães, E.C., Ottoni, F.P., 2, Katz, A.M., Brito, P.S. 2016. Range extension of *Moenkhausia oligolepis* (Günther, 1864) to the Pindaré river drainage, of Mearim river basin, and Itapecuru river basin of northeastern Brazil (Characiformes: Characidae). *Int. J. Aquat. Biol.* 4(3): 202-207.

- Guimarães, E.C., Brito, P.S., Feitosa, L.M., Costa, L.F.C., Ottoni, F.P. 2019. A new cryptic species of *Hyphessobrycon* Durbin, 1908 (Characiformes, Characidae) from the Eastern Amazon, revealed by integrative taxonomy. *Zoosyst. Evol.* 95(2): 345–360. <https://doi.org/10.3897/zse.95.34069>.
- ICZN. The Code Online, International Commission on Zoological Nomenclature, art. 13.1.1. www.iczn.org/the-code/the-code-online. Consultado em 15 de dezembro de 2022.
- Ivanova, N. V., Dewaard, J. R., & Hebert, P. D. N., 2006. An inexpensive, automation-friendly protocol for recovering high-quality DNA. *Mol Ecol Notes*, 6, 998–1002. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01428.x>.
- Jennings, W.B., Ruschi, P. A., Ferraro, G., Quijada, C. C., Silva-Malanski, A. C. G., Prosdocimi, F., & Buckup, P.A. 2019. Barcoding the Neotropical freshwater fish fauna using a new pair of universal COI primers with a discussion of primer dimers and M13 primer tails. *Genome*, 62, 77–83. <https://doi.org/10.1139/gen-2018-0145>.
- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., ... Drummond, A., 2012. Geneious basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28, 1647–1649. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts199>.
- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K., 2016. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33, 1870–1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>.
- Lima, F.C.T., Britski, H.A., Machado, F.A., 2007. A new *Moenkhausia* (Characiformes: Characidae) from central Brazil, with comments on the area relationship between the upper rio Tapajós and upper rio Paraguai systems. *aqua, Inter J Ichthyol.* 13(2), 45–54.
- Mathubara, K., Toledo-Piza M., 2020. Taxonomic study of *Moenkhausia cotinho* Eigenmann, 1908 and *Hemigrammus newboldi* (Fernández-Yépez, 1949) with the description of two new species of *Moenkhausia* (Teleostei: Characiformes: Characidae). *Zootaxa*, 4852(1): 001–040. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4852.1.1>.
- Mariguela, T.C., Benine, R.C., Abe, K.T., Avelino, G.S. & Oliveira, C., 2013. Molecular phylogeny of *Moenkhausia* (Characidae) inferred from mitochondrial and nuclear DNA evidence. *J Zool Syst Evol Res*, 5(4), 327–332.
- Marinho, M.M.F., Ohara, W.M., Dagosta, F.C.P., 2021. A new species of *Moenkhausia* (Characiformes: Characidae) from the rio Madeira basin, Brazil, with comments on the evolution and development of the trunk lateral line system in characids. *Neotrop Ichthyol.* 19(2), e200118. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2020-0118>.
- Mayr, E. 1970. *Populations, Species, and Evolution: An Abridgment of Animal Species and Evolution*, Belknap Press of Harvard University Press. 485pp.
- Melo, B.F., Benine, R.C., Mariguela, T.C., Oliveira, C., 2011. A new species of *Tetragonopterus* Cuvier, 1816 (Characiformes: Characidae: Tetragonopterinae) from the rio Jari, Amapá, northern Brazil. *Neotrop. Ichthyol.* 9, 49–56.
- Melo, B.F., Ochoa, L.E., Vari, R.P., Oliveira, C., 2016. Cryptic species in the Neotropical fish genus *Curimatopsis* (Teleostei, Characiformes). *Zool Script.* 45: 650–658. <https://doi.org/10.1111/zsc.12178>.
- Mirande, J.M., 2009. Weighted parsimony phylogeny of the Family Characidae (Teleostei: Characiformes). *Cladistics.* 25(6), 574–613.

- Mirande, J.M., 2010. Phylogeny of the family Characidae (Teleostei: Characiformes) from characters to taxonomy. *Neotrop Ichthyol.* 8(1), 385–568.
- Mirande, J.M., 2019. Morphology, molecules and the phylogeny of Characidae (Teleostei, Characiformes). *Cladistics.* 35(1), 282–300. <https://doi.org/10.1111/cla.12345>.
- Mirande, J.M., Koerber, S., Terán, G.E., Aguilera, G., 2020. Who's behind those red eyes? The *Moenkhausia oligolepis* group in Argentina (Characiformes: Characidae). *Ichthyological Contributions of PecesCriollos.* 66: 1–7.
- Ohara, W.M., Lima, F.C.T., 2015. *Moenkhausia uirapuru*, a new species from the upper rio Guaporé, Chapada dos Parecis, Mato Grosso, Brazil (Teleostei: Characidae). *Ichthyol. Explor. Freshwaters.* 26(2), 159–170.
- Ohara, W.M., Marinho, M.M.F., 2016. A new species of *Moenkhausia* Eigenmann (Characiformes: Characidae) from the upper rio Machado at Chapada dos Parecis, rio Madeira basin, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 14(1): e150041.
- Ota, R.R., Deprá, G.C., Graça, W.J., Pavanelli, C.S., 2018. Peixes da planície de inundação do alto rio Paraná e áreas adjacentes: revised, annotated and updated. *Neotrop Ichthyol.* 16(2), 1–111. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20170094>
- Pattengale, N.D., Alipour, M., Bininda-Emonds, O.R., Moret, B.M., Stamatakis, A., 2010. How many bootstrap replicates are necessary? *J. Comput. Biol.* 17, 337–354. <https://doi.org/10.1089/cmb.2009.0179>.
- Pereira, L.H., Maia, G.M., Hanner, R., Foresti, F., Oliveira, C. 2013. Can DNA barcoding accurately discriminate megadiverse Neotropical freshwater fish fauna? *BMC Genetics*, 14(20): 1–14. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-14-20>.
- Petrolli, M.G., Benine, R.C., 2015. Description of three new species of *Moenkhausia* (Teleostei, Characiformes, Characidae) with the definition of the *Moenkhausia jamesi* species complex. *Zootaxa*, 3986, 401–420. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3986.4.1>.
- Puillandre, N., Brouillet, S., Achaz, G., 2021. ASAP: assemble species by automatic partitioning. *Mol Ecol Resour.* 21: 609–620. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13281>
- Reia, L., 2018. Revisão Taxonômica das espécies do grupo *Moenkhausia oligolepis* (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes), Dissertação não publicada. Universidade Estadual Paulista, 1–95.
- Reia, L., Vicensotto, A. M. P. F., Oliveira, C., & Benine, R. C., 2019. Taxonomy of *Moenkhausia australis* Eigenmann, 1908 (Characiformes, Characidae) with a discussion on its phylogenetic relationships. *Zootaxa.* 4688, 213–231. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4688.2.3>.
- Reia, L., Oliveira, C., Benine, R.C., 2021. *Moenkhausia andrica* (Characiformes: Characidae): a new species from the rio Tapajos basin, Brazil, with minute fin hooklets in females. *J Fish Biol.* 99: 1380–1392. <https://doi.org/10.1111/jfb.14847>.
- Reis, R.B., Frota, A., Deprá, G.C., Ota, R.R., Graça, W.J., 2020. Freshwater fishes from Paraná State, Brazil: na annotated list, with comments on biogeographic patterns, threats, and future perspectives. *Zootaxa*, 4868(4), 451–494. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4868.4.1>.
- Ribolli, J., Filho, E.Z., Scaranto, B.M.S., Shibatta, O.A., Machado, C.B. 2021. Cryptic diversity and diversification processes in three cis-Andean *Rhamdia* species (Siluriformes: Heptapteridae) revealed by DNA barcoding. *Gen. Molec. Biol.* 44(3): e20200470. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2020-0470>.
- Rstudio TEAM. *Integrated development for R*; 2016. Available from: <https://www.rstudio.com/>

- Stamatakis, A., 2006. RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics* 22, 2688–2690. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl446>.
- Stamatakis, A., 2014. RAxML version 8: A tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*. 30, 1312–1313. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033>.
- Steindachner, F., 1907. Über eine neue Psilichthys-Art, *Ps. cameroni* aus dem Flusse Cubatao im Staate S. Catharina, Brasilien. *Anz Kaiser Akad Wisse Math-Nat Wiss Kl*, 44(6), 82–85.
- Souza, C.S., Silva, G.S.C., Ochoa, L.E., Roxo, F.F., Costa-Silva, G.J., Foresti, F., Melo, B.F., Oliveira, C. 2021. Molecular and morphological diversity in species of *Kronichthys* (Teleostei, Loricariidae) from Atlantic coastal rivers of Brazil. *J Fish Biol.* 98: 668– 679. <https://doi.org/10.1111/jfb.14607>.
- Struck, T.H., Feder, J.L., Bendiksby, M., Birkeland, S., Cerca, J., Gusarov, V.I., Kistenich, S., Larsson, K.-H.H., Liow, L.H., Nowak, M.D., Stedje, B., Bachmann, L., Dimitrov, D., 2018. Finding evolutionary processes hidden in cryptic species. *Trends Ecol. Evol.* 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2017.11.007>.
- Struck, T.H., Cerca, J., 2019. Cryptic species and their Evolutionary significance. *eLS* 1–9. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0028292>.
- Swift, H.F., Daglio, L.G., Dawson, M.N., 2016. Three routes to crypsis: stasis, convergence, and parallelism in the *Mastigias* species complex (Scyphozoa, Rhizostomeae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 99, 103–115. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2016.02.013>.
- Tagliacollo, V.A., Roxo, F.F., Duke-Sylvester, S.M., Oliveira, C., Albert, J.S., 2015. Biogeographical signature of river capture events in Amazonian lowlands. *J Biogeography*. 42(12), 2349–2362. <https://doi.org/10.1111/jbi.12594>
- Xia, X., 2018. DAMBE7: New and Improved Tools for Data Analysis in Molecular Biology and Evolution. *Molecular Biology Evolution*, 35(6):1550–1552. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy073>.
- Ward, R. D., Zemlak, T. S., Innes, B. H., Last, R. P., & Hebert, P. D. N., 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Phil Trans Roy Society*. 360, 1847–1857. <https://doi.org/10.1098/rstb.20>.

8. Material Suplementar.

Tabela 1. Táxons amostrados neste estudo e sua respectiva: coleção, número da amostra e distribuição geográfica

Espécies	Coleção	Nº de espécime	Localidade	Coordenada geográfica	Genbank N.
<i>Bario steindachneri</i>	LBP 15110	20F4	rio Tapajós/Itaituba/PA/Brasil	04°38'58.9"S 56°17'28.2"W	
<i>Bario steindachneri</i>	LBP 26077	95812	rio Amazonas/Benjamin Constant/AM/Brasil	04°25'50.0"S 70°04'10.0"W	
<i>Bario steindachneri</i>	LBP 4389	24187	rio Madeira/Porto Velho/RO/Brasil	09°34'10.7"S 63°58'08.2"W	
<i>Hemigrammus kuroobi</i>	LBP 7074	34396	rio Negro/São Gabriel da Cachoeira/AM/Brasil	00°06'12"S 66°53'8"W	
<i>Hemigrammus kuroobi</i>	LBP 7074	34397	rio Negro/São Gabriel da Cachoeira/AM/Brasil	00°06'12"S 66°53'8"W	
<i>Hemigrammus kuroobi</i>	LBP 7074	34398	rio Negro/São Gabriel da Cachoeira/AM/Brasil	00°06'12"S 66°53'8"W	
<i>Hemigrammus skolioplatus</i>	LBP 22894	85310	Affluent of rio Doze de Outubro, Juruena basin	12°57'50.5"S 60°1'40.4"W 13°33'39.66"S	MW916372
<i>Moenkhausia andrica</i>	LBP 30218	81607	rio Papagaio/Sapezal/MT/Brasil	58°24'25.58"W	MW916366
<i>Moenkhausia andrica</i>	LBP 7939	37282	rio Arinos/Nova Mutum/MT/Brasil	13°48'03.1"S 56°01'38.4"W	MW916365
<i>Moenkhausia andrica</i>	LBP 8527	43226	rio do Sangue/Campo Novo do Parecis/MT/Brasil	13°41'30.8"S 57°42'23.1"W	MW916367
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 10206	47738	alto rio Paraná/Três Lagoas/MT/Brasil	20°42'21.0"S 51°45'23.6"W	
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 10206	47739	alto rio Paraná/Três Lagoas/MT/Brasil	20°42'21.0"S 51°45'23.6"W	
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 10206	47740	alto rio Paraná/Três Lagoas/MT/Brasil	20°42'21.0"S 51°45'23.6"W	
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 9682	45769	alto rio Paraná/Nova Andradina/MS/Brasil	22°18'22.5"S 53°23'47.2"W	
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 9682	45770	alto rio Paraná/Nova Andradina/MS/Brasil	22°18'22.5"S 53°23'47.2"W	
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 9682	45771	alto rio Paraná/Nova Andradina/MS/Brasil	22°18'22.5"S 53°23'47.2"W	
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 9682	45772	alto rio Paraná/Nova Andradina/MS/Brasil	22°18'22.5"S 53°23'47.2"W	
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 9682	45773	alto rio Paraná/Nova Andradina/MS/Brasil	22°18'22.5"S 53°23'47.2"W	
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 32747	85794	rio Bugres/Denise/MT/Brasil	14°38'26.1"S 56°49'41.7"W	
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 32747	85994	rio Bugres/Denise/MT/Brasil	14°38'26.1"S 56°49'41.7"W	
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 32746	106121	rio Bugres/Denise/MT/Brasil	14°38'26.1"S 56°49'41.7"W	
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 10820	49993	rio Guaporé/Vila Bela da Santíssima Trindade/MT/Brasil	15°00'38.3" W 59°57'27.4"	
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 11035	50608	rio Mamoré/Guajará Mirim/RO/Brasil	10°13'54.4" W 65°16'58.8"	MN385839
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 11035	50609	rio Mamoré/Guajará Mirim/RO/Brasil	10°13'54.4" W 65°16'58.8"	MN385840
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 10807	49946	rio Guaporé/Vila Bela da Santíssima Trindade/MT/Brasil	14°58'08.5"S 59°58'59.5"W	MN172486
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 10808	49947	rio Guaporé/Vila Bela da Santíssima Trindade/MT/Brasil	14°58'08.5"S 59°58'59.5"W	MN172485

			Trindade/MT/Brasil		
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 10809	49948	rio Guaporé/Vila Bela da Santíssima Trindade/MT/Brasil	14°58'08.5"S 59°58'59.5"W	MN172488
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 10810	49950	rio Guaporé/Vila Bela da Santíssima Trindade/MT/Brasil	14°58'08.5"S 59°58'59.5"W	MN172491
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 9658	45706	alto rio Paraná/Ivinhema/MS/Brasil	22°13'59.9"S 53°47'02.6"W	MN172497
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 9659	45707	alto rio Paraná/Ivinhema/MS/Brasil	22°13'59.9"S 53°47'02.6"W	MN172498
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 9714	45860	alto rio Paraná/Nova Andradina/MS/Brasil	21°53'03.0"S 53°45'13.1"W	MN172496
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 9714	45861	alto rio Paraná/Nova Andradina/MS/Brasil	21°53'03.0"S 53°45'13.1"W	MN172495
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 3903	22521	rio Paranapanema/Avaré/SP/Brasil	23°01'27.4"S 48°49'41.0"W	GU701430
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 3903	22522	rio Paranapanema/Avaré/SP/Brasil	23°01'27.4"S 48°49'41.0"W	GU701431
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 3903	22524	rio Paranapanema/Avaré/SP/Brasil	23°01'27.4"S 48°49'41.0"W	
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 3903	22525	rio Paranapanema/Avaré/SP/Brasil	23°01'27.4"S 48°49'41.0"W	
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 4695	24854	rio Tietê/Marapoama/SP/Brasil	21°11'35"S 49°07'22"W	EU177011
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 4695	24855	rio Tietê/Marapoama/SP/Brasil	21°11'35"S 49°07'22"W	EU177008
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 4695	24856	rio Tietê/Marapoama/SP/Brasil	21°11'35"S 49°07'22"W	EU177012
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 4695	24857	rio Tietê/Marapoama/SP/Brasil	21°11'35"S 49°07'22"W	EU177009
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 4695	24858	rio Tietê/Marapoama/SP/Brasil	21°11'35"S 49°07'22"W	EU177010
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 6285	29698	rio Grande/Pontal/SP/Brasil	20°56'49.5"S 48°08'51.9"W	
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 6285	29699	rio Grande/Pontal/SP/Brasil	20°56'49.5"S 48°08'51.9"W	
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 6285	29700	rio Grande/Pontal/SP/Brasil	20°56'49.5"S 48°08'51.9"W	
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 6765	32240	rio Tietê/Marapoama/SP/Brasil	21°11'35"S 49°07'22"W	
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 6765	32241	rio Tietê/Marapoama/SP/Brasil	21°11'35"S 49°07'22"W	
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 6765	32242	rio Tietê/Marapoama/SP/Brasil	21°11'35"S 49°07'22"W	
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 7309	35952	rio Paranaíba/Araguari/MG/Brasil	18°25'28.3"S 48°03'54.9"W	
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 7309	35953	rio Paranaíba/Araguari/MG/Brasil	18°25'28.3"S 48°03'54.9"W	
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 7309	35954	rio Paranaíba/Araguari/MG/Brasil	18°25'28.3"S 48°03'54.9"W	
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 7309	35955	rio Paranaíba/Araguari/MG/Brasil	18°25'28.3"S 48°03'54.9"W	
<i>Moenkhausia australis</i>	LBP 7309	35956	rio Paranaíba/Araguari/MG/Brasil	18°25'28.3"S 48°03'54.9"W	
<i>Moenkhausia australis</i>	UFRS 21473		rio Uruguai/RG/Brasil		
<i>Moenkhausia cambacica</i>	LBP 30612	105792	rio Machado/Vilhena/RO/Brasil	12°30'36.0"S 60°28'19.4"W	
<i>Moenkhausia cambacica</i>	LBP 30612	105793	rio Machado/Vilhena/RO/Brasil	12°30'36.0"S 60°28'19.4"W	
<i>Moenkhausia</i>	LBP 25256	94524	rio Xingu/Altamira/PA/Brasil	08°45'06.0"S 55°02'05.0"W	

<i>clorophthalma</i>					
<i>Moenkhausia</i>					
<i>clorophthalma</i>	LBP 25257	94525	rio Xingu/Altamira/PA/Brasil	08°45'06.0"S 55°02'05.0"W	
<i>Moenkhausia cotinho</i>	LBP 22408	86646	rio Amazonas/Leticia/Colômbia	04°07'33.8"S 70°00'28.9"W	
<i>Moenkhausia cotinho</i>	LBP 15854	64128	rio Xingu/Querência/MT/Brasil	13°16'21.0"S 52°14'48.7"W	
<i>Moenkhausia cotinho</i>	LBP 15854	64129	rio Xingu/Querência/MT/Brasil	13°16'21.0"S 52°14'48.7"W	
<i>Moenkhausia cotinho</i>	LBP 15854	64130	rio Xingu/Querência/MT/Brasil	13°16'21.0"S 52°14'48.7"W	
<i>Moenkhausia cotinho</i>	LBP 15854	64131	rio Xingu/Querência/MT/Brasil	13°16'21.0"S 52°14'48.7"W	
<i>Moenkhausia cosmops</i>	LBP 4672	24797	aquário	-	MW916375
<i>Moenkhausia cosmops</i>	LBP 8522	43212	Rio Verde, rio Papagaio basin	13°37'11.3"S 58°00'49.2"W	MW916374
<i>Moenkhausia cosmops</i>	LBP 28486	100871	rio Guaporé/Pontes e Lacerda/MT/Brasil	14°42'53.0"S 59°02'12.2"W	
<i>Moenkhausia cosmops</i>	LBP 28486	100873	rio Guaporé/Pontes e Lacerda/MT/Brasil	14°42'53.0"S 59°02'12.2"W	
<i>Moenkhausia</i>					
<i>diamantina</i>	UFBA	1165			
<i>Moenkhausia</i>					
<i>diamantina</i>	UFBA	1154			
<i>Moenkhausia diktyota</i>	LBP 25882	96447	rio Negro/São Gabriel da Cachoeira/AM/Brasil	00°03'28.0"S 66°58'21.0"W	
<i>Moenkhausia diktyota</i>	LBP 25883	96448	rio Negro/São Gabriel da Cachoeira/AM/Brasil	00°03'28.0"S 66°58'21.0"W	
<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 12966	55714	rio Cuiabá/Poconé/MT/Brasil	17°49'51.6"S 57°23'42.8"W	MW916369
<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 12966	55715	rio Cuiabá/Poconé/MT/Brasil	17°49'51.6"S 57°23'42.8"W	MN172477.1
<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 12966	55716	rio Cuiabá/Poconé/MT/Brasil	17°49'51.6"S 57°23'42.8"W	MN172476.1
<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 12966	55717	rio Cuiabá/Poconé/MT/Brasil	17°49'51.6"S 57°23'42.8"W	MW916369.1
<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 12966	55718	rio Cuiabá/Poconé/MT/Brasil	17°49'51.6"S 57°23'42.8"W	MN172475.1
<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 13714	56928	rio Paraguai/Poconé/MT/Brasil	17°47'33.7"S 57°33'26.7"W	MW916368
<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 13714	56930	rio Paraguai/Poconé/MT/Brasil	17°47'33.7"S 57°33'26.7"W	
<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 3739	22005	rio Paraguai/Aquidauana/MS/Brasil	19°34'54.6"S 56°15'16.5"W	MN172469.1
<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 3739	22006	rio Paraguai/Aquidauana/MS/Brasil	19°34'54.6"S 56°15'16.5"W	MN172468.1
<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 3739	22007	rio Paraguai/Aquidauana/MS/Brasil	19°34'54.6"S 56°15'16.5"W	MN172467.1
<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 3739	22008	rio Paraguai/Aquidauana/MS/Brasil	19°34'54.6"S 56°15'16.5"W	MN172466.1
<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 3739	22009	rio Paraguai/Aquidauana/MS/Brasil	19°34'54.6"S 56°15'16.5"W	MN172479.1
<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 4655	24751	alto rio Paraná/Taquarussu/MS/Brasil	22°43'46.2"S 53°19'04.2"W	
<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 4655	24752	alto rio Paraná/Taquarussu/MS/Brasil	22°43'46.2"S 53°19'04.2"W	
<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 4655	24753	alto rio Paraná/Taquarussu/MS/Brasil	22°43'46.2"S 53°19'04.2"W	
<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 4655	24754	alto rio Paraná/Taquarussu/MS/Brasil	22°43'46.2"S 53°19'04.2"W	

<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 4655	24755	alto rio Paraná/Taquarussu/MS/Brasil	22°43'46.2"S 53°19'04.2"W	
<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 5074	26001	rio Paraguai/Cáceres/MT/Brasil	16°03'11.3"S 57°48'32.0"W	MN172474
<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 5074	26002	rio Paraguai/Cáceres/MT/Brasil	16°03'11.3"S 57°48'32.0"W	MN172473
<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 5074	26003	rio Paraguai/Cáceres/MT/Brasil	16°03'11.3"S 57°48'32.0"W	MN172472
<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 5074	26004	rio Paraguai/Cáceres/MT/Brasil	16°03'11.3"S 57°48'32.0"W	MN172471
<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 5074	26005	rio Paraguai/Cáceres/MT/Brasil	16°03'11.3"S 57°48'32.0"W	MN172470
<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 9757	45975	alto rio Paraná/Nova Andradina/MS/Brasil	21°53'48.1"S 53°47'25.1"W	MN172480
<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 9757	45796	alto rio Paraná/Nova Andradina/MS/Brasil	21°53'48.1"S 53°47'25.1"W	MN172481
<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 9757	45617	alto rio Paraná/Nova Andradina/MS/Brasil	21°53'48.1"S 53°47'25.1"W	MN172482
<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 6661	32054	alto rio Paraná/Marilena/PR/Brasil	22°40'09.2"S 53°05'34.5"W	MN172483
<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 6661	32055	alto rio Paraná/Marilena/PR/Brasil	22°40'09.2"S 53°05'34.5"W	MN172484
<i>Moenkhausia forestii</i>	LBP 6661	32056	alto rio Paraná/Marilena/PR/Brasil	22°40'09.2"S 53°05'34.5"W	MN172465
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 26159	96046	rio Amazonas/Tabatinga/AM/Brasil	04°12'34.0"S 69°54'47.0"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 25995	95625	rio Amazonas/Tabatinga/AM/Brasil	04°10'03.0"S 69°54'15.0"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 26107	95887	rio Amazonas/Atalia do Norte/AM/Brasil	04°26'20.0"S 70°07'19.0"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 9969	46800	Orinoco/Caicara del Orinoco/Venezuela	7°37'53.2"N 66°09'14.6"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 18662	rack26B8	Orinoco/Meta/Colombia	3°10'29.73"N 73°39'41.2"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 18662	rack26B9	Orinoco/Meta/Colombia	3°10'29.73"N 73°39'41.2"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 11004	50535	Madeira/Guajará Mirim/RO/Brasil	10°26'23.5"S 65°20'34.1"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 14071	53450	Tapajós/Itaituba/PA/Brasil	04°55'58.8"S 56°51'51"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 24869	93162	Teles Pires/Alta Floresta/MT/Brasil	9°48'55.09"S 56°8'25.9"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 5693	27577	Araguaia/Barra do Garça/MT/Brasil	15°40.678"S 52°17.863"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 15710	64558	Xingu/Ribeirão Cascalheira/MT/Brasil	13°09'13.6"S 51°55'18.7"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 17781	70274	rio Ucayali/Huánuco/Peru	8°39'57.2"S 74°48'08.7"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 6957	33387	Negro/São Gabriel da Cachoeira/AM/Brasil	0°00'32.0"N 66°55'35.0"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 10836	50030	Jamari/Ariquemes/RO/Brasil	10°15'54.4"S 63°18'18.9"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 15334	63376	Tocantins/Palmas/TO/Brasil	10°18'56.6"S 48°13'00.3"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 19270	77837	Tocantins/Nova Roma/TO/Brasil	13°41'34.6"S 46°57'44.3"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 12033	51517	Purus/Labrea/AM/Brasil	07°56.110"S 63°27.353"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 9119	43001	Guamá, Capitão Poço/PA/Brasil	01°34'28.3"S 47°02'03.5"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 5377	27027	Jari/Laranjal do Jari/AP/Brasil	00°33'51"S 52°34'45"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 21124	82859	Oiapoque/Oiapoque/AP/Brasil	03°45'10.4"S 51°46'57.3"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	ANSP9791	43404	Casiquiare/Caño Dorotomoni/Venezuela	02°48'35"N 65°57'14.4"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	ANSP11063	-	rio Takutu/Rupununi/Guiana	4°3'14"N 59°29'7"W	

<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 15433	63632	rio Branco/Boa Vista/RR/Brasil	02°56'19.7"N 61°03'06.1"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 7068	34385	rio Negro/São Gabriel da Cachoeira/AM/Brasil	00°06'30"W 66°52'58"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 10193	50258	rio Jaci Paraná/Porto Velho/RO/Brasil	09°15'23.3"S 64°23'13.6"W	MH047378
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 32746	85995	rio Bugres/Denise/MT/Brasil	14°38'26.1"S 56°49'41.7"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 32746	85996	rio Bugres/Denise/MT/Brasil	14°38'26.1"S 56°49'41.7"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 5073	26006	rio Paraguai/Cáceres/MT/Brasil	16°03'11.3"S 57°48'32.0"W	EU177035
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 5073	26007	rio Paraguai/Cáceres/MT/Brasil	16°03'11.3"S 57°48'32.0"W	EU177036
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 5073	26008	rio Paraguai/Cáceres/MT/Brasil	16°03'11.3"S 57°48'32.0"W	EU177037
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 5073	26009	rio Paraguai/Cáceres/MT/Brasil	16°03'11.3"S 57°48'32.0"W	EU177037
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 5073	26010	rio Paraguai/Cáceres/MT/Brasil	16°03'11.3"S 57°48'32.0"W	EU177034
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 25096	94202	rio Jamanxim/Novo Progresso/PA/Brasil	07°21'08.0"S 55°17'45.0"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 14071	58450	rio Tapajós/Itaituba/PA/Brasil	04°55'58.8"S 56°51'51.6"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 14071	58451	rio Tapajós/Itaituba/PA/Brasil	04°55'58.8"S 56°51'51.6"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 8592	43407	rio Arinos/Diamantino/MT/Brasil	14°09'14.9"S 56°05'41.6"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 8592	43408	rio Arinos/Diamantino/MT/Brasil	14°09'14.9"S 56°05'41.6"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	-	GFSU14_124	rio Maroni/Maripasoula/Guiana Francesa	2°40'36.91"N 53°59'57.4"W	MZ051095.1
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	GBOL3678_18	GFSU14_1546	rio Maroni/Maripasoula/Guiana Francesa	2°51'30.88"N 53°58'38.2"W	MZ051632.1
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	GBOL3679_18	GFSU14_1579_	rio Maroni/Maripasoula/Guiana Francesa	2°40'36.91"N 53°59'57.4"W	MZ052071.1
<i>Moenkhausia oligolepis</i>		ROM 28289	rio Aguarico/Equador		
<i>Moenkhausia oligolepis</i>		ROM 28021	rio Pastaza/Equador		
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 4098	23549	rio Juruá/Mâncio Lima/AC/Brasil	07°34'28.8"S 72°55'24.9"W	EU177038
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 4098	23550	rio Juruá/Mâncio Lima/AC/Brasil	07°34'28.8"S 72°55'24.9"W	EU177039
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 4098	23551	rio Juruá/Mâncio Lima/AC/Brasil	07°34'28.8"S 72°55'24.9"W	EU177040
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 4098	23552	rio Juruá/Mâncio Lima/AC/Brasil	07°34'28.8"S 72°55'24.9"W	EU177041
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 4098	23553	rio Juruá/Mâncio Lima/AC/Brasil	07°34'28.8"S 72°55'24.9"W	EU177042
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 24869	93162	rio Teles Pires/Alta Floresta/MT/Brasil	9°48'55.0"S 56°8'25.9"W	MW916371
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 24869	93163	rio Teles Pires/Alta Floresta/MT/Brasil	9°48'55.0"S 56°8'25.9"W	MW916370
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	MHNG 2757.038	GFSU14-1394	rio Approuague/Regina/Guiana Francesa	4°8'28.10"N 52°5'11.4"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	MHNG 2734.021	GFSU12-076	rio Sinnamary/Sinnamary/Guiana Francesa	5°21'28.69"N 53°0'12.6"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	MHNG 2756.008	GFSU14-1339	rio Kourou/Centro Espacial de Kourou/Guiana Francesa	5°9'2.05"N 52°42'0.3"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	MHNG 2718.026	SU08-469	rio Tapanahony/Pontoenoe/Suriname	3°10'41.98"N 55°25'9.1"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	MHNG 2718.026	SU08-470	rio Tapanahony/Pontoenoe/Suriname	3°10'41.98"N 55°25'9.1"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	MHNG 2735.045	GFSU12-236	rio Corantijn/Kabalebo/Suriname	4°24'43.48"N 57°12'43.5"W	

<i>Moenkhausia oligolepis</i>	MHNG 2736.021	GFSU12e-082	rio Corantijn/Kabalebo/Suriname	4°27'2.08"N 57°9'47.1"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 16620	67664	rio Xingu/Altamira/PA/Brasil	03°36'36.5"S 51°56'53.2"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 16620	67665	rio Xingu/Altamira/PA/Brasil	03°36'36.5"S 51°56'53.2"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 17693	70488	rio Xingu/São Feliz do Xingu/PA/Brasil	06°44'29.5"S 51°49'52.5"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 17658	70385	rio Tocantins/Marabá/PA/Brasil	05°34'29.9"S 49°04'43.5"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 17658	70383	rio Tocantins/Marabá/PA/Brasil	05°34'29.9"S 49°04'43.5"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 17658	70384	rio Tocantins/Marabá/PA/Brasil	05°34'29.9"S 49°04'43.5"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 17666	70412	rio Tocantins/Marabá/PA/Brasil	05°42'13.6"S 49°07'35.5"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 5693	27577	rio Araguaia/Barra do Garça/MT/Brasil	15°40.67"S 52°17.86"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 15993	66206	rio Culuene/Gaucha do Norte/MT/Brasil	13°30'57.8"S 53°06'39.0"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 15710	64558	rio Xingu/Ribeirão Cascalheira/MT/Brasil	13°09'13.6"S 51°55'18.7"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 15710	64559	rio Xingu/Ribeirão Cascalheira/MT/Brasil	13°09'13.6"S 51°55'18.7"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 1498	11592	rio Araguaia/Barra do Garça/MT/Brasil	15°52'40.4"S 52°18'15.5"W	EU177014.1
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 1498	11593	rio Araguaia/Barra do Garça/MT/Brasil	15°52'40.4"S 52°18'15.5"W	EU177015.1
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 1498	11594	rio Araguaia/Barra do Garça/MT/Brasil	15°52'40.4"S 52°18'15.5"W	EU177013
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 1498	11595	rio Araguaia/Barra do Garça/MT/Brasil	15°52'40.4"S 52°18'15.5"W	EU177016
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 17781	70274	rio Ucayali/Huánuco/Peru	08°39'57.2"S 74°48'08.7"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 17781	70275	rio Ucayali/Huánuco/Peru	08°39'57.2"S 74°48'08.7"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 6957	33387	rio Negro/São Gabriel da Cachoeira/AM/Brasil	0°00'03.2"N 66°55'03.6"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 6987	34035	rio Negro/São Gabriel da Cachoeira/AM/Brasil	00°01.199"N 67°10.192"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 10836	50030	rio Jamari/Ariquemes/RO/Brasil	10°15'54.4"S 63°18'18.9"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 10852	50081	rio Jamari/Ariquemes/RO/Brasil	10°15'03.4"S 63°15'07.7"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 32924	111497	rio Jaci Paraná/Campo Novo de Rondônia/RO/Brasil	10°48'30"S 63°44'8"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 32924	111498	rio Jaci Paraná/Campo Novo de Rondônia/RO/Brasil	10°48'30"S 63°44'8"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 15334	63375	rio Tocantins/Palmas/TO/Brasil	10°18'56.6"S 48°13'00"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 15334	63376	rio Tocantins/Palmas/TO/Brasil	10°18'56.6"S 48°13'00"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 10119	77099	rio Tocantins/Montividiu do Norte/GO/Brasil	13°14'54.2"S 48°39'56.0"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 19270	77836	rio Tocantins/Nova Roma/GO/Brasil	13°41'34.6"S 46°57'44.3"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 19270	77837	rio Tocantins/Nova Roma/GO/Brasil	13°41'34.6"S 46°57'44.3"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 10604	49372	rio Acre/Rio Branco/AC/Brasil	09°56'31.0"S 67°53'46.2"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 5377	27027	rio Jari/Laranjal do Jari/AP/Brasil	00°33'51"S 52°34'45"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 5377	27028	rio Jari/Laranjal do Jari/AP/Brasil	00°33'51"S 52°34'45"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 21124	82858	rio Oiapoque/Oiapoque/AP/Brasil	03°45'10.4"N 51°46'57.3"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 21124	82859	rio Oiapoque/Oiapoque/AP/Brasil	03°45'10.4"N 51°46'57.3"W	

<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 9119	43002	rio Guamá/Capitão Poço/AP/Brasil	01°34'28.3"S 47°02'03.5"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	LBP 9119	43003	rio Guamá/Capitão Poço/AP/Brasil	01°34'28.3"S 47°02'03.5"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	ROM 28289		rio Aguarico/Sucumbios/Equador	0°00'15.2"S 76°10'57.4"W	
<i>Moenkhausia oligolepis</i>	ROM 28021		rio Pastaza/Pastaza/Equador	2°34'15.5"S 76°48'19.8"W	
<i>Moenkhausia parecis</i>	LBP 30617	105808	rio Machado/Vilhena/RO/Brasil	12°48'55.5"S 60°6'36.1"W	
<i>Moenkhausia plumbea</i>	LBP 25268	94582	rio Tapajós/Novo Progresso/PA/Brasil	09°17'59.0"S 54°49'59.0"W	
<i>Moenkhausia pyrophthalma</i>	LBP 15348	63409	Rio Mangue, rio Tocantins basin	10°12'43.8"S 40°27'09.3"W	MW916362
<i>Moenkhausia sanctaefilomenae</i>	LBP 19228	77701	rio Tocantis/Mateiros/TO/Brasil	10°34'29.5"S 46°29'12.9"W	
<i>Moenkhausia sanctaefilomenae</i>	LBP 19228	77702	rio Tocantis/Mateiros/TO/Brasil	10°34'29.5"S 46°29'12.9"W	
<i>Moenkhausia sanctaefilomenae</i>	LBP 19228	77703	rio Tocantis/Mateiros/TO/Brasil	10°34'29.5"S 46°29'12.9"W	
<i>Moenkhausia sanctaefilomenae</i>	LBP 8275	38333	rio São Francisco/Jaiba/MG/Brasil	15°19'24.2"S 43°39'52.5"W	
<i>Moenkhausia sanctaefilomenae</i>	LBP 8275	38334	rio São Francisco/Jaiba/MG/Brasil	15°19'24.2"S 43°39'52.5"W	
<i>Moenkhausia sanctaefilomenae</i>	LBP 8275	38335	rio São Francisco/Jaiba/MG/Brasil	15°19'24.2"S 43°39'52.5"W	
<i>Moenkhausia sanctaefilomenae</i>	LBP 8275	38336	rio São Francisco/Jaiba/MG/Brasil	15°19'24.2"S 43°39'52.5"W	
<i>Moenkhausia sanctaefilomenae</i>	LBP 8275	38337	rio São Francisco/Jaiba/MG/Brasil	15°19'24.2"S 43°39'52.5"W	
<i>Moenkhausia sanctaefilomenae</i>	LBP 10472	49139	rio São Francisco/Paracatu/MG/Brasil	17°15'00.2"S 46°25'21.8"W	
<i>Moenkhausia sanctaefilomenae</i>	LBP 10472	49140	rio São Francisco/Paracatu/MG/Brasil	17°15'00.2"S 46°25'21.8"W	
<i>Moenkhausia sanctaefilomenae</i>	LBP 10472	49141	rio São Francisco/Paracatu/MG/Brasil	17°15'00.2"S 46°25'21.8"W	
<i>Moenkhausia sanctaefilomenae</i>	LBP 10472	49142	rio São Francisco/Paracatu/MG/Brasil	17°15'00.2"S 46°25'21.8"W	
<i>Moenkhausia sanctaefilomenae</i>	LBP 28156	99521	São Francisco/Formosa do Rio Preto/BA/Brasil	10°44'44.1"S 46°11'45.6"W	
<i>Moenkhausia sanctaefilomenae</i>	LBP 10354	47456	rio São Francisco/Pirapora/MG/Brasil	17°19'29.9"S 44°45'57.2"W	
<i>Moenkhausia</i>	LBP 10354	47458	rio São Francisco/Pirapora/MG/Brasil	17°19'29.9"S 44°45'57.2"W	

<i>sanctaefilomenae</i>					
<i>Moenkhausia</i>					
<i>sanctaefilomenae</i>	LBP 10354	47459	rio São Francisco/Pirapora/MG/Brasil	17°19'29.9"S 44°45'57.2"W	
<i>Moenkhausia</i>					
<i>sanctaefilomenae</i>	-	DCC00623	rio São Francisco/Pandeiros/MG/Brasil	15°40'19.2"S 44°38'13.2"W	HM405159
<i>Moenkhausia</i>					
<i>sanctaefilomenae</i>	-	DCC00624	rio São Francisco/Pandeiros/MG/Brasil	15°40'19.2"S 44°38'13.2"W	HM405160
<i>Moenkhausia</i>					
<i>sanctaefilomenae</i>	-	DCC00626	rio São Francisco/Pandeiros/MG/Brasil	15°40'19.2"S 44°38'13.2"W	HM405162
<i>Moenkhausia</i>					
<i>sanctaefilomenae</i>	-	DCC00625	rio São Francisco/Pandeiros/MG/Brasil	15°40'19.2"S 44°38'13.2"W	HM405161
<i>Moenkhausia</i>					
<i>sanctaefilomenae</i>	LBP 5578	27291	rio Parnaíba/Santa Filomenae/PI/Brasil	09°09'51"S 45°51'15"W	MN172499
<i>Moenkhausia</i>					
<i>sanctaefilomenae</i>	LBP 5578	27292	rio Parnaíba/Santa Filomenae/PI/Brasil	09°09'51"S 45°51'15"W	MN172500
<i>Moenkhausia</i>					
<i>sanctaefilomenae</i>	LBP 5578	27293	rio Parnaíba/Santa Filomenae/PI/Brasil	09°09'51"S 45°51'15"W	MN172501
<i>Moenkhausia</i>					
<i>sanctaefilomenae</i>	LBP 5578	27294	rio Parnaíba/Santa Filomenae/PI/Brasil	09°09'51"S 45°51'15"W	MN172502
<i>Moenkhausia uirapuru</i>	LBP 22897	85313	Rio Galera, Guaporé basin	14°30'03.8"S 59°25'26.0"W	MW916373
<i>Tetragonopterus</i>	LBP 3758	22029	rio Paraguai/Aquidauana/MS/Brasil	19°34'33.7"S 56°14'49.5"W	MH003293.1
<i>Thayeria boehlkei</i>	-	RJDNA-33	-	-	FJ748948.1

Tabela suplementar 2. Distância genética interespecífica e intraespecífica (negrito) com desvio padrão entre o grupo “*Moenkhausia oligolepis*” e o grupo “*Moenkhausia cosmops*”, baseado em T92+G model. Os maiores valores estão em amarelo (> ou = 23%) e os menores em azul (< ou = 5%).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1. <i>M.cotinho</i> rio Xingu	0									
2. <i>M.andrica</i> rio Arinos	0.113±0.022	-								
3. <i>M.andrica</i> rio Papagaio-Sangue	0.085±0.018	0.047±0.012	0.017±0.007							
4. <i>B.steindachneri</i> rio	0.241±0.040	0.231±0.039	0.251±0.042	-						

Amazonas

5. <i>B.steindachneri</i> rio Tapajos	0.231±0.038	0.215±0.036	0.221±0.037	0.085±0.019	–					
6. <i>B.steindachneri</i> rio Madeira	0.225±0.037	0.199±0.033	0.217±0.036	0.097±0.020	0.043±0.012	–				
7. <i>M.oligolepis</i> Espécie1	0.203±0.035	0.199±0.035	0.189±0.033	0.156±0.028	0.165±0.030	0.179±0.032	0.001±0.001			
8. <i>M.australis</i> rio Paraguai-Madeira	0.212±0.036	0.168±0.029	0.154±0.026	0.161±0.028	0.158±0.028	0.158±0.028	0.105±0.022	0.003±0.001		
9. <i>M.australis</i> rio Paranaíba	0.214±0.037	0.184±0.032	0.174±0.029	0.179±0.030	0.188±0.032	0.187±0.031	0.121±0.024	0.045±0.012	0	
10. <i>M.australis</i> alto rio Paraná-Urugui	0.237±0.039	0.180±0.031	0.180±0.030	0.190±0.032	0.198±0.033	0.199±0.034	0.122±0.024	0.040±0.011	0.031±0.009	0.002±0.001
11. <i>M.cambacica</i>	0.175±0.030	0.186±0.034	0.166±0.030	0.181±0.033	0.172±0.031	0.171±0.031	0.184±0.032	0.164±0.029	0.190±0.032	0.180±0.031
12. <i>M.parecis</i>	0.158±0.029	0.159±0.029	0.163±0.029	0.159±0.028	0.174±0.031	0.155±0.027	0.157±0.029	0.149±0.026	0.167±0.029	0.184±0.032
13. <i>M.cosmops</i> aquario	0.188±0.033	0.194±0.035	0.189±0.032	0.184±0.031	0.205±0.034	0.226±0.037	0.190±0.033	0.166±0.029	0.166±0.029	0.180±0.030
14. <i>M.cosmops</i> rio Verde-Madeira	0.182±0.032	0.201±0.036	0.201±0.034	0.178±0.029	0.195±0.033	0.216±0.035	0.169±0.029	0.157±0.026	0.167±0.029	0.171±0.028
15. <i>M.uirapuru</i>	0.173±0.030	0.162±0.029	0.162±0.028	0.235±0.039	0.197±0.033	0.212±0.034	0.223±0.037	0.220±0.036	0.207±0.035	0.196±0.032
16. <i>H.skolioplatus</i>	0.188±0.033	0.179±0.032	0.189±0.033	0.153±0.028	0.167±0.030	0.181±0.031	0.195±0.035	0.170±0.030	0.150±0.027	0.170±0.029
17. <i>M.forestii</i>	0.210±0.036	0.205±0.035	0.211±0.035	0.159±0.027	0.155±0.027	0.178±0.032	0.173±0.031	0.181±0.031	0.192±0.032	0.209±0.036
18. <i>M.oligolepis</i> Espécie2	0.220±0.036	0.216±0.036	0.200±0.033	0.224±0.037	0.198±0.033	0.202±0.033	0.202±0.035	0.224±0.037	0.186±0.032	0.214±0.036
19. <i>M.oligolepis</i> Espécie3	0.201±0.034	0.197±0.033	0.181±0.030	0.204±0.035	0.169±0.029	0.173±0.029	0.183±0.032	0.203±0.034	0.168±0.029	0.194±0.033
20. <i>M.oligolepis</i> Espécie15	0.229±0.038	0.198±0.033	0.233±0.038	0.189±0.033	0.203±0.034	0.190±0.031	0.233±0.038	0.239±0.039	0.245±0.041	0.234±0.039
21. <i>M.oligolepis</i> Espécie16	0.223±0.036	0.202±0.034	0.215±0.035	0.183±0.032	0.207±0.035	0.204±0.034	0.226±0.038	0.245±0.040	0.238±0.040	0.227±0.038

22. <i>M. oligolepis</i> Espécie17	0.205±0.035	0.175±0.030	0.206±0.035	0.144±0.026	0.215±0.036	0.193±0.033	0.203±0.035	0.221±0.037	0.220±0.038	0.227±0.039
23. <i>M. oligolepis</i> Espécie13	0.252±0.042	0.184±0.031	0.205±0.034	0.191±0.033	0.177±0.031	0.171±0.031	0.200±0.035	0.212±0.036	0.236±0.040	0.218±0.037
24. <i>M. oligolepis</i> Espécie18	0.206±0.034	0.212±0.035	0.189±0.032	0.170±0.029	0.212±0.037	0.217±0.037	0.204±0.035	0.233±0.039	0.234±0.039	0.233±0.039
25. <i>M. oligolepis</i> Espécie19	0.233±0.039	0.206±0.036	0.211±0.036	0.179±0.030	0.239±0.040	0.238±0.040	0.194±0.034	0.231±0.038	0.246±0.042	0.232±0.039
26. <i>M. oligolepis</i> Espécie20	0.219±0.036	0.168±0.029	0.183±0.031	0.182±0.031	0.207±0.036	0.206±0.035	0.229±0.039	0.216±0.036	0.200±0.034	0.219±0.037
27. <i>M. sanctaefilomenae</i> rio Parnaíba	0.202±0.034	0.165±0.029	0.165±0.029	0.179±0.030	0.198±0.034	0.205±0.036	0.162±0.029	0.171±0.030	0.197±0.034	0.193±0.033
28. <i>M. sanctaefilomenae</i> rio São Francisco	0.196±0.033	0.156±0.028	0.171±0.030	0.161±0.028	0.181±0.031	0.207±0.036	0.188±0.033	0.186±0.032	0.192±0.033	0.187±0.032
29. <i>M. sanctaefilomenae</i> rio Tocantins-Preto	0.185±0.032	0.165±0.029	0.180±0.031	0.169±0.029	0.196±0.033	0.206±0.035	0.202±0.035	0.201±0.035	0.207±0.036	0.201±0.035
30. <i>M. oligolepis</i> Espécie21	0.229±0.039	0.197±0.034	0.197±0.034	0.164±0.028	0.195±0.033	0.210±0.036	0.192±0.033	0.210±0.035	0.216±0.036	0.211±0.036
31. <i>M. oligolepis</i> Espécie22	0.204±0.034	0.189±0.033	0.189±0.033	0.166±0.029	0.198±0.034	0.213±0.037	0.185±0.033	0.201±0.034	0.207±0.035	0.203±0.035
32. <i>M. oligolepis</i> Espécie23	0.201±0.034	0.202±0.035	0.219±0.037	0.159±0.028	0.195±0.034	0.200±0.035	0.187±0.032	0.231±0.039	0.239±0.041	0.233±0.040
33. <i>M. oligolepis</i> Espécie24	0.234±0.039	0.181±0.032	0.191±0.033	0.173±0.030	0.194±0.033	0.199±0.035	0.182±0.032	0.198±0.034	0.226±0.038	0.222±0.038
34. <i>M. oligolepis</i> Espécie25	0.222±0.037	0.185±0.032	0.196±0.033	0.167±0.029	0.177±0.031	0.186±0.032	0.170±0.030	0.185±0.032	0.202±0.034	0.191±0.032
35. <i>M. oligolepis</i> Espécie26	0.231±0.039	0.192±0.033	0.189±0.032	0.178±0.030	0.181±0.030	0.189±0.032	0.183±0.031	0.197±0.033	0.201±0.034	0.197±0.033
36. <i>M. oligolepis</i> Espécie14	0.201±0.034	0.176±0.031	0.176±0.030	0.149±0.027	0.169±0.031	0.168±0.031	0.166±0.031	0.177±0.031	0.204±0.036	0.194±0.034
37. <i>M. oligolepis</i> Espécie12	0.230±0.038	0.205±0.035	0.205±0.034	0.171±0.030	0.175±0.031	0.185±0.033	0.171±0.031	0.196±0.034	0.207±0.035	0.202±0.035
38. <i>M. oligolepis</i> Espécie4	0.184±0.032	0.170±0.029	0.166±0.029	0.172±0.030	0.183±0.032	0.167±0.029	0.193±0.034	0.152±0.027	0.153±0.028	0.165±0.029
39. <i>M. oligolepis</i> Espécie5	0.236±0.040	0.208±0.037	0.203±0.035	0.175±0.031	0.197±0.033	0.191±0.033	0.207±0.036	0.182±0.032	0.191±0.033	0.187±0.032
40. <i>M. oligolepis</i> Espécie10	0.208±0.035	0.173±0.030	0.188±0.032	0.193±0.033	0.205±0.035	0.188±0.032	0.226±0.039	0.190±0.033	0.188±0.033	0.184±0.032

<i>11.M.cambacica</i>	0											
<i>12.M.parecis</i>	0.124±0.024	–										
<i>13.M.cosmops</i> aquario	0.220±0.038	0.177±0.033	–									
<i>14.M.cosmops</i> rio Verde-Madeira	0.219±0.037	0.161±0.029	0.050±0.012	–								
<i>15.M.uirapuru</i>	0.180±0.032	0.170±0.030	0.148±0.027	0.128±0.023	–							
<i>16.H.skolioplatus</i>	0.159±0.028	0.167±0.030	0.174±0.031	0.201±0.034	0.155±0.028	–						
<i>17.M.forestii</i>	0.179±0.032	0.163±0.029	0.235±0.041	0.216±0.038	0.207±0.037	0.165±0.030	0					
<i>18.M.oligolepis</i> Espécie2	0.261±0.046	0.222±0.038	0.229±0.040	0.212±0.037	0.185±0.033	0.191±0.033	0.200±0.036	–				
<i>19.M.oligolepis</i> Espécie3	0.240±0.043	0.202±0.035	0.209±0.037	0.193±0.034	0.157±0.029	0.162±0.030	0.192±0.034	0.017±0.007	0			
<i>20.M.oligolepis</i> Espécie15	0.228±0.039	0.198±0.034	0.250±0.043	0.208±0.035	0.199±0.034	0.178±0.032	0.208±0.038	0.147±0.027	0.135±0.026	–		
<i>21.M.oligolepis</i> Espécie16	0.209±0.036	0.191±0.032	0.243±0.042	0.202±0.033	0.192±0.033	0.182±0.033	0.202±0.036	0.132±0.025	0.129±0.025	0.024±0.008		
<i>22.M.oligolepis</i> Espécie17	0.232±0.042	0.185±0.032	0.230±0.040	0.219±0.038	0.219±0.039	0.152±0.029	0.155±0.028	0.159±0.029	0.161±0.030	0.097±0.020		
<i>23.M.oligolepis</i> Espécie13	0.207±0.037	0.205±0.036	0.229±0.041	0.209±0.037	0.203±0.037	0.160±0.028	0.179±0.033	0.183±0.033	0.170±0.031	0.113±0.022		
<i>24.M.oligolepis</i> Espécie18	0.232±0.040	0.202±0.034	0.213±0.037	0.203±0.035	0.182±0.033	0.182±0.032	0.188±0.034	0.136±0.026	0.133±0.026	0.127±0.024		
<i>25.M.oligolepis</i> Espécie19	0.180±0.032	0.210±0.036	0.194±0.034	0.178±0.030	0.182±0.033	0.187±0.033	0.213±0.038	0.170±0.030	0.167±0.031	0.099±0.021		
<i>26.M.oligolepis</i> Espécie20	0.247±0.043	0.215±0.037	0.216±0.037	0.211±0.035	0.205±0.036	0.145±0.027	0.187±0.033	0.138±0.026	0.135±0.026	0.083±0.018		
<i>27.M.sanctaefilomenae</i> rio Parnaíba	0.252±0.046	0.182±0.033	0.188±0.034	0.171±0.030	0.175±0.032	0.157±0.028	0.179±0.033	0.132±0.026	0.129±0.025	0.108±0.021		
<i>28.M.sanctaefilomenae</i> rio São Francisco	0.230±0.041	0.199±0.036	0.178±0.032	0.169±0.030	0.160±0.029	0.136±0.025	0.168±0.032	0.129±0.026	0.127±0.025	0.082±0.018		
<i>29.M.sanctaefilomenae</i> rio Tocantins-Preto	0.227±0.041	0.214±0.037	0.174±0.031	0.158±0.029	0.147±0.028	0.149±0.027	0.180±0.033	0.142±0.027	0.139±0.027	0.097±0.019		

- 2.*M.andrica* rio Arinos
- 3.*M.andrica* rio Papagaio-Sangue
- 4.*B.steindachneri* rio Amazonas
- 5.*B.steindachneri* rio Tapajos
- 6.*B.steindachneri* rio Madeira
- 7.*M.oligolepis* Espécie1
- 8.*M.australis* rio Paraguai-Madeira
- 9.*M.australis* rio Paranaíba
- 10.*M.australis* alto rio Paraná-Uruguaí
- 11.*M.cambacica*
- 12.*M.parecis*
- 13.*M.cosmops* aquario
- 14.*M.cosmops* rio Verde-Madeira
- 15.*M.uirapuru*
- 16.*H.skolioplatus*
- 17.*M.forestii*
- 18.*M.oligolepis* Espécie2

19. <i>M. oligolepis</i> Espécie3											
20. <i>M. oligolepis</i> Espécie15											
21. <i>M. oligolepis</i> Espécie16	–										
22. <i>M. oligolepis</i> Espécie17	0.093±0.019	0									
23. <i>M. oligolepis</i> Espécie13	0.125±0.024	0.110±0.023	–								
24. <i>M. oligolepis</i> Espécie18	0.122±0.023	0.108±0.022	0.133±0.026	0.001±0.001							
25. <i>M. oligolepis</i> Espécie19	0.103±0.021	0.096±0.021	0.112±0.023	0.068±0.016	0						
26. <i>M. oligolepis</i> Espécie20	0.087±0.018	0.081±0.017	0.121±0.024	0.094±0.018	0.087±0.018	0.002±0.002					
27. <i>M. sanctaefilomenae</i> rio Parnaíba	0.107±0.021	0.104±0.021	0.118±0.023	0.097±0.020	0.098±0.020	0.067±0.015	0.002±0.001				
28. <i>M. sanctaefilomenae</i> rio São Francisco	0.090±0.019	0.094±0.020	0.101±0.021	0.095±0.019	0.089±0.019	0.059±0.014	0.044±0.012	0.001±0			
29. <i>M. sanctaefilomenae</i> rio Tocantins-Preto	0.101±0.020	0.114±0.022	0.115±0.023	0.113±0.022	0.106±0.021	0.076±0.016	0.059±0.014	0.027±0.008	0.007±0.003		
30. <i>M. oligolepis</i> Espécie21	0.095±0.020	0.092±0.019	0.104±0.021	0.101±0.020	0.098±0.020	0.064±0.015	0.050±0.013	0.039±0.011	0.047±0.012	0.002±0.002	
31. <i>M. oligolepis</i> Espécie22	0.089±0.019	0.094±0.019	0.118±0.024	0.095±0.019	0.100±0.020	0.058±0.014	0.052±0.013	0.037±0.011	0.052±0.013	0.035±0.011	
32. <i>M. oligolepis</i> Espécie23	0.091±0.019	0.084±0.019	0.112±0.023	0.118±0.023	0.102±0.021	0.064±0.016	0.057±0.014	0.042±0.012	0.055±0.013	0.047±0.012	
33. <i>M. oligolepis</i> Espécie24	0.115±0.022	0.104±0.021	0.112±0.022	0.089±0.019	0.098±0.020	0.060±0.014	0.046±0.012	0.049±0.013	0.064±0.014	0.043±0.012	
34. <i>M. oligolepis</i> Espécie25	0.109±0.022	0.106±0.022	0.106±0.021	0.107±0.021	0.112±0.022	0.077±0.017	0.047±0.012	0.044±0.012	0.065±0.014	0.052±0.013	
35. <i>M. oligolepis</i> Espécie26	0.116±0.022	0.110±0.022	0.113±0.021	0.119±0.022	0.116±0.022	0.091±0.018	0.055±0.013	0.053±0.012	0.071±0.014	0.052±0.012	
36. <i>M. oligolepis</i> Espécie14	0.100±0.020	0.090±0.020	0.074±0.017	0.099±0.020	0.088±0.018	0.077±0.017	0.084±0.018	0.067±0.016	0.077±0.016	0.072±0.017	
37. <i>M. oligolepis</i> Espécie12	0.092±0.018	0.102±0.021	0.088±0.019	0.107±0.020	0.087±0.018	0.070±0.016	0.070±0.016	0.064±0.015	0.071±0.015	0.066±0.015	

Madeira

9.*M.australis* rio Paranaíba

10.*M.australis* alto rio
Paraná-Uruguaí

11.*M.cambacica*

12.*M.parecis*

13.*M.cosmops* aquario

14.*M.cosmops* rio Verde-
Madeira

15.*M.uirapuru*

16.*H.skolioplatus*

17.*M.forestii*

18.*M.oligolepis* Espécie2

19.*M.oligolepis* Espécie3

20.*M.oligolepis* Espécie15

21.*M.oligolepis* Espécie16

22.*M.oligolepis* Espécie17

23.*M.oligolepis* Espécie13

24.*M.oligolepis* Espécie18

25.*M.oligolepis* Espécie19

26.*M.oligolepis* Espécie20

27.*M.sanctaefilomenae* rio

Parnaíba

28. *M. sanctaefilomenae* rio
São Francisco

29. *M. sanctaefilomenae* rio
Tocantins-Preto

30. *M. oligolepis* Espécie21

31. *M. oligolepis* Espécie22

32. *M. oligolepis* Espécie23

0.035±0.011 0.002±0.002

33. *M. oligolepis* Espécie24

0.038±0.011 0.050±0.013 0.002±0.002

34. *M. oligolepis* Espécie25

0.054±0.014 0.049±0.013 0.041±0.011 0.003±0.002

35. *M. oligolepis* Espécie26

0.061±0.014 0.064±0.015 0.054±0.013 0.026±0.007 0.015±0.004

36. *M. oligolepis* Espécie14

0.060±0.014 0.073±0.017 0.072±0.016 0.067±0.016 0.074±0.016 0

37. *M. oligolepis* Espécie12

0.054±0.014 0.063±0.015 0.070±0.016 0.060±0.014 0.067±0.014 0.038±0.011 0.003±0.002

38. *M. oligolepis* Espécie4

0.111±0.023 0.135±0.027 0.130±0.025 0.124±0.025 0.125±0.024 0.115±0.023 0.102±0.020 -

39. *M. oligolepis* Espécie5

0.097±0.020 0.129±0.024 0.107±0.021 0.118±0.021 0.118±0.021 0.122±0.023 0.109±0.021 0.136±0.027 0

40. *M. oligolepis* Espécie10

0.095±0.020 0.109±0.022 0.109±0.022 0.121±0.022 0.124±0.022 0.116±0.023 0.120±0.024 0.112±0.022 0.116±0.023 0.002±0.002

41. *M. oligolepis* Espécie11

0.142±0.026 0.141±0.026 0.126±0.023 0.126±0.022 0.136±0.023 0.124±0.024 0.124±0.023 0.115±0.023 0.117±0.022 0.083±0.017

42. *M. oligolepis* Espécie9

0.104±0.020 0.119±0.022 0.106±0.021 0.108±0.020 0.108±0.019 0.117±0.022 0.112±0.021 0.109±0.022 0.102±0.020 0.068±0.015

43. *M. oligolepis* Espécie8

0.098±0.020 0.100±0.019 0.100±0.019 0.099±0.019 0.093±0.018 0.111±0.022 0.090±0.018 0.100±0.022 0.083±0.017 0.070±0.016

44. *M. oligolepis* Espécie6

0.102±0.021 0.100±0.020 0.103±0.021 0.102±0.020 0.099±0.019 0.098±0.021 0.090±0.019 0.102±0.023 0.082±0.018 0.069±0.017

45. *M. oligolepis* Espécie7

0.090±0.019 0.100±0.020 0.095±0.019 0.092±0.018 0.094±0.018 0.102±0.021 0.090±0.018 0.094±0.020 0.086±0.018 0.066±0.015

Continuação...

	41	42	43	44	45
1. <i>M.cotinho</i> rio Xingu					
2. <i>M.andrica</i> rio Arinos					
3. <i>M.andrica</i> rio Papagaio-Sangue					
4. <i>B.steindachneri</i> rio Amazonas					
5. <i>B.steindachneri</i> rio Tapajos					
6. <i>B.steindachneri</i> rio Madeira					
7. <i>M.oligolepis</i> Espécie1					
8. <i>M.australis</i> rio Paraguai-Madeira					
9. <i>M.australis</i> rio Paranaíba					
10. <i>M.australis</i> alto rio Paraná-Uruguaí					
11. <i>M.cambacica</i>					
12. <i>M.parecis</i>					
13. <i>M.cosmops</i> aquario					
14. <i>M.cosmops</i> rio Verde-Madeira					

15.*M.uirapuru*

16.*H.skolioplatus*

17.*M.forestii*

18.*M.oligolepis* Espécie2

19.*M.oligolepis* Espécie3

20.*M.oligolepis* Espécie15

21.*M.oligolepis* Espécie16

22.*M.oligolepis* Espécie17

23.*M.oligolepis* Espécie13

24.*M.oligolepis* Espécie18

25.*M.oligolepis* Espécie19

26.*M.oligolepis* Espécie20

27.*M.sanctaeofilomenae* rio
Parnaíba

28.*M.sanctaeofilomenae* rio
São Francisco

29.*M.sanctaeofilomenae* rio
Tocantins-Preto

30.*M.oligolepis* Espécie21

31.*M.oligolepis* Espécie22

32.*M.oligolepis* Espécie23

33.*M.oligolepis* Espécie24

34. <i>M. oligolepis</i> Espécie25					
35. <i>M. oligolepis</i> Espécie26					
36. <i>M. oligolepis</i> Espécie14					
37. <i>M. oligolepis</i> Espécie12					
38. <i>M. oligolepis</i> Espécie4					
39. <i>M. oligolepis</i> Espécie5					
40. <i>M. oligolepis</i> Espécie10					
41. <i>M. oligolepis</i> Espécie11	0.01±0.003				
42. <i>M. oligolepis</i> Espécie9	0.074±0.015	0.003±0.002			
43. <i>M. oligolepis</i> Espécie8	0.077±0.016	0.070±0.015	0.003±0.001		
44. <i>M. oligolepis</i> Espécie6	0.073±0.016	0.065±0.015	0.024±0.008	0	
45. <i>M. oligolepis</i> Espécie7	0.066±0.014	0.060±0.014	0.021±0.007	0.027±0.009	0.017±0.007

Tabela suplementar 3. Tabela de correlação entre as medidas e os eixos mais representativos da análise de Componentes Principais para os três conjuntos de dados. Conjunto I *Bario* e grupo *M. cosmops*, Conjunto II *Bario* e III grupo *M. cosmops*.

Medidas	Conjunto I		Conjunto II		Conjunto III	
	PC1	PC2	PC1	PC2	PC1	PC2
Comprimento padrão	-0.1676376	0.5216444	-0.3151957	0.3017187	-0.2356703	0.6137595
Altura do Corpo	0.8204018	0.2193653	-0.7838145	0.0744583	-0.7611809	-0.3513777
Distância Pré-dorsal	-0.0963706	0.0922732	-0.3152231	0.4489763	0.0864059	-0.2074692
Distância Pré-pélvica	-0.4360228	0.5640854	-0.1403868	0.8030576	-0.2993149	0.7604701
Distância pré-peitoral	-0.6470056	-0.1983092	0.6361147	0.4204413	0.3934991	0.6713341
Distância pré-anal	-0.0482998	0.6003226	-0.4161719	0.5110388	-0.511786	0.6279143
Altura do pedúnculo	0.2817281	0.5677796	-0.6081226	0.0472636	-0.6536126	-0.3080699
Comprimento do pedúnculo	-0.7016306	0.1432962	0.4922334	0.1692522	-0.4379489	0.2166743
Comprimento da nadadeira peitoral	0.6118808	-0.2816727	-0.3146884	-0.322717	0.526894	-0.2702436
Comprimento da nadadeira pélvica	0.4124284	-0.4644098	-0.0041154	-0.4765598	0.5130083	-0.2879024
Comprimento da nadadeira dorsal	0.4701349	-0.3549418	-0.0882488	-0.5703967	0.478271	0.1881348
Base da nadadeira dorsal	0.5388632	0.2675231	-0.477733	-0.2983363	-0.7126033	-0.2537283
Comprimento da nadadeira anal	-0.2290623	-0.7200988	0.6155664	-0.3065524	0.6298454	0.3070047
Base da nadadeira anal	0.7689829	-0.133735	-0.4918435	-0.311506	-0.3354953	-0.0085835
Comprimento da cabeça	-0.8526255	0.0832928	0.7954515	0.3309756	-0.4958909	0.0877644
Altura da cabeça	0.4641023	-0.1686572	-0.3986385	0.2574917	0.6041496	-0.2849193
Diâmetro da órbita	-0.489286	-0.7159099	0.8426877	-0.0270139	0.8495416	0.2829663
Distância interorbital	-0.0541493	0.2209586	-0.1351053	-0.1996257	-0.0170476	-0.335278
Comprimento do focinho	-0.2034762	-0.0028864	0.2165004	0.1059395	0.1748519	-0.4567633
Comprimento da maxila superior	-0.7124177	-0.1139342	0.5645613	-0.0279526	0.7397563	0.2362745
Olho- origem da nadadeira dorsal	0.4786803	0.2856275	-0.7112407	0.0762019	-0.295814	0.4942613
Origem dorsal- origem caudal	-0.1173474	0.6768117	-0.2870713	0.2796851	-0.9001469	0.0918256

Suplementar 4. Material analisado para os dados morfológicos.

***Bario steindachneri*:**

rio Amazonas. MUSM 4492, 1(87.2 mm CP), rio Tambopata, cuenca del Rio Heath, Quebrada San Antonio, bacia Madre de Dios, San Antonio, Peru, 12°44'00"S 69°11'00"W, 28 maio 1992, H. Ortega. MUSM 28731,1(73.5 mm CP), quebrada Canetera Noroeste Kiviyacu, alto Amazonas Andoas, Peru, 2°24'14.8"S 76°07'14.0"W, 02-16 maio 2006, M. Gémez.

Rio Madeira. MZUSP 118734, 1(61.8 mm CP), igarapé Tarumã, afluente do rio Machado, na REBIO Jaru, Machadinho do Oeste, Rondônia, Brasil, 9°27'51"S 61°40'18"W, 09 nov. 2015, W. Ohara. MZUSP X, 1(53.2 mm CP), rio Jaci Paraná, povoado Rio Pardo, Porto Velho, Rondônia, Brasil, 09°34'10.7"S 63°58'08.2"W, Janice M. Cunha & Jansen Zuanon. MZUSP 122355,

13(48.9–76.5 mm CP), igarapé do Mutum, baica do rio Juma, Apuí, Amazonas, Brasil, 7°14'56.3"S 59°58'42.7"W, 08 out. 2016, O. Oyakawa, W. Ohara, M. Pastana & T. Teixeira.

Rio Tapajós. MZUSP 31762, 1(42.8 mm CP), rio Tapajós, estrada entre Jacareacanga e Itaituba, Pará, Brasil, 10 agos. 1984, M. Goulding.

***Bario forestii*:** LBP 9757, 43(17, 28.7–30.2 mm CP), rio Papagaio, Nova Andradina, Mato Grosso do Sul, Brasil, 21°53'48"S 53°47'25.1"W; 22 jul. 2010. R. Devidé, M.F. Pazian, F.F. Roxo, G.J.C. Silva. LBP 3739, 22(5, 24.8–31.3 mm CP), lagoa marginal rio Negro, Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil, 19°34'54.6"S 56°15'16.5"W; 03 mar. 2006. C. Oliveira & L.H.G. Pereira. LBP 3739, 22(5, 24.8–31.3 mm CP), lagoa marginal rio Negro, Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil, 19°34'54.6"S 56°15'16.5"W; 03 mar. 2006. C. Oliveira & L.H.G. Pereira.

***Bario australis*:**

Rio Paraguai. LBP 28570, 1(41.2 mm CP), ribeirão dos veados, afluente do rio Taquari, Coxim, Mato Grosso do Sul, Brasil, 18°25'24.4"S 54°50'05.9"W, 16 agos. 2010, C. Oliveira, G.J.C. Silva, M. Taylor & M. Alexandrou. MZUSP 59317 156(4, 34.2–40.7 mm SL) (1, C&S 34.2 mm CP), rio Taboco, bacia do rio Paraguai, Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil, 20°24'43.2"S 55°23'1.32"W; 30 Aug 1998, A. Machado & S.B. Chernof. MZUSP 59875, 10(35.5–49.9 mm CP), riacho, Corguinho, Mato Grosso do Sul, Brasil, 19°50'31.4"S 54°50'23.8"W, 28 agos. 1998, O. Oyakawa, N. Menezes, A. Zanata, F. Lima.

Rio Madeira. UFRO 17024, 10(5, 32.6–41.2 mm CP), reserva do alojamento da mineradora Serra da Borda, Pontes e Lacerda, Mato Grosso, Brasil, 15°21'00"S 59°14'52"W; 30 jul. 2015, J. Lima Filho. MZUSP 115631, 16(30.2–37.9 mm CP), rio Guaporé, Vila Bela da Santíssima Trindade, Mato Grosso, Brasil, 15°0'18,7"S 59°57'19"W, 28 agos. 2013, O. Oyakawa, F. Dagosta, M.M. Marinho & P. Camelier.

Alto rio Paraná. LBP 6765, 3(23.3–52.8 mm CP), ribeirão Cubatão, São Paulo, Marapoama, 21°11'35"S 49°07'22"W, R. Devidé, L.H.G. Pereira, F.F. Roxo, J. Henrique. LBP 6285, 6(24.2–32.2 mm CP), córrego Barbacena, Pontal, São Paulo, Brasil, 20°56'49.5" S 48°08'51.9", 16 maio 2008, C. Oliveira, H.F. Santos, A.C. Aquino & G.J.C. Silva. LBP 9736, 2(36.8–41.6 mm CP), rio São Bentinho, Nova Andradina, Mato Grosso do Sul, Brasil, 21°58'49.7"S 53°42'52.0"W, 21 jul. 2010, R. Devidé, M.F. Pazian, F.F. Roxo & G.J.C. Silva. LBP 10206, 10(23.1–58.4 mm CP), córrego sem nome, Três Lagoas, Mato Grosso do Sul, Brasil, 20°42'21.0"S 51°45'23.6"W, 27 jun. 2009, C. Oliveira, O.T. Oyakawa, F.F. Roxo & R. Britzke. LBP 10195, 5(41.1–51.3 mm CP), 20°35'30.9"S 51°45'42.9"W, 27 jun. 2009, C. Oliveira, O.T. Oyakawa, F.F. Roxo & R. Britzke. LIRP 1632, 3(51.7–59.0 mm CP), São Paulo, Brasil, upper Rio Paraná basin, 22°36'23"S 52°15'8"W, 27 set. 2000, L. Casatti & H.F. Santos. LIRP 3019, 3(30.1–45.4 mm CP), lagoa do Diogo, lagoa marginal do rio Mogi-Guaçu, reserva Ecológica de Jataí, Luiz Antonio, São Paulo, Brasil, 21°37'26"S 47°48'22"W, 10 out. 2010, alunos do curso de ciências biológicas, FFCLIRP-USP.

Rio Uruguai. MCP 27464, 5(32.1–48.5 mm CP), Córrego afluente do rio Inhacunda, São Francisco de Assis, Rio Grande do Sul, Brasil, 29°32'25.9"S 55°7'45.9"W, J. Silva, V. Bertaco, C. Lucena & E. Pereira. MZUSP 63924, 6(47.2–55.5 mm CP), rio Inhacundá, São Francisco de

Assis, Rio Grande do Sul, Brasil, 29°32'51.10"S 55°08'10.85"W, 08 maio 1999, M. Pinna, R. Reis, V. Bertaco.

Rio Paranaíba. LBP 7309, 8(34.7–52.1 mm CP), rio Paranaíba, Araguari, Minas Gerias, Brasil, 18°25'28.3"S 48°03'54.9"W, C. Oliveira, L.H.G. Pereira, G.A. Lopes & M.F. Pazian.

Bario oligolepis:

Espécie 1. Rio Amazonas. MZUSP 17566, 2(64.4–67.8 mm CP), igarapé Açu, Benjamin Constant, Amazonas, 20 out. 1968, Expedição Permanente a Amazônia. MZUSP 82456, 2(47.8–62.4 mm CP), igarapé afluente do rio Javari, Reserva Natural de Palmari, Atalaia do Norte, Amazonas, Brasil, 4°17'19"S 70°17'36.006"W, jun. 2003, L.F. Silveira. LBP 22446, 1(51.7 mm CP), quebrada La Ponderosa, Leticia, Colômbia, 04°08'24.4"S 69°56'53.4"W, 11 nov. 2016, C. Oliveira, B.F. Melo, J.M. Marin & G. Aricari. LBP 22409, 2(47.1–51.0 mm CP), Quebrada Pichuna, Leticia, Colômbia, 04°07'33.8"S 70°00'28.8"W, 10 nov. 2016, C. Oliveira, B.F. Melo, J.M. Marin & G. Aricari.

Espécie 2. Rio Branco. MZUSP 30313, 7(37.5–59.8 mm CP), igarapé, Corredeira do Bem Querer, Roraima, Brasil, 09 jan. 1984. M. Goulding.

Espécie 3. Rio Negro. LBP 7068, 1(55.4 mm CP), igarapé Miuá, São Gabriel da Cachoeira, Amazonas, Brasil, 00°06.308"S 66°52.585"W, 14 agos. 2008, C. Oliveira, G.J.C. Silva, M. Alexandrou & M. Taylor.

Espécies 4. Venezuela. LBP 2317, 2(30.7–36.4 mm CP), rio Parguaza, Cedeño, estado Bolívia, 05°53'29,9"N 67°24'14.1"W, 19 jul. 2004, C. Oliveira & M.C.C. de Pinna. LBP 9969, 1(41.1 mm CP), Laguna Castilheiro, Caicara del Orinoco, 7°37'53.2"S 66° 09'14.6"W, 20 mar. 2010, C. Oliveira & V.A. Tagliacollo. MZUSP 77813, 1(33.1 mm CP), Waki caño vários km a jusante de El Playon, estado Bolívar, 6°22'8.998"N 64°34'7.99"W, 03 dez. 2000, P. Williok et al. MZUSP 96501, 1(30.7 mm CP), Cedeño, estado Bolívia, 19 jul. 2004, M.C.C. de Pinna & C. Oliveira.

Espécie 7. Alto Amazonas. Equador. MZUSP 54494, 2(44.5–51.09 mm CP), rio Yasuní, confluencia el rio Jatuncocha, 0°59'37.4"S 75°25'58.4"W, 18 julho 1996, R. Barriga & K. Galacatos. MZUSP 38706, 3(52.3–59.8 mm CP), afluente do rio Payamino, cerca de 6 km acima da foz do rio Tatapishco, bacia rio Napo, Napo, 0°20'2"S 77°18'0"W, 14 nov. 1981, D. Stewart & M. Ibarra.

Espécie 8. Rio Juruá. LBP 4098, 9(35.1–46.6 mm CP), rio Japim, afluente do rio Moa, (bacia do rio Juruá), Mâncio Lima, Acre, Brasil, 07°34'28.8'S 72°55'24.9'W, 24 out. 2006, C. Oliveira, R.C. Benine, C. S. I. Silva. Saci 2015102703, 2(55.5–69.8 mm CP), igarapé Pedernal, que fica logo acima da cachoeira Pedernal, afluente do rio Moa, Parque Nacional da Serra do Divisor, Acre, Brasil, 07°30'23.5"S 73°42'05.4"W, 27 out. 2015, M. Toledo-Piza, K. M. Leite & G. Mattox. SACI 2015102901, lago (meandro abandonado) do rio Moa, (Lago do Pé da Serra), cerca de 10 minutos abaixo da base do ICMBio, PNSD, Acre, Brasil, 07°27'10.0"S 73°39'0.8"W, 24 out. 2015, M. Toledo-Piza & K.L. Mathubara.

Espécie 9. Baixo rio Tapajós. 16147, 7(6, 54.4–66.7 mm CP), igarapé, Itaituba, Pará, Brasil, 04°37'28.0"S 56°23'18.0"W, 16 jun. 2012, R. Britzke & equipe CEPTA. LBP 16255, Igarapé

São José, Itaituba, Pará, Brasil, 04°30'28.3"S 56°17'23.0"W, 14 jun. 2012, Britzke & equipe CEPTA. LBP 17494, 4(34.8–67.7 mm CP), igarapé na beira da BR 230, Itaituba, Pará, Brasil, 04°30'20.6"S 56°16'58.7"W, 16 jun. 2012, R. Britzke & Equipe CEPTA. MZUSP 97553, 15(36.7–48.2 mm CP), tributário do rio Jamanxim, na ponte da BR 163, Novo Progresso, Pará, Brasil, 07°21'08"S 55°17'45"W, 24 out. 2007, J. Birindelli, Sousa, A. Netto-Ferreira, L. Sabaj-Perez. MZUSP 119483, 3(2, 59.9–64.5 mm CP), igarapé II afluente rio Jamanxim na Vicinal Zanqueti, próximo do distrito de Castelo dos Sonhos, Pará, Brasil, 8°23'46.356"S 55°23'32.1"W, 07 agos. 2015, M. Pastana.

Espécie 10. Rio Arinos. MNRJ 23208, 3(19.1–48.0 mm CP), córrego Caju Doce, São José do Rio Claro, Mato Grosso, Brasil, 13°22'53"S 56°47'59"W, 18 jan. 2002, P. Buckp, A. Aranda, F. Silva & C. Figueiredo. MZUSP 30285, 4(41.8–43.7 mm CP), rio Arinos, Porto dos Gauchos, Mato Grosso, Brasil, 11°32'0.002"S 57°24'0.007"W, 28 agos. 1984, M. Goulding, L.P. Portugal & M.L. Carvalho. MZUSP 77710, 8(34.5–41.0 mm CP), rio Juruena, Juruena, Mato Grosso, Brasil, 10°25'59.9"S 58°19'59.9"W, 26 jul. 1997, F.A. Machado *et al.* MZUSP 119643, 1(34.1 mm CP), igarapé afluente do rio Arinos, Nova Mutum, Mato Grosso, Brasil, 13°21'35.784"S 56°35'8.304"W, 14 agos. 2015.

Espécie 11. Rio Madeira. INPA 20897, 2(45.7–59.1 mm CP), rio Guaporé, sob macrófitas, 5 km acima da cidade, Costa Marques, Rondônia, Brasil, 12°26'42"S 64°13'37.999"W, 20 nov. 1983, G.M. Santos. INPA 52166, 1 (51.6 mm CP), rio Guaporé, Costa Marques, Rondônia, Brasil, 12°26'42.0"S 64°13'38.0"W, 10 nov. 1983, G.M. dos Santos. LBP 10913, 1(48.3 mm CP), rio Jaci Paraná, Porto Velho, Rondônia, Brasil, 09°15'23.3"S 64°23'13.6"W, 20 agos. 2010, C. Oliveira, M. Alexandrou, G.J.C Silva & M. Taylor. LBP 11004, 14(32.1–53.0 mm CP), rio da laje, Guajará Mirim, Rondônia, Brasil, 10°26'23,5"S 65°20'34,1"W, 21 agos. 2010, C. Oliveira, M. Alexandrou, G.J.C Silva & M. Taylor. LBP 15633, 1(61.5 mm CP), Rio Jatobá, Vila Bela da Santíssima Trindade, Mato Grosso, Brasil, 14°53'02.9"S 60°02'57.5"W, 12 abr. 2012, W.P. Troy. UFRO 12310, 1(48.4 mm CP), rio Bugres, fazenda Tatu, Pontes e Lacerda, Mato Grosso, Brasil, 14°51'27.77"S 59°16'54.44"W, 12 dez. 2011, W.M. Ohara. UFRO 12655, 7 (4, 42.2–56.5 mm CP), rio Cascata, estrada para o vale das cachoeiras, Vila Bela da Santíssima Trindade, Mato Grosso, Brasil, 14°55'43.98"S 60°1'13.61"W, 14 dez. 2012, W.M. Ohara. UFRO 14628, 9(4, 45.5–48.3 mm CP), rio Bugres, Pontes e Lacerda, Mato Grosso, Brasil, 14°51'27.77"S 59°16'54.44"W, 12 dez. 2011, W.M. Ohara. **Rio Paraguai.** LBP 10766, 6(5, 35.5–74.2 mm CP), ribeirão dos veados, afluente do rio Taquari, Coxim, Mato Grosso do Sul, Brasil, 18°25'24.4"S 54°50'05.9"W, 16 agos. 2010, C. Oliveira, G.J.C. Silva, M. Taylor & M. Alexandrou. MZUSP 90270, 8(31.2–55.3 mm CP), rio Sepotuba (trecho inferior), Cáceres, Mato Grosso, Brasil, 15°55'23.1"S 57°39'01.3"W, mar. 2006, H.A. Britski *et al.* LBP 5073, 29(34.5–50.6 mm CP), baía do Caiçara, Cáceres, Mato Grosso, Brasil, 16°03'11.3"S 57°48'32.0"W, 25 fev. 2006, W. P. Troy.

Espécie 13. Rio Teles Pires. MZUSP 96751, 21(30.8–50.8 mm CP), tributário da margem direita do rio Peixoto de Azevedo, Peixoto de Azevedo, Mato Grosso, Brasil, 10°17'14"S 054°50'57"W, 17 out. 2007, J. Birindelli *et al.* MZUSP 96201, 50(10, 38.9–51.3 mm CP), enseada no lado direito da ilha do rio Teles Pires, Paranaíta, Mato Grosso, Brasil, 09°27'31"S 056°29'19"W, L.M Sousa & A.L. Netto-Ferreira. MNRJ 24576, 3(23.7–29.3 mm CP), rio ribeirão Tupi, bacia do rio Teles Pires, Carlinda, Mato Grosso, Brasil, 10°4'44"S 55°35'44"W, 23

jan. 2002, P. Buckp, A. Aranda, F. Silva, C. Figueiredo. MNRJ 34943, 20(19, 49,2-62,5 mm CP), a montante da Ilha do Miltinho (sub-drenagem Teles-Pires), igarapé, Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil, 10°7'34"S 56°30'25"W, 20 fev. 2008, R. Silvano, F. Becker & G. Hallwass.

Espécie 15. Médio rio Xingu. LBP 17693, 1(45.4 mm CP), igarapé na PA279, São Felix do Xingu, Pará, Brasil, 06°44'29.5"S 51°49'52"W, 18 maio 2013, R. Britzke & M. Martins.

Espécie 16. Baixo rio Xingu. LBP 16620, 17(11, 35.6–49.9 mm CP), igarapé Ressaca, Altamira, Pará, Brasil, 03°36'36.5"S 51°56'53"W, 30 set. 2012, C. Oliveira, R. Britzke, L.M. Souza & D.A. Bastos. MZUSP 119356, 1(35.6 mm CP), igarapé na BR- 163, afluyente Curuá, distrito de Castelo dos sonhos, Altamira, Pará, Brasil, 8°10'28.236"S 55°7'36.192"W, 08 agos. 2015, O. Oyakawa, W. Ohora & M. Pastana.

Espécie 17. Rio Corantjin. Suriname. MZUSP 38264, 21(31.3–60.3 mm CP), riacho afluyente do Dalbana cerca de 3 Km acima de Dalbana, distrito de Nickerie, 15 agos 1980, R. Vari. MZUSP 38229, 2(1, 57.5 mm CP), um pequeno riacho perto de Mataway (Corantijn) Nickerie, 5°08'N 57°18'W, 18 maio 1980, H. M. Madarie.

Espécie 18. Baixo rio Tocantins. LBP 17658, 4(3, 30–50.5 mm CP), igarapé sem nome, Marabá, Pará, Brasil, 05°34'29.9"S 49°04'43"W, 15 maio 2013, R. Britzke & M. Martins. MZUSP 30312, 29(10, 32.0–60.9 mm CP), igarapé do Pojuca, rio Itacaiúnas, Caldeirão, Pará, Brasil, 05°52'00"S 050°32'00"W, 15 out. 1983, M. Goulding. MZUSP 18193, 55(15, 37.8–65.8 mm CP), igarapé, Tucuruí, Pará, Brasil, 03°46'00"S 049°41'00"W, 22 set. 1970, Expedição Permanente a Amazônia. MZUSP 106828, 5(26.9–45.5 mm CP), afluyente do rio Verde sob ponte em estrada de terra, Canaã dos Carajás, Pará, Brasil, 06°11'56"S 49°54'53"W, 23 jun. 2010, M. Loeb & H. Varella.

Espécie 19. Alto rio Araguaia. LBP 16106, 16(28.6–71.9 mm CP), afluyente do rio das Morte, Barra do Garças, Mato Grosso, Brasil, 15°42'43.3"S 52°15'32.1"W, 06 agos. 2012, C. Oliveira, M. Taylor, G.H.C. Silva & J.H.M. Martinez. LBP 5693, 26(18.1–62 mm CP), Córrego Taquaral, Barra do Garças, Mato Grosso, 15°40.678'S 52°17.863"W, 21 jan. 2008, C. Oliveira, J. C.O. Santana, P.C. Vênere, M. Taylor & M. Alexandrou. BP 1498, 12(43.2–63.1 mm CP), Córrego fundo, Barra das Garças, Mato Grosso, Brasil, 15°52'40.4" S 52°18'15.5"W, 10 dez. 2002, C. Oliveira et. LIRP 3922, 1(61.1 mm CP), córrego Ferradura, na estrada entre Primavera do Leste e a Vila União, Primavera do Leste, Mato Grosso, Brasil, 15°20'51"S 54° 23'22"W, 24 jan 2002, Equipe Pronex-Lirp. DZSJRP 13436, 4(56.1–61.6 mm CP), córrego da Pitombai, Barra do Garça, Maton Grosso, V. Garutti & F. Cals. **Alto rio Xingu.** LBP 15993, 1(32.4 mm CP), rio Culuene, Gaucha do Norte, Mato Grosso, Brasil, 13° 30'57.8"S 53° 06'39.0"W, 03, agos. 2012, C. Oliveira, M. Taylor, G.H.C. Silva & J.H.M. Martinez. LBP 15710, 2(1, 30.2 mm CP), córrego do Gato, afluyente Suía-Missu, Ribeirão Cascalheira, Mato Grosso, Brasil, 13°09'13.6"S 51° 55'18.7"W, 30 jul. 2012, C. Oliveira, M. Taylor, G.H.C. Silva, J.H.M. Martinez. ZUSP 91827, 2(36.2–39.7 mm CP), rio Sucuri, afluyente do rio Culuene, Paranatinga, Mato Grosso, Brasil, 13°55'40"S 053°17'10"W, 21 agos. 2006, J.L. Birindelli, L.M. Souza & A. Akama. MZUSP 91708, 4(39.1–46.7 mm CP), lagoa a margem esquerda do rio Culuene, Paranatinga, Mato Grosso, Brasil, 14°37'56.0"S 53°51'25.2"W, 21 agos. 2006, J.L. Birindelli, L.M. Souza & A. Akama.

Espécie 20. Rio Ucayali. Peru. LBP 17758, 1(36.9 mm CP), igarapé, bacia do rio Ucayali, Pucallpa, província Coronel Portillo, 08°32'47.8"S 74°48'14.7"W, 17 jun 2013, R. Britzke. LBP 17805, 1(30.2 mm CP), quebrada Agua Blanca, Campo Verde, 08°35'44.2"S 74°48'04.3"W, 18 jun. 2013, R. Britzke. LBP 17737, quebrada sem nome, Campo Verde, 08°32'47.8"S 74°48'14.7"W, 17 jun. 2013, R. Britzke. LBP 17766, 2 (26.3–38.1 mm CP), quebrada sem nome, Campo Verde, 08°30'14"S 74°48'21.8", 17 jun. 2013, R. Britzke. LBP 17781, 3(2, 36.6–41.7 mm CP), igarapé, drenagem rio Ucayali, Huánuco, província Huánuco, 08°39'57.2"S 74°48'06.7"W, 18 jun. 2013, R. Britzke.

Espécie 21. Rio Negro. LBP 6957, 6(23.1–39.0 mm CP), igarapé Nobula Uba, São Gabriel da cachoeira, Amazonas, Brasil, 00°00'32.1"S 66°55'35.7"W, 09 agos. 2008, C. Oliveira, M. Taylor, M. Alexandrou & J.I.R. Ponto. LBP 6987,8(27.5–42.4 mm CP), igarapé Demuriari, afluente do rio Negro, São Gabriel da Cachoeira, Amazonas, Brasil, 00°01'1.99"S 67°10'1.92"W, 10 agos. 2008, C. Oliveira, M.I. Taylor & M. Alexandrou. LBP 7032, 4(33.9–39.7 mm CP), igarapé Ya-Mirim, São Gabriel da Cachoeira, Amazonas, Brasil, 00°16'25.9"S 66°38'36.5"W, 12 agos. 2008, C. Oliveira, M. Taylor & M. Alexandrou.

Espécie 23. Rio Jamari. LBP 10836, 1(33.3 mm CP), rio Jamari, Ariquemes, Rondônia, Brasil, S 10°15'54.4"S 63°18'18.9"W, 19 agos. 2010, C. Oliveira. LBP 10852, 1(35.2 mm CP), Córrego Centrinho, Ariquemes, Rondônia, Brasil, 10°15'03.4"S 63°15'07.7"W, 19 agos. 2010, C. Oliveira, M. Alexandrou, G.J.C Silva & M. Taylor. MZUSP 82241, 2(51.1–55.4 mm CP), sob a ponte do rio Jamari, Montenegro, Rondônia, Brasil, 10°17'57.4"S 63°14'24.9"W, 07 jul 2001, S. Favorito. NUP 335, 2, 8(35.2–57.2 mm CP), rio Jamari, Ariquemes, Rondônia, Brasil, 10° 5'31.45" S 62°59'38.49" W, 1 abr. 2017, J. R. Gonçalves.

Espécie 24. Rio Jaci Paraná. LBP 32923, 21(35.2–58.9 mm CP), rio Jaci Paraná, Serra dos Pacaás Novos, Campo Novo de Rondônia, Rondônia, 10°48'30"S 63°44'8"W, W.M. Ohara & D. Hungria.

Espécie 25. Rio Tocantins. LBP 15334, 4(35.5–50.6 mm CP), rio Cachoeira de Taquarussu, Palmas, Tocantins, 10°18'56.6"S 48°13'00.3"W, 05 jul. 2012, V. Tagliacollo. LBP 19119, 1 (55.8 mm CP), rio Uburixama, Montividiu do Norte, Goiás, Brasil, 13°14'4.2"S 48°39'56.0"W, 06 agos. 2014, C. Oliveira, M. Taylor, B.F. Melo & G.C. Silva. LBP 19270, 5(41.4–56.4 mm CP), córrego Kavanca, Nova Roma, Goiás, Brasil, 13°41'34.6"S 46°57'44.3"W, 15 agos. 2014, C. Oliveira, M. Taylor, B.F. Melo & G.C. Silva. MZUSP 45225, 7(23.7–52.6 mm CP), rio Água Fria, Araguaçu, Tocantins, Brasil, 12°45'00"S 049°55'00"W, 21 fev. 1993, F.C.T. Lima *et al.* MZUSP 52117, 15(40.8–53.7 mm CP), rio Água fria, Araguaçu, Tocantins, 12°42'59.998"S 49°55'0.005"W, 06 jul. 1997, F.C.T. Lima, N.A. Furlani, L.S. Rocha & A. Aleixo.

Espécie 26. Rio Purus. LBP 10604, 14(2 d&c, 31.4–42.6 mm CP), açude Recanto do Socó, Rio Branco, Acre, 09°56'31.0"S 67°53'46.2"W, 09 nov. 2009, W. Aiache, F. Daichagas & R. Devidé. LBP 12033, 6(57.2–61.7 mm CP), rio Purus, Lábrea, Amazonas, 07°56'110"S 63°27'353"W, 24 agos. 2010, C. Oliveira *et al.* LBP 18576, 13(39.2–60.4 mm CP), igarapé sem nome, Xapuri, Acre, Brasil, S 10°40'02.6"S 68°15'45.6"W, 08 nov. 2013, R. Devidé *et al.* **Rio Jari.** LBP 5304, 1(32.9 mm CP), igarapé Uiratapura, Laranjal do Jari, Amapá, Brasil, 00°34'03"S 52°34'41"W, 11 out. 2007, M. Carvalho, A. Akama, C. Oliveira & F. Marques. LBP 5336, 1(31 mm CP), rio Jari,

Almerim, Pará, Brasil, 00°38'24"S 52°31'31"W, 12 out. 2007, M. Carvalho, A. Akama, C. Oliveira & F. Marques. LBP 5403, 1(28.2 mm CP), Igarapé Taira, Almerim, Pará, 00°37'24"S 52°32'49"W, 15 out. 2007, A. Akama & C. Oliveira. LBP 20437, 1(40.8 mm CP), igarapé sem nome, Almeirim, Pará, Brasil, 00°45'07.3"S 52°34'30.6"W, 24 set. 2015, C. Oliveira & B.F. Melo. LBP 20444, 1(42.7 mm CP), igarapé sem nome, afluente do rio Jari, Almerim, Pará, 00°49'03.9"S 52°35'08.2"W, 24 set. 2015, C. Oliveira, B.F. Melo. LBP 20966, 2(43.6–47.4 mm CP), igarapé sem nome, Almeirim, Pará, Brasil, 00°49'03.9"S 52°35'08.2"W, 25 nov. 2015, C. Oliveira & B.F. Melo. **Rio Oiapoque.** LBP 21139, 6(27–42.2 mm CP), igarapé sem nome, Oiapoque, Amapá, Brasil, 03°26'03.6"N 51°43'40.8"W, 01 dez. 20015, C. Oliveira & B.F. Melo. LBP 21124, 4(3, 32,7-47,7 mm CP), igarapé do Quatorze, Oiapoque, Amapá, 03°45'10.4"N 51°46'57.3"W, 30 nov. 2015, C. Oliveira & B. Melo. **Rio Guamá.** LBP 9119, 5(46.9–77.3 mm CP), igarapé Açu, Capitão Poço, Pará, Brasil, 01°34'28.3"S 47°02'03.5"W, 04 fev. 2010, C. Oliveira & R. Britzke. LBP 9146, 2(51.8–54.7 mm CP), igarapé das Pedras, Ourém, Pará, 01°32'43.6"S 47°07'32.2"W, 05 fev. 2010, C. Oliveira & R. Britzke. MZUSP 17984, 38(20, 28.7–43.0 mm CP), igarapé Ribeira, perto de Abadajós, bacia do rio Capim, Badajós, Pará, 2°30'11.567"S 47°44'20.087"W, 20 agos. 1970, Expedição Permanente a Amazônia.

Moenkhausia sanctaefilomenae:

Rio Parnaíba. LBP 5541, 49(33.1–45.4 mm CP), brejo das ovelhas, Santa Filomena, 09°08'04"S 45°53'48"W; 27 nov. 2007, C. Oliveira & R. Benine. LBP 5578, 28(26.1–44.6 mm CP), afluente do rio Parnaíba, Santa Filomena, Piauí, Brasil, 09°09'51"S 45°51'15"W, 28 nov. 2007, C. Oliveira & R.C. Benine. LBP 5593, 2(33.2–56 mm CP), Brejo da Aldeia, Balsas, Maranhão, Brasil, 07°46'16"S 46°07'45"W, 28 nov. 20007, C. Oliveira & R. Benine. MZUSP 61160, 14(25.8–42.9 mm CP), rio Uruçuí-Una, Estação Ecológica Uruçuí-Uma, Uruçuí, Piauí, Brasil, 01 fev. 2000, C. Nogueira & P. Valdujo.

Rio São Francisco. LBP 8275, 10(31–50.3 mm CP), rio Verde Grande, Jaíba, Minas Gerais, 15°19'24.2"S 43°39'52.5"W, 13 out. 2009, C. Oliveira, G.J.C. Silva, F.F. Roxo & T.N.A. Pereira. LBP 10400, 2(32.3–47.4 mm CP), córrego Joaninha, Burutizeiro, Minas Gerais, Brasil, S 17°15'00.2' W 46°25'21.8", 15 jul. 2010, J.A. Senhorini, J.O. Junqueira & M. Mehanna. LBP 10472, 4(38.9–49.4 mm CP), lagoa marginal, Paracatu, 17°15'00.2"S 46°25'21.8"W; 29 set. 2010. J.A. Senhorini, J.O. Junqueira & M. Mehanna. LBP 10354, 5(34.9–59.6 mm CP), lagoa Maria Joana, Pirapora, 17°19'29.9"S 44°45'57.2"W; 14 jul. 2010. J.A. Senhorini, J.O. Junqueira & M. Mehanna.

Rio do Sono, bacia do rio Tocantins. MZUSP 75379, 7(25.2–60.3 mm CP), Mateiros, Tocantins, Brasil, expedição ao Jalapão, J.C. Nolasco. MZUSP 98609, 1(60.1 mm CP), riacho na estrada para Materios, Mateiros, Tocantins, Brasil, 10°31'00"S 046°52'46"W, 02 mar. 2001, O.T. Oyakama, A. Akama, V. Garutii & J.C. Nolasco. **Bacia do rio São Francisco próximo a bacia do rio Tocantins.** LBP 19263, 7(29.7–51.4 mm CP), rio Galheiro, São Desidério, 12°58'42.7"S 45°59'28.7"W; 15 agos. 2014. C. Oliveira, M. Taylor, B. Melo & G. C. Silva. MZUSP 83789, 1(28.2 mm CP), rio Preto, no povoado de Cacimbinhas, Formosa do Rio Preto, Bahia, Brasil, 11°08'28"S 046°04'01"W, 15 nov. 2002, C.R. Moreira & J.C. Nolasco. MZUSP 83829, 1(44.3

mm CP), rio Sapão, Formosa do rio Preto, Bahia, Brasil, 11°01'02"S 045°31'50"W, 19 nov. 2002, C.R. Moreira & J.C. Nolasco.

***Moenkhausia andrica*. Parátipos:**

Rio Papagaio. MZUSP 121667, 34(18.4–53.3 mm CP), rio Papagaio, afluyente do rio Juruena, no Balneário Pubi, Sapezal, Mato Grosso, Brasil 13°33'42.4"S 58°24'26"W, 12 agos. 2015, F. Dagosta, M.M. F. Marinho, P. Camelier & V. Giavanetti. **Rio do Sangue.** LBP 19531, 5(44.6–67.4 mm CP), rio Membeca, Campo Novo do Parecis, Mato Grosso, Brasil, 13°36'43.8"S 57°51'28.3"W, 19 agos. 2014, W.P. Troy, C.N. Nascimento, T. Paia & J.S. Silva. MZUEL 8741, 1(29.8 mm CP), rio Norato, Brasnorte, Mato Grosso, Brasil, 12°15'19.4"S 57°58'12.8"W, 31 agos. 2013, J. Birindelli, A. Claro. MZUEL 9281, 3(29.6–50.3 mm CP), Rio Tenente Noranha, Brasnorte, Mato Grosso, Brasil, 12°06'22.2"S 58°11'12.6"W, 01 set. 2013, J. Birindelli, A. Claro.

Rio Arinos. LBP 28481, 20(39.5–64.8 mm CP), rio Arinos, afluyente do rio Juruena, Diamantino, Mato Grosso, 14°09'09.20"S 57° 19'10"W, 4 out. 2018, W. Troy. MZUSP 61096, 6(34.9–47.9 mm CP), ribeirão Criquiri, rio dos Patos, Nova Mutum, Mato Grosso, Brasil, 13°50'60"S 56°11'0"W, 19 February 2000, equipe de Pós-Graduação, Seção de Peixes – MZUSP. MZUSP 120144, 6(35.0– 48.6 mm CP), córrego rio Claro, entre Nova Mutum e Campo Diamantino, Mato Grosso, Brasil, 13°51'23.2"S 56°41'33.5"W, 11 agos. 2015, F. Dagosta, M.M. Marinho, P. Camelier & V. Giovanetti.

***Moenkhausia cosmops*.** LBP 8164, 1(37.9 mm CP), rio Verde, afluyente do rio Juruena, Campo Novo do Parecis, Mato Grosso 13°37'02"S 58°00'50"W, 16 fev. 2002, W. Troy. LBP 8522, 6(4, 22.2–25.5 mm CP), rio Verde, afluyente do rio Juruena, Campo Novo do Parecis, Mato Grosso, Brasil, 13°37'11.3"S 58°00'49.2"W, 21 jun. 2009. R. Devidé, V.P. Cruz, G.J.C. Silva, W. Troy. LBP 20898, 1(43.2 mm CP), rio Verde, afluyente do rio Juruena Campo Novo do Parecis, Mato Grosso, Brasil, 13°38'34.7"S 57°1'3.2"W, 30 out. 2015, B.F. Melo; G.S.C. Silva, C. Araya, N.T.B. Mateussi. LBP 20910, 3(28.5–49.3 mm CP), rio Papagaio, afluyente do rio Juruena, Sapezal, Mato Grosso, Brasil, 13°33'39.6"S 58°24'25.5"W, 31 out. 2015, B.F. Melo; G.S.C. Silva, C. Araya, N.T.B. Mateussi. LIRP 8181, 6(2, 43.1–52 mm CP), PHC Cidezal, Sapezal, Mato Grosso, Brasil, 13°22'29"S 59°00'57"W, R. Ilário. MUSP 117128, 4(28.4–49.2 mm CP), igarapé depois do rio Sacre, afluyente do rio Juruena, Sapezal, Mato Grosso, Brasil, 13°37'32.6"S 58°17'38.7"W, 11 nov. 2014, F. Dagosta, W. Ohara & V. Giovannetti. MZUSP 12067, 4(30.4–37.2 mm CP,) rio Papagaio, afluyente do rio Juruena Sapezal, Mato Grosso, Brasil, 13°33'42.4"S 58°24'26"W, 12 agos. 2015, F. Dagosta, M.M.F. Marinho, P. Camelier & V. Giavanetti.

***Moenkhausia lineomaculata*.** MZUSP 106325, parátipo, 1(33.7 mm CP), rio Juruena, Sapezal, Mato Grosso, 13°38'23.0"S 59°0'28.0"W, 24 set. 2006, K. de Silmon. LIRP 15419, 20(10, 17.4–29.6 mm CP), rio Juruena, PHC Cidezal, Sapezal, Mato Grosso, Brasil, 30 jun. 2010, R. Ilário. LIRP 15421, 7(2, 24.1–31.8 mm CP), rio Juruena, PHC Parecis, Sapezal, Mato Grosso, Brasil, 13°4'43"S 58°58'5.9"W, 24 maio 2010, R. Ilário.

Moenkhausia uirapuru. MZUSP 115991, parátipos, 42(3, 38.2–53.8 mm CP), afluyente do rio Galera, bacia do rio Guaporé, Nova Lacerda, Mato Grosso, Brasil, 14°25'00" S 59°27'17" W, W.M. Ohara, F.G. Vieira, D.B. Hungria & J.A. Filho.

ASAP Results

ASAP Web results

date:2022-10-31T10:28:21
 input file:tese_dezembro_2022_sem_raiz.fasta
 nb of sequences:204
 length of seqs:589
 subst. model:JC69 Jukes-Cantor
 recurs split pval:1.000000e-02

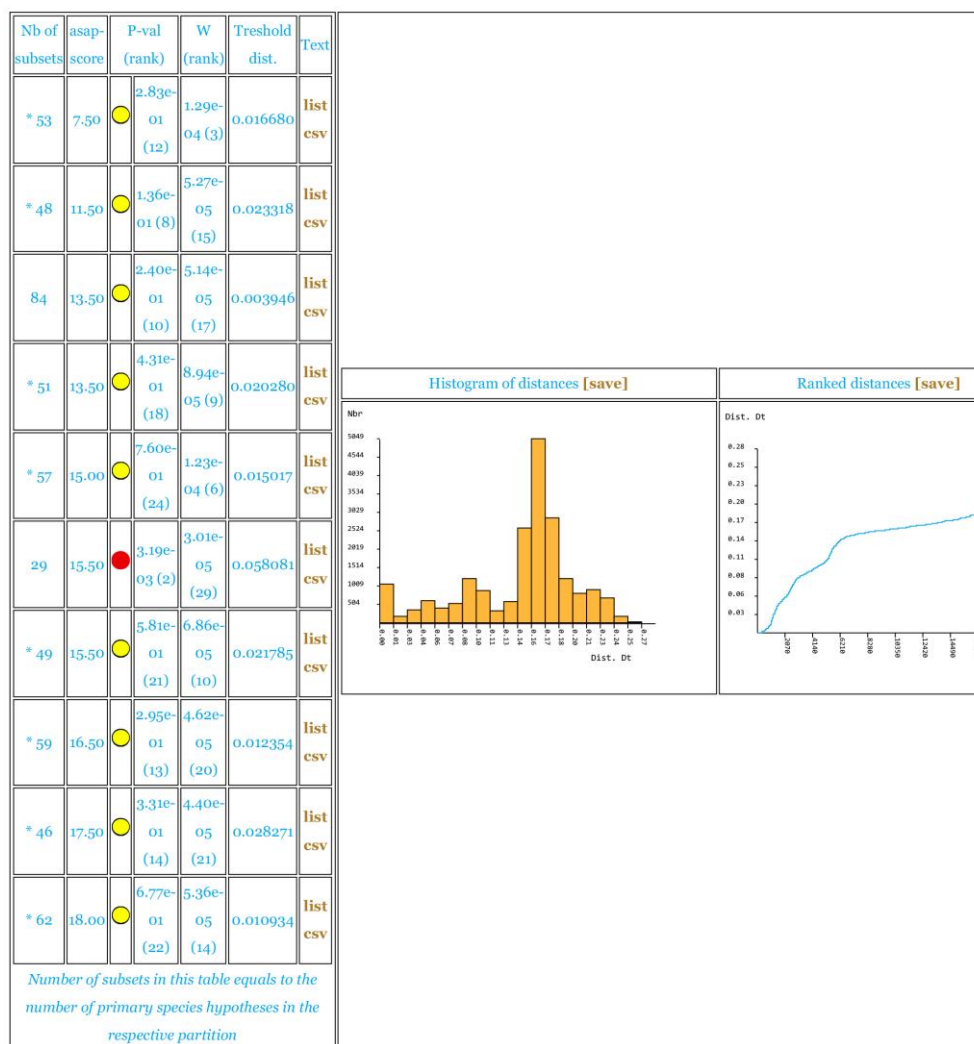
Split probability: 0.010000 sequence length: 589

Save Spart text File [here](#)

Save Spart XML File [here](#)

10 best partitions found by ASAP (see [FAQ](#) for more details)

The lower the score, the better the partition



<https://bioinfo.mnhn.fr/abi/public/asap/temp/11016.1804289383/results.html>

1/7

Figura suplementar 1. As dez melhores partições recuperadas pela análise Assemble Species by Automatic Partitioning-ASAP, informando o número de espécies para cada partição e os valores de asap- score e p.

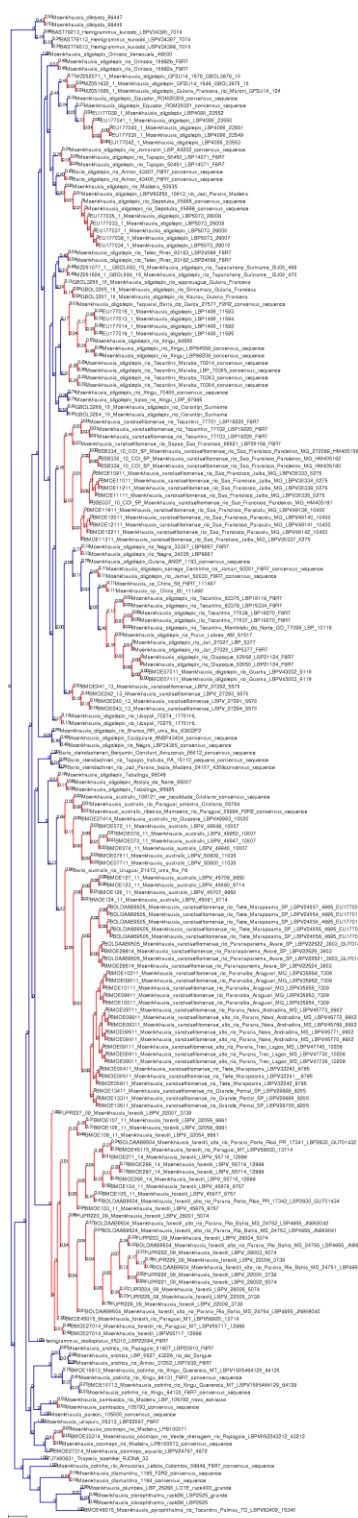


Figura suplementar 2. Resultado da análise Poisson Tree Process-PTP, utilizando a árvore de Verossimilhança.

Capítulo 2

**Filogenia e diversificação das espécies do gênero *Bario* Myers, 1940
(Characiformes: Characidae) utilizando os elementos
ultraconservados do genoma**

Resumo

Characidae é uma família de peixes neotropicais extremamente diversa dentro da ordem dos Characiformes, cujos membros são conhecidos popularmente como piabas ou lambaris. *Bario*, um gênero monotípico de Characidae, têm sido posicionado filogeneticamente como irmão de um grupo de *Moenkhausia* popularmente conhecidas como “red eye tetras”, entre elas: *M. oligolepis*, *M. australis*, *M. forestii* e *M. sanctaefilomenae*. Essas espécies de *Moenkhausia* compartilham um padrão de colorido caracterizado por apresentar um corpo reticulado formado por concentrações de cromatóforos escuros nas margens distais das escamas, uma mancha verticalmente alongada na região umeral, e pedúnculo caudal com uma mancha escura precedida de uma região mais clara. Atualmente esse grupo é composto por 15 espécies e denominado complexo “*Moenkhausia oligolepis/M. sanctaefilomenae*”. Recentemente foi proposto um subgrupo para o complexo “*M. oligolepis/M. sanctaefilomenae*” com base no formato da região pré e pós-pelvica (achatado vs. comprimida) denominado subgrupo “*Moenkhausia oligolepis*”, composto pelas espécies *M. oligolepis*, *M. sanctaefilomenae*, *M. forestii*, *M. australis* e *B. steindachneri*. Apesar de existirem algumas hipóteses que suportam a relação de grupo irmão entre *Bario* e algumas espécies do complexo “*Moenkhausia oligolepis/M. sanctaefilomenae*”, nenhuma dessas testou a monofilia das espécies desse grupo. Dessa forma, este estudo tem como objetivo testar, utilizando dados filogenômicos (UCEs), a relação filogenética de *Bario* e as espécies do complexo “*Moenkhausia oligolepis/M. sanctaefilomenae*”, como também a monofilia das espécies do subgrupo “*Moenkhausia oligolepis*”. Nossos resultados apontaram a monofilia do gênero *Bario*, que agora inclui *B. steindachneri*, *B. oligolepis*, *B. sanctaefilomenae*, *B. australis* e *B. forestii*. Foi revelado a natureza polifilética de *B. oligolepis*, indicando que os caracteres tradicionalmente utilizados para reconhecer as espécies de *Bario* são altamente variáveis. Além disso, nós recuperamos as espécies *M. cosmops*, *M. andrica*, *M. parecis*, *M. cambacica*, *M. pirahan* e *Hemigrammus skolioplatus* como um grupo monofilético sendo aqui sugerido como um gênero novo irmão de *Bario*. Os nossos resultados sugerem que *Bario* tenha surgido na bacia Amazônica em regiões de terras baixas durante o Mioceno/Plioceno. As espécies que permaneceram nessa região (espécies crípticas de *B. oligolepis*) não sofreram

mudanças morfológicas, diferentemente das linhagens que atingiram o escudo brasileiro durante o Plioceno que se diversificaram morfológicamente possivelmente em resposta a adaptação local.

Palavras chaves: Peixes de água doce neotropicais, sistemática, biodiversidade, evolução de peixes.

Abstract

Characidae is an extremely diverse family of Neotropical fish within the Characiformes, whose members are popularly known as piabas or lambaris. *Bario*, a monotypic genus of Characidae, has been phylogenetically positioned as the sister group of *Moenkhausia*, popularly known as red-eye tetras, among them: *M. oligolepis*, *M. australis*, *M. forestii*, *M. sanctaefilomenae*. These species share a color pattern, characterized by a higher concentration of dark chromatophores in the distal margins of the scales, a vertically-elongate humeral blotch, and a conspicuous dark blotch on the caudal peduncle preceded by a lighter area. Currently, the group is composed of 15 species and is called the “*Moenkhausia oligolepis/M. sanctaefilomenae*”. Recently, a subgroup was proposed for the “*M. oligolepis/M. sanctaefilomenae*” based on the shape of the pre-and post-pelvic region (flattened vs. compressed) called the “*Moenkhausia oligolepis*” subgroup, composed of the species *M. oligolepis*, *M. sanctaefilomenae*, *M. forestii*, *M. australis* and *B. steindachneri*. Although some hypotheses support the sister group relationship between *Bario* and some species of the “*Moenkhausia oligolepis/M. sanctaefilomenae*”, none of these tested the monophyly of the species of this group. Thus, this study aims to test, using phylogenomic data (UCEs), the phylogenetic relationship of *Bario* and the species of the “*Moenkhausia oligolepis/M. sanctaefilomenae*”, as well as the monophyly and validity of the species of the subgroup “*Moenkhausia oligolepis*”. Our results pointed to the monophyly of the genus *Bario*, which now includes *B. steindachneri*, *B. oligolepis*, *B. sanctaefilomenae*, *B. australis*, and *B. forestii*. The rapid speciation nature of *B. oligolepis* was revealed, indicating that the characters traditionally used to recognize *Bario* species are highly variable. In addition, we recovered *M. cosmops*, *M. andrica*, and *Hemigrammus skolioplatus* as a sister group to *Bario*. From our phylogenetic results, we hypothesized that *Bario* arose in the Amazon basin in lowland regions during the Miocene/Pliocene. Species that remained in lowland regions (cryptic species of *B. oligolepis*) did not undergo morphological changes. Unlike the lineages that reached the Brazilian shield during the Pliocene, which diversified morphologically, possibly in response to local adaptation.

Key words: Neotropical freshwater fishes, systematic, biodiversity, fish evolution.

1. Introdução

Conhecida popularmente como lambaris ou piabas Characidae é a família mais diversa de Characiformes, com 1.244 espécies válidas divididas em 130 gêneros amplamente distribuídas pelas principais drenagens da América Central e do Sul (Fricke *et al.*, 2022). A família se originou a aproximadamente 50 milhões de anos atrás, mas tem experimentado altas taxas de especiação a partir de 30 milhões de anos (Oligoceno), muito provavelmente por carregar consigo três importantes aceleradores: (1) tamanho reduzido do corpo, (2) coloração diversa e (3) alta variação ecomorfológica (Melo *et al.* 2021). A família representa um quarto de toda a diversidade encontrada na bacia Amazônica (Dagosta & de Pinna, 2019).

Characidae atualmente está dividida e classificada em oito superfamílias: Stethaprioninae, Spintherobolinae, Exodontinae, Tetragonopterinae, Characinae, Aphyocharacinae, Cheirodontinae e Stervadiinae (Mirande, 2019). A subfamília Stethaprioninae apresenta grandes problemáticas taxonômicas em relação a posição de alguns gêneros, como: *Moenkhausia*, *Hemigrammus* e *Hyphessobrycon*, identificados como polifiléticos por diferentes autores (Mariguela *et al.*, 2013; Mirande 2009, 2010, 2019). No entanto, alguns grupos pertencentes a esses gêneros foram propostos como monofiléticos por compartilharem um padrão de colorido similar, como nos grupos *Hyphessobrycon agulha* e *Moenkhausia lepidura* propostos por Gery (1977) e o grupo “*Moenkhausia oligolepis/M. sanctaefilomenae complex*” proposto por Costa (1994).

Na descrição de *M. pyrophthalma* Costa (1994) sugere uma estreita relação entre *M. pyrophthalma*, *M. oligolepis* Günther e *M. sanctaefilomenae* Steindachner baseando-se na seguinte combinação de caracteres compartilhados pelas espécies supra-citadas: um corpo reticulado formado por concentrações de cromatóforos escuros nas margens distais das escamas, uma mancha verticalmente alongada na região umeral, e pedúnculo caudal com uma mancha escura precedida de uma região mais clara. Posteriormente, esse grupo foi nomeado por Lima *et al.* (2007) como “*Moenkhausia oligolepis/M. sanctaefilomenae complex*” e outras espécies descritas com o mesmo padrão de coloração foram sugeridas como relacionadas ao grupo, tais como: *M. cotinho* Eigenmann, *M. diktyota* Lima & Toledo-Piza, *M. cosmops* Lima, Bristki & Machado, *M. forestii* Benine, Mariguela & Oliveira, *M. lineomaculata* Dagosta, Marinho &

Benine, *M. uirapuru* Ohara & Lima, *M. pirahan* Mathubara & Toledo-Piza e *M. andrica* Reia, Oliveira & Benine. Mais adiante, Ohara & Lima (2015) descrevem *M. uirapuru* e sugerem que a mesma juntamente com *M. cosmops*, *Hemigrammus skolioplatus* e as espécies do grupo *M. oligolepis*, possam fazer parte de um mesmo grupo monofilético. Embora apresentem o mesmo padrão de colorido que caracteriza o grupo, *M. parecis* Marinho & Ohara e *M. cambacica* Marinho, Ohara & Dagosta não foram sugeridas como parte desse agrupamento em suas descrições (Ohara & Marinho, 2016; Marinho *et al.*, 2021). Dentre essas espécies, algumas diferenças são observadas em relação ao colorido, como o formato da mancha no pedúnculo caudal. No entanto, o padrão reticulado se mantém em todas (Fig. 1).

Recentemente, Reia *et al.* (2019) propuseram um subgrupo ao “*Moenkhausia oligolepis/M. sanctaefilomenae complex*”, denominado “*Moenkhausia oligolepis*”, composto pelas espécies *M. australis*, *M. forestii*, *M. oligolepis*, *M. sanctaefilomenae* e o gênero *Bario*, cuja principal característica é o grau de achatamento na região pré e pós-pélvica (comprimida lateralmente *vs.* achatada ventralmente). As demais espécies: *M. cotinho*, *M. diktyota*, *M. cosmops*, *M. lineomaculata*, *M. uirapuru*, *M. pirahan*, *M. andrica*, *M. parecis* e *M. cambacica* são reconhecidas como grupo “*Moenkhausia cosmops*” (Capítulo 1).

As espécies do subgrupo “*Moenkhausia oligolepis*” estão amplamente distribuídas pela América do Sul. De acordo com o Capítulo 1 *M. oligolepis* apresenta 26 espécies crípticas distribuídas ao longo de toda a extensão da bacia Amazônica, assim como nos rios Orinoco, Paraguai, costeiros da Guiana, Guiana Francesa, Suriname e Amapá (AP); *M. sanctaefilomenae* é distribuída pelas bacias dos rios Parnaíba, rio do Sono (bacia do rio Tocantins) e São Francisco (Capítulo 1); *M. australis* pelas bacias dos rios Paraguai, Madeira, Uruguai e alto Paraná (Reia *et al.*, 2020, Capítulo 1); *M. forestii* é encontrada nos rios Paraguai, Madeira e alto Paraná (Benine *et al.*, 2009, Reia, 2018); por fim, *B. steindachneri* é distribuída pela bacia Amazônica nos rios Tapajós, Juruá, Putumayo, Beni-Madre de Dios, tributários de escudo, médio e baixo Madeira, Capim e canal principal do Amazonas (Dagosta & de Pinna, 2019).

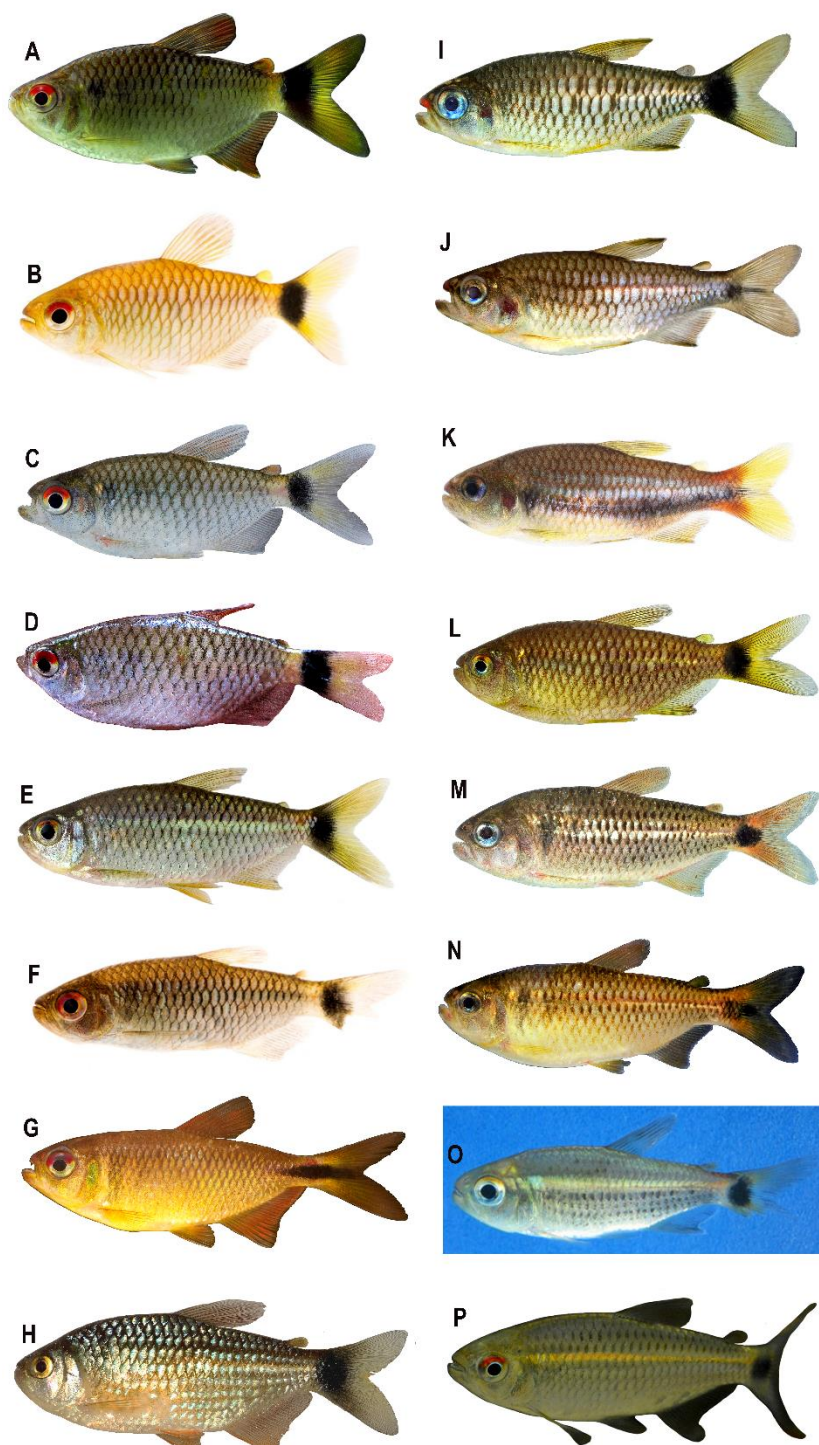


Figura 1. Representantes do complexo *Moenkhausia oligolepis*/*M. sanctaefilomenae*: *M. oligolepis* (A) – foto de A. Ribeiro; *M. sanctaefilomenae* (B) – foto de M. Taylor; *M. forestii* (C) – foto de B. Melo; *M. australis* (D) – foto de J. Crispim; *M. cotinho* (E) – foto de J. Birindelli;

M. pyrphthalma (F) – foto de M. Taylor; *M. diktyota* (G) – foto de F. Lima; *Bario steindachneri* (H) – foto de W. Ohara; *M. cosmops* (I) – foto de E. Ywamoto; *M. uirapuru* (J) – foto de E. Ywamoto; *He. skolioplatus* (K) – retirado de Ohara & Lima (2015); *M. andrica* (L) – foto de J. Birindelli; *M. parecis* (M) – foto de E. Ywamoto; *M. cambacica* (N) – foto de E. Ywamoto; *M. lineomaculata* (O) – retirado de Dagosta *et al.* (2015); *M. pirahan* (P) – retirado de Mathubara & Toledo-Piza (2020).

1.1. Histórico Taxonômico do gênero *Bario*

O gênero monotípico *Bario* foi inicialmente proposto como *Entomolepis* que era caracterizado pela seguinte combinação de caracteres: “escamas crenadas, uma escama ampliada em cada lado da base do espinho supraoccipital, linha lateral completa pouco curvada, maxilar com poucos dentes e suborbital deixando uma estreita área nua na bochecha” (Eigenmann, 1917). O gênero foi proposto para alocar a espécie *Tetragonopterus steindachneri* (Eigenmann, 1917). Eigenmann (1917) ressalta que *Entomolepis* difere de *Moenkhausia* por apresentar as escamas crenadas (vs. “escamas ciclóides”). Alguns anos depois Myers (1940), propõem a substituição do epíteto genérico *Entomolepis* por *Bario*, uma vez que esse nome estava pré-ocupado em Crustacea (*Entomolepis* Brady).

Bario foi incluído entre os 88 gêneros alocados como *incertae sedis* em Characidae (Lima *et al.* 2003: 114). Posteriormente, Benine (2004) em um estudo filogenético utilizando dados morfológicos com ênfase nas espécies do gênero *Moenkhausia* evidenciou a existência de um clado composto por *Moenkhausia* sp. (= *M. diamantina* Benine, Castro & Santos, 2007), *M. diktyota* Lima & Toledo-Piza, *M. cotinho* Eigenmann, *M. pyrophthalma* Costa, *M. oligolepis* (Günther), *M. sanctaefilomenae* (Steindachner) e *Bario steindachneri*, suportado por cinco sinapomorfias, assim descritas: 1) porção anterior do basi-hial destacadamente mais alargada em relação a margem posterior desse osso; 2) presença de cinco ossos supra-neurais; 3) porção inferior do extra-escapular com expansões ósseas; 4) presença de um padrão reticulado de coloração; e 5) mancha umeral dupla. Estudos filogenéticos posteriores (Mirande, 2009; 2010), também com base em caracteres morfológicos, corroboraram os resultados de Benine (2004) ao encontrar *M. sanctaefilomenae* como grupo irmão de *B. steindachneri*.

Pouco tempo depois, Mariguela *et al.* (2013) em uma ampla filogenia molecular com o objetivo de testar as relações das espécies do gênero *Moenkhausia* recupera o grupo como polifilético, dividido em cinco principais clados. No clado 5 *Bario steindachneri* é irmão das espécies *M. oligolepis*, *M. sanctaefilomenae*, *M. forestii* e *M. australe* (= *M. forestii*), assim como em Benine (2004) e Mirande (2009; 2010). Nesse mesmo Clado 5, ainda são encontradas as espécies *Thayeria obliqua*, *Moenkhausia ceros*, *Moenkhausia pyrophthalma* e *Moenkhausia cosmops*. Os autores sugerem que o padrão de colorido (mencionado acima) compartilhado pelas espécies *M. cosmops*, *B. steindachneri*, *M. oligolepis*, *M. sanctaefilomenae* e *M. forestii* seja uma sinapomorfia para o subclado (Mariguela *et al.*, 2013).

Recentemente, em uma ampla filogenia para a família Characidae com base em dados morfológicos e moleculares, Mirande (2019), divide a subfamília Stethaprioninae em 4 tribos: Stethaprionini, Gymnocharacini, Grundulini e Rhoadsinii. Dentro de Rhoadsinii, a espécie *Bario steindachneri* é novamente recuperada como irmã de um clado composto pelas espécies *M. oligolepis*, *M. sanctaefilomenae*, *M. forestii* e *M. australis*. Apesar do autor ter denominado esse grupo monofilético como “*Bario* clade”, ele não faz a adequação nomenclatural dessas espécies de *Moenkhausia* para o gênero *Bario*.

Como mencionado acima, vários trabalhos têm apontado uma estreita relação entre o gênero *Bario* e algumas espécies do gênero *Moenkhausia* (Benine, 2004; Mirande 2009, 2010, 2019; Mariguela *et al.*, 2013). No entanto, várias espécies que também poderiam compor esse grupo, por compartilharem o mesmo padrão de colorido, ainda não foram incluídas em uma análise filogenética. Além disso, ainda não existe uma hipótese que teste a monofilia das espécies do subgrupo *Moenkhausia oligolepis*. Diante disso, este estudo tem por objetivo: (I) testar as relações filogenéticas entre o gênero *Bario* e as espécies que compõem o complexo “*M. oligolepis/M. sanctaefilomenae*”; (II) testar a monofilia das espécies do subgrupo *Moenkhausia oligolepis* (sensu Reia *et al.*, 2019); (III) Estimar a origem e o tempo de diversificação das espécies do grupo como também suas possíveis rotas de colonização.

2. Material e Métodos

2.1. Amostragem

Este estudo incluiu 46 espécimes representando dezessete espécies do grupo de interesse, “grupo *M. oligolepis*” e “grupo *M. cosmops*”, e 49 espécimes representando 46 táxons relacionados (segundo a hipótese de Miranda, 2019), dentre eles, representantes de todas as tribos de Stethaprioninae: Stethaprionii, Rhoadsiini, Grandulini e Gymnocharacinii, como também representantes de outras subfamílias: Spintherobolinae, Aphyocharacinae, Tetragonopterinae e Stervadiinae. Como grupo externo, nós utilizamos a espécie *Lignobrycon myersi* (Miranda Ribeiro). As amostras utilizadas neste estudo estão despositadas na coleção do Laboratório de Biologia e Genética de Peixes UNESP, Botucatu (LBP), Museu de Zoologia da Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia (UFBA), Universidade do Rio Grande do Sul (UFRGS), Academy of Natural Sciences of Philadelphia, Philadelphia, EUA (ANSP), Oregon State University, Corvallis, EUA (OS) e Smithsonian Tropical Research Institute, Balboa, Ancón, Panama (STRI). Para mais informações sobre cada amostra acesse a Tabela suplementar 1. O mapa representa a distribuição das amostras sequenciadas neste estudo do gênero *Bario* e do novo gênero (Fig. 2).

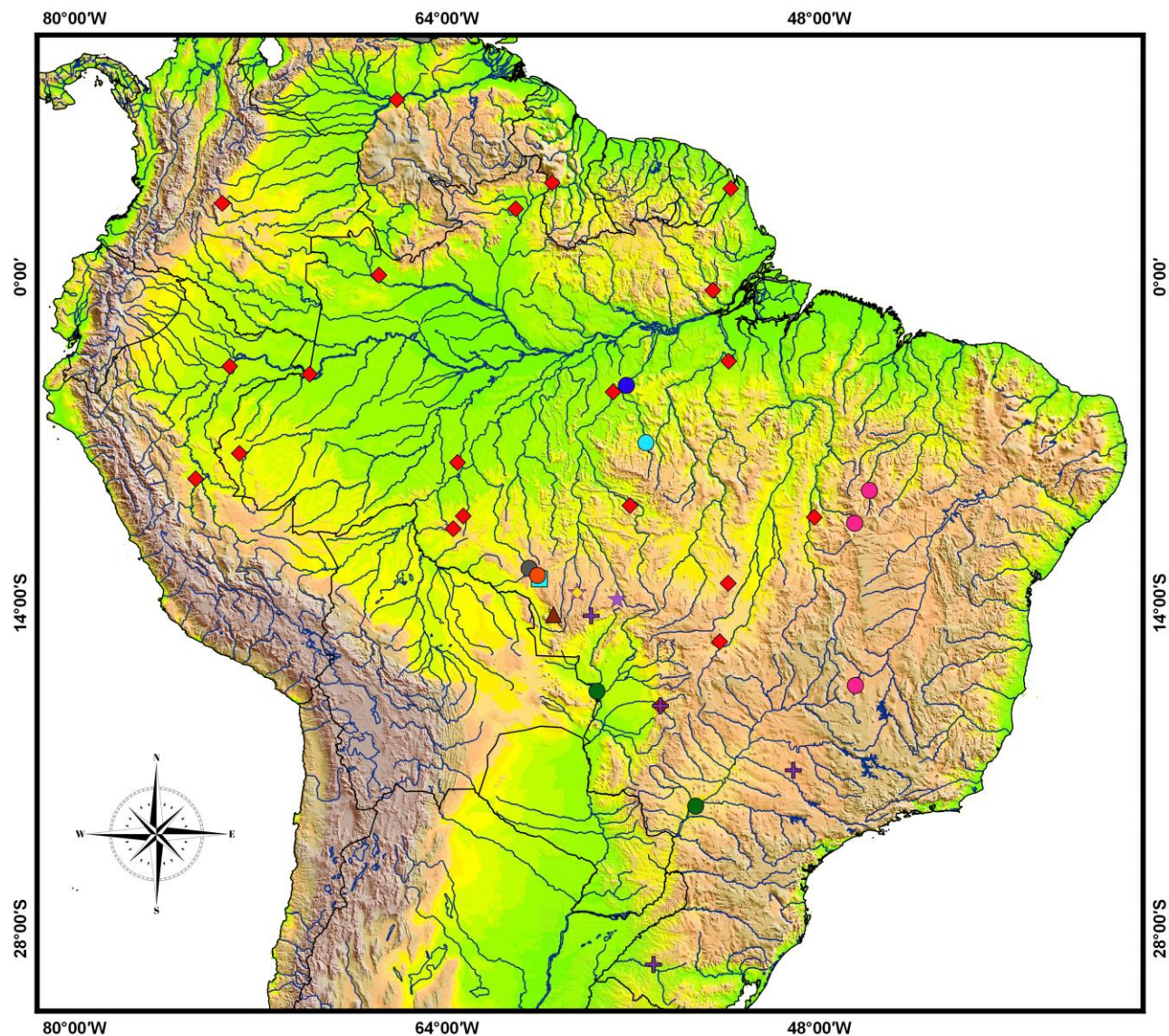


Figura 2. Distribuição das amostras sequenciadas e das sequências disponíveis no Genbank. Losango vermelho: *B. oligolepis*; Cruz croxa: *B. australis*; Quadrado azul turquesa: “Gênero nov. *skolioplatus*”; Triângulo marrom: “Gênero nov. *uirapuru*”; Círculos: rosa: *B. sanctaefilomenae*; verde: *B. forestii*; azul: *B. steindachneri*; cinza: “Gênero nov. *cambacica*”; laranja: “Gênero nov. *parecis*”; azul turquesa: “Gênero nov. *pirahan*”; amarela: “Gênero nov. *cosmops*”; lilás: “Gênero nov. *andrica*”.

2.2. Extração do DNA e Sequenciamento

A extração de DNA foi feita através de tecidos musculares ou através de tecido das brânquias armazenados em álcool 100% com o kit DNeasy Tissue Kit (Qiagen) de acordo com as instruções do fabricante. Para obtenção da concentração do DNA 2 ul de cada amostra foi quantificado com a fluorometry (Qubit, dsDNA broad range (BR), Life Technologies). As bibliotecas e o sequenciamento do DNA foram realizados pela Arbor Biosciences staff (Ann Arbor-AB, Michigan, USA; <http://www.arborbiosci.com>).

Na preparação da biblioteca, as amostras foram inicialmente fragmentadas com um instrumento *QSonica Q800R* e selecionadas por comprimento modal de aproximadamente 500nt usando uma dual-step SPRI bead cleanup. As bibliotecas de DNA foram preparadas para 96 espécimes usando o protocolo de preparação *Nextera* (Epicentre Biotechnologies) para o enriquecimento do alvo baseado em solução, seguindo Faircloth *et al.* (2012) com a alteração no número de ciclos do PCR de acordo com Faircloth *et al.* (2013). Foi utilizado o protocolo de preparação da *Nextera* de transposição *in vitro*, seguida por PCR para suprimir o DNA e anexar adaptadores de sequenciamento (Adey *et al.*, 2010). O kit *Epicentre Nextera* foi usado para produzir bibliotecas mediadas por transposase com tamanhos de inserção em média de 100 pb (95% CI: 45 bp), seguindo Adey *et al.* (2010). A sonda utilizada neste estudo para o enriquecimento das bibliotecas foi a desenvolvida para os peixes Ostariophysi, a mesma é capaz de gerar sequencias de aproximadamente 2.708 lócus de UCEs (Faircloth *et al.* 2020). O DNA foi convertido nas bibliotecas de sequenciamento de Illumina com uma versão ligeiramente modificada do kit NEBNext(R) Ultra(TM) DNA Library Prep Kit for Illumina(R). Após a ligação dos primers de sequenciamento, as bibliotecas foram amplificadas usando KAPA HiFi HotStart ReadyMix (Kapa Biosystems) com indexadores de *primers* duplos P7 e P5 por seis ciclos com o perfil térmico recomendado pelo fabricante (Kircher *et al.*, 2012). Após a purificação com SPRI beads, as bibliotecas foram quantificadas com o kit de ensaio Quant-iT(TM) Picogreen(R) dsDNA Assay kit (ThermoFisher). Em seguida, foram enriquecidos *pools* compostos por 100 ng de cada uma das oito bibliotecas (800 ng de material de entrada total) usando o *MYbaits(R) Target Enrichment system* (MYcroarray) seguindo a versão manual 3.0. Após a limpeza, a biblioteca vinculada ao *bead-bound* foi ressuspensa com a solução recomendada e amplificada por dez ciclos usando o par de *primers* P5/P7 e o KAPA HiFi. Após

a purificação, cada *pool* de biblioteca capturado foi quantificado com o PicoGreen e combinado com todos os outros *pools* em proporção de taxa equimolar antes do sequenciamento. O sequenciamento foi realizado através da HiSeq paired-end 100 pb usando o chemistry v4.

2.3. Análise dos dados brutos

Após o sequenciamento, todas as análises desta seção foram realizadas utilizando-se o *software* Phyluce v1.5.0 (Faircloth, 2016). O primeiro passo foi eliminar a contaminação dos adaptadores, bases de baixa qualidade e sequências contendo base ambígua usando o *software illumiprocessor* incluído no Phyluce. Em seguida, foi realizado o *assemble* dos *reads*, espécie por espécie, usando o *Velvet* (Zerbino & Birney, 2008) em Velvet Optimiser (<https://github.com/VictorianBioinformaticsConsortium/VelvetOptimiser>).

Após o *assemble*, foi utilizado um programa personalizado em *Python* (`match_contigs_to_probes.py`), integrando o *LASTZ* (Harris, 2007) para alinhar os *contigs* específicos de espécies ao conjunto de sondas-UCEs. Este último programa criou um banco de dados que relaciona os *matches* para os loci de UCEs por táxon. Depois disso, foi utilizado outro programa `get_match_counts.py` para consultar o banco de dados e gerar um arquivo *fasta* para os loci de UCE identificados em todos os táxons. Então, o programa `seqcap_align_2.py` foi utilizado para alinhar *contigs* com o alinhador *MUSCLE* (Edgar, 2004) e executar o *trimming* (isto é, corte nas bordas). Por fim, para as análises filogenéticas foi gerado duas matrizes, uma de 75% (inclui apenas os loci presentes em 75% dos táxons) e outra de 85% (inclui apenas os loci presentes em 85% dos táxons) de completude para testar o efeito de *missing data*.

2.4. Particionamento dos Dados e Análise Filogenética

Os dados foram particionados em três blocos usando o programa Sliding-Window Site Characteristics (SWSC) (Tagliacollo & Lanfear, 2018), a fim de se obter as taxas de heterogeneidade e padrões de evolução para cada locus. Subsequente, foi utilizado o programa

PartitionFinder v2 (Lanfear *et al.*, 2014; 2016) através do programa RAxML v8.1.3 (Stamatakis, 2014) para agrupar os loci que possuem o mesmo modelo de substituição nucleotídica.

A análise de máxima verossimilhança (ML) foi realizada para a matriz concatenada com o modelo GTRCAT (Stamatakis, 2006) e dez corridas alternativas de árvores iniciais a partir do método de parcimônia através do programa RAxML v8.1.3 (Stamatakis, 2014) foram realizadas. O método de *bootstrap* foi utilizado pela função autoMRE, que permite o critério de parada se as pseudoréplicas atingem valores de suporte estáveis suficiente (Pattengale *et al.*, 2010). Foi realizado também uma Inferência Bayesiana (BI) do conjunto de dados concatenados usando *ExaBayes* (Aberer *et al.* 2014). Uma corrida e duas cadeias foram obtidas com 5.544.500 milhões de interações com os outros parâmetros em *default* para ambas as matrizes 75% e 85%. Uma árvore foi gerada a cada 500 interações, no total foram obtidas 8.918 árvores. O programa Tracer v1.6 (Rambaut *et al.*, 2018) foi utilizado para visualizar as estimativas de parâmetros e valores de *ESS* (tamanho da amostra efetiva), todos foram acima de 200. O conjunto de árvores mais confiável, 50%, foi gerado a partir da distribuição posterior de possíveis topologias usando TreeAnnotator v2.6.4 com 25% de *burn-in*. A análise de coalescência da árvore de espécies foi realizada no programa ASTRAL-III (Zhang *et al.*, 2018) a partir de uma árvore não enraizada, gerada através de uma análise de ML com o modelo GTRGAMMA e cinco corridas alternativas. No ASTRAL-III foi utilizado o modelo de coalescência de multi-espécies com a opção de *bootstrap*.

2.5. *Estimativa de tempo de divergência*

Para a estimativa do tempo de divergência foi produzida uma árvore calibrada usando o relógio molecular relaxado não correlacionado (lognormal) a partir do programa Beast v.2.6.4. (Drummond *et al.*, 2012). A matriz utilizada foi a de 82% (80 loci de UCEs, 21997pb) para estimar tanto a topologia quanto a idade de cada nó. As análises no BEAST foram conduzidas sob o modelo prévio *birth-death* para os valores de probabilidade de diversificação e sob o modelo de evolução molecular GTR. Foi gerado quatorze corridas com 100 milhões de gerações cada amostrando uma árvore a cada 5.000 mil gerações. Foi realizado um burning de 50 milhões

em cada corrida gerando um total de 700000000 milhões de gerações. O programa Tracer v1.7.1 (Rambaut *et al.*, 2018) foi utilizado para verificar as corridas e as estimativas de parâmetros e valores de *ESS* (tamanho da amostra efetiva), todos acima de 200. As corridas das árvores foram combinadas usando o programa Logcombiner v2.6.4 mantendo o burning de 50%. Uma árvore de consenso foi construída usando TreeAnnotator v2.6.4, com 25% de *burn-in*. Todas as estimativas de clado-idade são apresentadas, como a média e valores de densidade posterior (HPD) 95% mais altos. Foram incluídos dois pontos de calibração com dois fósseis e uma restrição na raiz. O primeiro ponto de calibração foi em †*Megacheiroduon unicus*, MCP 3086-PV, um esqueleto articulado de depósitos Oligoceno-Mioceno da Formação Tremembé em São Paulo, Brasil (Bührnheim *et al.*, 2008). Este fóssil foi hipotetizado para ser o clado irmão dos gêneros *Spintherobolus* e *Amazonspinther* (Bührnheim *et al.* 2008), dessa forma, foi implementado uma calibração no nó com ambos os gêneros (distribuição log-normal; offset= 23.8M; média =1M, desvio padrão = 1.25) O segundo ponto de calibração foi em †*Paleotetra entrecorregos*, UNG 2T-149, esqueleto articulado da Formação Entre-Córregos em Minas Gerais, Brasil, datado do limite Eoceno-Oligoceno (Weiss *et al.*, 2012). *Paleotetra entrecorregos* foi hipotetizado para ser um clado irmão na base de Stevardiinae em sua descrição (Weiss *et al.*, 2012), mas já foi utilizado como ponto de calibração na base de Characidae (Mirande, 2019). Dada a incerteza natural do fóssil e pendências de análises adicionais com menos dados faltantes mostrando maior suporte para os nós iniciais de Characidae e considerando que a origem de Characidae foi estimada em cerca de 65 M (Melo *et al.*, 2021), o mesmo foi atribuído a base do nó de Stevardiinae seguindo a descrição original e colocação filogenética (Weiss *et al.*, 2012) (distribuição log-normal; offset=33.9M, média= 5M; desvio padrão = 1.0). A restrição atribuída a raiz da árvore foi para calibrar a divisão do nó de Triportheidae e membros de Characidae que, com base na recente reconstrução de tempo de toda a ordem Characiformes (Melo *et al.*, 2021), foi estimado ter ocorrido no final do Cretáceo, em torno de 75 (85-60) milhões de anos atrás (M) (distribuição normal; média = 0 M; desvio padrão = 6.0).

3. Resultados e Discussão

A partir do sequenciamento e da limpeza dos dados foi obtida uma matriz inicial com 2.516 lócus de UCEs e 821.572 pares de base (pb) para 64 espécies (46 espécies compõem o grupo de interesse, 50 espécies relacionadas, e uma como grupo externo) (Tabela suplementar 2). Como as amostras deste estudo foram sequenciadas em dois momentos distintos, uma alta diferença de captura de número de UCEs foi obtida (Tab. Suplementar 2), produzindo comprimento de ramos longos para os táxons com menor número de UCEs capturados na matriz concatenada. Duas matrizes foram produzidas para a inferência filogenética uma de 75% de completude com 89.513 pb e 311 lócus de UCEs e outra de 85% de completude com 9.945 pb e 36 lócus de UCEs.

As nossas análises filogenéticas demonstraram consideráveis diferenças na topologia quando comparadas as matrizes concatenadas de 75% e 85% e as análises baseadas em coalescência “species tree” (Figura suplementar 1, 2, 3, 4, 5 e 6). Diante disso, optamos por discutir nossos resultados utilizando o tempo com a topologia feita a partir do relógio molecular (Figura 2). As análises de Verossimilhança (ML) e Bayesiana (BI) feitas a partir de uma mesma matriz concatenada não apresentaram diferença na topologia (Figura suplementar 1, 2, 4 e 5).

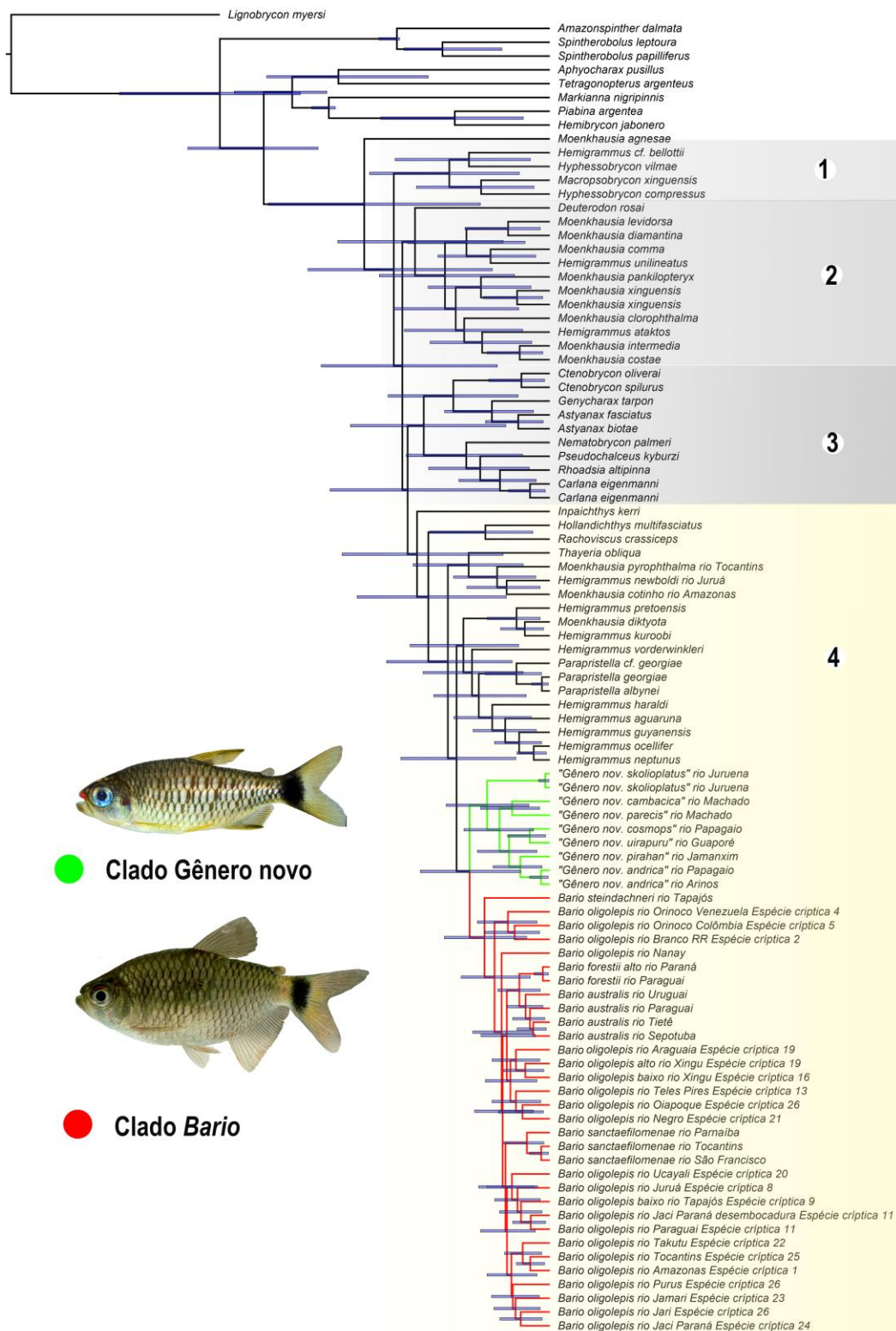


Figura 3. Filogenia com tempo calibrado para o gênero *Bario* baseada em uma análise do BEAST com 80 loci de UCEs presentes em pelo menos 82% dos 96 espécimes analisados. Foto de “Gênero nov. *cosmops*” fornecida por E. Ywamoto e de *B. oligolepis* por G.S.C. Silva.

3.1. Rápida radiação antiga no gênero *Bario*

As diferenças encontradas nas topologias construídas a partir das análises de ML e ASTRAL-III, assim como a partir de matrizes com diferentes quantidades de dados (75% e 85%) refletem a dificuldade de resolver as relações entre os principais clados dentro do grupo *B. oligolepis*. Nossos resultados apontaram uma rápida radiação do gênero *Bario* a partir da divisão entre o clado composto pelas espécies *B. oligolepis* da bacia do Orinoco e os demais táxons. Ou seja, em um período muito curto de tempo (~8.7 M até ~6 M) há o surgimento de seis clados. (Fig. 2). Quando um grupo passa por uma rápida radiação, a reconstrução filogenética se torna de difícil resolução por algumas razões: (1) o tempo entre os eventos cladogenéticos são extremamente curtos não permitindo o acúmulo de substituições que podem eventualmente unir os táxons do grupo de interesse (Meiklejohn *et al.*, 2016). Por isso, frequentemente encontramos politomias em estudos com rápidas radiações (Whitfield & Lockhart, 2007). (2) Quando um grupo se irradia rapidamente em um passado distante o problema da atração de ramo longo pode surgir como resultado da quantidade relativamente grande de tempo de divergência que separa os táxons existentes em comparação com a quantidade relativamente pequena de tempo de divergência que separa os ancestrais das diferentes linhagens (Whitfield & Lockhart, 2007). (3) Tempos de divergências curtos permitem que alelos ancestrais fruto de polimorfismos antigos persistam nas diferentes linhagens através do efeito estocástico, provocando problemas na reconstrução filogenética conhecidos como *incomplete lineage-sorting* (Suh *et al.*, 2015).

Diversos estudos têm empregado a utilização de dados genômicos e análises de inferências filogenéticas com métodos de coalescência para resolver casos de rápida radiação (Henche *et al.*, 2022; Learché *et al.*, 2016; McCormack *et al.*, 2012; Meiklejohn *et al.*, 2016). Apesar de fazermos uso de dados genômicos não foi obtida uma topologia robusta para o gênero *Bario* revelando as relações das espécies. Talvez uma filtragem selecionando apenas os UCEs informativos poderia resolver essa rápida especiação do gênero, visto que, estimar árvores a

partir de UCEs com baixo sinal filogenético pode ter uma taxa de erro relativamente alta (Meiklejohn *et al.*, 2016).

3.2. Relações filogenéticas em Stethaprioninae

Nossa filogenia revelou quatro principais clados em Stethaprioninae (Fig. 3). O primeiro clado é composto pelas espécies: *Hemigrammus* cf. *bellottii*, *Hyphessobrycon vilmae*, *Macropsobrycon xinguensis* e *Hy. compressus*; o clado 2 por *Deuterodon rosae*, *Moenkhausia levidorsa*, *M. diamantina*, *M. comma*, *He. unilineatus*, *M. pankilopteryx*, *M. xinguensis*, *M. clorophthalma*, *He. ataktos*, *M. intermedia* e *M. costae*; o clado 3 por *Ctenobrycon oliverai*, *C. spilurus*, *Genycharax tarpon*, *Astyanax fasciatus*, *A. biotae*, *Nematrobrycon palmeri*, *Pseudochalceus kyburzi*, *Rhoadsia altipina*, *Carlana eigenmannia*; e por fim o clado 4 por *Inpaichthys kerri*, *Hollandichthys multifasciatus*, *Raschoviscus crassiceps*, *Thayeria obliqua*, *M. pyrophthalma*, *H. newboldi*, *M. cotinho*, *He. pretoensis*, *M. diktyota*, *He. kuroobi*, *He. vorderwinkleri*, *Parapristella georgiae*, *P. albynei*, *He. haraldi*, *He. aguaruna*, *He. guyanensis*, *He. ocellifer*, *He. neptunus* e o subclado composto pelo “Grupo *Moenkhausia cosmops*” + *Bario* (Fig. 2).

A recente classificação proposta para Characidae (Mirande, 2019) propõe a divisão da subfamília Stethaprioninae em quatro tribos: Stethaprionini, Rhoadsiini, Grundulini e Gymnocharacini. Embora nossos resultados recuperem alguns clados reconhecidos na filogenia de Mirande (2019) (e.g. clado *Thayeria* e clado *Bario*), várias dessas tribos não são recuperadas aqui como monofiléticas. Em nosso clado 1, *Macropsobrycon xinguensis* é irmão de *Hy. compressus*, enquanto que em Mirande (2019), *Ma. xinguensis* é recuperado como membro da tribo Grundulini e *Hy. compressus* da tribo Stethaprionini. Em nosso clado 2, *D. rosae* é irmão do clado composto por espécies de *Moenkhausia* e *Hemigrammus*. Em Mirande (2019) *D. rosae* está na tribo Grundulini e os clados *Moenkhausia* e *Hemigrammus* na tribo Stethaprionini. Nosso clado 3 recupera *Rhoadsia* irmão de *Carlana*, como proposto por Mirande (2019), mas o restante do nosso clado contém espécies de *Ctenobrycon* e *Astyanax*, que foram recuperadas por Mirande (2019) na tribo Gymnocharacini, resultando novamente em duas combinações de tribo, agora entre Gymnocharacini e Rhoadsiini. O clado 4, é o clado que possui o maior número de

espécies, composto pelos gêneros *Inpaichthys*, *Hollandichthys*, *Raschoviscus*, *Thayeria* e *Bario* alocados por Mirande (2019) na tribo Rhoadsiini, mas este clado também é composto pelas espécies *He. aguaruna* e *He. haraldi* alocadas pelo mesmo autor na tribo Gymnocharacini (Mirande 2019).

3.3. Relações filogenéticas do grupo “*Moenkhausia cosmops*”

Costa (1994) sugeriu uma estreita relação entre *B. oligolepis*, *B. sanctaefilomenae* e *M. pyrophthalma* com base no padrão de colorido característico que essas espécies apresentam. No entanto, nossos resultados não confirmam essa hipótese. *Moenkhausia pyrophthalma* pertence a um clado composto também pelas espécies *Thayeria obliqua*, *Hemigrammus newboldi* e *Moenkhausia cotinho* (Fig. 3) que estão filogeneticamente bastante distantes do grupo “*Moenkhausia cosmops*” e o gênero *Bario*, corroborando estudos filogenéticos prévios (Mariguela *et al.*, 2013; Mirande, 2019). *Moenkhausia cotinho* já foi considerada intimamente relacionada a *Parecbasis ciclolepis* (Mariguela *et al.*, 2013) ou a *Ma. xinguensis* (Mirande, 2019), contudo, este é o primeiro estudo a apontar sua íntima relação com *He. newboldi* e *M. pyrophthalma*. *Hemigrammus newboldi*, apesar de não conter o padrão de colorido proposto por Costa (1994), já foi sugerido como sinônimo de *M. cotinho* (Taphorn, 1992) e recentemente foi revisado e delimitado como uma espécie válida por Mathubara & Toledo-Piza (2020). Nossos resultados apontam que o mesmo padrão de colorido observado em *M. pyrophthalma*, *M. cotinho* e as espécies *B. oligolepis*, *B. australis*, *B. sanctaefilomenae* e *B. forestii* surgiu duas vezes independentemente, indicando um típico caso de convergência evolutiva para esse caráter.

Benine (2002), ao descrever *M. levidorsa*, propõem que a mesma seja intimamente relacionada a *M. oligolepis*, *M. cotinho*, *M. sanctaefilomenae* e *M. grandisquamis* por compartilhar caracteres derivados referentes aos ossos ectopterigoide e palatino. Posteriormente, Benine (2004) realizou o único estudo filogenético que inclui as espécies *M. diktyota*, *M. levidorsa* e *M. diamatina* e este foi realizado com base em dados morfológicos. Neste estudo, foi proposto uma íntima relação entre as espécies *M. diamatina*, *M. diktyota*, *M. cotinho*, *M. pyrophthalma*, *M. oligolepis*, *M. sanctaefilomenae* e *Bario steindachneri*. Enquanto que *Moenkhausia levidorsa* foi sugerida como intimamente relacionada à algumas espécies de

Moenkhausia e com os gêneros *Tetragonopterus*, *Ctenobrycon*, *Stichonodon*, *Poptella* e *Gymnocorymbus* (Benine, 2004). Nossos resultados diferem de Benine (2004), pois, *M. levidorsa* é irmã de *M. diamatina* e estas são relacionadas a outras espécies de *Moenkhausia*, bem distantes filogeneticamente do gênero *Bario* (Fig. 3). Já *Moenkhausia diktyota* não é relacionada as espécies do gênero *Bario* e nem às espécies do grupo “*Moenkhausia cosmops*” que também compartilham do padrão de colorido reticulado, mas sim relacionada às espécies *He. pretoensis* e *He. Kuroobi* (Fig. 3), corroborando a hipótese proposta por Reia & Benine (2019).

As espécies *M. cosmops*, *M. parecis* e *M. uirapuru*, *M. andrica*, *M. cambacica*, *M. pirahan* e *He. skolioplatus* que compõem o grupo “*Moenkhausia cosmops*” realmente formam um grupo monofilético que se encontra filogeneticamente distante de *M. xinguensis* espécie tipo do gênero *Moenkhausia*. Diante disso, propomos a realocação genérica das espécies de *Moenkhausia* e *Hemigrammus* citadas acima para um gênero novo.

3.3.1 Gênero nov.

Espécie tipo: *Moenkhausia cosmops* Lima, Britski & Machado, 2007

Novas combinações: “**Gênero nov. cosmops**” (Lima, Britski & Machado, 2007) comb. nov., “**Gênero nov. uirapuru**” (Ohara & Lima, 2015) comb. nov., “**Gênero nov. parecis**” (Marinho & Ohara, 2016), comb. nov., “**Gênero nov. cambacica**” (Marinho, Ohara & Dagosta, 2021) comb. nov., “**Gênero nov. andrica**” (Reia, Oliveira & Benine, 2021) comb. nov., “**Gênero nov. pirahan**” (Mathubara & Toledo-Piza, 2020) comb. nov., “**Gênero nov. skolioplatus**” (Bertaco & Carvalho, 2005) comb. nov.

Diagnose: Gênero nov. é distinguido de todos os outros gêneros de Characidae por apresentar a seguinte combinação de caracteres: corpo com padrão de colorido reticulado formado por concentrações de cromatóforos escuros nas margens distais das escamas, uma mancha verticalmente alongada na região umeral, pedúnculo caudal com uma mancha escura precedida de uma região mais clara e região pré e pós-pélvica achatada ventralmente e presença da cor azul nos olhos em coloração em vida.

O Gênero nov. é dividido em quatro principais clados, sendo o primeiro composto por “Gênero nov. *skolioplatus*”, o segundo por “Gênero nov. *cambacia*” + “Gênero nov. *parecis*”, terceiro por “Gênero nov. *cosmops*” + “Gênero nov. *uirapuru*” e o quarto por “Gênero nov. *pirahan*” + “Gênero nov. *andrica*”. Ohara & Lima (2015) já haviam sugerido uma estreita relação entre as espécies “Gênero nov. *uirapuru*”, “Gênero nov. *cosmops*” e “Gênero nov. *skolioplatus*” baseada no padrão de coloração compartilhado entre essas três espécies, a saber: (1) coloração vermelha conspícua acima do lábio e (2) transparência no opérculo que permite a visão dos filamentos branquiais vermelhos. Nossos resultados sugerem que esses dois caracteres tenham surgido no ancestral comum a todas as espécies do gênero e que tenha sido perdido posteriormente no clado “Gênero nov. *parecis*” + “Gênero nov. *cambacia*” e no clado “Gênero nov. *pirahan*” + “Gênero nov. *andrica*”.

Moenkhausia clorophthalmia Souza, Netto-Ferreira & Birindelli, 2010, *M. plumbea* Souza, Netto-Ferreira & Birindelli, 2010, e *M. petymbuaba* Lima & Birindelli, 2006 apresentam um padrão de colorido único dentro do gênero *Moenkhausia*, que é caracterizado por uma concentração de cromatóforos na base das escamas ao longo do corpo (Souza *et al.*, 2010). As espécies “Gênero nov. *parecis*” e “Gênero nov. *cambacia*” foram consideradas relacionadas as espécies supracitadas por compartilharem o mesmo padrão de colorido (Ohara & Marinho, 2016; Marinho *et al.*, 2021). Contudo, nossos resultados apontaram que *M. clorophthalmia* é filogeneticamente muito distante de “Gênero nov. *parecis*” e “Gênero nov. *cambacia*”, sendo esta mais proximamente relacionada a outras espécies de *Moenkhausia* (Fig. 3).

“Gênero nov. *pirahan*” foi descrita recentemente por Mathubara & Toledo-Piza (2020) com distribuição nos rios Madeira (localidade tipo), Trombetas e Tapajós (não tipo). Neste estudo incluímos um espécime de “Gênero nov. *pirahan*” do rio Tapajós que, em nossa análise aparece intimamente relacionada às espécies do grupo “*Moenkhausia cosmops*”, compondo o gênero novo. Todas as espécies do gênero novo, em vida, apresentam a cor azul nos olhos, inclusive *M. pirahan*, apesar dos autores descreverem apenas a presença da cor vermelha na região dorsal dos olhos (Mathubara & Toledo-Piza, 2020). A foto de “Gênero nov. *pirahan*” do rio Tapajós evidencia o contorno azul ao redor da íris (Figura 1P).

A partir da análise do relógio molecular, encontramos que o ancestral do clado composto pelo gênero *Bario* + “Gênero nov.” se separou do seu grupo irmão (clado composto por espécies de *Moenkhausia*, *Hemigrammus* e *Parapristella*) durante o Mioceno a aproximadamente 14.7 M (figura 3). O Mioceno também foi o período de diversificação de vários outros grupos de Characidae, como a subfamília Characinae, os gêneros *Oligossarcus* e *Tetragonotperus* e grupos de espécies de *Hemigrammus* e *Moenkhausia* (Melo *et al.*, 2016; Melo *et al.*, 2021; Souza *et al.*, 2022; Wendt *et al.*, 2019).

A separação do ancestral das espécies do gênero *Bario* e o ancestral das espécies do “Gênero nov.” aconteceu por volta de 12.7M (4.5–20.5M, 95% HPD). A diversificação das espécies do “Gênero nov.” começou a partir de ~9.9M (3.3–16.4M, 95% de HPD) com a separação de “Gênero nov. *skolioplatus*” distribuída no alto rio Juruena das demais espécies do grupo. O segundo evento cladogenético ocorreu a ~7.9M (2.5–13.6M, 95% de HPD) e separa o ancestral de “Gênero nov. *cambacica*” + “Gênero nov. *parecis*” das demais espécies. O evento cladogenético que separou o ancestral de “Gênero nov. *cambacica*” + “Gênero nov. *parecis*” foi ~5.9M (1.6–10.9M, 95% de HPD), ambas as espécies são distribuídas em cabeceiras do rio Machado. O terceiro evento cladogenético foi a ~6.4M (2–11.4M, 95% de HPD) e separou o ancestral do subclado composto por “Gênero nov. *cosmops*” + “Gênero nov. *uirapuru*” e o subclado composto por “Gênero nov. *pirahan*” + “Gênero nov. *andrica*”. O evento cladogenético que separa o ancestral de “Gênero nov. *pirahan*” distribuída para o Jamanxim e “Gênero nov. *andrica*” distribuída no alto Juruena foi a ~4.6M (1.2–8.9M, 95% de HPD). O evento cladogenético que separou o ancestral de “Gênero nov. *cosmops*” distribuída no rio Juruena + “Gênero nov. *uirapuru*” distribuída no rio Guaporé foi ~3.1M (0.6–6.7M, 95% de HPD). Esse último evento foi durante o Plioceno e possivelmente reflete a captura de uma porção do alto Juruena para a bacia do rio Guaporé. Diferentes autores têm sugerido que processos geomorfológicos recentes resultaram em eventos de captura de cabeceira entre o Tapajós, Guaporé e Paraguai (Lima *et al.*, 2007; Dagosta & de Pinna, 2019).

3.4. O gênero *Bario* e suas relações filogenéticas

Nossos resultados recuperam *Bario steindachneri* como grupo irmão das espécies *Moenkhausia oligolepis*, *M. australis*, *M. forestii* e *M. sanctaefilomenae*, como nos trabalhos de Benine (2004); Mariguela *et al.*, (2013) e Mirande (2019). Assim, propomos a realocação genérica das espécies de *Moenkhausia* citadas acima para o gênero *Bario* e as seguintes novas combinações são propostas: *B. oligolepis*, *B. australis*, *B. forestii* e *B. sanctaefilomenae*.

3.4.1. *Bario Myers, 1940.*

Espécie tipo: Bario steindachneri Eigenmann, 1893

Novas combinações: Bario oligolepis (Günther, 1864) comb. nov., *Bario sanctaefilomenae* (Steindachner, 1907) comb. nov., *Bario australis* (Eigenmann, 1908) comb. nov., *Bario forestii* (Benine, Mariguela & Oliveira, 2009) comb. nov.

Diagnose: *Bario* é distinguido de todos os outros gêneros de Characidae por apresentar a seguinte combinação de caracteres: corpo com padrão de colorido reticulado formado por concentrações de cromatóforos escuros nas margens distais das escamas, uma mancha verticalmente alongada na região umeral, pedúnculo caudal com uma mancha escura precedida de uma região mais clara e região pré e pós-pélvica comprimida.

Nossos resultados apontam *Bario steindachneri* como espécie irmã das demais espécies de *Bario*. Essa é a única espécie do gênero facilmente diagnosticável das demais por apresentar duas autoapomorfias: escamas crenadas e sete listras negras longitudinais na lateral do corpo. *Bario steindachneri* é grupo irmão de um subclado antes denominado grupo *Moenkhausia oligolepis*, cujas suas espécies podem ser facilmente reconhecidas pela presença de coloração vermelha na região dorsal dos olhos em colorido em vida e ausência da série de listras negras na lateral do corpo. *Bario steindachneri*, é uma espécie amazônica e se separou do ancestral das demais espécies a aproximadamente 9.5M (8.6–16.7M, 95% de HPD).

Dentro do clado composto pelas espécies de *Bario* caracterizadas por possuírem olhos vermelhos e ausência de faixas escuras na lateral do corpo, nossas análises revelaram a natureza

polifilética de *B. oligolepis*, visto que tanto o clado composto por *B. australis* + *B. forestii* quanto o clado composto por *B. sanctaefilomenae* surgem de dentro de espécies crípticas tradicionalmente reconhecidas como *B. oligolepis*. Nossas análises revelaram sete principais clados dentro do grupo *B. oligolepis* que possuem a seguinte relação: (clado I (clado II (clado III, clado IV (clado V (Clado VI, cladoVII)))).

Os clados mais basais em *Bario* são compostos por espécies que estão restritas à porção norte do continente. O clado I é composto por espécies crípticas de *B. oligolepis* do rio Orinoco (Colômbia), baixo rio Orinoco (Venezuela) e rio Branco no estado de Roraima, já o Clado II é composto por *B. oligolepis* do rio Nanay, o que sugere que o ancestral do grupo *B. oligolepis* tenha surgido na porção ocidental do “Proto-Orinoco-Amazonas”, uma enorme bacia hidrográfica compostas por drenagens que se estendiam a Oeste do Arco Purus e também de rios que drenavam de bacias andinas que corriam para o norte, em direção ao Oceano pacífico (Wesselingh & Hoorn, 2011) .

O primeiro evento cladogenético no grupo *B. oligolepis* ocorreu ~8.7M (3.1–14M, 95% de HPD), e separou o ancestral das espécies do clado I do ancestral das demais espécies do grupo. Essa data está de acordo com a data proposta para o soergimento do Arco Vaupes no Mioceno tardio, que ocorreu entre 12–8M (Hoorn *et al.*, 1993; Albert *et al.*, 2021). O surgimento desse arco separou o “Proto-Orinoco-Amazonas” em duas drenagens, o atual Orinoco e Alto Amazonas, e possivelmente é o evento responsável pela separação entre o ancestral do Clado I (Orinoco+Branco) e do ancestral dos demais clados do grupo *B. oligolepis*.

Os próximos eventos cladogenéticos do grupo aconteceram em um curto período de tempo variando entre ~7.4M e ~6M. Eventos geológicos importantes ocorreram na América do Sul remodelando suas principais bacias hidrográficas entre os últimos 10M e 4.5M, tais como a erosão do Arco Purus e a reversão do Rio Amazonas, a formação da Cordilheira dos Andes e Merida Andes, surgimento do Arco Vaupes, redução do nível dos oceanos, e formação do sistema Acre (Lundberg *et al.*, 1998; Horn *et al.*, 2010; Albert *et al.*, 2018), que podem ter contribuído para os eventos cladogenéticos e a rápida radiação dos demais clados.

Como podemos notar, as espécies que compõem o grupo *B. oligolepis* ocorrem predominantemente em regiões de terras baixas da bacia Amazônica, da bacia do rio Orinoco e drenagens costeiras das Guianas (clados I, II, IV, VI e VII). Dentro do grupo *B. oligolepis* apenas

dois clados colonizaram de forma independente regiões de terras altas no escudo brasileiro a partir de regiões de terras baixas da bacia amazônica: o Clado III, composto pelas espécies *B. australis* e *B. foresti* que alcançou o sudeste Brasileiro a ~6.8M (2.2–10.9M, 95% de HPD) e o Clado V composto pelas espécies *B. sanctaefilomenae* que alcançou o Nordeste Brasileiro aproximadamente 7.0M (2.4–11.9M, 95% de HPD).

Esse padrão filogenético e biogeográfico observado em nosso estudo, que sugere uma origem em terras baixas com subseqüentes colonizações independentes para regiões cratônicas de terras altas a partir de eventos de captura de cabeceira, estão de acordo com vários estudos recentes (Tagliacollo *et al.*, 2015; Silva *et al.*, 2016; Fontenelle *et al.*, 2021; Melo *et al.*, 2021), e não suporta hipóteses prévias que afirmam que a origem da fauna ocorre em regiões cratônicas de terras altas e depois se expande para bacias de terras baixas (Albert & Carvalho 2011). Nossos resultados reforçam a hipótese de que regiões de terras baixas amazônicas funcionam tanto como *cradle* (regiões com altas taxas de especiação) e também como *museum* (regiões mantedoras de diversidade com baixas taxas de extinção) como sugerido por Melo *et al.*, 2021.

Bario forestii foi descrita como distribuída nas bacias do rio Paraguai e do alto rio Paraná (Benine *et al.*, 2009). Em nossas análises, inserimos amostras proveniente dessas duas bacias e confirmamos a monofilia dessa espécie. A divisão do ancestral *B. forestii* e *B. australis* foi a aproximadamente 4.8M (1.5–8.2M, 95% de HPD). *Bario australis* também ocorre tanto na bacia do rio Paraguai, como na bacia do rio Paraná. Nossos resultados sugerem que *B. forestii* alcançou o alto Paraná a partir da bacia do rio Paraguai a aproximadamente 1.1M (0.1–1.4M, 95% de HPD) e *B. australis* a aproximadamente a 2.6M (0.5–5.1M, 95% de HPD). Cardoso *et al.* (2021) também encontraram, para o mesmo período de tempo, eventos de geodispersão entre o Paraguai e alto Paraná, como observado em *Hypostomus* sp. 2150, *Hypostomus boulengeri* e *H. cordovae*, que colonizaram o Paraguai a partir do alto Paraná e através de outro evento mais recente, quando o ancestral de *H. borelli* e *H. commersoni* também alcança a bacia do rio Paraguai a partir do alto Paraná.

De todas as espécies do grupo antes denominado “subgrupo *B. oligolepis*”, *B. forestii* é a espécie de mais fácil distinção morfológica. Ela é composta por exemplares pequenos, que não ultrapassam 39.0 mm CP (moda= 30.2 mm CP) e que possuem a linha lateral incompleta com 8–11(modas=9) escamas perfuradas. *Bario forestii* é a única que não apresenta variação nesse

caráter. De 51 exemplares analisados, apenas um com 7 e dois com 12 escamas perfuradas. Veremos abaixo que em outras espécies de *Bario* a perfuração na linha lateral é um caráter extremamente variável. O grau de perfuração da linha lateral tem sido vinculado a redução de tamanho em casos de truncamento (Mattox *et al.*, 2016; Marinho, 2017; Weitzman & Vari, 1988), e possivelmente a linha lateral incompleta de *B. forestii* é vinculada ao seu tamanho reduzido.

Os exemplares de *Bario* (antes *Moenkhausia*) capturados na bacia do alto rio Paraná têm sido historicamente identificados como *B. sanctaefilomenae* (Benine *et al.*, 2009; Camargo *et al.*, 2020; Casatti *et al.*, 2001; Castro *et al.*, 2003, 2004; Cavalli *et al.*, 2018; Eigenmann, 1917; Graça & Pavanelli, 2007; Jarduli *et al.*, 2020; Langeani *et al.*, 2007; Lima *et al.*, 2003; Ota *et al.*, 2018; Oyakama & Menezes, 2010; Pazian *et al.*, 2011; Reia *et al.*, 2020; Reis *et al.*, 2020; Serra *et al.*, 2015; Uieda & Barretto, 1999), como proposto pelos trabalhos de Eigenmann (1917) e Benine *et al.* (2009). Espécimes do alto rio Paraná apresentam a linha lateral tanto interrompida como completa, e alguns exemplares com 4 séries de escamas horizontais abaixo e acima da linha lateral, com variação de 5/4 e 4/5 (outros exemplares de *Bario* do alto Paraná possuem 5/5), assim como ocorre em *B. sanctaefilomenae* do rio Parnaíba. Nossas análises filogenéticas demonstraram que essa linhagem de *Bario* da bacia do alto Paraná está agrupada com *B. australis* (Fig. 2), o que sugere que a perfuração da linha lateral é um caráter altamente homoplástico em *Bario*, e que surgiu no mínimo três vezes independentemente ao longo da história evolutiva do grupo: uma em *B. sanctaefilomenae*, outra em *B. forestii* e outra nas populações de *B. australis* do alto Paraná. Além disso, o número de séries de escamas acima e abaixo da linha lateral demonstrou não ser confiável, sendo um caráter altamente variável dentro para *B. australis* e *B. sanctaefilomenae*.

Bario sanctaefilomenae alcançou o escudo brasileiro na região leste do continente (Nordeste brasileiro, mais precisamente) e possui um tamanho corpóreo menor (moda= 32.2 mm CP, tamanho máximo 60.3 mm CP), e muito provavelmente, como consequência dessa redução de tamanho, possui um menor número de escamas na linha lateral (23–27), que é muitas vezes incompleta e interrompida; e menor série de escamas acima e abaixo da linha lateral (4/4). *Bario sanctaefilomenae* tem sido diferenciada de *B. oligolepis* pela presença de uma linha lateral incompleta (*vs.* linha lateral completa) e um menor número de séries de escamas horizontais

acima e abaixo na linha lateral, 4 (vs. 5) (Eigenman, 1917; Reia, 2018). Aqui, nós encontramos uma ampla variação no grau de perfuração das escamas da linha lateral em *B. sanctaefilomenae*. Nos exemplares da bacia do rio do Sono (bacia do rio Tocantins) e na bacia do alto São Francisco a perfuração das escamas é completa, com alguns exemplares com linha lateral interrompida e incompleta, e o contrário é encontrado no Parnaíba, linha lateral incompleta no geral, variando entre completa e interrompida. O capítulo 1 demonstra que essas populações do São Francisco, Rio do Sono e Parnaíba são delimitadas como três espécies diferentes. No entanto, não foram observadas diferenças morfológicas para descrevê-las formalmente, confirmando mais um caso de espécies crípticas no grupo.

No gênero *Bario* (exceto *Bario steindachneri*), os caracteres tradicionalmente utilizados para diferenciar as espécies parecem estar relacionados ao tamanho. As espécies crípticas de *B. oligolepis* que ocorrem em regiões de terras baixas (Clados I, II, IV, VI e VII) são muito maiores em relação ao tamanho máximo observado em *B. australis*, *B. forestii* e *B. sanctaefilomenae*, chegando a alcançar 80.2 mm CP. Nessas linhagens, a linha lateral é completa (raramente interrompida), com um alto número de escamas perfuradas na linha lateral (28–31) e alto número de séries de escamas horizontais acima e abaixo da linha lateral (5/5). Portanto o maior tamanho, associado aos caracteres apresentados acima parece ser plesiomórfico para o grupo, ou em outras palavras a ‘forma *B. oligolepis*’ seria a forma ancestral do grupo *B. oligolepis*.

Os representantes de *Bario* que ocorrem mais ao sul e nordeste do continente sul-americano são espécimes menores; *B. forestii* alcança um máximo de 39.0 mm CP (moda= 30.2 mm CP), *B. australis* alcança 63.2 mm CP (moda= 40.1 mm CP) e *B. sanctaefilomnae* alcança 60.3 mm CP (moda=32.2 mm CP). Nesse grupo, é comum a presença de linha lateral incompleta/interrompida e completa; um menor número de escamas na linha lateral (23–27), menor número de séries de escamas abaixo e acima da linha lateral (Benine *et al.*, 2009; Reia *et al.*, 2020).

Posto todos os argumentos citados acima, parece evidente que os caracteres merísticos tradicionalmente utilizados para diagnosticar as espécies de *Bario*, são modulados fortemente por fatores ecológicos e regionais. Eventos de captura de cabeceira que promoveram a geodispersão de linhagens de terras baixas para terras altas devem ter sido o gatilho para a diversificação morfológica de *B. australis*, *B. forestii* e *B. sanctaefilomenae* por permitir que essas espécies colonizassem e tivessem acesso a novos recursos ou habitats nessas regiões cratônicas em bacias

de terras altas, como ocorreu por exemplo em espécies do gênero *Hypostomus* (Silva *et al.*, 2016).

4. Conclusão

Assim, podemos traçar o seguinte cenário evolutivo para o gênero *Bario*: (1) *Bario* teria surgido em regiões de terras baixas na porção ocidental do ‘Proto-Amazon-Orinoco’ durante o Mioceno; (2) Após a primeira cladogênese o grupo passou por eventos de rápida radiação e as linhagens que permaneceram na bacia Amazônica não se diversificaram morfológicamente; (3) as linhagens que colonizaram independentemente regiões de terras altas no escudo brasileiro, a partir do Plioceno, como as linhagens de *B. sanctaefilomenae*, no Nordeste e *B. australis* e *B. forestii* no sul e sudeste se diversificaram morfológicamente (linha lateral incompleta e interrompida, menor número de séries horizontais de escamas acima e abaixo da linha lateral) em resposta a adaptação local.

5. Agradecimentos

Nós agradecemos a Claudio Oliveira (LBP), Natan Lujan (ROM), Mark Sabaj (ANSP), Brian Sidlauskas (OS), Priscila Camelier e Angela Zanata (UFBA), Luis Malabarba e Juliana M. Wingert (UFRS) pela assistência curatorial e empréstimo de tecidos. Ao Hugmar Pains da Silva, por enviar exemplares de *M. levidorsa*. A José Birindelli, Alexandre Ribeiro, Wiliam Ohara, Flávio Lima, Bruno Melo, Martim Taylor, Jefferson Crispim, Eric Ywamoto e Gabriel C. S. Silva, por forneceram as fotos utilizadas neste estudo. E a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES pela bolsa concedida.

6. Referências

- Aberer, A.J., Kobert, K., Stamatakis, A., 2014. ExaBayes: Massively parallel bayesian tree inference for the whole-genome era. *Mol. Biol. Evol.* 31, 2553–2556. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu236>.
- Adey, A., Morrison, H.G., Asan, Xun, X., Kitzman, J.O., Turner, E.H., Stackhouse, B., MacKenzie, A.P., Caruccio, N.C., Zhang, X., Shendure, J., 2010. Rapid, low-input, low-bias construction of shotgun fragment libraries by high-density in vitro transposition. *Genome Biol.* 11, R119. <https://doi.org/10.1186/gb-2010-11-12-r119>
- Albert J.S., Carvalho T.P. 2011. Neogene assembly of modern faunas. In: Albert J.S. and Reis R.E., editors. *Historical Biogeography of Neotropical freshwater fishes*. Berkeley and Los Angeles: University of California Press. p. 119–136.
- Albert, J.S., Val, P., Hoorn, C., 2018. The changing course of the Amazon River in the Neogene: center stage for Neotropical diversification. *Neotrop. Ichthyol.* 16 (3), e180033. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20180033>
- Albert, J.S., Bernt, M.J., Fronk, A.H., Fontenelle, J.P., Kuznar, S.L., Lovejoy, N.R., 2021. Late Neogene megariver captures and the great Amazonian Biotic Interchange. *Global and Planetary Change* 205: 103554. <https://doi.org/10.1016/j.gloplacha.2021.103554>.
- Benine, R.C., 2002. *Moenkhausia levidorsa*, a new species from Rio Aripuanã, Amazon basin, Brazil (Characiformes: Characidae). *Ichthyol. Explor. Freshwaters*, 13(4): 289–294.
- Benine, R.C., 2004. Análise filogenética do gênero *Moenkhausia* (Characiformes: Characidae) com uma revisão dos táxons do alto Rio Paraná. Tese de doutorado não publicada, 358 pp. Universidade Estadual Paulista, São Paulo, Brasil.
- Benine, R.C., Castro, R.M.C. & Santos, A.C.A. (2007). A new *Moenkhausia* Eigenmann, 1903 (Ostariophysi: Characiformes) from Chapada Diamantina, rio Paraguaçu Basin, Bahia, Northeastern Brazil. *Neotrop. Ichthyol.* 5(3). 259–262.
- Benine, R.C., Mariguela, T.C., Oliveira, C. (2009) New species of *Moenkhausia* Eigenmann, 1903 (Characiformes: Characidae) with comments on the *Moenkhausia oligolepis* species complex. *Neotrop Ichthyol.* 7(2): 161-168.
- Bührnheim, C.M., Carvalho, T.P., Malabarba, L.R., & Weitzman, S.H., 2008. A new genus and species of characid fish from the Amazon basin: the recognition of a relictual lineage of characid fishes (Ostariophysi: Cheirodontinae: Cheirodontini). *Neotrop Ichthyol.* 6, 663-678. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252008000400016>
- Camargo, M.P., Forneck, S.C., Dutra, F.M., Ribas, L.B., Cunico, A.M., 2021, Fish fauna in low-order streams of the Piquiri River, Upper Paraná River basin, Brazil. *Biota Neotrop.* 21(4): e20211217. <https://doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2021-1217>
- Cardoso, Y.P., de Queiroz, L.J.I, Bahechar, I.A., Posadas, Montoya-Burgos, P.E., J.I. 2021. Multilocus phylogeny and historical biogeography of *Hypostomus* shed light on the processes of fish diversification in La Plata Basin. *Scientific Reports.* 11, 5073. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83464-x>.
- Castro, R.M.C., Casatti, L., Santos, H.F., Ferreira, K.M., Ribeiro, A.C, Benine, R.C., Dardis, G.Z.P., Melo, A.L.A., Stopiglia, R., Abreu, T.X., Bockmann, F.A., Carvalho, M., Gibran, F.Z., Lima, F.C.T., 2003. Estrutura e Composição da Ictiofauna de Riachos do Rio Paranapanema, sudeste e sul do Brasil. *Biota Neotrop.* 3(1), 1–31.
- Casatti, L., Langeani, F., Castro, R.M.C., 2001. Peixes de riacho do Parque Estadual Morro do Diabo, bacia do alto rio Paraná, SP. *Biota Neotrop.* 1, 1–15.

- Castro, R.M.C., Casatti, L., Santos, H.F., Melo, A.L.A., Martins, L.S.F., Ferreira, K.M., Gibran, F.Z., Benine, R.C., Carvalho, M., Ribeiro, A., Abreu, T.X., Bockmann, F.A., Pelicão, G.Z., Stopiglia, R., Langeani, F., 2004. Estrutura e composição da ictiofauna de riachos da bacia do rio Grande no estado de São Paulo, sudeste do Brasil. *Biota Neotrop.* 4(1), 1–39.
- Cavalli, D., Frota, A., Lira, A.D., Gubiani, E.A., Margarido, V.P., Graça, W.J., 2018. Update on the ichthyofauna of the Piquiri River basin, Paraná, Brazil: a conservation priority área. *Biota Neotrop.* 18(2), e20170350. <http://dx.doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2017-0350>
- Costa, W.J.E.M., 1994. Description of two new species of the genus *Moenkhausia* (Characiformes: Characidae) from the central Brazil. *Zoologischer Anzeiger.* 232, 21–29.
- Dagosta, F.C.P., de Pinna, M.C., 2019. The fishes of the Amazon: distribution and biogeographical patterns, with a comprehensive list of species. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* 431, 1–163.
- Drummond, A.J., Suchard, M.A., Xie, D., Rambaut, A., 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Mol. Biol. Evol.* 29, 1969–1973. <https://doi.org/10.1093/molbev/mss075>
- Eigenmann, C. H. 1908. Preliminary descriptions of new genera and species of the Tetragonopterid characins. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology*, 52, 94–93.
- Eigenmann, C.H., 1917. The American Characidae—I. *Mem Mus Comp. Zool.* 43(1), 1–102, 16 pls.
- Edgar, R.C., 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nuc. Acid. Res.* 32 (5), 1792–1797. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>
- Faircloth, B.C., McCormack, J.E., Crawford, N.G., Harvey, M.G., Brumfield, R.T., Glenn, T.C., 2012. Ultraconserved elements anchor thousands of genetic markers spanning multiple evolutionary timescales. *Syst. Biol.* 61, 717–726. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys004>
- Faircloth, B.C., 2016. PHYLUCES is a software package for the analysis of conserved genomic loci. *Bioinformatics.* <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv646>
- Faircloth, B.C., Sorenson, L., Santini, F., Alfaro, M.E., 2013. A phylogenomic perspective on the radiation of ray-finned fishes based upon targeted sequencing of ultraconserved elements (UCEs). *PLoS ONE* 8 (6), e65923. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065923>
- Faircloth, B.C., Alda, F., Hoekzma, K., Burns, M.D., Oliveira, C., Albert, J.S., Melo, B.F., Ochoa, L.E., Roxo, F.F., Chakrabarty, P., Sidlauskas, B.L., Alfaro, M.E., 2020. A target enrichment bait set for studying relationships among ostariophysan fishes. *Copeia.* 108, 47–60. <https://doi.org/10.1643/CG-18-139>
- Fricke, R., Eschmeyer, W. N. & Fong, J. D. 2022. ESCHMEYER'S CATALOG OF FISHES: GENERA/SPECIES BY FAMILY/SUBFAMILY. (<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>). Electronic version accessed 30 May 2022.
- Fontenelle, J.P., Marques, F.P.L., Kolmann, M.A., Lovejoy, N.R., 2021. Biogeography of the Neotropical freshwater stingrays (Myliobatiformes: Potamotrygoninae) reveals effects of continent scale paleogeographic change and drainage evolution. *J. Biogeogr.* 48: 1406–1419. <https://doi.org/10.1111/jbi.14086>.
- Géry, J. 1977. Characoids of the world. New Jersey, T.F.H. Publications, 672 pp.
- Graça, W.J., Pavanelli, C.S., 2007. Peixes da planície de inundação do alto rio Paraná e áreas adjacentes. EDUEM, Maringá, 241 pp.
- Harris, R., 2007. Improved pairwise alignment of genomic DNA. Ph.D. thesis. The Pennsylvania State University.

- Hencha, K., Helmkampfa, M., McMillanb, W.O., Puebla, O., Rapid radiation in a highly diverse marine environment. *PNAS*, 119: 4 e2020457119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2020457119>.
- Hoorn, C. 1993. Marine incursions and the influence of Andean tectonics on the Miocene depositional history of northwestern Amazonia: Results of a palynostratigraphic study. *Paleogeography, Paleoclimatology, and Palaeoecology*, 105: 267–309.
- Hoorn, C., Wesselingh, F.P., Ter Steege, H., Bermudez, M.A., Mora, A., et al. 2010. Amazonia through time: Andean uplift, climate change, landscape evolution, and biodiversity. *Science*. 330(6006), 927–31.
- Jarduli, L.R., Garcia, D.A.Z., Vidotto-Magnoni, A.P., Casimiro, A.C.R., Vianna, N.C., Almeida, F.S., Jerep, F.C., Orsi, M.L., 2020. Fish fauna from the Paranapanema River basin, Brazil. *Biota Neotrop.* 20(1), e20180707. <http://dx.doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2018-0707>
- Kircher, M., Sawyer, S., Meyer, M., 2012. Double indexing overcomes inaccuracies in multiplex sequencing on the Illumina platform. *Nucleic Acids Res.* 40 (1), e3. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr771>
- Lanfear, R., Calcott, B., Kainer, D., Mayer, C., Stamatakis, A., 2014. Selecting optimal partitioning schemes for Phylogenomic datasets. *BMC Evol. Biol.* 14, 82. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-14-82>.
- Lanfear, R., Frandsen, P.B., Wright, A.M., Senfeld, T., Calcott, B., 2016. PartitionFinder 2: new methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological phylogenetic analyses. *Mol. Biol. Evol.* 34, 772–773.
- Langeani, F., Castro, R.M.C., Oyakawa, O.T., Shibatta, O.A., Pavanelli, C.S., Casatti, L., 2007. Diversidade da ictiofauna do Alto Rio Paraná: composição atual e perspectivas futuras. *Biota Neotrop.* 7 (3), 1–17.
- Leaché, A.D., Banbury, B.L., Linkem, C.W., Oca, A.N.M., 2016. Phylogenomics of a rapid radiation: is chromosomal evolution linked to increased diversification in north american spiny lizards (Genus *Sceloporus*)? *BMC Evolutionary Biology*. 16:63. <https://doi.org/10.1186/s12862-016-0628-x>.
- Lima, F.C.T., Malabarba, L.R., Buckup, P.A., Silva, J.F.P., Vari, R.P., Harold, A., Benine, R.C., Oyakawa, O.T., Pavanelli, C.S., Menezes, N.A., Lucena, C.A.S., Reis, R.E., Langeani, F., Casatti, L., Bertaco, V.A., Moreira, C.R., Lucinda, P.H.F. 2003. Genera Incertae Sedis in Characidae. In: Reis, R.E., Kullander, S.O., Ferraris, Jr., C.J. (Ed.), *Check List of the Freshwater fishes of South and Central America*. Edipucrs, Porto Alegre, 106–169.
- Lima, F.C.T., Britski, H.A., Machado, F.A., 2007. A new *Moenkhausia* (Characiformes: Characidae) from central Brazil, with comments on the area relationship between the upper rio Tapajós and upper rio Paraguai systems. *aqua, Inter J Ichthyol.* 13(2), 45–54.
- Lundberg, J.G., Marshall, L.G., Guerrero, J., Horton, B., Malabarba, M.C.S.L., Wesselingh, F., 1998. The stage for Neotropical fish diversification: a history of tropical South American rivers. In: Malabarba, L.R., Reis, R.E., Vari, R.P., Lucena, Z.M.S., Lucena, C.A.S. (Eds.), *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes*. EDIPUCRS, Porto Alegre, pp. 13–48.
- McCormack, J.E., Faircloth, B.C., Crawford, N.G., Gowaty, P.A., Brumfield, R.T., Glenn, T.C., Ultraconserved elements are novel phylogenomic markers that resolve placental mammal phylogeny when combined with species-tree analysis. *Genome Res.* 22(4): 746-54. <https://doi.org/10.1101/gr.125864.111>.

- Mariguela, T.C., Benine, R.C., Abe, K.T., Avelino, G.S. & Oliveira, C. (2013) Molecular phylogeny of *Moenkhausia* (Characidae) inferred from mitochondrial and nuclear DNA evidence. *J Zool Syst Evol Res*, 5(4), 327–332.
- Mariguela, T.C., Roxo, F.F., Foresti, F., Oliveira, C., 2016. Phylogeny and biogeography of Triportheidae (Teleostei: Characiformes) based on molecular data. *Mol. Phylogenetics Evol.* 96, 130–139. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2015.11.018>.
- Marinho, M.M.F., 2017. Comparative development in *Moenkhausia pittieri* and *Paracheirodon innesi* (Ostariophysi: Characiformes) with comments on heterochrony and miniaturization in the Characidae. *J Fish Biol.* 91, 851–865. <https://doi.org/10.1111/jfb.13384>.
- Marinho, M.M.F., Ohara, W.M., Dagosta, F.C.P., 2021. A new species of *Moenkhausia* (Characiformes: Characidae) from the rio Madeira basin, Brazil, with comments on the evolution and development of the trunk lateral line system in characids. *Neotrop Ichthyol.* 19(2), e200118. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2020-0118>.
- Mattox, G. M. T., Britz, R. & Toledo-Piza, M., 2016. Osteology of *Priocharax* and remarkable developmental truncation in a miniature Amazonian fish (Teleostei: Characiformes: Characidae). *J Morphol.* 277, 65–85. <https://doi.org/10.1002/jmor.20477>.
- Mathubara, K., Toledo-Piza M., 2020. Taxonomic study of *Moenkhausia cotinho* Eigenmann, 1908 and *Hemigrammus newboldi* (Fernández-Yépez, 1949) with the description of two new species of *Moenkhausia* (Teleostei: Characiformes: Characidae). *Zootaxa*, 4852(1): 001–040. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4852.1.1>.
- Meiklejohn, K.A., Faircloth, B.C., Glenn, T.C., Kimball, R.T., Braun, E.L., 2016. Analysis of a Rapid Evolutionary Radiation Using Ultraconserved Elements: Evidence for a Bias in Some Multispecies Coalescent Methods. *Syst. Biol.* 65(4): 612–627. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syw014>.
- Melo, B.F., Benine, R.C., Silva, G.S., Avelino, G.S., Oliveira, C., 2016. Molecular phylogeny of the Neotropical fish genus *Tetragonopterus* (Teleostei: Characiformes: Characidae). *Mol. Phylogenetics Evol.* 94, 709–17.
- Melo, B.F., Albert, J.S., Dagosta, F.C.P., Tagliacollo, V.A., 2021. Biogeography of curimatid fishes reveals multiple lowland–upland river transitions and differential diversification in the Neotropics (Teleostei, Curimatidae). *Ecol Evol.* 11, 15815–15832. <https://doi.org/10.1002/ece3.8251>.
- Melo, B.F., Sidlauskas, B.L., Near, T.J., Roxo, F.F., Ghezelayagh, A., Ochoa, L. E., ... Oliveira, C., 2021. Accelerated diversification explains the exceptional species richness of tropical Characoid fishes. *Syst. Biol.* 71(1), 78–92. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syab040>
- Mirande, J.M., 2009. Weighted parsimony phylogeny of the Family Characidae (Teleostei: Characiformes). *Cladistics.* 25(6), 574–613.
- Mirande, J.M., 2010. Phylogeny of the family Characidae (Teleostei: Characiformes) from characters to taxonomy. *Neotrop Ichthyol.* 8(1), 385–568.
- Mirande, J.M., 2019. Morphology, molecules and the phylogeny of Characidae (Teleostei, Characiformes). *Cladistics.* 35(1), 282–300. <https://doi.org/10.1111/cla.12345>.
- Myers, G.S. 1940. Suppression of some preoccupied generic names of fishes (*Kessleria*, *Entomolepis*, *Pterodiscus* and *Nesiotes*), with a note on *Pterophyllum*. *Stanford Ichthyological Bulletin.* 2, 35–36.

- Ohara, W.M., Lima, F.C.T., 2015. *Moenkhausia uirapuru*, a new species from the upper rio Guaporé, Chapada dos Parecis, Mato Grosso, Brazil (Teleostei: Characidae). *Ichthyol. Explor. Freshwaters*. 26(2), 159–170.
- Ohara, W.M., Marinho, M.M.F., 2016. A new species of *Moenkhausia* Eigenmann (Characiformes: Characidae) from the upper rio Machado at Chapada dos Parecis, rio Madeira basin, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 14(1): e150041.
- Ota, R.R., Deprá, G.C., Graça, W.J., Pavanelli, C.S., 2018. Peixes da planície de inundação do alto rio Paraná e áreas adjacentes: revised, annotated and updated. *Neotrop Ichthyol.* 16(2), 1–111. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20170094>
- Oyakawa, O.T, Menezes, N.A., 2011. Checklist dos peixes de água doce do Estado de São Paulo, Brazil. *Biota Neotrop.* 11 (1a): 1–13.
- Pattengale, N.D., Alipour, M., Bininda-Emonds, O.R., Moret, B.M., Stamatakis, A., 2010. How many bootstrap replicates are necessary? *J. Comput. Biol.* 17, 337–354. <https://doi.org/10.1089/cmb.2009.0179>
- Pazian, M.F., Leal, H.M.M., Lalucce, M., 2011. Ichthyofaunal survey of the Riacho Goulart, tributary of Tietê River (upper Paraná basin). *Check List* 7 (5): 652–655. <https://doi.org/10.15560/7.5.652>
- Rambaut, A., Drummond, A.J., M.A., Suchard, M., 2018. Tracer v1.7. Available from <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>
- Reia, L., 2018. Revisão Taxonômica das espécies do grupo *Moenkhausia oligolepis* (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes), Unpublished MSc. Dissertação, Universidade Estadual Paulista, 1-95.
- Reia, L., Benine, R.C., 2019. A new species of *Hemigrammus* Gill 1858 (Characiformes: Characidae) from the upper Rio Negro, Amazon basin, Brazil. *Zootaxa*, 4555 (3): 407–415. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4555.3.9>.
- Reia, L., Vicensotto, A. M. P. F., Oliveira, C., & Benine, R. C., 2019. Taxonomy of *Moenkhausia australis* Eigenmann, 1908 (Characiformes, Characidae) with a discussion on its phylogenetic relationships. *Zootaxa*. 4688, 213–231. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4688.2.3>.
- Reia, L., Silva, G.S.C., Garcia-Ayala, J.R., Vicensotto, A.M.P.F., Benine, R.C., 2020., Ichthyofauna of the ribeirão Sucuri, a tributary of the rio Tietê, upper rio Paraná basin, southeastern Brasil. *Check List*. 16(3), 711–728. <https://doi.org/10.15560/16.3.711>
- Reis, R.B., Frota, A., Deprá, G.C., Ota, R.R., Graça, W.J., 2020. Freshwater fishes from Paraná State, Brazil: na annotated list, with comments on biogeographic patterns, threats, and future perspectives. *Zootaxa*, 4868(4), 451–494. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4868.4.1>
- Ribeiro, A.C., Jacob, R.M., Silva, R.R.S.R., Lima, F.C.T., Ferreira, D.C., Ferreira, K.M., Mariguela, T.C., Pereira, L.H.G., Oliveira, C., 2013. Distributions and phylogeographic data of rheophilic freshwater fishes provide evidences on the geographic extension of a central-brazilian Amazonian palaeoplateau in the area of the present day Pantanal Wetland. *Neotrop. Ichthyol.* 11, 319–326.
- Stamatakis, A., 2006. RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics* 22, 2688–2690. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl446>.
- Stamatakis, A., 2014. RAxML version 8: A tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*. 30, 1312–1313. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033>

- Serra, J.P., Campos, F.F.S., Castro, A.L.S., 2015. Composição e estrutura da comunidade de peixes de um afluente do rio Tietê, bacia do alto Paraná. *Revista Agrogeoambiental* 7(1), 87–96.
- Silva, G.S.C., Roxo, F.F., Lujan, N., Tagliacollo, V.A., Zawadzki, C.H., Oliveira, C., 2016. Transcontinental dispersal, ecological opportunity and origins of an adaptive radiation in the Neotropical catfish genus *Hypostomus* (Siluriformes: Loricariidae). *Mol. Ecol.* 25: 1511–1529. <https://doi.org/10.1111/mec.13583>.
- Souza, C.S., Melo, B.F., Mattox, G.M.T., Oliveira, C., 2022. Phylogenomic analysis of the Neotropical fish subfamily Characinae using ultraconserved elements (Teleostei: Characidae). *Mol Phylogenetics Evol.* 171, 107462. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2022.107462>.
- Sousa, L.M., Netto-Ferreira A.L., Birindelli, J.L.O., 2010. Two new species of *Moenkhausia* Eigenmann (Characiformes: Characidae) from Serra do Cachimbo, Pará, Northern Brazil. *Neotrop. Ichthyol.* 8(2): 255-264.
- Suh, A., Smeds, L., Ellegren, H., 2015. The Dynamics of Incomplete Lineage Sorting across the Ancient Adaptive Radiation of Neoavian Birds. *PLoS Biol* 13(8): e1002224. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002224>.
- Taphorn, D.C., 1992. The characiform fishes of the Apure river drainage, Venezuela. *Biollania edición especial, Monografías Científicas del Museo de Ciencias naturales*, 4, 1–221.
- Tagliacollo, V.A., Roxo, F.F., Duke-Sylvester, S.M., Oliveira, C., Albert, J.S., 2015. Biogeographical signature of river capture events in Amazonian lowlands. *J Biogeography*. 42(12), 2349–2362. <https://doi.org/10.1111/jbi.12594>
- Tagliacollo, V.A., Lanfear, R., 2018. Estimating improved partitioning schemes for ultraconserved elements. *Mol. Biol. Evol.* 35, 1798–1811. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy069>
- Uieda, V.S., Barreto, M.G., 1999. Composição da Ictiofauna de quatro trechos de diferentes trechos de diferentes ordens do Rio Capivara, Bacia do Tietê, Botucatu, São Paulo. *Rev Bras Zool* 1(1), 55–67.
- Weiss, F.E., Malabarba, L.R., Malabarba, M.C., 2012. Phylogenetic relationships of *Paleotetra*, new characiform fish (Ostariophysi) with two new species from the Eocene-Oligocene of South-Eastern Brazil. *J Syst. Palaeontol.* 10, 73–86. <https://doi.org/10.1080/14772019.2011.565082>.
- Weitzman, S. H. & Vari, R. P., 1988. Miniaturization in south American freshwater fishes: an overview and discussion. *Proc Biol Society Washington*. 101, 444–465
- Wendt, E.W., Silva, P.C., Malabarba, L.R., Carvalho, T.P., 2019. Phylogenetic relationships and historical biogeography of *Oligosarcus* (Teleostei: Characidae): examining riverine landscape evolution in southeastern South America. *Mol. Phylogenetics Evol.* 140: 106604.
- Wesselingh, F.P., Hoon, C., Geological Development of Amazon and Orinoco Basin. In: Albert, J.S., Reis, R.E. (Eds) *Historical Biogeography of Neotropical freshwater Fishes*. University of California Press, Berkeley 2011, 59–67.
- Whitfield J.B., Lockhart P.J. 2007. Deciphering ancient rapid radiations. *Trends Ecol. Evol.* 22:258–265. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2007.01.012>.
- Zhang, C., Rabiee, M., Sayyari, E., Mirarab, S., 2018. ASTRAL-III: polynomial time species tree reconstruction from partially resolved gene trees. *BMC Bioinf.* 19, 153. <https://doi.org/10.1186/s12859-018-2129-y>
- Zerbino, D., Birney, E., 2008. Velvet: Algorithms for de novo short read assembly using de Bruijn graphs. *Genome Res.* 18, 821–829. <https://doi.org/10.1101/gr.074492.107>

6. Material Suplementar

Tabela Suplementar 1. Táxons amostrados neste estudo e sua respectiva: coleção, número da amostra e distribuição geográfica.

Familia	Subfamilia	Espécie	Coleção	Nº do espécime	Localidade	Coordenadas geográficas
Characidae	Aphyocharacinae	<i>Aphyocharax pusillus</i>	LBP 4046	22922	rio Juruá/Cruzeiro do Sul/AC/Brasil	7°37'20.0"S 72°47'42.2"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Astyanax fasciatus</i>	LBP 10391	48887	rio São Francisco/Buritizeiro/MG/Brasil	17°07'06.6"S 44°49'50.8"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Astyanax biotae</i>	LBP 8917	40268	rio Paranapanema/Diamante do Norte/PR/Brasil	22°38'38.2"S 52°48'54.4"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario australis</i>	LBP 24930	91306	rio Sepotuba/Tangará da Serra/MT/Brasil	14°33'24.4"S 57°48'31.2"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario australis</i>	LBP 6765	32242	rio Tietê/Marapoama/SP/Brasil	21°11'35"S 49°07'22"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario australis</i>	LBP 28570	49827	rio Paraguai/Coxim/MS/Brasil	18°25'24.4"S 54°50'05.9"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario australis</i>	UFRS 21473		rio Uruguai/RS/Brasil	
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario forestii</i>	LBP 13714	56927	rio Paraguai/Poconé/MT/Brasil	17°47'33.7"S 57°33'26.7"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario forestii</i>	LBP 4655	24755	alto rio Paraná/Taquarussu/MS/Brasil	22°43'46.2"S 53°19'04.2"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario oligolepis</i>	LBP 10766	49828	rio Paraguai/Coxim/MS/Brasil	18°25'24.4"S 54°50'05.9"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario oligolepis</i>	LBP 24869	93164	rio Teles Pires/Alta Floresta/MT/Brasil	9°48'55.09"S 56°8'25.9"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario oligolepis</i>	LBP 21077	82707	rio Oiapoque/Oiapoque/AP/Brasil	03°48'47.6"N 51°48'31.6"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario oligolepis</i>	LBP 6957	33386	Negro/São Gabriel da Cachoeira/AM/Brasil	0°00'32.0"N 66°55'35.0"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario oligolepis</i>	OS 18747	PE 10162	rio Nanay, Maynas/Departamento Loreto/Peru	3°49'47.6"S 73°20'14.2"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario oligolepis</i>	LBP 25995	95625	rio Amazonas/Tabatinga/AM/Brasil	04°10'03.0"S 69°54'15.0"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario oligolepis</i>	LBP 18662	rack26B8	Orinoco/Meta/Colombia	3°10'29.73"N 73°39'41.2"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario oligolepis</i>	LBP 9969	46800	Orinoco/Caicara del Orinoco/Venezuela	7°37'53.2"N 66°09'14.6"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario oligolepis</i>	LBP 15433	63632	rio Branco/Boa Vista/RR/Brasil	02°56'19.7"N 61°03'06.1"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario oligolepis</i>	LBP 4098	23550	rio Juruá/Mâncio Lima/AC/Brasil	07°34'28.8"S 72°55'24.9"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario oligolepis</i>	LBP 10836	50030	rio Jamari/Ariquemes/RO/Brasil	10°15'54.4"S 63°18'18.9"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario oligolepis</i>	LBP 14071	58450	rio Tapajós/Itaituba/PA/Brasil	04°55'58.8"S 56°51'51.6"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario oligolepis</i>	LBP 10193	50258	rio Jaci Paraná/Porto Velho/RO/Brasil	09°15'23.3"S 64°23'13.6"W

Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario oligolepis</i>	LBP 17781	70275	rio Ucayali/Huánuco/Peru	08°39'57.2"S 74°48'08.7"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario oligolepis</i>	LBP 15334	63375	rio Tocantins/Palmas/TO/Brasil	10°18'56.6"S 48°13'00"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario oligolepis</i>	LBP 15710	64558	Xingu/Ribeirão Cascalheira/MT/Brasil	13°09'13.6"S 51°55'18.7"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario oligolepis</i>	LBP 16620	67665	rio Xingu/Altamira/PA/Brasil	03°36'36.5"S 51°56'53.2"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario oligolepis</i>	LBP 5693	27576	rio Araguaia/Barra do Garça/MT/Brasil	15°40.67"S 52°17.86"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario oligolepis</i>	LBP 32923	111491	rio Jaci Paraná/Campo Novo de Rondônia/RO/Brasil	10°48'30"S 63°44'8"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario oligolepis</i>	ANSP 11063	-	rio Takutu/Rupununi/Guiana	4°3'14"N 59°29'7"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario oligolepis</i>	LBP 5377	27028	rio Jari/Laranjal do Jari/AP/Brasil	00°33'51"S 52°34'45"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario oligolepis</i>	LBP 12033	51517	Purus/Labrea/AM/Brasil	07°56.110"S 63°27.353"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario sanctaefilomenae</i>	LBP 28293	99874	rio São Francisco/João Pinheiro/MG/Brasil	17°32'47.4"S 46°27'12.6"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario sanctaefilomenae</i>	LBP 5541	27228	rio Parnaíba/Santa Filomena/PI/Brasil	09°08'04"S 45°53'48"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario sanctaefilomenae</i>	LBP 19228	77702	rio Tocantins/Mateiros/TO/Brasil	10°34'29.5"S 46°29'12.9"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Bario steindachneri</i>	LBP 15110	20F4	rio Tapajós/Itaituba/PA/Brasil	04°38'58.9"S 56°17'28.2"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Carlana eigenmanni</i>	LBP 3301	2618	Rio Playon Chico/Panamá	-
Characidae	Stethaprioninae	<i>Carlana eigenmanni</i>	STRI 14441	BFD05625	lago Nicarágua/Chontales/Nicarágua	-
Characidae	Stethaprioninae	<i>Ctenobrycon spilurus</i>	LBP 4095	23538	rio Juruá/Mâncio Lima/AC/Brasil	07°34'28.8"S 72°55'24.9"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Ctenobrycon oliverai</i>	LBP 18643	85320	rio Orinoco/Departamento Meta/Colômbia	3°17'38.6"N 73°32'2.3"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Deuterodon rosai</i>	LBP 2041	13947	rio Canela/Joinville/SC/Brasil	26°10'35.4"S 48°54'37.0"W
Characidae	Stethaprioninae	" <i>Gênero nov. andrica</i> "	LBP 30218	81609	rio Papagaio/Sapezal/MT/Brasil	13°33'39.6"S 58°24'25.5"W
Characidae	Stethaprioninae	" <i>Gênero nov. andrica</i> "	LBP 20872	81479	rio Arinos/Diamantino/MT/Brasil	13°51'15.2"S 56°41'24.1"W
Characidae	Stethaprioninae	" <i>Gênero nov. cosmops</i> "	LBP 20910	81608	rio Papagaio/Sapezal/MT/Brasil	13°33'39.6"S 58°24'25.5"W
Characidae	Stethaprioninae	" <i>Gênero nov. cambacica</i> "	LBP 30612	105793	rio Machado/Vilhena/RO/Brasil	12°30'36.0"S 60°28'19.4"W
Characidae	Stethaprioninae	" <i>Gênero nov. parecis</i> "	LBP 25268	94582	rio Machado/Vilhena/RO/Brasil	12°48'55.5"S 60°6'36.1"W
Characidae	Stethaprioninae	" <i>Gênero nov. pirahan</i> "	LBP 24970	93442	rio Jamamxim/Novo Progresso/PA/Brasil	07°06'43.0"S 55°27'17.0"W
Characidae	Stethaprioninae	" <i>Gênero nov. uirapuru</i> "	LBP 22897	85313	rio Guaporé/Conquista do Oeste/MT/Brasil	14°30'03.8"S 59°25'26.0"W
Characidae	Stethaprioninae	" <i>Gênero nov. skolioplatus</i> "	LBP 22894	87615	rio Juruena/Comodoro/MT/Brasil	12°57'50.5"S 60°1'40.4"W
Characidae	Stethaprioninae	" <i>Gênero nov. skolioplatus</i> "	LBP 22894	85310	rio Juruena/Comodoro/MT/Brasil	12°57'50.5"S 60°1'40.4"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Genycharax tarpon</i>	LBP 24305	90800	rio Cauca/Totoró/Departament Cauca/Colômbia	-
Characidae	Stethaprioninae	<i>Hemigrammus aguaruna</i>	LBP 22470	86585	rio Amazonas/Leticia/Colômbia	04°08'24.4"S 69°56'53.4"W

Characidae	Stethaprioninae	<i>Hemigrammus ataktos</i>	LBP 15321	63338	rio Tocantins/Palmas/TO/Brasil	10°17'20.9"S 48°20'0.3"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Hemigrammus guyanensis</i>	LBP 9269	43719	rio Guamá/Ourém/PA/Brasil	01°32'43.6"S 47°07'37.2"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Hemigrammus haraldi</i>	LBP 18216	74133	rio Amazonas/Manacapuru/AM/Brasil	03°16'45.1"S 60°38'21.4"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Hemigrammus kuroobi</i>	LBP 7074	34395	rio Negro/São Gabriel da Cachoeira/AM/Brasil	00°06.11"S 66°53.75"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Hemigrammus neptunus</i>	LBP 11069	50700	rio Madeira/Porto Velho/RO/Brasil	09°39'36.4"S 65°22'19.7"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Hemigrammus newboldi</i>	LBP 4178	23771	rio Juruá/Mâncio Lima/AC/Brasil	07°26'35.5"S 73°03'33.5"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Hemigrammus ocellifer</i>	LBP 22370	86650	rio Amazonas/Leticia/Colômbia	04°11'25.7"S 69°57'00.5"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Hemigrammus pretoensis</i>	LBP 22473	87603	rio Amazonas/Leticia/Colômbia	04°08'24.4"S 69°56'53.4"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Hemigrammus unilineatus</i>	LBP 21094	82757	rio Oiapoque/Oiapoque/Amapá/Brasil	03°48'47.6"N 51°48'31.6"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Hemigrammus vorderwinkleri</i>	LBP 10946	50342	rio Madeira/Porto Velho/RO/Brasil	09°57'03.7"S 64°56'03.8"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Hyphessobrycon cf. bellottii</i>	LBP 13244	55557	rio Negro/Presidente Figueiredo/AM/Brasil	1°49'41.3"S 60°12'19.3"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Hyphessobrycon vilmae</i>	LBP 8011	37482	rio Arinos/Nova Mutum/MT/Brasil	14°08'21.6"S 56°04'19.5"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Hyphessobrycon compressus</i>	LBP 19581	61599	rio costeiro Caribe/Villa Hattieville/Distrito Belize/Belize	17°27'29.4"N 88°23'34.4"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Hollandichthys multifasciatus</i>	LBP 6815	33036	rio costeiro Atlântico/Itanhanhém/SP/Brasil	24°10.890"S 46°50.563"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Inpaichthys kerri</i>	LBP 4526	24597	aquário	-
Characidae	Stethaprioninae	<i>Macropsobrycon xinguensis</i>	LBP 16716	86546	rio Xingu/Vitória do Xingu/PA/Brasil	03°05'48.9"S 52°10'54.7"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Moenkhausia agnesae</i>	LBP 14869	57941	aquário/Iquitos//Loreto/Peru	-
Characidae	Stethaprioninae	<i>Moenkhausia diamantina</i>	UFBA 1154			
Characidae	Stethaprioninae	<i>Moenkhausia diktyota</i>	LBP 25882	96447	rio Negro/São Gabriel da Cachoeira/AM/Brasil	00°03'28.0"S 66°58'21.0"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Moenkhausia clorophthalma</i>	LBP 25256	94524	rio Xingu/Altamira/PA/Brasil	08°45'06.0"S 55°02'05.0"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Moenkhausia comma</i>	LBP 22467		rio Amazonas/Leticia/Colômbia	04°08'24.4"S 69°56'53.4"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Moenkhausia cotinho</i>	LBP 22408	86646	rio Amazonas/Leticia/Colômbia	04°07'33.8"S 70°00'28.9"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Moenkhausia costae</i>	LBP 10321	47313	rio São Francisco/Pirapora/MG/Brasil	17°13'33.7"S 44°48'27.9"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Moenkhausia intermedia</i>	LBP 4518	24577	rio Araguaia/Barra do Garça/MT/Brasil	-
Characidae	Stethaprioninae	<i>Moenkhausia levidorsa</i>	LBP 30767	105673	rio Aripuanã/Aripuanã/MT/Brasil	-
Characidae	Stethaprioninae	<i>Moenkhausia panklopteryx</i>	LBP 20930	81678	rio Araguaia/Barra do Garça/MT/Brasil	15°42'43.4"S 52°15'32.1"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Moenkhausia xinguensis</i>	LBP 16745	69602	rio Xingu, Altamira/PA/Brasil	03°12'50.8"S 52°12'42.3"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Moenkhausia xinguensis</i>	LBP 6101	28443	rio Culuene/Paranatinga/MT/Brasil	13°49"S 53°15"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Moenkhausia pyrophthalma</i>	LBP 15348	63409	rio Tocantins/Palmas/TO/Brasil	10°12'43.8"S 40°27'09.3"W

Characidae	Stethaprioninae	<i>Nematobrycon palmeri</i>	LBP 6124	33165	aquário	-
Characidae	Stethaprioninae	<i>Parapristella albynei</i>	LBP 15435	63638	rio Branco/Alto Alegre/RR/Brasil	02°56'19.7"N 61°03'06.1"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Parapristella georgiae</i>	LBP 4466	24407	rio Negro/Barcelos/AM/Brasil	00°40'03.1"S 62°58'23.5"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Parapristella cf. georgiae</i>	LBP 18320	74421	rio Negro/Santa Isabel do Rio Negro/AM/Brasil	00°30'5.3"S 64°49'12.2"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Pseudochalceus kyburzi</i>	LBP 24234	90679	rio Anchicaya/Buenaventura/Departamento Valle del Cauca/Colômbia	-
Characidae	Stethaprioninae	<i>Rhoadsia altipinna</i>	LBP 19350	76059	rio Las Lajas/Machala/El Oro/Equador	03°47'08.7"S 80°03'22.0"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Rachoviscus crassiceps</i>	LBP 11445	52263	rio costeiro Atlântico/Itapoá/SC/Brasil	26°02'23.8"S 48°38'09.4"W
Characidae	Stethaprioninae	<i>Thayeria obliqua</i>	LBP 5743	26892	rio Araguaia/Barra do Garças/MT/Brasil	15°19'57.6"S 52°12'10.4"W
Characidae	Stevardiinae	<i>Hemibrycon jabonero</i>	LBP 24333	91536	rio Cauca/Cartago/Departamento Valle del Cauca/Colômbia	4°41'2.2"N 75°51'2.5"W
Characidae	Stevardiinae	<i>Markiana nigripinnis</i>	LBP 7586	36284	rio Cuiabá/Barão de Melgaço/MT/Brasil	16°11'39.5"S 55°48'25.1"W
Characidae	Stevardiinae	<i>Piabina argentea</i>	LBP 11688	60184	alto rio Paraná/Araxá/MG/Brasil	19°32'57.3"S 46°50'03.7"W
Characidae	Tetragonopterinae	<i>Tetragonopterus argenteus</i>	LBP 3758	22029	rio Paraguai/Aquidauana/MS/Brasil	19°34'33.7"S 56°14'49.5"W
Characidae	Spintherobolinae	<i>Spintherobolus papilliferus</i>	LBP 20540	61600	rio costeiro Atlântico/Bertioga/SP/Brasil	23°41'44.3"S 46°3'10.7"W
Characidae	Spintherobolinae	<i>Spintherobolus leptoura</i>	LBP 7544	36094	rio Ribeira do Iguape/Iguape/SP/Brasil	24°42'57.8"S 47°41'28.3"W
Characidae	Spintherobolinae	<i>Amazonspither dalmata</i>	LBP 9309	46055	rio Madeira/Humaitá/AM/Brasil	8°11'46"S 63°51'48"W
Triporthidae	Triporthinae	<i>Lignobrycon myersi</i>	LBP 8094	37519	rio costeiro Atlântico/Ilhéus/BA/Brasil	14°41'11.7"S 39°16'28.0"W

Tabela Suplementar 2. Valores dos números de trimmed reads, contigs assemble, pb total por contigs, UCE contigs, pb total de UCE, por espécie e espécime presente no estudo.

Espécie	Coleção	N° do espécime	Número de trimmed reads	contigs assemble	bp total por contigs	UCE contigs	pb total	número de acesso
<i>Aphyocharax pusillus</i>	LBP 4046	22922	1635003	127303	21352008	1531	734549	
<i>Astyanax fasciatus</i>	LBP 10391	48887	1635003	127303	21352008	1531	734549	
<i>Astyanax biotae</i>	LBP 8917	40268	2441061	206052	30741622	1585	704908	
<i>Bario australis</i>	LBP 24930	91306	766783	30917	6483023	1822	1195254	
<i>Bario australis</i>	LBP 6765	32242	8872803	380162	68409955	1617	1029383	

<i>Bario australis</i>	LBP 28570	49827	2904989	115096	22533119	1735	1003177
<i>Bario australis</i>	UFRS 21473		9825902	653580	120602494	881	237385
<i>Bario forestii</i>	LBP 13714	56927	15574923	366238	55594861	1345	371854
<i>Bario forestii</i>	LBP 4655	24755	2055557	83908	14981203	1801	1150648
<i>Bario oligolepis</i>	LBP 10766	49828	14417571	571529	102792779	1373	701803
<i>Bario oligolepis</i>	LBP 24869	93164	22880969	609965	115993948	1387	775901
<i>Bario oligolepis</i>	LBP 21077	82707	2382845	225439	33624569	1561	619547
<i>Bario oligolepis</i>	LBP 6957	33386	18381613	532479	99544441	1344	704672
<i>Bario oligolepis</i>	OS 18747	PE 10162	4746507	552915	78381452	1541	501435
<i>Bario oligolepis</i>	LBP 25995	95625	12499905	1369362	252414469	833	172828
<i>Bario oligolepis</i>	LBP 18662	rack26B8	2886798	667567	120419416	884	207724
<i>Bario oligolepis</i>	LBP 9969	46800	10000715	1379530	258309641	880	203047
<i>Bario oligolepis</i>	LBP 15433	63632	11152289	1394970	265228858	875	223842
<i>Bario oligolepis</i>	LBP 4098	23550	14491520	646975	117565978	913	220308
<i>Bario oligolepis</i>	LBP 10836	50030	13975717	790739	143097752	881	205365
<i>Bario oligolepis</i>	LBP 14071	58450	3773966	584895	104616927	887	202108
<i>Bario oligolepis</i>	LBP 10193	50258	11181550	1207305	224846262	860	186874
<i>Bario oligolepis</i>	LBP 17781	70275	12288621	861372	155475920	872	193033
<i>Bario oligolepis</i>	LBP 15334	63375	9072854	668651	121779037	883	219844
<i>Bario oligolepis</i>	LBP 15710	64558	13121299	1557072	304471415	857	233040
<i>Bario oligolepis</i>	LBP 16620	67665	8798204	617887	110666167	902	218294
<i>Bario oligolepis</i>	LBP 5693	27576	10984418	643701	119765483	840	191093
<i>Bario oligolepis</i>	LBP 32923	111491	13567688	854525	162843721	792	197200
<i>Bario oligolepis</i>	ANSP 11063	-	12869333	835101	151376415	851	182225
<i>Bario oligolepis</i>	LBP 5377	27028	10200666	664032	119798046	871	192638
<i>Bario oligolepis</i>	LBP 12033	51517	18462009	501372	93699830	1070	249675
<i>Bario sanctaefilomenae</i>	LBP 28293	99874	11866256	321983	62211003	1345	808628
<i>Bario sanctaefilomenae</i>	LBP 5541	27228	2219040	75882	12306599	1832	1060007
<i>Bario sanctaefilomenae</i>	LBP 19228	77702	10585748	652438	117437022	905	232878

<i>Bario steindachneri</i>	LBP 15110	20F4	2063436	167957	25968234	1651	829052
<i>Carlana eigenmanni</i>	LBP 3301	2618	1341618	36040	9614069	1864	1672720
<i>Carlana eigenmanni</i>	STRI 14441	BFD05625	1680853	49292	11960637	1822	1505411
<i>Ctenobrycon spilurus</i>	LBP 4095	23538	2720132	198063	29752249	1592	628950
<i>Ctenobrycon oliverai</i>	LBP 18643	85320	1389395	52899	9056628	1783	1067691
<i>Deuterodon rosai</i>	LBP 2041	13947	2283271	86794	12672027	1780	859768
"Gênero nov. <i>andrica</i> "	LBP 30218	81609	5742076	146236	28341649	1775	1285119
"Gênero nov. <i>andrica</i> "	LBP 20872	81479	6815622	322091	49240761	1564	737868
"Gênero nov. <i>cosmops</i> "	LBP 20910	81608	15416931	229496	45846765	1497	692398
"Gênero nov. <i>cambacica</i> "	LBP 30612	105793	17044574	1228260	229357447	803	205365
"Gênero nov. <i>parecis</i> "	LBP 25268	94582	15482062	1052102	196438148	809	200845
"Gênero nov. <i>pirahan</i> "	LBP 24970	93442	10559763	618082	112368858	881	209440
"Gênero nov. <i>uirapuru</i> "	LBP 22897	85313	1890740	128121	17091092	1767	1074131
"Gênero nov. <i>skolioplatus</i> "	LBP 22894	87615	1913696	100972	14584172	1751	1174839
"Gênero nov. <i>skolioplatus</i> "	LBP 22894	85310	2422318	154798	20100228	1815	1109837
<i>Genycharax tarpon</i>	LBP 24305	90800	2054739	59811	11965314	1721	931629
<i>Hemigrammus aguaruna</i>	LBP 22470	86585	1966292	70119	14299415	1882	1334971
<i>Hemigrammus ataktos</i>	LBP 15321	63338	2372888	151411	19483497	1779	944677
<i>Hemigrammus guyanensis</i>	LBP 9269	43719	4628898	377663	57675993	1421	561875
<i>Hemigrammus haraldi</i>	LBP 18216	74133	2842264	87156	14719421	1842	1197619
<i>Hemigrammus kuroobi</i>	LBP 7074	34395	5649837	488843	76176199	1402	578706
<i>Hemigrammus neptunus</i>	LBP 11069	50700	1259123	113093	17554786	1440	545915
<i>Hemigrammus newboldi</i>	LBP 4178	23771	237624	45555	6338931	1228	231928
<i>Hemigrammus ocellifer</i>	LBP 22370	86650	1970206	76664	12288690	1791	1078407
<i>Hemigrammus pretoensis</i>	LBP 22473	87603	2641553	100787	15686613	1824	1149004
<i>Hemigrammus unilineatus</i>	LBP 21094	82757	2018381	169850	24854117	1615	711733
<i>Hemigrammus vorderwinkleri</i>	LBP 10946	50342	2202120	190563	28742992	1647	765321
<i>Hyphessobrycon cf. bellottii</i>	LBP 13244	55557	2433235	60263	12488019	1843	1214330
<i>Hyphessobrycon vilmae</i>	LBP 8011	37482	2440992	103826	15092280	1818	1028310

<i>Hyphessobrycon compressus</i>	LBP 19581	61599	3106427	193004	25141742	1574	662535
<i>Hollandichthys multifasciatus</i>	LBP 6815	33036	2900837	113020	21436607	1372	858805
<i>Inpaichthys kerri</i>	LBP 4526	24597	1812759	58865	13179646	1839	1511479
<i>Macropsobrycon xinguensis</i>	LBP 16716	86546	1926238	57289	12670012	1876	1351396
<i>Moenkhausia agnesae</i>	LBP 14869	57941	3885934	281641	43020010	1482	656170
<i>Moenkhausia diamantina</i>	UFBA 1154		9913325	617091	110659638	898	251675
<i>Moenkhausia diktyota</i>	LBP 25882	96447	16068692	1016038	192546001	796	191607
<i>Moenkhausia clorophthalma</i>	LBP 25256	94524	11929368	826269	148309454	857	212208
<i>Moenkhausia comma</i>	LBP 22467		2556734	71799	14818194	1882	1206340
<i>Moenkhausia cotinho</i>	LBP 22408	86646	8357796	624801	119145800	892	241900
<i>Moenkhausia costae</i>	LBP 10321	47313	2554112	128746	21798214	1808	1212226
<i>Moenkhausia intermedia</i>	LBP 4518	24577	3407152	296077	44446081	1545	680619
<i>Moenkhausia levidorsa</i>	LBP 30767	105673	2958283	519815	91618806	996	278653
<i>Moenkhausia panklopterix</i>	LBP 20930	81678	4818680	99473	20572444	1721	968676
<i>Moenkhausia xinguensis</i>	LBP 16745	69602	17192373	559374	98696343	1454	624000
<i>Moenkhausia xinguensis</i>	LBP 6101	28443	1880006	225537	31968339	1564	613956
<i>Moenkhausia pyrophthalma</i>	LBP 15348	63409	1995690	171343	21678789	1693	840899
<i>Nematobrycon palmeri</i>	LBP 6124	33165	395870	38712	5537996	1019	337876
<i>Parapristella albynei</i>	LBP 15435	63638	2229880	171084	26096761	1541	718759
<i>Parapristella georgiae</i>	LBP 4466	24407	1445751	56108	9304744	1803	1044680
<i>Parapristella cf. georgiae</i>	LBP 18320	74421	2185996	78242	12621448	1807	1115581
<i>Pseudochalceus kyburzi</i>	LBP 24234	90679	2444235	87290	16339051	1847	1407581
<i>Rhoadsia altipinna</i>	LBP 19350	76059	2666479	77527	17729315	1854	1530019
<i>Rachoviscus crassiceps</i>	LBP 11445	52263	6680986	818034	136521202	1499	694768
<i>Thayeria obliqua</i>	LBP 5743	26892	1571286	160174	25920699	1635	695844
<i>Hemibrycon jabonero</i>	LBP 24333	91536	2908302	336617	48616247	1593	700574
<i>Markiana nigripinnis</i>	LBP 7586	36284	1909439	178611	27498471	1584	773821
<i>Piabina argentea</i>	LBP 11688	60184	2276336	82080	15239437	1832	1061539
<i>Tetragonopterus argenteus</i>	LBP 3758	22029	4499947	499081	70451953	1669	809603

<i>Spintherobolus papilliferus</i>	LBP 20540	61600	2750620	237501	38059489	1573	805350
<i>Spintherobolus leptoura</i>	LBP 7544	36094	2827445	90881	21500724	1813	1423011
<i>Amazonspither dalmata</i>	LBP 9309	46055	1866742	64477	14078621	1805	1252446
<i>Lignobrycon myersi</i>	LBP 8094	37519	7320628	137924	30939099	1705	1243043



Figura suplementar 1. Relação filogenética de *Bario* baseada na análise Bayesiana com a matriz de 75% de completude incluindo 311 elementos ultraconservados (89.513 pb).



Figura suplementar 2. Relação filogenética de *Bario* baseada na análise Bayesiana com a matriz de 75% de completude incluindo 311 elementos ultraconservados (89.513 pb).



Figura suplementar 3. Análise filogenética de *Bario* baseada na análise de Astral com a matriz de 75% de completude.

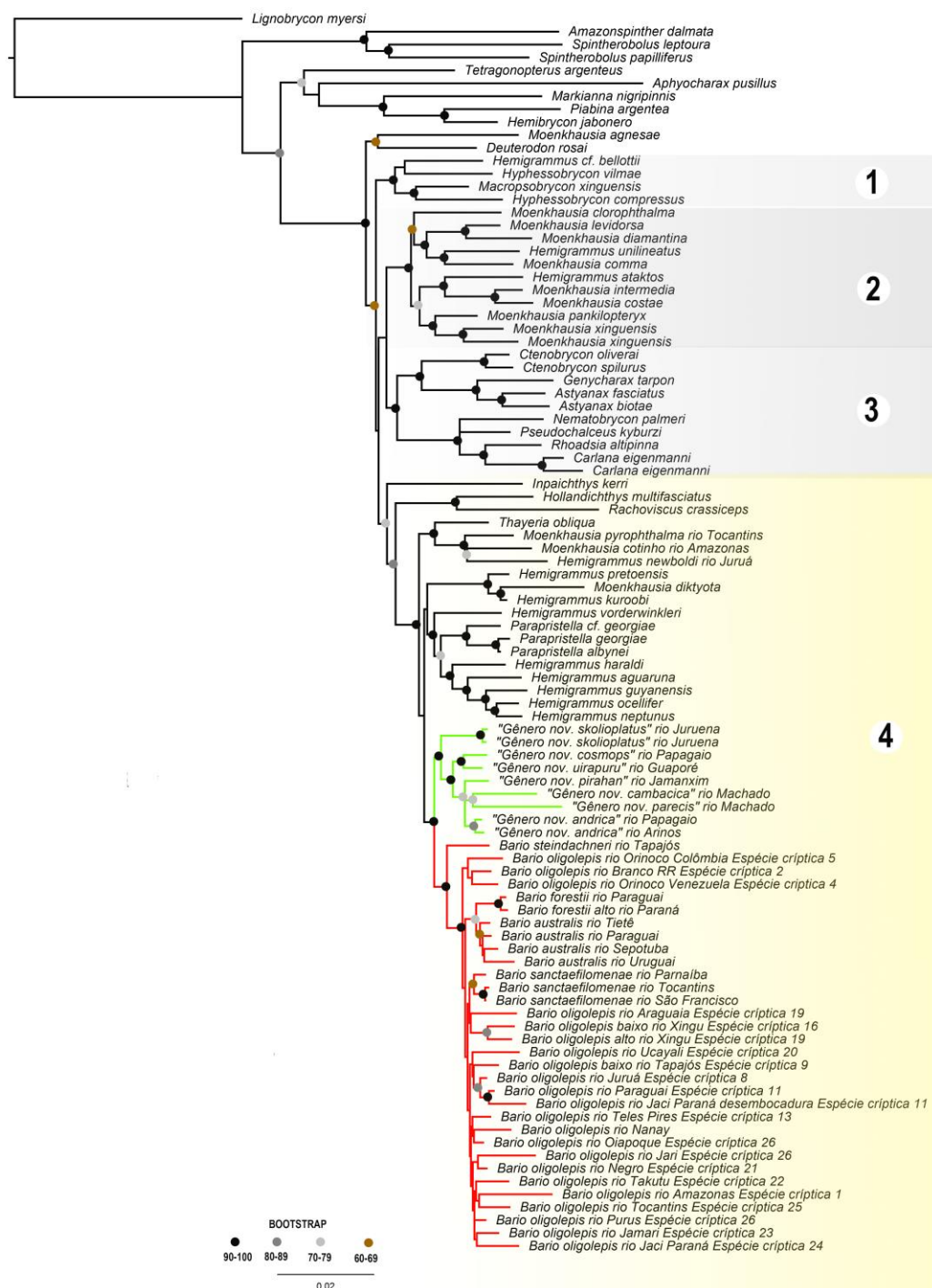


Figura suplementar 4. Relação filogenética de *Bario* usando elementos ultraconservados do genoma com base na matriz de 85% de completude incluindo 36 elementos ultraconservados (9.945 pb).



Figura suplementar 5. Análise filogenética de *Bario* baseada na análise de Bayesiana com a matriz de 85% de completude incluindo 36 elementos ultraconservados (9.945 pb).



Figura suplementar 6. Análise filogenética de *Bario* baseada na análise de Astral com a matriz de 85% de completude.