

RESSALVA

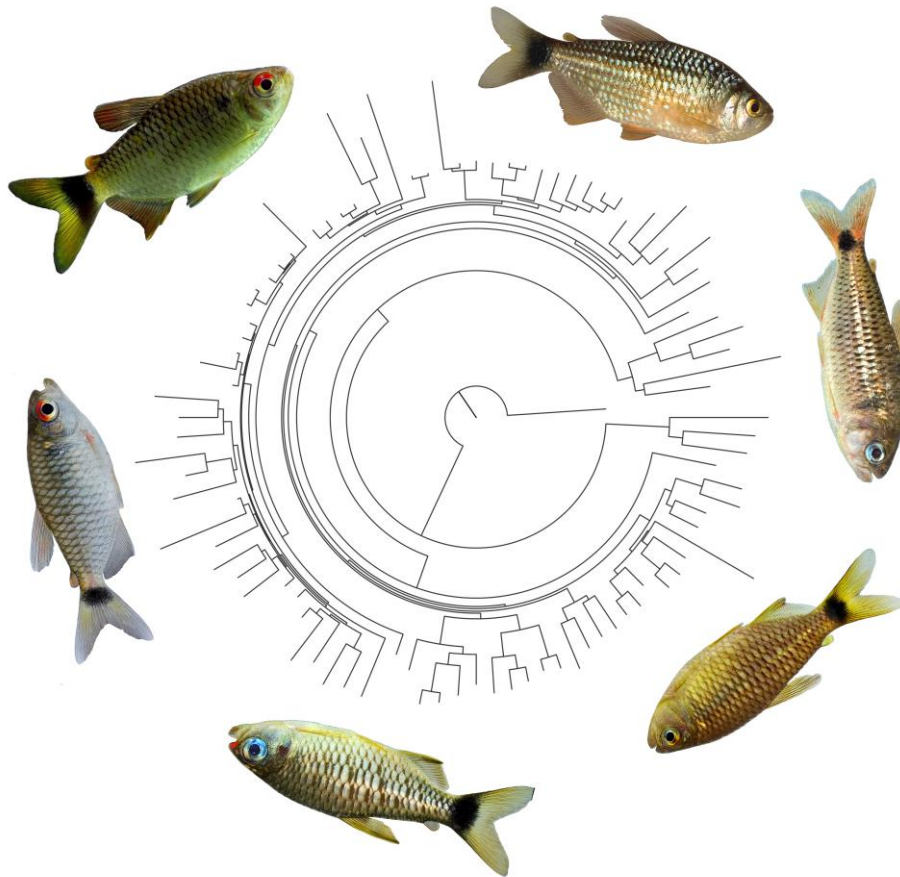
Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 27/01/2025.

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, Vinicíus, 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

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.

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, Stomiatidae.* 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.

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.

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>