

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 29/05/2025.

**Taxonomia integrativa das espécies de *Myloplus* (Characiformes:
Serrasalminidae) da bacia do Prata**

Victória Dandara Pereira e Silva

Botucatu, SP

2024

**Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" Instituto de
Biociências de Botucatu**

**Taxonomia integrativa das espécies de *Myloplus* (Characiformes:
Serrasalminidae) da bacia do Prata**

Aluna: Victória Dandara Pereira e Silva

Orientador: Prof. Dr. Claudio Oliveira

Coorientador: Prof^a. Dra^a. Rafaela Priscila Ota

Dissertação apresentada ao
Instituto de Biociências,
Campus de Botucatu, UNESP,
para defesa de Mestrado no
Programa de Pós-Graduação
em Ciências Biológicas
(Zoologia).

Botucatu, SP

2024

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Silva, Victória Dandara Pereira e.

Taxonomia integrativa das espécies de *Myloplus*
(Characiformes: Serrasalmidae) da bacia do Prata /
Victória Dandara Pereira e Silva. - Botucatu, 2024

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu

Orientador: Claudio de Oliveira

Coorientador: Rafaela Priscila Ota

Capes: 20405006

1. Pacu (Peixe). 2. Characídeos. 3. Taxonomia
(Zoologia). 4. Genes mitocondriais. 5. Marcadores
genéticos.

Palavras-chave: COI; Myleinae; Neotropical; Pacu;
Serrasalmidae.

**Taxonomia integrativa das espécies de *Myloplus* (Characiformes:
Serrasalminidae) da bacia do Prata**

Aluna: Victória Dandara Pereira e Silva

Orientador: Prof. Dr. Claudio Oliveira

Coorientador: Prof^a. Dra^a. Rafaela Priscila Ota

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para defesa de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia).

Data de aprovação: 29/05/2024

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. CLAUDIO DE OLIVEIRA (Participação Presencial)

Departamento de Zoologia / Universidade Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências da Unesp de Botucatu

Profa. Dra. NADAYCA THAYANE BONANI MATEUSSI (Participação Virtual)

-

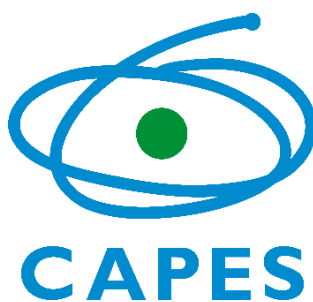
Prof. Dr. RICARDO CARDOSO BENINE (Participação Presencial)

Departamento de Zoologia / Universidade Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências da Unesp de Botucatu

Botucatu, SP

2024

Esta pesquisa foi financiada com recursos da Coordenação de
Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)



Agora e sempre, às grandes mulheres da minha vida:

Geni, Ester, Jacy, Andrea, Sueli e Vanessa.

Agradecimentos

Agradeço ao meu orientador, Prof. Claudio Oliveira, por aceitar me orientar, por sua constante presença e dedicação, e por sua humanidade e respeito, que me inspiram tanto como pesquisadora quanto como ser humano.

Agradeço também à minha coorientadora, Prof^ª. Rafaela Ota, que me acompanha desde minha primeira iniciação científica, que como diz o poeta: "Que já viajou tantas canções comigo e ainda há tantas por viajar". Que me inspira como cientista e mulher independente, inteligente e forte.

Agradeço especialmente aos amigos de laboratório: Mariana Kuranaka, Giovanna Ribeiro, Aisni Mayumi, Thiago Farias e Jefferson Crispim, que me auxiliaram e ensinaram diversas técnicas, desde as de bancada até análises filogenéticas e muito mais, contribuindo diretamente para o desenvolvimento desse trabalho.

Agradeço a todos, sem exceção, do Laboratório de Biologia e Genética de Peixes, que também contribuíram significativamente com aprendizados acadêmicos e de vida durante esses anos de mestrado.

Agradeço aos meus amigos de Manaus do INPA e da Ufam, pelos quais tenho grande carinho, especialmente Lúcia, Marcelo, Renildo, Alany, Valéria, Isaac, Gabriel, Isabel e Douglas.

Agradeço às minhas amigas-irmãs, Vanessa, Kate e Gab.

Agradeço aos meus familiares, em especial à minha tia Andrea, meus avós, Sueli e Waldemar, e meu pai, Adriano, por todo o suporte e cuidado ao longo da vida. Agradeço com carinho ao meu parceiro, Gabriel, por todos os momentos e ensinamentos compartilhados.

Agradeço ao Instituto de Biociências de Botucatu, ao programa de Pós-graduação em Zoologia e aos funcionários do Departamento de Biologia Estrutural e Funcional e da seção técnica de Pós-graduação, cujo trabalho permitiu a realização deste estudo.

*“Tenho em mim um sentimento de aldeia e dos primórdios.
Eu não caminho para o fim, eu caminho para as origens.”*

Manoel de Barros

Resumo

Myloplus possui, atualmente, 15 espécies válidas, das quais, apenas *M. tiete* e *M. levis* ocorrem no sistema Paraná-Paraguai. Ambas são descritas com base em apenas um espécime e possuem descrições originais breves, tendo *M. levis* já sido considerada um sinônimo júnior de *M. tiete*. Filogenias moleculares recentes sugerem que as duas espécies são proximamente relacionadas. Para verificar se essas duas espécies realmente correspondem a táxons distintos, conduzimos uma abordagem integrativa, usando análises morfológicas e moleculares (COI). Nossos resultados demonstraram que *M. tiete* e *M. levis* são espécies distintas. *Myloplus tiete* pode ser diagnosticado de *M. levis* por: maior distância entre o término da nadadeira dorsal até o término da nadadeira anal (21,8–25,3% SL vs. 17,0–20,0), base da nadadeira adiposa mais longa (4,1–5,8% SL vs. 2,6–3,8), último raio da nadadeira anal curto e estreito (vs. longo e largo) e espinhos da quilha ventral curtos (vs. longos). Resultados moleculares recuperaram as espécies como táxons distintos, com distância interespecífica de 8,5%. Por hora, a atual classificação de *M. tiete* como uma espécie ameaçada (EN) de acordo com os critérios da IUCN pode ser devido à falta de uma definição apropriada da espécie. Esse estudo demonstra como a aplicação de abordagens integrativas podem ser úteis para melhorar a compreensão de táxons com históricos taxonômicos complexos, com descrições originais insuficientes e com grande similaridade morfológica.

Palavras-chave. COI, Myelinae, Neotropical, Pacu, Serrasalmididae.

Abstract

Of the 15 species of *Myloplus*, only *M. tiete* and *M. levis* occur in Paraná-Paraguay River Basin. Each of the two species was briefly described based on a single specimen, and thus the diagnostic characters of *M. tiete* and *M. levis* are not clearly stated in the literature, which led to *M. levis* being sometimes considered a junior synonym of *M. tiete*. Recent molecular phylogenies suggested that the two species are very closely related. To verify if these two species correspond to distinct taxa, we carried out an integrative analysis using morphological and molecular (COI) data. Our results demonstrate that *M. tiete* and *M. levis* are two different species. *Myloplus tiete* can be diagnosed from *M. levis* by: longer dorsal-fin terminus to anal-fin terminus distance (21.8–25.3% SL vs. 17.0–20.0), longer adipose-fin base (4.1–5.8% SL vs. 2.6–3.8), the last anal-fin unbranched ray short and narrow (vs. long and wide), and short ventral-keel spines (vs. long). Molecular results also identified the species as distinct taxa, with an interspecific distance of 8.5%. Currently, *M. tiete* is categorized as Endangered (EN) according to IUCN criteria. This study demonstrates how the application of integrative approaches can be useful for a better understanding of taxa with complex taxonomic history, uninformative original descriptions, and significant morphological similarity.

Key words. COI, Myelinae, Neotropical, Pacu, Serrasalminidae.

Sumário

Introdução	12
Objetivos	16
Referências	17
Capítulo 1. Redescription of Myloplus (Characiformes: Serrasalminidae) from La Plata Basin	20
1.1 Introduction	21
1.2 Material and Methods	23
1.2.1 Morphological analysis	23
1.2.2 Molecular analysis	24
1.3 Results	27
1.3.1 Redescription of Myloplus levis	27
1.3.2 Redescription of Myloplus tiete	41
1.3.3 Molecular data	52
1.4 Discussion	53
1.5 Comparative material	57
1.6 References	57
Supplementary files	64

Introdução

A ordem Characiformes, compreendendo 289 gêneros distribuídos em 24 famílias (Fricke, Eschmeyer, Fong, 2024), constitui um dos grupos morfológicamente mais variados entre os peixes de água doce, o que permitiu sua adaptação a diferentes nichos tróficos e ambientais na região Neotropical e na África (Betancur *et al.*, 2019; Burns, Sidlauskas, 2019; Ohara *et al.*, 2017). Dentre as famílias neotropicais, encontra-se Serrasalminidae, que abriga peixes de grande importância comercial, popularmente conhecidos como pacus, piranhas, o tambaqui e a pirapitinga (Ota *et al.*, 2013). A família apresenta grande diversidade morfológica e atualmente é composta por 18 gêneros (Fricke, Eschmeyer, Fong, 2024), sendo um deles o gênero fóssil *Megapiranha* Cione *et al.*, 2009.

Quanto às relações filogenéticas dentro de Serrasalminidae, as mais recentes filogenias publicadas sugerem a divisão da família em dois ou três grandes grupos. A hipótese filogenética proposta por Mateussi *et al.* (2020), utilizando elementos ultraconservados, recupera duas subfamílias: Colossomatinae e Serrasalminae, sendo a última subdividida em duas tribos de acordo com o tipo de espinho pré-dorsal, Myleini, composta pelos pacus com espinho contínuo ao primeiro pterigióforo, e Serrasalmini, composta por *Metynnis* Cope, 1878 e as piranhas com espinho descontínuo. Já a hipótese proposta por Kolmann *et al.* (2020), utilizando éxons, recupera três subfamílias: Colossomatinae, Myleinae e Serrasalminae. A única diferença entre as propostas é o método de classificação utilizado, subordinação na primeira e sequenciamento na segunda.

Dentro de Myleinae (*sensu* Kolmann *et al.*, 2020) ou Myleini (*sensu* Mateussi *et al.*, 2020), *Myloplus* Gill, 1896 é o gênero com o maior número de espécies, atualmente composto por 15 espécies válidas. Os representantes do gênero são pacus de médio a grande porte que habitam diversos tipos de ambientes, desde lagos com águas lentas até corredeiras e pequenas quedas d'água (Jégu, 2003; Andrade *et al.*, 2016).

Embora atualmente muitas espécies sejam atribuídas a *Myloplus*, seu histórico taxonômico é bastante complexo. *Myloplus* foi originalmente proposto por Gill (1896) como subgênero de *Myleus* (*sensu* Müller, Troschel, 1844), que então era composto por dois subgêneros, *Myleus* e *Myletes*. Gill (1896), através de uma breve menção em único parágrafo, sem fornecer descrição complementar ou indicar espécie tipo, propôs *Myloplus*

como substituto de *Myletes sensu* Müller, Troschel (1844), pois *Myletes sensu* Cuvier (1816) já estava em uso para outra espécie não relacionada. Dessa forma *Myletes* foi substituído (e posteriormente suprimido) por *Myloplus*, que por sua vez foi considerado subgênero ou sinônimo júnior de *Myleus* por mais de um século (Eigenmann, 1910, 1912; Géry, 1972).

Eigenmann (1912), ao analisar peixes da Guiana Inglesa, indica *Myletes asterias* Müller, Troschel, 1844 como espécie tipo do subgênero *Myloplus*. No entanto, por muitos anos as características indicadas para esta espécie foram consideradas insuficientes para sua diagnose, tendo sido considerada um sinônimo júnior de *Myletes rubripinnis* Müller, Troschel, 1844. Jégu *et al.* (2004) ao analisarem material tipo das espécies realocadas, *Myleus asterias* e *Myleus rubripinnis*, além de material complementar oriundo das Guianas e do rio Amazonas, foram capazes de separar adequadamente as duas espécies e assim revalidar a espécie tipo de *Myloplus*. Além disso, os autores também identificaram características que diagnosticavam *Myloplus*, elevando-o à categoria de gênero.

Sobre o relacionamento das espécies, a filogenia proposta por Kolmann *et al.* (2020), recuperou *Myloplus* como parafilético e propôs novos arranjos taxonômicos. Dois subgêneros de *Myleus* foram revalidados para alocar três espécies anteriormente posicionadas em *Myloplus* [*i.e.* *Prosomyloplus* Géry, 1972, para alocar *P. rhomboidalis* (Cuvier, 1818), e *Paramyloplus* Norman, 1929, para alocar *P. ternetzi* Norman, 1929 e *P. taphorni* (Andrade *et al.*, 2019)]. No entanto, nenhuma diagnose morfológica foi fornecida para nenhum dos gêneros. Ainda no mesmo trabalho, *Myloplus planquettei* Jégu, Keith, Le Bail 2003 foi transferida para *Myleus planquettei*. Mesmo considerando esses rearranjos *Myloplus* permaneceu parafilético.

Mateussi *et al.* (2020) utilizaram um número maior de espécies de Serrasalminidae em sua análise filogenética, mas também não recuperaram a monofilia de *Myloplus*, com espécies proximamente relacionadas a outros gêneros (*e.g.* *Myleus*, *Mylesinus* Valenciennes, 1850, *Tometes* Valenciennes, 1850 e *Utiaritchthys* Miranda Ribeiro, 1937). O problema central consiste na diagnose desses gêneros, baseada na forma e distribuição dos dentes do pré-maxilar (Géry, 1972; Jégu *et al.*, 2003, 2004), caráter que vem se demonstrando homoplástico nas últimas análises filogenéticas da família (Orti *et al.*, 2008; Thompson *et al.*, 2014; Kolmann *et al.*, 2020; Mateussi *et al.*, 2020). Além disso, as espécies exibem grande variação morfológica associada à ontogenia e dimorfismo sexual, o que dificulta o reconhecimento dos limites intra- e interespecíficos (Machado *et al.*, 2018; Ota *et al.*, 2020).

Taxonomia Integrativa e DNA barcoding

A taxonomia clássica baseada em caracteres estritamente morfológicos possui limitações atualmente muito discutidas, entre elas: necessidade de especialistas para correta identificação de táxons; existências de espécies crípticas (que não são distintas morfológicamente); descrições originais insuficientes e séries tipo perdidas; grande plasticidade fenotípica intraespecífica; dificuldade de identificação morfológica correta ao longo de toda ontogenia dos táxons (Pires, Marinoni, 2010). Assim, a junção de mais de uma, ou até a aplicação de várias técnicas de análises diferentes, tem sido muito utilizada para alcançar um melhor entendimento sobre a biodiversidade. A utilização dessa abordagem é conhecida como taxonomia integrativa (Dayrat, 2005).

Embora muitas outras metodologias possam ser utilizadas, as análises moleculares têm sido uma ferramenta muito importante para a delimitação de táxons e para o avanço do entendimento sobre as relações filogenéticas das espécies. Com a criação da técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction) para amplificação do DNA, tornou-se possível a delimitação de espécies com base apenas no sequenciamento de um determinado trecho de DNA amplificado. A técnica recebe o nome de DNA barcoding em referência direta ao código de barras, uma vez que cada ser vivo apresenta uma sequência de DNA diferente, podendo assim ser identificado apenas com base na leitura desse código (Hebert *et al.*, 2003).

O DNA barcoding é realizado em um trecho específico no DNA mitocondrial, uma pequena região no gene citocromo c oxidase subunidade I (COI) de cerca de 650 pares de bases. A escolha do gene está principalmente relacionada à possibilidade de reconhecimento de espécies crípticas e estruturação filogeográfica das espécies, uma vez que possui uma grande amplitude de sinal filogenético, apresentando substituições nucleotídicas mais rápidas, além disso, o gene possui primers universais que permitem o sequenciamento de quase todos os filos e *indels* (inserções/deleções) raros (Hebert *et al.*, 2003).

Assim, a identificação de espécies através de análises de DNA, como a técnica de DNA barcoding, contorna alguns problemas centrais da taxonomia clássica como: facilitar a identificação de qualquer táxon em qualquer estágio de vida, mesmo larvas e

juvenis, e tornar possível a delimitação de espécie morfológicamente crípticas. No entanto, ressalta-se que o DNA barcoding identifica espécies através da comparação de sequências previamente analisadas e depositadas em um banco de dados, como o GenBank e o BOLD. Neste caso, mesmo que seja possível a identificação de espécies no banco através apenas de amostras de tecido, também há a necessidade de manter os exemplares testemunhos para realização de análises morfológicas e estudos taxonômicos detalhados (Pires, Marinoni, 2010).

No trabalho de DNA barcoding mais abrangente utilizando representantes de Serrasalmidae, Machado *et al.* (2018) focaram na grande diversidade amazônica e demonstraram que a riqueza de espécies dentro da família ainda é muito subestimada. Nesse trabalho, 13 espécies até então consideradas pertencentes a *Myloplus* foram incluídas e o gênero foi recuperado parafilético.

Bacia do Prata

A bacia do Prata é composta por três principais sub-bacias, Paraguai, Paraná e Uruguai e possui cerca de 3,1 milhões de km² de extensão, consistindo na segunda maior bacia da América do Sul. A bacia do Prata banha cinco países, Brasil, Paraguai, Uruguai, Bolívia e Argentina, abrigando uma importante e extensa área alagada no Brasil, o Pantanal (Villar *et al.*, 2018; Reis *et al.*, 2016). Por ocupar uma região que envolve cinco países, conflitos quanto a gestão e conservação dos recursos hídricos e da biodiversidade são constantes. A área é densamente povoada e possui grande importância econômica principalmente relacionada à geração de energia hidroelétrica (Villar *et al.*, 2018).

A presença destas hidrelétricas acarreta uma série de impactos ambientais nesta bacia e afeta diretamente sua ictiofauna (Fráguas, Pompeu, 2021). Um grande exemplo é a usina hidrelétrica de Itaipu, cuja construção inundou uma ampla área no alto rio Paraná, região do Salto das Sete Quedas, que atuava como uma barreira natural para espécies de peixes deste rio. Sua inundação ocasionou a remoção dessa barreira e, dessa forma, algumas espécies que antes eram endêmicas do baixo rio Paraná puderam colonizar o alto Paraná (Reis *et al.*, 2020). Outro exemplo, é a UHE de Yacyretá, que está localizada próxima à divisa entre Paraguai e Argentina, cuja implantação causou grande impacto na ictiofauna local levando à diminuição do estoque pesqueiro e ao desaparecimento de algumas espécies na região (Ulloa, Bellini, 2009).

A bacia do Prata consiste na terceira bacia mais diversa em peixes de água doce

da América do Sul. Possuindo representantes de 44 famílias, 242 gêneros e cerca de 924 espécies, das quais 444 são consideradas endêmicas (Reis et al, 2016). Entre os representantes da bacia, destacam-se o *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816), popularmente conhecido como dourado e a importante espécie comercial *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1837), popularmente conhecida como curimba.

Sobre as espécies de *Myloplus* presentes na bacia do Prata, *M. tiete* (Eigenmann, Norris 1900) e *M. levis* (Eigenmann, McAtee 1907) possuem ocorrência conhecida para as sub-bacias Paraná-Paraguai, não havendo registros para sub-bacia do rio Uruguai. Sabe-se que a presença dos diversos barramentos na bacia do Prata consiste em uma ameaça para as espécies que habitam ambientes lóticos, entre elas *Myloplus tiete*, que possui distribuição indicada para bacia dos rios Paraná, mas que atualmente é considerada rara no alto rio Paraná, sendo encontrada mais frequentemente em determinados locais, como Ivinhema, Piquiri e Iguatemi (Akama et al., 2018).

1.4 Discussion

Myloplus tiete and *M. levis* are two species from the Paraguay-Paraná River basin that are commonly misidentified (see under taxonomic history of both species) (e.g. Ortega, Vari 1986; Menni, 2004; Almirón *et al.*, 2015; Machado *et al.*, 2018; Mateussi *et al.*, 2020). Surprisingly, our results indicate that the two species are distinguished by multiple features and are easily recognizable by morphological characteristics, with at least 16 morphometric characters that can be used to separate them (see under diagnosis and morphological description). Using a morphological approach, we selected specimens that matched the diagnostic features of each species and conducted a molecular species delimitation using COI. The molecular analyses corroborated the morphological results, revealing an 8.5% genetic distance between them.

Thus, *Myloplus levis* was misidentified in two recently published phylogenetic studies (Machado *et al.*, 2018; Mateussi *et al.*, 2020), leading to the misguided conclusion that it is closely related to *M. tiete* or even identical to it. Thanks to these authors' contribution,

we had access to tissue samples used by Machado *et al.* (2018), and pictures (Fig. S3) from the *M. levis* voucher specimen utilized by Mateussi *et al.* (2020). The three samples used by Machado *et al.* (2018) (one identified as *Myloplus tiete* and two identified as *Myloplus levis*) were resequenced in order to verify its position in our DNA barcoding tree and compare our sequences to those already generated by the authors. In our studied the six sequences were recovered together with specimens of *Myloplus tiete*, which were distant from the clade identified by us as *Myloplus levis*. Although we did not sequence the sample used by Mateussi *et al.* (2020), the analysis of photography Fig. S4 revealed that it was a specimen of *M. tiete*. Thus, it is possible to affirm that *M. levis* had not been sampled for molecular analysis prior to the present work. *Myloplus levis* was recovered as sister taxon of *M. animacula*, and it is more related to Amazonian representatives of *M. asterias* than to *M. tiete*. In turn, *Myloplus tiete* appears as sister group of *M. aff. rubripinnis* from the Negro River basin.

The uncertainty between these taxa may have had consequences beyond the field of taxonomy. Akama *et al.* (2018) considered *Myloplus tiete* as Endangered (EN) according to the criteria of the International Union for the Conservation of Nature. They based that decision on the observation that the records of *M. tiete* from most of its original geographic range have declined in the last decades. Deterioration of habitat conditions, mainly by the increasing number of dams like Itaipu, is likely the main reason for the population decreases. More recently, fishermen have reported the capture of many individuals of *M. tiete* at the Ilha Solteira Reservoir, which elicited a public demand to lift the restriction on its exploitation as food (personal communication).

Although we lack proper population studies for *Myloplus tiete*, by the analysis of specimens preserved in museums, it is possible to infer that: (1) preserved specimens from some of the main tributaries of the upper Paraná River basin, such as the Tiete, are rare; (2) most of the specimens analyzed herein were collected before 2014; (3) the species known distribution is restricted to the upper Paraná River Basin, and all of its reports from other basins, such as the Paraguay basin, are misidentifications. Even though the first and second inferences might be due to deficient sampling, by delineating its geographic distribution and providing a comprehensive diagnosis of the species, we enable populational studies that can generate more effective conservational strategies.

Myloplus tiete and *M. levis* are not isolated instances within the genus. As previously discussed, *Myloplus*, along with the majority of genera within Myleinae, is considered polyphyletic, contributing to our limited understanding of both inter- and

intra-generic relationships. The adoption of integrative taxonomy has played a crucial role in unveiling cryptic diversity within the group, facilitating the identification of novel species such as *M. nigrolineatus*, *M. aylan*, and *M. sauron*. Furthermore, it has proved invaluable in resolving longstanding taxonomic problems, as notably distinguishing between *M. tiete* and *M. levis*.

1.6 References

Akama A, Netto-Ferreira AL, Zanata AM, Calegari BB, Figueiredo CAA, Alves

CBM, et al. *Myleus tiete* (Eigenmann, Norris, 1900). In: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, organizer. Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Volume VI - Peixes. Brasília: ICMBio; 2018. p.228–30.

Almirón A, Casciotta J, Ciotek L, Giorgis P. Guía de los peces del Parque Nacional Pre-Delta. 2 ed. Buenos Ayres: Editorial APN; 2015.

Andrade MC, Jégu M, Buckup PA, Netto-Ferreira AL. A new *Myleus* species (Characiformes: Serrasalminidae) from the rio Tapajós basin, Brazil. J Fish Biol. 2018a; 92(6):1902–14. <https://doi.org/10.1111/jfb.13628>

Andrade MC, Jégu M, Giarrizzo T. *Tometes kranponhah* and *Tometes ancylorhynchus* (Characiformes: Serrasalminidae), two new phytophagous serrasalmids, and the first *Tometes* species described from the Brazilian Shield. J Fish Biol. 2016a; 89(1):467–94. <https://doi:10.1111/jfb.12868>

Andrade MC, Jégu M, Giarrizzo T. A new large species of *Myloplus* (Characiformes, Serrasalminidae) from the rio Madeira basin, Brazil. Zookeys. 2016b; 571:153–67. <https://doi.org/10.3897/zookeys.571.5983>

Andrade MC, López-Fernández H, Liverpool EA. New *Myloplus* from Essequibo

River basin, Guyana, with discussion on the taxonomic status of *Myleus pacu* (Characiformes: Serrasalminae). Neotrop Ichthyol. 2019; 17(4):e190026.

<https://doi.org.10.1590/1982-0224-20190026>

Andrade MC, Machado VN, Jégu M, Farias IP, Giarrizzo T. A new species of *Tometes* Valenciennes 1850 (Characiformes: Serrasalminae) from Tocantins-Araguaia River Basin based on integrative analysis of molecular and morphological data. PLoS ONE. 2017; 12(4):e0170053.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170053>

Britski HA, Silimon KZS, Lopes B. Peixes do Pantanal. Manual de Identificação. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 2007.

Campos AA. Sobre os caracídeos do rio Mogi-Guaçu (Estado de São Paulo). Arq. Zool. 1945; 4(11):431–65.

Edgar RC. Muscle: A multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. BMC Bioinformatics. 2004; 5:113. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-5-113>

Eigenmann CH. Catalogue of the fresh-water fishes of tropical and south temperate America. Reports of the Princeton University Expeditions to Patagonia 1896–1899. Zoology. Fishes Patagonia. 1910; 3(4):375–511.
<https://doi.org/10.5962/bhl.title.2097>

Eigenmann CH. The freshwater fishes of British Guiana, including a study of the ecological grouping of species and the relation of the fauna of the plateau to that of the lowlands. Mem Carnegie Mus. 1912; 5(1):1–578.

Eigenmann CH. The Serrasalminae and Mylinae. Ann Carnegie Mus. 1915; 9(3–4):225–72.

Eigenmann CH, Kennedy CH. On a collection of fishes from Paraguay, with a synopsis of American genera of cichlids. 1903; 55:497–537.

Eigenmann CH, McAtee WL, Ward DP. On further collections of fishes from Paraguay. Ann Carnegie Mus. 1907; (4):110–157.

Eigenmann CH, Norris AA. Sobre alguns peixes de S. Paulo, Brazil. Revista Do Museu Paulista. 1900; (4):349–362.

Eigenmann CH, Ogle F. An annotated List of characin fishes in the United States National Museum and the Museum of Indiana University, with descriptions of new

species. Proc. U. S. Natl. Mus. 1908; 33:35–68.

Escobar MD, Ota RP, Machado-Allison A, Andrade-López J, Farias IP, Hrbek T.

A new species of *Piaractus* (Characiformes: Serrasalminidae) from the Orinoco Basin with a redescription of *Piaractus brachypomus*. J Fish Biol. 2019; 95(2):411–27. <https://doi.org/10.1111/jfb.13990>

Fricke R, Eschmeyer WN, Fong JD. Eschmeyer's catalog of fishes: genera, specie by family/subfamily [Internet]. San Francisco: California Academy of Science; 2024.

Géry J. Poissons Characoïdes des Guyanes. I. Généralités. II. Famille des

Serrasalminidae. Zool Verh. 1972. 122(1): 1–250.

<http://www.repository.naturalis.nl/record/317730%5Cnhttp://www.repository.naturalis.nl/document/149016>

Géry J. Les Genres de Serrasalminidae (PISCES, CHARACOIDEI). Bull Zool Mus. 1976; 5(6):47–54.

Géry J. Characoids of the World. Neptune City, New Jersey: T.F.H. Publications; 1977.

Géry J. The Serrasalminidae (Pisces, Characoidei) from the Serra do Roncador, Mato Grosso, Brasil. Amazoniana. 1979; 6(4): 467-495.

Géry J, Mahnert V, Dlouhy C. Possions characoïdes non Characidae du Paraguay (Pisces, Ostariophys). Revue Suisse Zool. 1987; 94(2):357–464.,3

Gill NT. Note on the fishes of the genus Characinus. Proc U S Natl Mus. 1896; 18(1058):213–215. <https://doi.org/10.5479/si.00963801.18-1058.213>

Gimênes Junior, H; Rech, R. Guia ilustrado dos peixes do Pantanal e entorno. Campo Grande: Julien Design. 2022.

Gómez SE, Chebez JC. Fishes of the province of Misiones. En Fauna Misionera. Catálogo de los vertebrado de la Pcia de Misiones (Argentina). 1996.

Gosline WA. Notes on the Characid fishes of the subfamily Serrasalminae. Proc Calif Acad Sci. 1951; 27(2):17–64.

Goulding M. The fishes and the forest: explorations in Amazonian natural history. Berkeley: University of California Press; 1980.

Jarduli L, Garcia D, Vidotto-Magnoni A et al. Fish fauna from the Paranapanema River basin, Brazil. Bio Neotrop. 2020; 20(1): e20180707.

<http://dx.doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2018-0707>

Jégu M, Santos GM. Mise au point à propos de *Serrasalmus spilopleura* Kner, 1858 et

- réhabilitation de *S. maculatus* Kner, 1858 (Characidae: Serrasalminae). *Cybium*. 2001; 25(2):119–143. <http://dx.doi.org/10.26028/cybium/2001-252-002>
- Jégu M.** Subfamily Serrasalminae (Pacus and Piranhas). In: Reis RE, Kullander SO, Ferraris CJ, Jr., editors. Check list of the freshwater fishes of South and Central America. Porto Alegre: Edipucrs; 2003. p.182–96.
- Jégu M, Hubert N, Belmont-Jegu E.** Réhabilitation de *Myloplus asterias* (Müller & Troschel, 1844), espèce-type de *Myloplus* Gill, 1896 et validation du genre *Myloplus* Gill (Characidae: Serrasalminae). *Cybium*. 2004; 28(2):119–57. <https://doi.org/10.26028/cybium/2004-282-005>
- Jennings WB, Ruschi PA, Ferraro G, Quijada CC, Silva-Malanski ACG, Prodocimi F et al.** 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*. 2019; 62(2):77–83. <https://doi.org/10.1139/gen-2018-0145>
- Kapli P, Lutteropp S, Zhang J, Kobert K, Pavlidis P, Stamatakis A et al.** Multi-rate Poisson tree processes for single-locus species delimitation under maximum likelihood and Markov chain Monte Carlo. *Bioinformatics*. 2017; 33(11):1630–38. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx025>
- Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S et al.** Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*. 2012; 28(2):1647–49. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts199>
- Koerber S, Litz TO, Mirande JM.** CLOFFAR - update 3 - supplement to Checklist of the Freshwater Fishes of Argentina. *Ichthyological Contributions of Peces Criollos*. 55:1-11
- Kolmann MA, Hughes LC, Hernandez LP, Arcila D, Betancur-R R, Sabaj MH et al.** Phylogenomics of piranhas and pacus (Serrasalminidae) uncovers how dietary convergence and parallelism obfuscate traditional morphological taxonomy. *Syst Biol*. 2020; 70(3):576–92. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syaa065>
- Machado VN, Collins RA, Ota RP, Andrade MC, Farias IP, Hrbek T.** One thousand DNA barcodes of piranhas and pacus reveal geographic structure and unrecognized diversity in the Amazon. *Sci Rep*. 2018; 8:8387. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26550-x>
- Mateussi NTB, Melo BF, Ota RP, Roxo FF, Ochoa LE, Foresti F et al.** Phylogenomics of the Neotropical fish family Serrasalminidae with a novel

- intrafamilial classification (Teleostei: Characiformes). *Mol Phylogenet Evol.* 2020; 153:106945. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2020.106945>
- Mattox GMT, Britz R, Toledo-Piza M.** Skeletal development and ossification sequence of the characiform *Salminus brasiliensis* (Ostariophysi: Characidae). *Ichthyol Explor Freshw.* 2014; 25(2):103–58.
- Menni RC.** Peces y ambientes en la Argentina continental. *Monogr. Mus. Argentino Cienc. Nat.* 2004; (5):1–316.
- Mirande JM, Koerber S.** Checklist of the freshwater fishes of Argentina. 2nd edition. (CLOFFAR-2). *Ichthyological contributions of Peces Criollos.* 2020; 72:1–81.
- Norman JR.** The South American characid fishes of the subfamily Serrasalmoninae, with a revision of the genus *Serrasalmus* Lacepède. *Proc Zool Soc London.* 1929; 98(52):781–829.
- Ortí G, Sivasundar A, Dietz K, Jégu M.** Phylogeny of the Serrasalminidae (Characiformes) based on mitochondrial DNA sequences. *Genet Mol Biol.* 2008; 31(1):343–51.
<https://www.scielo.br/j/gmb/a/WQBqC6FyNFCmFPqwN8jmXXh/?format=pdf&lang=en>
- Ota RP, Machado VN, Andrade MC, Collins RA, Farias IP, Hrbek T.** Integrative taxonomy reveals a new species of pacu (Characiformes: Serrasalminidae: *Myloplus*) from the Brazilian Amazon. *Neotrop Ichthyol.* 2020; 18(1):e190112.
<https://doi.org/10.1590/1982-0224-20190112>
- Papa Y, Le Bail P-Y, Covain R.** Genetic landscape clustering of a large DNA barcoding data set reveals shared patterns of genetic divergence among freshwater fishes of the Maroni basin. *Mol Ecol Resour.* 2021; 21(6):2109–24.
<https://doi.org/10.1111/1755-0998.13402>
- Polaz CNM, Melo BF, Britske R, Resende EK, Machado FA, Lima JAF, Petrere Júnior M.** Fishes from the Parque Nacional do Pantanal Matogrossense, upper Paraguai river basin, Brazil. *Check List.* 2014; 10(1):122-130.
<https://doi.org/10.15560/10.1.122>
- Puillandre N, Brouillet S, Achaz G.** ASAP: assemble species by automatic partitioning. *Mol Ecol Resour.* 2020; 21(2):p609-620. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13281>
- Reis RE, Albert JS, Di Dario F, Mincarone MM, Petry P, Rocha LA.** Fish

biodiversity and conservation in South America. *J Fish Biol.* 2016; 89(1): 12–47.

<https://doi.org/10.1111/jfb.13016>

Reis BR, Augusto F, Deprá GC, Ota RR, Weferson JG. Freshwater fishes from Paraná State, Brazil: an annotated list, with comments on biogeographic patterns, threats, and future perspectives. 2020; 4868(4): 451–494.

<https://doi.org/10.11646/zootaxa.4868.4.1>

Soares AB, Andrade MC, Lucinda PHF. A new species of *Myloplus* Gill 1896 (Teleostei: Serrasalminidae) from the Rio Tocantins basin, Brazil. *Ichthyol Explor Freshw.* 2023. <http://doi.org/10.23788/IEF-1191>.

Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Mol Biol Evol* 2021; 38(7):3022–27.

<https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>

Toledo-Piza M, Baena EG, Dagosta FCP, Menezes NA, Andrade M, Benine RC, Bertaco VA, Birindelli JLO, Boden G, Buckup PA, Camelier P, Carvalho FR, Castro RMC, Chuctaya J, Decru E, Derijst E, Dillman CB, Ferreira KM, Merxem DG, Giovannetti V, Hirschmann A, Jégu M, Jerep FC, Langeani F, Lima FCT, Lucena CAS, Lucena ZMS, Malabarba LR, Malabarba MCSL, Marinho MMF, Mathubara K, Mattox GMT, Melo BF, Moelants T, Moreira CR, Musschoot T, Netto-Ferreira AL, Ota RP, Oyakawa OT, Pavanelli CS, Reis RE, Santos O, Serra JP, Silva GSC, Silva-Oliveira C, Souza-Lima R, Vari RP, Zanata AM. Checklist of the species of the Order Characiformes (Teleostei: Ostariophysi). *Neotrop Ichthyol.* 2024; 22(1):e230086.

<https://doi.org/10.1590/1982-0224-2023-0086>

Thompson AW, Betancur-RR, López-Fernández H, Ortí G. A time-calibrated, multi-locus phylogeny of piranhas and pacus (Characiformes: Serrasalminidae) and a comparison of species tree methods. *Mol Phylogenet Evol.* 2014; 81:242–57.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2014.06.018>