



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

RAUL HENRIQUE CARDOSO NASCIMENTO

**DESCRIÇÃO DE UMA ESPÉCIE NOVA DE
STEINDACHNERIDION EIGENMANN & EIGENMANN, 1919
(SILURIFORMES, PIMELODIDAE) DO ALTO RIO PARANÁ**

RAUL HENRIQUE CARDOSO NASCIMENTO

**DESCRIÇÃO DE UMA ESPÉCIE NOVA DE
STEINDACHNERIDION EIGENMANN & EIGENMANN, 1919
(SILURIFORMES, PIMELODIDAE) DO ALTO RIO PARANÁ**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Oscar Akio Shibatta

Londrina
2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Nascimento, Raul Henrique Cardoso.

Descrição de uma espécie nova de *Steindachneridion* Eigenmann & Eigenmann, 1919 (Siluriformes, Pimelodidae) do alto rio Paraná / Raul Henrique Cardoso Nascimento. - Londrina, 2021.
92 f. : il.

Orientador: Oscar Akio Shibatta.

Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, 2021.

Inclui bibliografia.

1. Taxonomia integrativa - Tese. 2. Filogenia - Tese. 3. alto rio Paraná - Tese. 4. surubim - Tese. I. Shibatta, Oscar Akio. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. III. Título.

CDU 574

RAUL HENRIQUE CARDOSO NASCIMENTO

**DESCRIÇÃO DE UMA ESPÉCIE NOVA DE
STEINDACHNERIDION EIGENMANN & EIGENMANN, 1919
(SILURIFORMES, PIMELODIDAE) DO ALTO RIO PARANÁ**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Oscar Akio Shibatta
Universidade Estadual de Londrina - UEM

Dra. Fernanda de Oliveira Martins
Instituto Federal de Paraná - IFPR

Dr. Claudio Henrique Zawadzki
UNiversidade Estadual de Maringá - UEM

Dr. Lucas Ribeiro Jarduli
Faculdades Integradas de Ourinhos - FIO

Dr. Dhiego Gomes Ferreira
Universidade Estadual do Norte do Paraná - UENP

Londrina, 26 de Fevereiro de 2021.

AGRADECIMENTOS

Aos membros da banca examinadora, Dr. José Luís Oliven Birindelli, Dr. Cláudio Henrique Zawadzki, Dr. Wilson Frantine da Silva, Dr. Lucas Ribeiro Jarduli, Dra. Fernanda de Oliveira Martins, Dr. Dhiego Gomes Ferreira e Dr. Fernando Camargo Jerep, que prontamente aceitaram participar da avaliação desse trabalho, despendendo seu tempo dando contribuições, críticas e sugestão fundamentais para o trabalho.

À Universidade Estadual de Londrina e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, não apenas pela estrutura física, mas por todo recurso humano, responsável pelo ensino de excelência que me forneceu ao longo de todos esses anos de pós-graduação.

Ao Prof. Dr. Oscar Akio Shibatta, meu orientador, pela orientação, por todo o auxílio, dedicação e ensinamentos compartilhados, também pela compreensão em me acompanhar ao longo dessa jornada e pela amizade desenvolvida, obrigado!

À Prof. Dra. Lenice Souza-Shibatta, minha amiga, muito obrigado por toda ajuda, inclusive com amostras e análises deste trabalho, conselhos e momentos especiais, obrigado!

Ao coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da UEL Prof. Dr. Fernando Camargo Jerep, por todo o auxílio e suporte.

Ao Prof. Dr. John Lundberg da Academy of Natural Sciences of Drexel University, Filadélfia, Pensilvânia-EUA, pela orientação durante um período de intercâmbio internacional realizado por meio do programa PDSE da Capes.

Ao Prof. Dr. Aléssio Datovo do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, por me receber e permitir o acesso à vasta coleção de *Steindachneridion* possibilitando a realização desse trabalho.

Ao Edson Santana, técnico do MZUEL, assim como demais técnicos, alunos, bolsistas e demais colegas que passaram por lá, agradeço por todo auxílio em coletas de campo, organização, envio e recebimento de material e entre outras situações de ajuda que foram necessários, meu muito obrigado.

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

“Nunca se está errado fazendo a coisa
certa”

NASCIMENTO, Raul Henrique Cardoso. **Descrição de uma espécie nova de *Steindachneridion Eigenmann & Eigenmann, 1919* (siluriformes, pimelodidae) do Alto Rio Paraná.** 2021. 91 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina 2021.

RESUMO

Steindachneridion é um gênero da família Pimelodidae (Siluriformes) constituído por seis espécies de bagres de grande porte popularmente conhecidos como surubins com alto interesse pesqueiro. Devido sua baixa frequência em inventários, o gênero é pouco estudado, acumulando uma série de dúvidas e incertezas acerca de seu *status* taxonômico e relação filogenética. Neste contexto, o presente estudo se propõe reavaliar o *status* taxonômico das espécies encontradas no alto rio Paraná, bem como construir uma hipótese filogenética para o grupo. Neste contexto, o presente estudo se propõe reavaliar o *status* taxonômico das espécies encontradas na alto rio Paraná, bem como construir uma hipótese filogenética para o grupo. Uma nova espécie de *Steindachneridion Eigenmann & Eigenmann, 1919* é descrita da bacia do alto rio Paraná utilizando uma abordagem baseada em taxonomia integrativa. *Steindachneridion* sp. n. distingue-se das demais espécies do gênero por um conjunto de proporções morfológicas e por uma sequência única do gene COI. *Steindachneridion scriptum* tem sua distribuição geográfica redefinida, e com base em evidências concretas, *S. punctatum* é aqui caracterizada como sinônimo júnior de *S. scriptum*. Além das questões taxonômicas, as relações filogenéticas foram avaliadas por inferência bayesiana e máxima verossimilhança dos dados de três diferentes loci (COI, 12S + 16S: mtDNA; Rag2: nuDNA) totalizando 2218 pb. Os resultados corroboram a monofilia de *Steindachneridion* e sua posição basal em relação aos demais Pimelodídeos. *Steindachneridion amblyurum* se apresenta como grupo irmão das demais espécies, as quais se diversificaram nos últimos 25 Ma a.p. A inferência de distribuição ancestral do grupo aponta para uma diversificação vicariante, suportando então uma especiação alopátrica do grupo ao longo das diferentes bacias hidrográficas ocorrendo no sentido norte sul.

Palavras-chave: taxonomia integrativa; filogenia; alto rio Paraná; surubim.

NASCIMENTO, Raul Henrique Cardoso. **Description of a new species of *Steindachneridion* Eigenmann & Eigenmann, 1919 (siluriformes, pimelodidae) from Alto Rio Paraná.** 2021. 91 p. Thesis (Doctoral in Biological Sciences) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2021.

ABSTRACT

Steindachneridion (Pimelodidae: Siluriformes) comprises six large catfish species, popularly known as surubins, with high fishing interest. Due to its low frequency in inventories, the genus is scarcely studied, accumulating a series of questions and uncertainties about its taxonomic status and phylogenetic relationship. In this context, the present study proposes to reevaluate the taxonomic status of the species found in the upper Paraná river and construct a phylogenetic hypothesis for the group. A new species of *Steindachneridion* Eigenmann & Eigenmann, 1919 is described from the upper Paraná river basin using an integrative taxonomy approach. *Steindachneridion* sp. n. is distinguished from other genus species by a set of morphological proportions and by a unique sequence of the COI gene. *Steindachneridion scriptum* has redefined its geographic distribution and based on hard evidence, *S. punctatum* is characterized as a junior synonym for *S. scriptum*. In addition to taxonomic issues, phylogenetic relationships were assessed by Bayesian inference and the maximum likelihood of data from three different loci (COI, 12S + 16S: mtDNA; Rag2: nuDNA) totaling 2218 bp. The results corroborate the *Steindachneridion* monophilia and its basal position in relation to the other Pimelodids. *Steindachneridion amblyurum* was revored as a sister group of the other species, which have diversified in the last 25 Ma a.p. The inference of the group's ancestral distribution points out to a vicarious diversification, supporting then an allopatric diversification of the group along the different hydrographic basins occurring in the north-south direction.

Key words: integrative taxonomy; phylogeny; upper Paraná river; surubim.

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO 1

- Figura 1 -** Dispersão dos escores individuais de todas as espécies de Steindachneridion no espaço da primeira e da segunda componentes principais.....37
- Figura 2 -** Filograma Bayesiano sumarizado pelo método de máxima credibilidade dos cladogramas (maximum clade credibility) apresentando a congruência de cinco métodos de delimitação de espécies. (BX-IG: baixo rio Iguaçu, AP: bacia do alto rio Paraná). Valores próximos aos nós indicam a probabilidade posterior (à esquerda) e bootstrap da árvore de K2P/Neighbor-Joining (à direita). 38
- Figura 3 -** Vista lateral de Steindachneridion sp. n. MZUEL 866, 605,8 mm CP, rio Tibagi, Sapopema, Paraná. 39
- Figura 4 -** Exemplos das espécies de Steindachneridion. S. amblyurum 374,0 mm (A), S. doceanum 519,0 mm (B), S. melanodermatum 347,0 mm (C), S. parahybae 265,0 mm (D) e S. scriptum 534,0 mm (E). 42
- Figura 5 -** Detalhe das nadadeiras caudais das espécies de Steindachneridion. S. amblyurum (A), S. doceanum (B), S. melanodermatum (C), S. parahybae (D), S. scriptum (E) e Steindachneridion sp. n. (F)..... 43
- Figura 6 -** Detalhe das placas dentíferas vomerianas das espécies de Steindachneridion. S. amblyurum (A), S. doceanum (B), S. melanodermatum (C), S. parahybae (D), S. scriptum (E) e Steindachneridion sp. n. (F). 44
- Figura 7 -** Parte do esqueleto das espécies de Steindachneridion em vista dorsal. S. amblyurum, A; S. doceanum, B; S. melanodermatum, C; S. parahybae, D; S. scriptum, E e Steindachneridion sp. n., F). Barra de escala= 1 cm..... 45
- Figura 8 -** Distribuição geográfica das espécies de Steindachneridion analisadas. 47
- Figura 9 -** Primeiro arco branquial de Steindachneridion sp. n.; MZUEL 001482 (A, 13 rastros branquiais); MZUEL 866, holótipo, (B, 16 rastros branquiais); MZUEL 015649 (C, 16 rastros branquiais). Barra de escala=1cm..... 51
- Figura 10 -** Primeiro arco branquial de Steindachneridion scriptum; MZUEL

016238 (A, 14 rastros branquiais), (B, 15 rastros branquiais), (C, 17 rastros branquiais) e (D, 18 rastros branquiais). Barra de escala=1cm..... 52

Figura 11 - Detalhe da variação no padrão de colorido de acordo como o tamanho em exemplares de *Steindachneridion* sp. n. (A = 605,8 mm CP, B = 629,0 mm CP e C = 166,0 mm CP) e *S. scriptum* (D = 534,0 mm CP e E = 121,0 mm CP). 53

CAPITULO 2

Figura 1 - Estimativa de relação filogenética baseada em máxima verossimilhança pelo software RAxML. Valores de suporte de bootstrap $\geq 50\%$ 77

Figura 2 - Estimativa bayesiana de relação filogenética calibrada em tempo geológico para *Steindachneridion* Eigenmann & Eigenmann e demais membros da família Pimelodidae. Estrela amarela: ponto de calibração (\dagger *Steindachneridion iheringie* e \dagger *Steindachneridion silvasantosi* 23,03 a 33,09 Ma a.p.); barras azuis representam o intervalo de confiança 95% para idade dos nós; valores próximos aos nós indicam a probabilidade a posteriori. Tempo em milhões de anos. 78

Figura 3 - Estimativa de distribuição ancestral de *Steindachneridion* com modelo DIVALIKE. Gráficos de pizza representam a probabilidade da área de distribuição ancestral estimada pelo modelo. (Áreas biogeográficas: A = Alto Paraná, I = Iguaçu, U = Uruguai, J = Jequitinhonha, D = rio Doce, P = Paraíba do Sul). 80

LISTA DE TABELAS

CAPITULO 1

- Tabela 1 -** Dados merísticos de exemplares de *Steindachneridion*. (S. sp. n. = *Steindachneridion* sp. n. (n = 10); S. amb = *S. amblyurum* (n = 5); S. doc = *S. doceanum* (n = 4); S. mel = *S. melanodermatum* (n = 10); S. par = *S. parahybae* (n = 9); S. pun = *S. punctatum* (n = 1); S. scr = *S. scriptum* (n = 12). * = holótipo) 34
- Tabela 2 -** Dados morfométricos de *Steindachneridion* sp. n., *S. amblyurum*, *S. doceanum*, *S. melanodermatum*, *S. parahybae*, *S. punctatum* e *S. scriptum*. (* = holótipo; < = mínimo; > = máximo). Proporções corporais calculadas em reação ao comprimento padrão, proporções da cabeça em relação ao comprimento da cabeça 35
- Tabela 3 -** Distância genética K2P entre as seis espécies de *Steindachneridium* baseados em 579 pb do gene COI. Números em negrito representam distância K2P intraespecífica. Diagonal inferior: distância K2P; Diagonal superior: desvio padrão 38

CAPITULO 2

- Tabela 1 -** Modelos evolutivos por gene e códon encontrado pelo PartitionFinder e bModelTest. 76
- Tabela 2 -** Performance dos modelos biogeográficos de distribuição de área ancestral estimados a partir da relação filogenética de *Steindachneridion*. (lnL: log de Máxima Verossimilhança; n-par: número de parâmetros em cada modelo; d: estimativa de dispersão para cada modelo; e: extinção; j: presença de especiação por evento fundador; AICc: critério de informação de Akaike corrigido para pequenas amostras; AICc_wt: critério de Akaike pesado para entre modelos) 79

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABGD	<i>Automatic Barcode Gap Discovery</i>
AIC	<i>Akaike Information Criterion</i>
ANSP	<i>Academy of Natural Sciences</i>
AOO	Área de Ocupação
AP	Bacia do alto rio Paraná
bPTP	<i>Bayesian Poisson Tree Processes</i>
BIC	<i>Bayesian Information criterion</i>
BX-IG	Baixo rio Iguaçu
CC	Comprimento da Cabeça
COI	Citocromo c oxidase subunidade I
CP	Comprimento Padrão
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
DIVALIKE	<i>Likelihood version of DIVA</i>
d&c	Diafanizado e corado
ECPUEL	Equipe de coleta de peixes da Universidade Estadual de Londrina
esq	Esqueleto
F81	Felsenstein 1981
G	Gama
GMYC	<i>General Mixed Yule Coalescent</i>
GTR	<i>General Time Reversible</i>
HKY	Hasegawa-Kishino-Yano
I	Sítio variável
IB	Inferência Bayesiana
IUCN	<i>International Union for Conservation of Nature</i>
K2P	Kimura-2-Parâmetros
K80	Kimura 1980
MCRA	<i>Most Common Recent Ancestor</i>
ML	Máxima verossimilhança
mPTP	<i>Multi-rate Poisson Tree Processes</i>
mtDNA	DNA mitocondrial
MZUEL	Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Londrina
MZUSP	Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo

NJ	<i>Neighbor-Joining</i>
nuDNA	DNA nuclear
PCA	<i>Principal Component Analysis</i>
PTP	<i>Poisson Tree Processes</i>
Rag	<i>Recombination activating gene</i>
TRNEF	<i>Equal-frequency Tamura-Nei</i>
UHE	Usina Hidrelétrica

SUMÁRIO

1	APRESENTAÇÃO	14
2	INTRODUÇÃO GERAL	15
2.1	FAMÍLIA PIMELODIDAE (BONAPART, 1869).....	16
2.2	GÊNERO STEINDACHNERIDION EIGENMANN & EIGENMANN, 1919	17
2.3	ANÁLISES MOLECULARES: DELIMITAÇÃO DE ESPÉCIES E FILOGENIA MOLECULAR.....	19
	REFERÊNCIAS	22
3	CAPÍTULO 1	27
	INTRODUÇÃO	29
	MATERIAL E METODOS	30
	ANÁLISES MERÍSTICAS E MORFOMÉTRICAS	30
	ANÁLISES MOLECULARES	31
	RESULTADOS	33
	ANÁLISES MORFOLÓGICAS.....	33
	ANÁLISES MOLECULARES	37
	DISCUSSÃO	53
	AGRADECIMENTOS	57
	REFERÊNCIAS	57
4	CAPÍTULO 2	70
	INTRODUÇÃO	72
	MATERIAL E MÉTODOS	73

	AMOSTRAGEM DE TÁXONS.....	73
	ANÁLISES MOLECULARES	73
	ANÁLISE FILOGENÉTICA, CALIBRAÇÃO DA ÁRVORE E DATAÇÃO	74
	ESTIMATIVA DE DISTRIBUIÇÃO DE ÁREA ANCESTRAL	75
	RESULTADOS	75
	ASPECTOS GERAIS DA MATRIZ.....	75
	HIPÓTESE FILOGENÉTICA E TEMPO DE DIVERGÊNCIA	76
	ESTIMATIVA DE DISTRIBUIÇÃO ANCESTRAL	79
	DISCUSSÃO	81
	REFERÊNCIAS	84
5	CONCLUSÃO GERAL	91
6	ANEXOS	92

1 APRESENTAÇÃO

Os surubins, bagres do gênero *Steindachneridion*, são peixes de grande porte com preferência por ambientes rochosos e águas profundas que ocorrem em diversas bacias hidrográficas da América do Sul. Atualmente são descritas seis espécies para o gênero, desde as bacias costeiras do Leste até a bacia do rio Uruguai. Esses peixes são naturalmente raros e sofrem diversos tipos de interferências antrópicas, sendo que todas as espécies estão sob algum grau de ameaça de extinção.

Estudos com *Steindachneridion* são escassos em relação as espécies. O gênero apresenta um padrão alopátrico de distribuição para a maioria das espécies, com exceção de *S. scriptum* e *S. punctatum*, ambas descritas ocorrendo simpatricamente no rio Uruguai, e posteriormente tendo suas áreas de ocorrência ampliada também para a bacia alto rio Paraná. Essa quebra no padrão de distribuição do grupo, somada a sobreposição de caracteres diagnósticos, nos levou a querer investigar melhor a relação entre essas duas espécies.

Outra dúvida sobre os surubins é em relação ao monofiletismo do grupo, pois em diversos estudos filogenéticos, sejam eles morfológicos ou moleculares, apenas uma espécie do grupo foi inserida nas análises. Esse fato, incorre também na impossibilidade da compreensão das relações filogenéticas entre as espécies do gênero. Deste modo, o presente estudo foi idealizado para elucidar essas informações, o que contribuir para o conhecimento sobre o grupo.

O trabalho será apresentado com uma breve revisão sobre os assuntos aqui tratados, seguido por dois capítulos no formato de artigo científico. O primeiro deles foi dedicado a questão da ocorrência simpátrica de duas espécies do gênero em duas bacias distintas e suas implicações taxonômicas. O segundo capítulo tratará das questões filogenéticas do gênero e considerações em relação a sua posição na família, com ênfase na confirmação de seu monofiletismo, relações intraespecíficas e padrões ancestrais de dispersão.

2 INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil detém uma das maiores redes hidrográficas do mundo (STEVOUX; SOUZA-FILHO; JABUR, 1997). Rios como, Amazonas, Paraná, Araguaia e São Francisco estão entre os maiores tributários do mundo não apenas em extensão, mas também pelo volume hídrico (SALGADO; CHEREM; DE SORDI, 2018). Dentre essas bacias, a bacia do rio Paraná é a segunda maior bacia da América do Sul (AGOSTINHO et al., 1995) e participa da formação da bacia do Prata na região norte da Argentina, sendo seu principal tributário (AGOSTINHO; JÚLIO JR, 1999). O rio Paraná nasce da junção dos rios Grande e Paranaíba, próximo à divisa entre os estados de Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e São Paulo (MALFATTI; CARDOSO; HUMBERGUER, 2018), e está entre os dez maiores rios do mundo, com aproximadamente 4.695 km de extensão, possuindo a quarta maior área de drenagem, de $2,8 \times 10^6$ ha (AGOSTINHO et al., 1995).

A bacia do rio Paraná abriga mais de 600 espécies de peixes (BONETTO, 1986; LATRUBESSE et al., 2005), contribuindo para a grande riqueza de espécies presentes na Região Neotropical. Entretanto, a bacia localiza-se em regiões altamente populosas e dessa forma as drenagens sofrem com as ações antrópicas e impactos decorrentes dessa atividade, principalmente pela descarga de esgoto doméstico e insumos agrícolas biocidas (AGOSTINHO; THOMAZ; NAKATANI, 2002).

A porção do alto rio Paraná compreende a região superior da bacia do rio Paraná, a montante da usina hidrelétrica de Itaipu (GRAÇA; PAVANELLI, 2007), possui uma área de aproximadamente 900.000 km² (CASTRO et al., 2003). Esse trecho é composto por grandes afluentes, como os rios Grande, Paranaíba, Paranapanema e Tietê, além do seu tributário principal, o rio Paraná. Entretanto, ao longo dos anos, esses afluentes perderam sua característica lótica e hoje possuem diversos barramentos ao longo de sua extensão (AGOSTINHO et al., 2008). Atualmente, a bacia do alto rio Paraná abriga grande parte das usinas hidrelétricas do Brasil, responsáveis por aproximadamente 70% da energia elétrica produzida que abastece o país (AGOSTINHO et al., 2007).

Do ponto de vista icitiofaunístico, o alto rio Paraná é uma região com uma fauna bastante diversificada e sítio de estudo de muitas espécies de peixes, com diversos trabalhos (CASSATI, LANGEANI, CASTRO et al., 2001; CASTRO et al., 2003; CASTRO et al., 2004; CASTRO et al., 2005; LANGEANI et al., 2007). Abriga cerca de 270 a 310 espécies de peixes (AGOSTINHO et al. 2007, LANGEANI et al. 2007, JARDULI et al., 2020) com alto endemismo registrado para a região (CASTRO et al. 2003; LANGEANI et al. 2007; LIERMANN et al., 2012; JARDULI et al., 2020).

A composição da ictiofauna do alto rio Paraná tem sido moldada por uma complexa história biogeográfica e geológica. Atividades tectônicas ao longo de Paleógeno e Neógeno marcam a evolução orogênica da bacia (MAACK 1981; AB'SABER, 1998), que juntamente à um complexo sistema de falhas na área, são apontadas como a principal causa de diversos eventos de captura de cabeceiras (CASTRO et al., 2003; LANGEANI et al., 2007). Deste modo, o Alto Paraná compreende uma unidade geográfica própria do ponto de vista ictiofaunístico, que em parte, compartilha sua história com drenagens vizinhas (LANGEANI et al., 2007). Ainda assim exhibe características próprias altamente propensas à retenção de unidades evolutivas independentes, com um inequívoco endemismo (VARI; 1988; CASTRO et al., 2003; LANGEANI et al., 2007).

2.1 FAMÍLIA PIMELODIDAE (BONAPART, 1869)

Segundo Nelson (2016), a ordem Siluriformes contém 40 famílias com cerca de 490 gêneros e aproximadamente 3.730 espécies, com 2.053 ocorrendo nas Américas. Apesar de muito estudado e apresentando-se como um grupo monofilético, algumas questões sobre a classificação sistemática e relação entre as famílias devem ser elucidadas (MALABARBA; MALABARBA, 2020).

A família Pimelodidae apresenta uma moderada diversidade se comparada a outras famílias da ordem Siluriformes, com mais de 100 espécies de peixes de água doce (FRICKE.; ESCHMEYER; VAN DER LAAN, 2021). Segundo Ferraris (2007), compõe a família cerca de 29 gêneros, 93 espécies viventes e 4 espécies fósseis. Todas as espécies são endêmicas da região Neotropical, apresentando alta diversidade nas bacias dos rios Amazonas, Paraná e Orinoco (LUNDBERG; LITTMANN, 2003). Comumente chamadas de bagres, muitas espécies são consideradas uma importante fonte de proteína animal na alimentação da população humana (FREITAS; MOTAG, 2019). Além disso, os bagres possuem um valor econômico no comércio de peixes ornamentais ou mesmo na pesca esportiva. Muitas espécies são carnívoras ou onívoras, apresentando maior atividade ao anoitecer, não possuem dimorfismo sexual, apresentam fertilização externa, sem cuidado parental (MALABARBA; MALABARBA, 2020). Em média, o tamanho das espécies varia entre 20 a 80 cm, porém certas espécies como *Zungaro zungaro* (Humboldt 1821) (jaú) ou *Brachyplatystoma filamentosum* (Lichtenstein 1819) (piraíba) podem atingir comprimentos de 140 cm e 300 cm, respectivamente (LUNDBERG; LITTMANN, 2003).

Diversas hipóteses filogenéticas têm sido propostas para a família Pimelodidae, mas podem ser resumidas em duas diferentes inferências quanto à posição de *Steindachneridion* na família. Por um lado, dados morfológicos têm apontado a associação de *Steindachneridion* juntamente com *Phractocephalus* e *Leiarius* na base de Pimelodidae (LUNDBERG et al., 1991; NASS, 1991; LUNDBERG; AKAMA, 2005). Por outro lado, dados moleculares apontam apenas para *Steindachneridion* na base de Pimelodidae, como grupo irmão dos demais (HARDMAN; LUNDBERG, 2006; LUNDBERG et al., 2011; SULLIVAN et al., 2013). Embora os dados tenham natureza distinta, *Steindachneridion* sempre assume uma posição basal na família. Contudo, até o momento não existem hipóteses filogenéticas embasadas em dados moleculares para a relação dentro de *Steindachneridion* o que dificulta a derivação de hipóteses para o grupo.

2.2 GÊNERO *STEINDACHNERIDION* EIGENMANN & EIGENMANN, 1919

Steindachneridion é um gênero constituído por seis espécies viventes e duas espécies fósseis. Estes peixes são bagres de grande porte que vivem em ambientes de fundo rochoso e fluxo rápido, e são conhecidos popularmente como surubins (GARAVELLO, 2005). Devido ao grande porte, geralmente despertam interesse nas atividades de pesca, sendo em alguns casos encontradas sob a posse de pescadores profissionais em seus estoques de comercialização.

Garavello (2005) distingue o gênero *Steindachneridion* de outros da família Pimelodidae por uma combinação de 10 características morfológicas (espinho do parieto-supraoccipital sem contato com a placa nugal anterior; um sulco mediano separa as placas dentígeras no pré-maxilar e dentário com dentes viliformes; uma ou duas placa dentígera vomeriana; cabeça relativamente pequena e coberta por pele espessa; olhos relativamente pequenos e com margem orbital livre; oito raios branquiostegais; nadadeira dorsal com sete raios ramificados; acúleos das nadadeiras dorsal não pungentes; acúleo da nadadeira peitoral não pungente e com margens anterior e posterior lisas; primeiro arco branquial com 12 a 20 rastros; nadadeira adiposa longa e nadadeira caudal emarginada, exceto em *S. amblyurum*).

Platystoma parahybae Steindachner (1877) foi a primeira espécie descrita do gênero. Posteriormente, Eigenmann e Eigenmann (1888) estudando o material tipo dessa espécie descreveram uma nova espécie para o grupo, *Steindachneria amblyurum*, sendo essa elencada como a espécie tipo do gênero e propondo assim uma modificação no

gênero para abrigar as duas espécies. A alteração para um novo nome para o gênero justificava-se porque *Platystoma* (Meigen 1803) já era reconhecido em Diptera.

Steindachneria scripta e sua variação *S. scripta punctata* foram descritas por Miranda Ribeiro (1918), as duas ocorrendo simpatricamente no rio Uruguai. E em uma revisão do grupo, Eigenmann e Eigenmann (1919) propuseram um novo nome para o gênero, *Steindachneridion*, pois o anterior já estava pré-ocupado por *Steindachneria* Goode & Bean, 1888, em Gadiformes. Britski (1969), sinonimizou *S. scriptum punctatum* à *S. scriptum*, baseando-se em material tipo de diversas espécies de peixes, informação acatada por Eschemeyer (1988). Porém, *S. scriptum punctatum* foi posteriormente considerada como uma espécie válida por Garavello (2005).

Garavello (2005) descreveu uma nova espécie do rio Iguaçu (*S. melanodermatum*) e propôs a ampliação da área de ocorrência de *S. scriptum* e *S. punctatum*, que além de ocorrer simpatricamente no rio Uruguai ocorriam também na bacia do alto rio Paraná. Atualmente, ainda é possível se observar um lapso temporal entre os estudos com o grupo, assim como o pequeno número destes, o que pode estar relacionado à raridade e à dificuldade de coleta das espécies desse gênero. Sendo assim, espécimes de *Steindachneridion* disponíveis em coleções ictiológicas são escassas, dificultando a avaliação adequada da diversidade do grupo e a obtenção de informações adicionais aos demais membros da família (DE PINNA, 1998; LUNDBERG; LITTMANN, 2003; GARAVELLO, 2005; LUNDBERG; AKAMA, 2005).

De modo geral, a distribuição das espécies do gênero está intimamente associada aos padrões alopatricos determinados por isolamento entre bacias hidrográficas. Uma exceção, são *S. scriptum* e *S. punctatum*, já que ambas são descritas simpatricamente da bacia do rio Uruguai e com ocorrência simpátrica descrita para a bacia do alto rio Paraná. Somando-se este fato à dificuldade de identificação devido à similaridade morfológica dos exemplares de *Steindachneridion* das bacias do rio Uruguai e do alto rio Paraná e recorrentes diagnoses conflitantes entre as espécies, a necessidade de mais estudos torna-se indispensável para uma melhor compreensão dessas espécies.

Devido a ocorrência das espécies de *Steindachneridion* ao longo da Mata Atlântica, todas as espécies estão ameaçadas de extinção, já que é um bioma sabidamente degradado pelas atividades humanas e considerado um *hotspot* de biodiversidade (MITTERMEIER et al., 1999). Entre as principais ameaças à essa diversidade, podemos elencar a construção de reservatórios para a geração de energia hidrelétrica e o assoreamento dos ambientes de corredeiras (MACHADO et al., 2008). Entretanto, apesar

da importância dessas espécies sob o ponto de vista ecológico, faltam estudos que comprovem o monofiletismo do gênero e suas relações filogenéticas interespecíficas sob o ponto de vista evolutivo.

2.3 ANÁLISES MOLECULARES: DELIMITAÇÃO DE ESPÉCIES E FILOGENIA MOLECULAR

Abordagens moleculares têm cada vez mais auxiliado em questões morfológicas, dentre elas a técnica baseada no DNA *barcoding* (HEBERT et al., 2003), que utiliza uma região da subunidade I do gene citocromo *c* oxidase (COI). A técnica baseia-se no estudo de uma única região do DNA mitocondrial para a identificação de espécies (WARD et al., 2009), considerando que a variação intraespecífica será menor que a variação interespecífica (HEBERT et al., 2003). Um ponto positivo dessa técnica é a possibilidade de identificação a partir de diferentes tipos de tecidos e etapa do desenvolvimento, incluindo desde peixes inteiros, partes de exemplares (por exemplo, nadadeiras ou tecido muscular), e ovos e juvenis sem a presença de caracteres morfológicos que os distinguem (WARD et al., 2009).

Sendo assim, a técnica do DNA *barcoding* possibilita realizar o inventário da biodiversidade (PEREIRA et al., 2013; FRANTINE-SILVA et al., 2015), resolver dúvidas taxonômicas (NASCIMENTO et al., 2017; RAMIREZ et al., 2017) e identificar possíveis novas espécies (MACHADO et al., 2018; OTA et al., 2020). Muitas vezes quando vistos em contextos mais amplos de classificação taxonômica ou área geográfica, apresentam recorrente congruência com a taxonomia tradicional (PIRES; MARINONI, 2010; SHETH et al., 2017; SCHIMIDT-EGGER et al., 2019). Considerando as limitações das inferências utilizando um único loco, novos métodos baseados em estratégias estatísticas robustas (PONS et al., 2006; PUILLANDRE et al., 2012; ZHANG et al., 2013; KAPPLY et al., 2017) e o uso combinado de diferentes estratégias de exploração de novas espécies (DELLICOUR; FLOAT, 2018) têm contornado os potenciais vieses relacionados ao método.

Atualmente, esforços são realizados para tentar identificar todas as espécies existentes, sendo eles relacionados com a determinação de novas espécies (delimitação de espécies) ou com a atribuição à uma espécie existente. A delimitação de espécies pode ser destacada também como uma importante ferramenta para a conservação da biodiversidade (RANNALA; YANG, 2020). A utilização de apenas uma região gênica para os estudos de delimitação pode ser realizada de acordo com abordagens baseadas em distância genética (DNA *barcoding* e *Automatic Barcode Gap Discovery*) e abordagens

que consideram topologias de árvores filogenéticas (entre elas modelo de Processo de Árvores de Poisson e modelo Geral Misto de Coalescência de Yule) (DELLICOUR; FLOT, 2018).

Considerando a delimitação de espécie baseada no padrão de divergência do DNA *barcoding*, o padrão é de que linhagens acumulem gradualmente diferenças genéticas, sendo que seus diferentes níveis são utilizados para a delimitação. Considerando que a diferença de 2% ou mais na sequência quase sempre corresponde ao nível de espécie (LUKHTANOV, 2019). Um modelo muito utilizado para estudos do COI é o modelo de substituição descrito por Kimura em 1980, intitulado de modelo de Kimura-2-Parâmetros (K2P), que considera as taxas de substituição transicional e transversal, levando em consideração que as frequências das quatro bases nucleotídicas são as mesmas e que as taxas de substituição não variam. O outro método de delimitação de espécie que considera distância genética, é denominado como *Automatic Barcode Gap Discovery* (ABGD), que possui como principal objetivo identificar os diferentes *thresholds* de distâncias genéticas, pode ser utilizado mesmo quando as duas distribuições se sobrepõem, e leva em consideração a comparação direta entre as distribuições intra e interespecíficas (PUILLANDRE et al., 2012; RANNALA; YANG, 2020). Os resultados são melhores quando considerados grupos monofiléticos e a distribuição pode ser multimodal devido a fatores como o crescimento da população e seleção populacional (DELLICOUR; FLOT, 2018).

Já se tratando das abordagens que consideram a topologia de árvores filogenéticas, o modelo de Processo de Árvores de Poisson (PTP) identifica o *status* da espécie considerando a distribuição dos comprimentos dos ramos na árvore genética, esse comprimento de ramos é inferido com base em um alinhamento usando a probabilidade máxima. Utiliza-se de uma árvore não ultramétrica enraizada para que não dependa de relógio molecular, sendo mais bem utilizada para identificar espécies que são separadas por longos intervalos entre eventos de especiação (RANNALA; YANG, 2020). Esse método possui duas variações, a primeira delas sua implementação Bayesiana (bPTP) descrita por Zhang et al. (2013), infere as espécies baseando-se nas variações dos parâmetros durante os métodos de Monte Carlo da Cadeia de Markov; e a segunda variação com múltiplas taxas de divergência intra-interespecífica (mPTP), que considera múltiplas taxas de variação interespecífica para identificar alterações na população ou resultados de subamostragens (KAPLI et al., 2017).

O último modelo relacionado à topologia de árvore filogenética, é o modelo descrito por Pons et al. (2006) denominado como Modelo Geral Misto de Coalescência de Yule (GMYC), que define as espécies ajustando processos intra e interespecíficos às árvores ultramétricas para identificar a relação entre os dois limites, sendo que ele combina a diversificação entre espécies (modelo de Yule) e ramificação genealógica dentro das espécies (modelo coalescente neutro) (DELLICOUR; FLOT, 2018). Esse método requer que os ramos das árvores sejam proporcionais ao tempo, sendo diferente do PTP o qual depende que os ramos sejam proporcionais ao número de substituições (RANNALA; YANG, 2020).

Considerando os métodos de delimitação de espécies atuais, observamos que esses fornecem ferramentas úteis para as definições dos *status* de espécie e de teorias de desenvolvimentos futuros. Os resultados obtidos são uma rica fonte de informação da história evolutiva das espécies em geral (RANNALA; YANG, 2020).

A filogenia molecular, outra área de estudo molecular tão importante quanto a delimitação de espécies, é a representação dos eventos das espécies e seus táxons relacionados com os ancestrais comuns (FUTUYMA; KIRKPATRICK, 2017). Para a utilização em estudos filogenéticos os marcadores moleculares precisam ser capazes de recuperar relações entre clados de idades parecidas e de definir diferenças quando baseadas em estudos com fósseis, possibilitando assim a datação estimada pela taxa de mudanças de caráter num intervalo geológico determinando quando o clado sofreu a divergência (PATWARDHAN; RAY; ROY, 2014).

O gene COI é muito utilizado na delimitação de espécies porque evolui mais lentamente em comparação com outros genes codificados pelas mitocôndrias, mas é muito considerado em estudos de filogenia. Além desse gene, diferentes marcadores moleculares têm sido utilizados para análises filogenéticas em diversos organismos, incluindo outros marcadores mitocondriais, nucleares e citoplasmáticos. O gene mitocondrial 12S é utilizado para estudos de taxonomia molecular, filogenia e identificação de espécies, é útil para determinação de tempos de divergência moderados a longos. O gene 16S, nuclear ribossomal, contém regiões variáveis e conservadas com sequências características para grupos filogenéticos específicos (PATWARDHAN; RAY; ROY, 2014). Já o gene nuclear Rag (Rag1 e Rag2) têm sido utilizados em reconstruções filogenéticas entre grupos de vertebrados (SULLIVAN; LUNDBERG; HARDMAN, 2006).

As inferências da filogenia podem ser determinadas baseadas em quatro principais métodos: *Neighbour-Joining*, que se baseia nas distâncias de sequências considerando o modelo evolutivo; Máxima parcimônia, a qual usa a escolha do ótimo para determinar quais árvores são as melhores dentre todas as árvores possíveis; Máxima verossimilhança, que é definida como a probabilidade dos dados resultarem nos parâmetros subjacentes; e Inferência Bayesiana, que considera as probabilidades anteriores e posteriores para os parâmetros e construção da árvore (BLEIDORN, 2017).

Essas informações são extremamente importantes para a conservação e manejo das espécies, pois é possível determinar, por exemplo, a real diversidade do grupo e possibilitar investigações biogeográficas que culminem em determinações de áreas prioritárias à conservação biológica.

REFERÊNCIAS

- AB'SABER, N. A. Megageomorfologia do território brasileiro. In: CUNHA, S. B.; GUERRA, A. J. T. *Geomorfologia do Brasil*. Rio de Janeiro: Bertand Brasil, 1998. p. 71-106.
- AGOSTINHO, A. A.; JULIO JUNIOR, H. F. Peixes da bacia do alto rio Paraná. In: LOWE-McCONNELL, Rose H. **Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais**. São Paulo: Edusp, 1999. p. 374-400.
- AGOSTINHO, A. A.; PELICICE, F. M.; GOMES, L. C. Dams and the fish fauna of the Neotropical region: impacts and management related to diversity and fisheries. **Brazilian journal of biology**, v. 68, n. 4, p. 1119-1132, 2008.
- AGOSTINHO, A.A.; PELICICE, F.M.; PETRY, A.C.; GOMES, L.C.; JÚLIO-JR, H.F. Fish diversity in the upper Paraná River basin: habitats, fisheries, management and conservation. **Aquatic Ecosystem Health & Management**, v.10, n.2, p.174–186, 2007.
- AGOSTINHO, A. A.; THOMAZ, S. M.; NAKATANI, K. A planície de inundação do Alto rio Paraná. In: SEELIGER, Ulrich; CORDAZZO, César; BARBOSA, Francisco A. R. **Cadernos da Biodiversidade**. Belo Horizonte: UFMG, 2002. p. 51-63.
- AGOSTINHO, A. A.; VAZZOLER, A. E. A. M.; THOMAZ, S. M. The high River Paraná Basin: limnological and ichthyological aspects. In: TUNDISI, J.G.; BICUDO, C.E.M.; MATSUMURA-TUNDISI, T. **Limnology in Brazil**. Rio de Janeiro: ABC/SBL, 1995. p.59-103.
- BLEIDORN, C. Phylogenetic Analyses. In: BLEIDORN, C. **Phylogenomics**. Switzerland: Springer, 2017. p. 143-168.
- BONETTO, A. A.; NEIFF, J. J.; DI PERSIA, D. H. The Paraná river system. In: DAVIES, B. R.; WALKER, K. F. **The ecology of river systems**. Dordrecht: Springer, 1986. p. 541-598.
- BRITSKI, H. A. Lista dos Tipos de Peixes das Coleções do Departamento de Zoologia da Secretaria da Agricultura de São Paulo. **Papéis Avulsos de Zoologia**, v. 22, n. 19, p.197-215, 1969.

- CASATTI, L.; LANGEANI, F.; CASTRO, R. M. Peixes de riacho do Parque Estadual Morro do Diabo, bacia do alto rio Paraná, SP. **Biota Neotropica**. p. 1-2, 2001.
- 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.; ABREU, T. X.; BOCKMANN, F. A.; CARVALHO, M.; GIBRAN, F. Z.; LIMA, F. C. T. Estrutura e composição da ictiofauna de riachos do Rio Paranapanema, sudeste e sul do Brasil. **Biota Neotropica**, v. 3, n. 1, 2003.
- 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. C.; ABREU, T. X.; BOCKMANN, F. A.; DARDIS, G. Z. P.; STOPIGLIA, R.; LANGEANI, F. Estrutura e composição da ictiofauna de riachos da bacia do Rio Grande, no Estado de São Paulo, Sudeste do Brasil. **Biota Neotropica**, v. 4, n. 1, 2004.
- CASTRO, R. M. C.; CASATTI, L.; SANTOS, H. F.; VARI, R. P.; MELO, A. L. A.; MARTINS, L. S. F.; ABREU, T. X.; BENINE, R. C.; GIBRAN, F. Z.; RIBEIRO, A. C.; BOCKMANN, F. A.; CARVALHO, M.; PELIÇÃO, G. Z.; FERREIRA, K. M.; STOPIGLIA, R.; AKAMA, A. Structure and composition of the stream ichthyofauna of four tributary rivers of the upper Rio Paraná basin, Brazil. **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, v. 16, n. 3, p.193-214, 2005.
- DELLICOUR, S.; FLOT, J. F. The hitchhiker's guide to single-locus species delimitation. **Molecular Ecology Resources**. v. 18, n. 6, p. 1234-1246, 2018.
- DE PINNA, M. Phylogenetic relationships of neotropical Siluriformes (Teleostei: Ostariophysi): historical overview and synthesis of hypotheses. *In*: MALABARBA, L. R.; REIS, R. E.; VARI, R. P.; LUCENA, Z. M.; LUCENA, C. A. S. **Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes**. Porto Alegre: Edipucrs, 1998. p. 279-330.
- EIGENMANN, C. H., EIGENMANN, R. S. Preliminary notes on South American Nematognathi, I. **Usda Forest Service General Technical Report Pacific Southwest**, v. 1, n. 2, p. 119-172, 1888.
- FERRARIS, C. J. Jr. Checklist of the catfishes, recente and fóssil (Osteichthyes: Siluriformes), and catalogue of siluriform primary type. **Zootaxa**, v. 1418, p. 1-628, 2007.
- FUTUYMA, D. J.; KIRKPATRICK, M. Phylogeny: The Unity and Diversity of Life. *In*: FUTUYMA, D. J.; KIRKPATRICK, M. **Evolution**. Sunderland: Sinauer Associates, 2017. p. 401-430.
- FRANTINE-SILVA, W.; SOFIA, S. H.; ORSI, M. L.; ALMEIDA, F. S. DNA barcoding of freshwater ichthyoplankton in the Neotropics as a tool for ecological monitoring. **Molecular Ecology Resources**, v. 15, n. 5, p. 1226-1237, 2015.
- FREITAS, T. M. S.; MONTAG, L. F. A. Population and reproductive parameters of the red-tailed catfish, *Phractocephalus hemiliopterus* (Pimelodidae: Siluriformes), from the Xingu River, Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v. 17, n. 2, 2019.
- FRICKE, R.; ESCHMEYER, W. N.; VAN DER LAAN, R. **Eschmeyer's catalog of fishes: Genera, Species, References**. Disponível em: <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>. Acesso em: 17 fev. 2021.
- GARAVELLO, J. C. Revision of genus *Steindachneridion* (Siluriformes: Pimelodidae). **Neotropical Ichthyology**, v. 3, n. 4, p. 607-623, 2005.

GRAÇA, W.J.; PAVANELLI, C.S. **Peixes da planície de inundação do alto rio Paraná e áreas adjacentes**. Maringá: EDUEM, 2007. 241 p.

HARDMAN, Michael; LUNDBERG, John G. Molecular phylogeny and a chronology of diversification for “phractocephaline” catfishes (Siluriformes: Pimelodidae) based on mitochondrial DNA and nuclear recombination activating gene 2 sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 40, n. 2, p. 410-418, 2006.

HEBERT, P. D.; CYWINSKA, A.; BALL, S. L.; DEWAARD, J. R. Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society of London Series B**, v. 270, n. 1512, p. 313-321, 2003.

JARDULI, L. R.; GARCIA, D. A. Z.; VIDOTTO-MAGNONI, A. P.; CASIMIRO, A. C. R.; VIANNA, N. C.; ALMEIDA, F. S. D.; JEREP, F. C.; ORSI, M. L. Fish fauna from the Paranapanema River basin, Brazil. **Biota Neotropica**, v. 20, n. 1, 2020.

KAPLI, P.; LUTTEROPP, S.; ZHANG, J.; KOBERT, K.; PAVLIDIS, P.; STAMATAKIS, A.; FLOURI, T. Multi-rate Poisson tree processes for single-locus species delimitation under maximum likelihood and Markov chain Monte Carlo. **Bioinformatics**, v. 33, n. 11, p. 1630-1638, 2017.

KIMURA, M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **Journal of Molecular Evolution**, v. 16, n. 2, p. 111-120, 1980.

LANGANI, F.; CASTRO, R. M. C.; OYAKAWA, O. T.; SHIBATTA, O. A.; PAVANELLI, C. S.; CASATTI, L. Diversidade da ictiofauna do Alto Rio Paraná: composição atual e perspectivas futuras. **Biota Neotropica**, v. 7, n. 3, p. 181-197, 2007.

LATRUBESSE, E. M.; STEVAUX, J. C.; SANTOS, M. L.; ASSINE, M. L. Grandes sistemas fluviais: geologia, geomorfologia e paleohidrologia. In: SOUZA, C. R. G.; SUDUÍO, K.; OLIVEIRA, P. E. **Quaternário no Brasil**. Ribeirão Preto: Editora Holos, 2005. p. 276-297.

LUNDBERG J. G.; AKAMA A. *Brachyplatystoma capapretum*: a new species of goliath catfish from the Amazon basin, with a reclassification of allied catfishes (Siluriformes: Pimelodidae). **Copeia**, v. 3, p. 492-516, 2005.

LUNDBERG, J. G.; LITTMANN, M. W. Family Pimelodidae (Longwhiskered catfishes). In: Reis, R. E., Kullander, S. O., Ferrari, C. J. **Checklist of the freshwater fishes of South and Central America**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2003. p.432-446.

LUNDBERG, J. G.; MAGO-LECCIA, F.; NASS, P. *Exallodontus aguanai*, a new genus and species of Pimelodidae (Pisces: Siluriformes) from deep river channels of South America, and delimitation of the subfamily Pimelodinae. **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v. 104, n. 4, p. 840-869, 1991.

LUNDBERG, John G.; SULLIVAN, John P.; HARDMAN, Michael. Phylogenetics of the South American catfish family Pimelodidae (Teleostei: Siluriformes) using nuclear and mitochondrial gene sequences. **Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia**, p. 153-189, 2011.

LUKHTANOV, V.A. Species Delimitation and Analysis of Cryptic Species Diversity in the XXI Century. **Entomological Review**, v. 99, p. 463–472, 2019.

MAACK, R. **Geografia física do Estado do Paraná**. Texas: J. Olympio, 1981. 450 p.

- MACHADO, V. N.; COLLINS, R. A.; OTA, R. P.; ANDRADE, M. C.; FARIAS, I. P.; HRBEK, T. One thousand DNA barcodes of piranhas and pacus reveal geographic structure and unrecognized diversity in the Amazon. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 8387, 2018.
- MALABARBA, L. R.; MALABARBA, M. C. Phylogeny and classification of neotropical fish. *In*: BALDISSEROTTO, B.; URBINATI, E. C.; CYRINO, J. E. P. **Biology and Physiology of Freshwater Neotropical Fish**. Cambridge: Academic Press, 2020. p. 1-19.
- MALFATTI, M. G. L.; CARDOSO, A. O.; HAMBURGER, D. S. Identificação de regiões pluviométricas homogêneas na bacia hidrográfica do Rio Paraná. **Geociências (São Paulo)**, v. 37, n. 2, p. 409-421, 2019.
- MIRANDA RIBEIRO A. Três Gêneros e Dezesete Espécies Novas de Peixes Brasileiros. **Revista do Museu Paulista**, v. 10, p. 629-646, 1918.
- MITTERMEIER, R. A., MYERS, N., MITTERMEIER, C. G., GIL, P. B. Hotspots: Earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions. CEMEX, SA, Agrupación Sierra Madre, SC, 1999.
- NASCIMENTO, R. H. C.; FRANTINE-SILVA, W.; SOUZA-SHIBATTA, L.; SOFIA, S. H.; FERRER, J.; SHIBATTA, O. A. Intrapopulational variation in color pattern of *Trichomycterus davisi* (Haseman, 1911) (Siluriformes: Trichomycteridae) corroborated by morphometrics and molecular analysis. **Zootaxa**, v. 4290, n. 3, p. 503-518, 2017.
- NASS, P. Anatomía comparada del bagre cunagaro *Brachyplatystoma juruense* (Boulenger, 1898), incluyendo un analisis filogenético de la familia Pimelodidae. Unpubl. Ph.D. diss., Univ. Central de Venezuela, Caracas. 1991
- NELSON, J. S.; GRANDE, T. C.; WILSON, M. V.H. **Fishes of the World**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2016. 752 p.
- OTA, R. P.; MACHADO, V. N.; ANDRADE, M. C.; COLLINS, R. A.; FARIAS, I. P.; HRBEK, T. Integrative taxonomy reveals a new species of pacu (Characiformes: Serrasalminae: *Myloplus*) from the Brazilian Amazon. **Neotropical Ichthyology**, v. 18, n. 1, 2020.
- PATWARDHAN, A.; RAY, S.; ROY, A. Molecular markers in phylogenetic studies-a review. **Journal of Phylogenetics & Evolutionary Biology**, v. 2014, 2014.
- PEREIRA, L. H.; HANNER, R.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. Can DNA barcoding accurately discriminate megadiverse Neotropical freshwater fish fauna?. **BMC Genetics**, v. 14, n. 1, p. 1-14, 2013.
- PIRES, A. C.; MARINONI, L. DNA barcoding and traditional taxonomy unified through Integrative Taxonomy: a view that challenges the debate questioning both methodologies. **Biota Neotropica**, v. 10, n. 2, p. 339-346, 2010.
- PONS, J.; BARRACLOUGH, T. G.; GOMEZ-ZURITA, J.; CARDOSO, A.; DURAN, D. P.; HAZELL, S.; KAMOUN, S.; SUMLIN, W. D.; VOGLER, A. P. Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. **Systematic Biology**, v. 55, n. 4, p. 595-609, 2006.
- PULLANDRE, N.; LAMBERT, A.; BROUILLET, S.; ACHAZ, G. ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. **Molecular Ecology**, v. 21, n. 8, p. 1864-1877, 2012.

- RAMIREZ, J. L.; BIRINDELLI, J. L.; CARVALHO, D. C.; AFFONSO, P. R.; VENERE, P. C.; ORTEGA, H.; CARRILLO-AVILA, M.; RODRÍGUEZ-PULIDO, J. A.; GALETTI Jr, P. M. Revealing hidden diversity of the underestimated neotropical ichthyofauna: DNA barcoding in the recently described genus *Megaleporinus* (Characiformes: Anostomidae). **Frontiers in genetics**, v. 8, n. 149, 2017.
- RANNALA, B.; YANG, Z. Species Delimitation. *In*: SCORNAVACCA, C., DELSUC, F., GALTIER, N. **Phylogenetics in the Genomic Era**. p. 5.5:1–5.5:18. 2020.
- SALGADO, A. A. R.; CHEREM, L. F. S.; DE SORDI, M. V. Grandes capturas fluviais no Brasil: síntese das novas descobertas. **Estudos do Quaternário/Quaternary Studies**, v. 19, p. 23-31, 2018.
- SCHMID-EGGER, C.; STRAKA, J.; LJUBOMIROV, T.; BLAGOEV, G. A.; MORINIÈRE, J.; SCHMIDT, S. DNA barcodes identify 99 per cent of apoid wasp species (Hymenoptera: Ampulicidae, Crabronidae, Sphecidae) from the Western Palearctic. **Molecular Ecology Resources**, v. 19, n. 2, p. 476-484, 2019.
- SHETH, B. P.; THAKER, V. S. DNA barcoding and traditional taxonomy: an integrated approach for biodiversity conservation. **Genome**, v. 60, n. 7, p. 618-628, 2017.
- STEVAUX, J. C.; SOUZA FILHO, E. E.; JABUR, I. C. A história quaternária do rio Paraná em seu alto curso. **A planície de inundação do alto rio Paraná: aspectos físicos, biológicos e socioeconômicos**. Maringá: EDUEM, p. 47-72, 1997.
- SULLIVAN, J. P.; LUNDBERG, J. G.; HARDMAN, M. A phylogenetic analysis of the major groups of catfishes (Teleostei: Siluriformes) using rag1 and rag2 nuclear gene sequences. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 41, n. 3, p. 636-662, 2006.
- SULLIVAN, J. P.; MURIEL-CUNHA, J.; LUNDBERG, J. G. Phylogenetic relationships and molecular dating of the major groups of catfishes of the Neotropical superfamily Pimelodoidea (Teleostei, Siluriformes). **Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia**, p. 89-110, 2013.
- VARI, R. P. The Curimatidae, a lowland neotropical fish family (Pisces: Characiformes); distribution, endemism, and phylogenetic biogeography. *In*: HEVER, W. R.; VANZOLINI, P. E. Proceedings of a Workshop on Neotropical Distribution Patterns. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências. 1988. p. 343-377.
- WARD, R. D.; ZEMLAK, T. S.; INNES, B. H.; LAST, P. R.; HEBERT, P. D. DNA barcoding Australia's fish species. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 360, n. 1462, p. 1847-57, 2005.
- ZHANG, J.; KAPLI, P.; PAVLIDIS, P.; STAMATAKIS, A. A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements. **Bioinformatics**, v. 29, n. 22, p. 2869-2876, 2013.

3 CAPÍTULO 1

**Uma espécie nova de *Steindachneridion* Eigenmann & Eigenmann,
1919 (Siluriformes, Pimelodidae) do alto rio Paraná**

Esse trabalho está formatado de acordo com as normas de submissão do
periódico científico *Neotropical Ichthyology* (NI)

Uma espécie nova de *Steindachneridion* Eigenmann & Eigenmann, 1919 (Siluriformes, Pimelodidae) do alto rio Paraná

Raul Henrique Cardoso Nascimento¹, Oscar Akio Shibatta²

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil.

²Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Biologia Animal e Vegetal, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil.

RESUMO

Uma nova espécie de *Steindachneridion* Eigenmann & Eigenmann, 1919 é descrita para a bacia do alto rio Paraná com base em uma abordagem taxonômica integrativa utilizando dados morfológicos e moleculares. Também é apresentada uma nota de sua distribuição, *status* taxonômico e conservação. A espécie nova distingue-se, no entanto, das demais espécies do gênero por um conjunto de proporções corporais com diferença significativa, além de diferenças no padrão de colorido, bem como uma sequência única de bases no gene COI. *Steindachneridion scriptum* tem sua distribuição geográfica redefinida. *Steindachneridion punctatum* foi caracterizado como sinônimo júnior de *S. scriptum*.

Palavras-Chave: Taxonomia integrativa, DNA *barcode*, delimitação de espécie, surubim.

ABSTRACT

A new species of *Steindachneridion* Eigenmann & Eigenmann, 1919 is described for the Upper Paraná River basin based on an integrative taxonomic approach, with notes on its distribution, taxonomic status and conservation. *Steindachneridion* sp. n. has in common with its congeners six to eight branched rays in the dorsal fin, the shape of the vomer and the pre-maxillary dentigerous plates, in addition to a reduced number of gill-rakers. However, the new species is distinguished from other species of the genus by a set of significantly different morphological proportions, the color pattern, and a unique sequence of the COI gene. The geographic distribution of *Steindachneridion scriptum* is reformed, and based on hard evidence, *S. punctatum* is characterized as a junior synonym for *S. scriptum*.

Keywords: Integrative taxonomy, DNA barcode, species delimitation, surubim.

INTRODUÇÃO

Steindachneridion Eigenmann & Eigenmann, 1919 é um gênero constituído por seis espécies viventes e duas espécies fósseis. Esses peixes são bagres de grande porte que vivem em ambientes de fundo rochosos e fluxo rápido, e são conhecidos popularmente como surubins (Garavello, 2005). A primeira espécie do gênero foi descrita como *Platystoma parahybae* Steindachner (1877). Posteriormente, Eigenmann e Eigenmann (1888) estudando o material tipo dessa espécie descreveram uma nova espécie para o grupo, *Steindachneria amblyurum*, propondo assim uma modificação no gênero para abrigar as duas espécies e definiram essa última como espécie tipo do gênero. A criação de um novo nome para o gênero justificava-se porque *Platystoma* Agassiz in Spix & Agassiz 1829, já estava pré-ocupado por *Platystoma* Meigen 1803, na ordem Diptera. Miranda Ribeiro (1918), descreveu *Steindachneria scripta* e sua variação *S. scripta punctata*, ambas ocorrendo simpatricamente no rio Uruguai.

Eigenmann e Eigenmann (1919) revisaram o grupo e propuseram um novo nome para o gênero, *Steindachneridion*, pois o anterior já estava pré-ocupado por *Steindachneria* Goode & Bean, 1888, em Gadiformes. Britski (1969), estudando material tipo de diversas espécies de peixes, sinonimizou *S. scriptum punctatum* para *S. scriptum*, informação acatada por Eschemeyer (1988). Porém, posteriormente, *S. scriptum punctatum* foi considerada como uma espécie válida por Garavello (2005).

Garavello (2005), descreveu uma nova espécie para rio Iguaçu (*S. melanodermatum*) e propôs a ampliação da área de ocorrência de *S. scriptum* e *S. punctatum*, ambos ocorrendo simpatricamente no rio Uruguai e na bacia do alto rio Paraná. O lapso temporal, observado entre os estudos com o grupo, assim como o pequeno número destes, provavelmente se deve ao fato de que as espécies do gênero são naturalmente raras e relativamente difíceis de coletar. Deste modo, o escasso número de espécimes de *Steindachneridion* disponíveis em coleções ictiológicas atrapalha a avaliação adequada da diversidade do grupo e a obtenção de informações relacionadas aos demais membros da família (de Pinna, 1998; Lundberg, Littmann, 2003; Garavello, 2005; Lundberg, Akama, 2005).

De modo geral, a distribuição das espécies do gênero está intimamente associada aos padrões alopátricos determinados por isolamento entre bacias hidrográficas. Uma exceção à essa generalização é o caso de *S. scriptum* e *S. punctatum*, ambas descritas simpatricamente da bacia do rio Uruguai e com ocorrência simpátrica descrita para a bacia do alto rio Paraná. Somando-se este fato à similaridade morfológica dos exemplares de

Steindachneridion das bacias do rio Uruguai e do alto rio Paraná e recorrentes diagnoses conflitantes entre as espécies.

Abordagens moleculares têm cada vez mais auxiliado em diversas questões relacionadas ao inventariamento da biodiversidade (Pereira *et al.*, 2013; Frantine-Silva *et al.*, 2015), na resolução de dúvidas taxonômicas (Nascimento *et al.*, 2017; Ramirez *et al.*, 2017) e sinalização de possíveis novas espécies (Machado *et al.*, 2018; Ota *et al.*, 2020). Em especial, as técnicas baseadas na abordagem DNA *barcoding* (Hebert *et al.*, 2003), quando vistos em contextos mais amplos de classificação taxonômica ou área geográfica, apresentam recorrente congruência com a taxonomia morfológica (Pires, Marinoni, 2010; Sheth *et al.*, 2017; Schimidt-Egger *et al.*, 2019). Apesar das limitações das inferências utilizando um único loco, novos métodos baseados em estratégias estatísticas robustas (Pons *et al.*, 2006; Puillandre *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2013; Kapply *et al.*, 2017) e o uso combinado de diferentes estratégias de exploração de novas espécies (Dellicour, Float, 2018), têm contornado os potenciais vieses relacionados aos respectivos métodos.

Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi utilizar uma abordagem integrativa com dados morfológicos e moleculares para a descrição de uma nova espécie de *Steindachneridion*.

MATERIAL E METODOS

ANÁLISES MERÍSTICAS E MORFOMÉTRICAS

Foram utilizados 51 exemplares de *Steindachneridion* para as análises merísticas e morfológicas. As medidas e contagens seguiram Garavello (2005). As contagens do número de raios das nadadeiras peitoral, anal, pélvica e caudal, assim como o número de rastros do primeiro arco branquial foram realizadas com auxílio de um estereomicroscópio, quando necessário. As medidas ponto a ponto foram tomadas com auxílio de um paquímetro digital com precisão de 0,1 mm. Tanto as contagens, quanto as medidas foram realizadas do lado esquerdo dos exemplares (com exceção de um arco branquial de *S. melanodermatum*). Foram realizadas 19 medidas morfométricas e calculadas suas proporções corporais médias. As medidas contidas no corpo (distância pré-dorsal; distância pré-anal; distância pélvica-ânus; distância ânus-anal; comprimento da base da adiposa; altura do pedúnculo; altura do corpo; largura cleitral; largura da base da dorsal; largura da base da pélvica; comprimento da cabeça) tiveram suas proporções calculadas em relação ao comprimento padrão (CP), e as medidas contidas na cabeça (diâmetro orbital; largura da cabeça; largura interorbital; largura das narinas; largura da

boca; comprimento do focinho; altura da cabeça) tiveram suas proporções calculadas em relação ao comprimento da cabeça (CC). A partir dessas proporções, foi realizada uma Análise de Componentes Principais (PCA) no qual foi utilizado o *software* PAST v2.17c (Hammer *et al.*, 2001). Adicionalmente, foi testada através de um teste-t de *Student* com correção de Bonferroni para múltiplas comparações e alfa de 0,05 para testar diferenças nas proporções corporais entre as espécies. A normalidade dos dados foi testada a partir do teste de *Shapiro-Wilk* e a homogeneidade a partir do teste de *Levene*, todas realizadas no *software* R v. 4.0.2 (R Core Team, 2020).

Nas contagens e medidas, o asterisco (*) indica os dados observados no holótipo. São apresentadas as proporções mínimas (<) e máximas (>), juntamente com suas médias (\bar{x}), desvios padrão (σ). Na lista de material analisado, esta apresentada o número de espécimes de cada lote, após o número de tombo, os esqueletos preparados pelo método de Bemis *et al.* (2004) estão representados pela sigla (esq) e os exemplares diafanizados e corados pelo método de Taylor e Van Dyke (1985) pela sigla (d&c).

As abreviaturas institucionais relacionadas aos exemplares utilizados são: MZUEL (Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Londrina, Londrina), MZUSP (Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo) e ANSP (*Academy of Natural Sciences*, Filadélfia – EUA).

ANÁLISES MOLECULARES

As análises moleculares foram realizadas com base em 44 indivíduos oriundos das bacias dos rios Jequitinhonha (*S. amblyurum*, n = 4), Doce (*S. doceanum*, n = 5), Paraíba do Sul (*S. parahybae*, n = 5), Iguaçu (*S. melanodermatum*, n = 10), Uruguai e alto rio Paraná (*S. scriptum*, n = 13 e *Steindachneridion* sp. n., n = 7). Todos os indivíduos tiveram o DNA total extraído conforme o protocolo de Sambrook *et al.* (1989), utilizando fenol-clorofórmio.

As amplificações do gene mitocondrial citocromo *c oxidase* subunidade I (COI, 648pb) foram realizadas utilizando os *primers* FishF1 e FishR1 descritos por Ward *et al.* (2005) com base no protocolo descrito por Pereira *et al.* (2013). Os produtos resultantes das amplificações foram visualizados em gel de agarose 1%, corados com SYBR® Safe DNA Gel Stain (Life Technologies), seguindo protocolo do fabricante. Após visualização, o restante do produto amplificado foi purificado com ExoStar™ 1-Step (Illustra™) seguindo recomendações do fabricante. As amostras foram então sequenciadas bidirecionalmente em reações independentes, de acordo com o protocolo descrito por

Hajibabaei *et al.* (2005). O produto das reações de sequenciamento foi analisado em sequenciador automático ABI 3500 XL (Applied Biosystems Inc., CA, USA).

A qualidade das sequências foi verificada através do *software* Electropherogram Quality Analysis (Togawa, Brigido, 2003), também utilizado para produção de sequências consenso entre *forward* e *reverse*. Essas sequências foram, então, alinhadas seguindo o algoritmo de MUSCLE e editadas no *software* MEGA v6 (Tamura *et al.*, 2013), também utilizado para calcular as distâncias genéticas intra e interespecíficas, a partir do modelo Kimura-2-Parâmetros (K2P, Kimura, 1980), bem como para a construção da árvore de *Neighbor-Joining* (NJ), testada por 1000 pseudoreplicações. O *software* MEGA v6 também foi utilizado para identificação de caracteres moleculares diagnósticos, os quais foram alinhados à sequência completa do gene COI extraído do genoma mitocondrial de *Pimelodus maculatus* (*Access code*: NC_032695.1) utilizado como referência para as posições nucleotídicas.

Para testar a hipótese de espécie associada à variação das sequências genéticas, foram utilizadas cinco estratégias distintas de delimitação de espécie *a posteriori*, duas baseadas em distância genética e três baseadas em topologia de árvores filogenéticas, como recomendado por Dellicour e Float (2018). Além do método K2P, tradicionalmente utilizado para as sequências *barcode* (Pereira *et al.*, 2013), o pacote ABGD (*Automated Barcode Gap Discovery*; Puillandre *et al.*, 2011) em linguagem R v. 4.0.2 (R Core Team, 2020) foi utilizado para estimar o agrupamento das sequências com base em diferentes *thresholds* de distância genética. Este método detecta o intervalo de distância intra e interespecífica entre os potenciais espécies como o primeiro intervalo significativo, além de limites de distância intraespecífica pré-estabelecido e o utiliza para particionar os dados. A inferência do limite e a detecção de intervalos é então aplicada recursivamente aos grupos obtidos anteriormente para obter partições mais finas, até que não haja mais particionamento (Puillandre *et al.*, 2011). A escolha do melhor particionamento é feita pelo consenso de maioria dos particionamentos (Dellicour, Float, 2018). De forma complementar, também foram empregados três métodos baseados em topologia de árvores filogenéticas. Dois métodos foram baseados no modelo de Processo de Árvores de Poisson (PTP) em sua implementação Bayesiana (bPTP; Zhang *et al.*, 2013) e sua variação com múltiplas taxas de divergência intra-interespecífica (mPTP; Kapli *et al.*, 2017), além do Modelo Geral Misto de Coalescência de Yule (GMYC; Pons *et al.*, 2006; Fujisawa, Barraclough, 2013). O bPTP e mPTP são extensões do Processo de Árvores de Poisson (Zhang *et al.*, 2013) que buscam otimizar os padrões de distribuição e

comprimento de braços em árvores filogenéticas para identificar potenciais espécies. Por sua vez, o bPTP busca utilizar variações dos parâmetros do modelo durante os métodos Monte Carlo da cadeia de Markov para otimizar a solução de inferência de espécies (Zhang *et al.*, 2013). O mPTP emprega múltiplas taxas de variação interespecífica para acomodar variações populacionais ou efeitos de subamostragem de espécies (Kapli *et al.*, 2017). Além destes, utilizou-se também o GMYC, implementado no pacote em R “*Species Limits by Threshold Statistics*” (Splits; Pons *et al.*, 2006), a partir da árvore ultramétrica previamente gerada no *software* BEAST v2.5 (Bouckaert *et al.*, 2019). Por meio deste método é possível calcular o número de *clusters*, classificando as taxas de bifurcação de um filograma como resultantes de processos de ramificações interespecíficas ou intraespecíficas das linhagens (Pons *et al.*, 2006; Fujisawa, Barraclough, 2013).

A inferência da árvore filogenética foi realizada via inferência Bayesiana no programa BEAST v2.5 (Bouckaert *et al.*, 2019) com taxa de mutação referência de 0,01 mutação a cada milhão de anos, relógio molecular estrito e modelo Yule de coalescência (Heled, Drummond, 2010). Os dados foram analisados como uma única partição e o modelo evolutivo utilizado foi HKY+I+G, especificado previamente pelos programas MrModeltest 2.3 (Nylander, 2004) e pelo pacote bModelTest 1.2 (Bouckaert, Drummond, 2017). As análises foram executadas por 100 milhões de gerações amostrando-se uma árvore a cada 10000 gerações. O programa TRACER v. 1.5 (pacote BEAST) foi usado para verificar a probabilidade posterior do tamanho efetivo mínimo suficiente (ESS>200) e estimativa significativa dos parâmetros e as médias de idades dos nós, considerando um *burn-in* de 25 milhões de gerações. As árvores foram sumarizadas e visualizadas usando os programas TREEANNOTATOR 1.5.3 e FIGTREE 1.3.1, respectivamente (Drummond, Rambaut, 2007; Rambaut, 2009).

RESULTADOS

ANÁLISES MORFOLÓGICAS

As contagens e medidas apresentaram sobreposição em alguns casos entre os dados das espécies. Na PCA, as três primeiros eixos retiveram 81,53% de toda variação presente no conjunto de dados. *Steindachneridion* sp. n. apresentou separação total dos conjuntos de escores individuais das espécies em relação a *S. amblyurum*, *S. parahybae*, *S. punctatum* e *S. scriptum*, entretanto, demonstrou sobreposição em relação a *S. doceanum* e *S. melanodermatum* (Fig. 1).

Tabela 1 Dados merísticos de exemplares de *Steindachneridion*. (*S. sp. n.* = *Steindachneridion* sp. n. (n = 10); *S. amb* = *S. amblyurum* (n = 5); *S. doc* = *S. doceanum* (n = 4); *S. mel* = *S. melanodermatum* (n = 10); *S. par* = *S. parahybae* (n = 9); *S. pun* = *S. punctatum* (n = 1); *S. scr* = *S. scriptum* (n = 12). * = holótipo)

Contagem	<i>S. sp. n.</i>	<i>S. amb</i>	<i>S. doc</i>	<i>S. mel</i>	<i>S. par</i>	<i>S. pun</i>	<i>S. scr</i>
Nº de raios da nadadeira dorsal	i+5*-6	i+6-7	i+8	i+6	i+7	i+6	i+6
Nº de raios da nadadeira peitoral	i+8-10*	i+9	i+9	i+9	i+10	i+9	i+9
Nº de raios da nadadeira anal	i+8*	i+8-9	i+9	i+8	i+8-10	i+8-9	i+8-9
Nº de raios da nadadeira pélvica	i+5*	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5
Nº de raios da nadadeira caudal	i+15*/16+i	i+15+i	i+15+i	i+14/15+i	i+15+i	i+15+i	i+15+i
Nº de rastros branquiais (1º arco)	13-16*	13-14	18-20	14-17	15-17	12-14	14-18

Tabela 2. Dados morfométricos de *Steindachneridion* sp. n., *S. amblyurum*, *S. doceanum*, *S. melanoderdatum*, *S. parahybae*, *S. punctatum* e *S. scriptum*. (* = holótipo; < = mínimo; > = máximo). Comprimento padrão em mm, proporções corporais em relação ao comprimento padrão, proporções da cabeça em relação ao comprimento da cabeça.

Medidas	<i>Steindachneridion</i> sp. n. (n=06)					<i>S. amblyurum</i> (n=03)				<i>S. doceanum</i> (n=02)			
	*	<	>	\bar{x}	σ	<	>	\bar{x}	σ	<	>	\bar{x}	σ
comprimento padrão (mm)	605,87	372,00	616,55	491,07	100,86	189,88	334,00	274,29	75,17	307,00	422,00	364,50	81,32
Porcentagens do CP													
distância pré-dorsal	241,80	0,425	0,358	0,394	0,025	0,389	0,362	0,374	0,012	0,387	0,381	0,383	0,003
distância pré-anal	429,62	0,788	0,618	0,714	0,042	0,718	0,681	0,699	0,018	0,707	0,695	0,701	0,006
distância pélvica-ânus	35,19	0,063	0,053	0,057	0,003	0,046	0,044	0,045	0,001	0,087	0,077	0,082	0,005
distância ânus-anal	56,56	0,097	0,089	0,092	0,003	0,116	0,093	0,106	0,012	0,024	0,022	0,023	0,000
comprimento da base da adiposa	115,17	0,205	0,189	0,198	0,006	0,240	0,231	0,235	0,004	0,194	0,182	0,188	0,007
profundidade do pedúnculo	59,79	0,110	0,099	0,104	0,004	0,102	0,090	0,094	0,005	0,081	0,081	0,081	0,000
profundidade do corpo	101,32	0,207	0,167	0,188	0,012	0,186	0,166	0,178	0,010	0,186	0,153	0,171	0,018
largura cleitral	134,64	0,247	0,222	0,234	0,008	0,243	0,233	0,237	0,003	0,228	0,208	0,217	0,010
largura da base da dorsal	70,57	0,124	0,116	0,118	0,003	0,172	0,151	0,160	0,010	0,162	0,153	0,159	0,004
largura da base da pélvica	24,99	0,045	0,037	0,042	0,003	0,038	0,033	0,036	0,002	0,041	0,040	0,040	0,001
Porcentagens do CC													
comprimento da cabeça	177,70	0,326	0,293	0,308	0,013	0,303	0,292	0,297	0,005	0,319	0,305	0,310	0,007
diâmetro orbital	13,81	0,093	0,077	0,081	0,005	0,117	0,095	0,104	0,011	0,114	0,097	0,106	0,010
largura da cabeça	133,74	0,807	0,703	0,739	0,028	0,837	0,758	0,795	0,038	0,745	0,713	0,729	0,018
largura interorbital	62,19	0,359	0,320	0,334	0,014	0,378	0,371	0,374	0,003	0,318	0,313	0,315	0,003
largura das narinas	39,68	0,224	0,203	0,214	0,008	0,275	0,248	0,263	0,012	0,235	0,223	0,229	0,007
largura da boca	82,27	0,480	0,430	0,467	0,015	0,567	0,531	0,552	0,015	0,491	0,470	0,480	0,012
comprimento do focinho	77,02	0,438	0,413	0,423	0,009	0,424	0,408	0,416	0,007	0,428	0,402	0,415	0,015
profundidade da cabeça	68,26	0,466	0,380	0,436	0,037	0,529	0,431	0,479	0,049	0,424	0,415	0,420	0,005

Tabela 2. Continuação. Dados morfométricos de *Steindachneridion* sp. n., *S. amblyurum*, *S. doceanum*, *S. melanodermatum*, *S. parahybae*, *S. punctatum* e *S. scriptum*. (* = holótipo; < = mínimo; > = máximo). Proporções corporais em reação ao comprimento padrão, proporções da cabeça em relação ao comprimento da cabeça.

Medidas	<i>S. melanodermatum</i> (n=10)				<i>S. parahybae</i> (n=03)				<i>S. punctatum</i> (n=01)	<i>S. scriptum</i> (n=12)			
	<	>	\bar{x}	σ	<	>	\bar{x}	σ	%	<	>	\bar{x}	σ
comprimento padrão (mm)	380,00	716,00	555,80	141,35	240,28	470,00	356,76	114,89	645,00	99,96	539,82	247,13	200,44
distância pré-dorsal	0,412	0,383	0,396	0,011	0,400	0,356	0,392	0,016	39,49	0,447	0,416	0,431	0,011
distância pré-anal	0,739	0,722	0,727	0,006	0,724	0,688	0,720	0,012	69,46	0,743	0,701	0,718	0,012
distância pélvica-ânus	0,057	0,049	0,054	0,003	0,106	0,090	0,098	0,004	5,49	0,068	0,039	0,048	0,010
distância ânus-anal	0,110	0,084	0,101	0,008	0,034	0,022	0,031	0,005	8,61	0,101	0,077	0,088	0,008
comprimento da base da adiposa	0,210	0,173	0,196	0,012	0,212	0,189	0,193	0,008	20,40	0,272	0,205	0,236	0,024
profundidade do pedúnculo	0,095	0,083	0,091	0,004	0,094	0,088	0,089	0,002	9,96	0,106	0,087	0,097	0,005
profundidade do corpo	0,197	0,165	0,182	0,011	0,209	0,192	0,203	0,005	18,62	0,160	0,141	0,149	0,007
largura cleitral	0,229	0,215	0,219	0,004	0,231	0,218	0,229	0,004	21,56	0,253	0,232	0,240	0,006
largura da base da dorsal	0,128	0,104	0,113	0,007	0,160	0,141	0,155	0,005	12,25	0,136	0,125	0,131	0,004
largura da base da pélvica	0,043	0,037	0,039	0,002	0,045	0,042	0,044	0,001	3,85	0,051	0,040	0,045	0,004
comprimento da cabeça	0,322	0,277	0,308	0,014	0,314	0,298	0,308	0,004	29,02	0,350	0,326	0,342	0,007
diâmetro orbital	0,096	0,076	0,083	0,006	0,104	0,083	0,086	0,007	8,78	0,159	0,137	0,147	0,007
largura da cabeça	0,799	0,693	0,717	0,032	0,801	0,694	0,724	0,030	73,68	0,761	0,665	0,701	0,029
largura interorbital	0,349	0,304	0,314	0,013	0,340	0,318	0,336	0,008	33,81	0,324	0,264	0,284	0,016
largura das narinas	0,233	0,202	0,215	0,008	0,246	0,225	0,241	0,006	21,85	0,247	0,223	0,236	0,008
largura da boca	0,496	0,428	0,444	0,022	0,515	0,479	0,494	0,009	43,68	0,498	0,456	0,477	0,015
comprimento do focinho	0,422	0,387	0,401	0,012	0,434	0,423	0,432	0,004	39,52	0,414	0,388	0,402	0,008
profundidade da cabeça	0,491	0,413	0,448	0,031	0,531	0,489	0,508	0,011	48,04	0,360	0,315	0,339	0,016

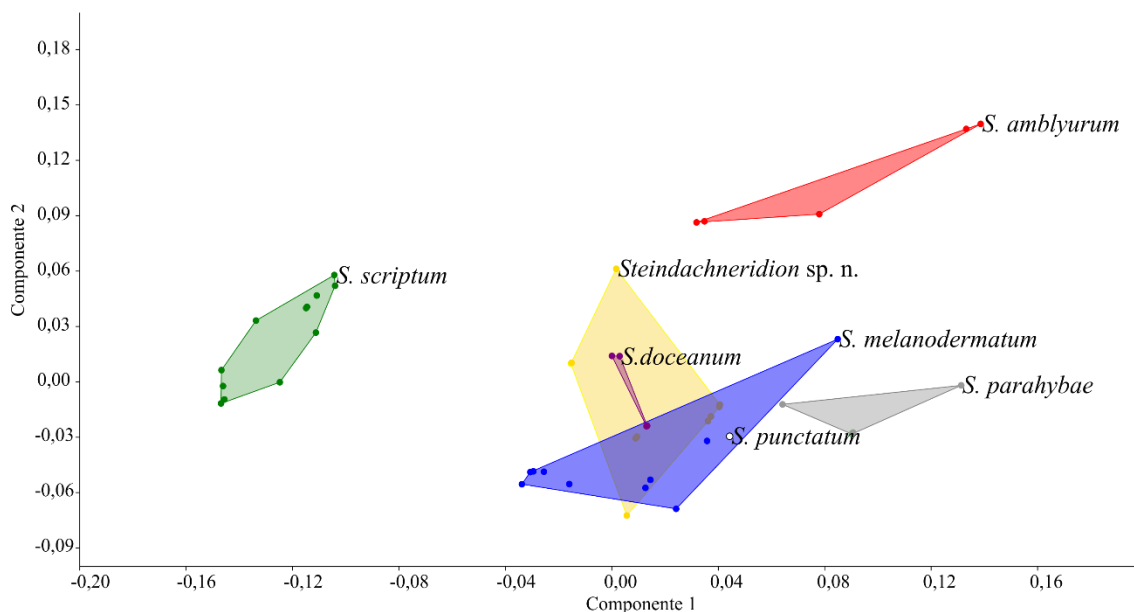


Figura 1 Dispersão dos escores individuais de todas as espécies de *Steindachneridion* no espaço da primeira e da segunda componentes principais.

O teste de significância para as médias das proporções corporais entre as espécies revelou que *Steindachneridion* sp. n. possui uma série de divergências significativas em relação a todas as espécies do grupo, exceto *S. punctatum*, espécie que não foi avaliada no teste de significância devido a $n = 1$ (Tab. 3).

ANÁLISES MOLECULARES

Foram obtidas sequências de 44 indivíduos com 579 pb após edição e alinhamento. Não foram identificados códons de parada, deleções ou inserções de bases em nenhuma das sequências. Quanto as distâncias K2P intraespecíficas, não foram encontradas diferenças para a maioria das espécies, com exceção de *S. doceanum* (0,31%) e *S. melanodermatum* (0,09%). Já em relação às distâncias K2P interespecíficas, *Steindachneridion* sp. n. apresentou valores acima de 8% em relação a *S. amblyurum*, *S. doceanum* e *S. parahybae*, já em relação a *S. melanodermatum* e *S. scriptum* os valores foram de 1,69% e 1,22%, respectivamente (Tab. 3). A distribuição gráfica das distâncias genéticas na árvore de *Neighbor-Joining* demonstra a formação de seis *clusters* principais (Fig. 2).

Tabela 3 Distância genética K2P entre as seis espécies de *Steindachneridion* baseados em 579 pb do gene COI. Números em negrito representam distância K2P intraespecífica. Diagonal inferior: distância K2P; Diagonal superior: desvio padrão.

	1	2	3	4	5	6
1. <i>Steindachneridion amblyurum</i> (n = 4)	0,00%	1,65%	2,09%	1,84%	2,02%	2,01%
2. <i>Steindachneridion doceanum</i> (n = 5)	13,88%	0,31%	1,46%	1,05%	1,52%	1,46%
3. <i>Steindachneridion melanodermatum</i> (n = 10)	18,41%	10,77%	0,09%	1,45%	0,58%	0,57%
4. <i>Steindachneridion parahybae</i> (n = 5)	15,65%	5,47%	10,36%	0,00%	1,42%	1,34%
5. <i>Steindachneridion scriptum</i> (n = 13)	17,35%	11,32%	1,87%	10,23%	0,00%	0,46%
6. <i>Steindachneridion</i> sp. n. (n = 7)	17,35%	10,26%	1,69%	8,98%	1,22%	0,00%

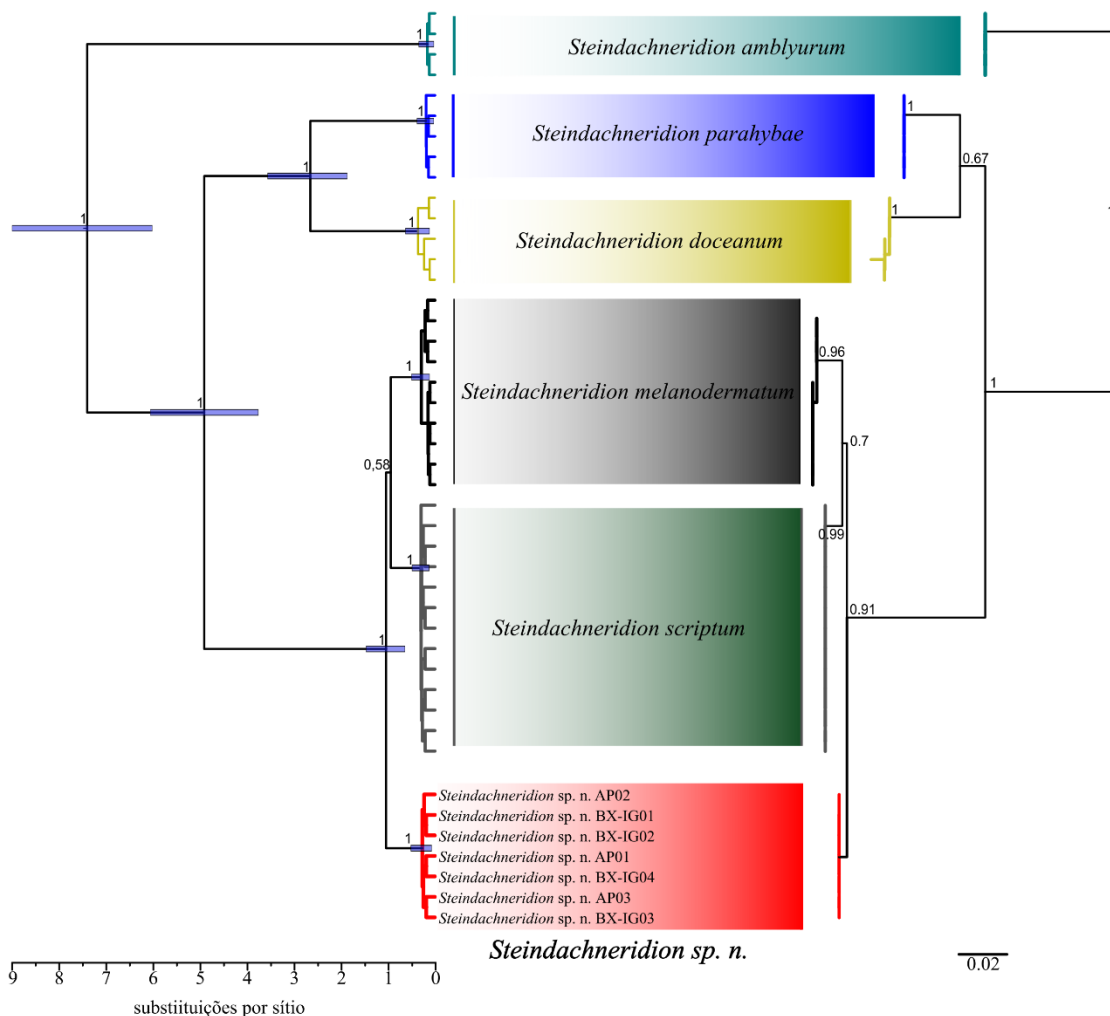


Figura 2 Filograma Bayesiano sumarizado pelo método de máxima credibilidade dos clados (*maximum clade credibility*) apresentando a congruência de cinco métodos de delimitação de espécies. (BX-IG: baixo rio Iguazu, AP: bacia do alto rio Paraná). Valores próximos aos nós indicam a probabilidade posterior (à esquerda) e *bootstrap* da árvore de K2P/*Neighbor-Joining* (à direita).

Os resultados das análises de delimitação de espécies, mPTP, bPTP, GMYC e ABGD mostraram a formação de seis *clusters*, indicando o reconhecimento de seis espécies (Fig. 2; Mat. Supl. S2 – S5).

Os resultados da identificação de caracteres moleculares diagnósticos para *Steindachneridion* sp. n. revelaram nucleotídeos em posições específicas que a permitem diferenciar das demais congêneres, especialmente na posição 267, apresentando nesta posição um par de base exclusivo (Mat. Supl. S6).

***Steindachneridion* sp., espécie nova**

(Fig. 3, Tab. 1, 2)

Steindachneridion scriptum. Garavello, 2005: 615 (parte; redescrição da espécie; exemplares do estado de São Paulo).

Steindachneridion punctatum, Garavello, 2005: 617 (parte; redescrição da espécie; exemplares do estado de São Paulo).

Steindachneridion scriptum. Bennemann *et al.*, 1995 (registro, bacia do rio Tibagi); Shibatta *et al.*, 2002: 419 (caracterização); Mikich & Bérnils. 2004 (Livro Vermelho da Fauna Ameaçada no Estado do Paraná); Frantine-Silva, 2015: 1233 (identificação de larvas; DNA barcode). Paixão *et al.*, 2018: (referência). Jarduli *et al.*, 2020: 5 (referência).



Figura 3 Vista lateral de *Steindachneridion* sp. n. MZUEL 866, 605,8 mm CP, rio Tibagi, Sapopema, Paraná.

Holótipo. MZUEL 866, 1, 605,87 mm CP, Sapopema, Paraná, Brasil, rio Tibagi, c.23°5'S 50°4'O, 10 jan 1990, Bennemann, S.T. e colaboradores.

Parátipos. Todos coletados no Brasil. Paraná, bacia do alto rio Paraná: MZUEL 866, 1, d&c, 145,2 mm CP, Sapopema, rio Tibagi, 23°5'S 50°4'O, 20 fev 1991, ECPUEL; MZUEL 1482, 1, 163,7 mm CP, Telêmaco Borba, rio Tibagi acima da barragem da UHE Presidente Vargas, 24°1'S 50°3'O, 04 dez 1997, ECPUEL; MZUEL 1767, 1, 368,33 mm CP, Tamarana, rio Tibagi próximo a foz do rio Apucarantina, 23°4'S 50°5'O, 20 fev 2001, L. G. Caetano; MZUEL 1767, 1, d&c, 161,6 mm CP, Tamarana, rio Tibagi próximo a foz do rio Apucarantina, 23°4'S 50°5'O, 20 fev 2001, L. G. Caetano; MZUEL 5421, 1, 564,2 mm CP, Palmital, rio Paranapanema, 22°5'S 50°1'O, 11 jun 2010, M. L. Orsi; MZUEL 12326, 1, 412,0 mm CP, rio Tibagi, ECPUEL; MZUEL 18391, 1, 487,3 mm CP, Londrina, Limoeiro rio Tibagi, 23°21'11.33"S 51°00'26.21"O, 21 out 2000, Filho. Paraná, bacia do rio Paraná: MZUEL 15649, 1, 616,5 mm CP, Foz do Iguaçu, rio Iguaçu, 25°38'82"S 54°27'52"O, 17 ago 2011, M. C. Makrakis; MZUSP 14642, 1, 603,9 mm CP, Itaipu, CETESB. São Paulo, bacia do alto rio Paraná: MZUEL 19302, 1, esq, 452,9 mm CP, Palmital, Reservatório da UHE Canoas II, rio Paranapanema, 22°57'08.36"S 50°14'17.66"O, 01 jan 1992, ECPUEL; MZUSP 23093, 2, 344,5-541,2 mm CP, Ilha Solteira, enseada rio Paraná, 20°21'S 51°20'O, Expedição do Departamento de Zoologia. São Paulo, bacia do rio Grande: MZUSP 87985, 1, 645,0 mm CP, Jaguará, Cachoeira Mata-Doutor abaixo da UHE Jaguará, 19°58'S 4°29'O, J. C. Garavello, A. S. Soares, A. I. Alves; MZUSP 88015, 1, 690,0 mm CP, Jaguará, Cachoeira Mata-Doutor abaixo da UHE Jaguará, 19°58'S 4°29'O, J. C. Garavello, A. S. Soares, A. I. Alves. São Paulo, bacia do rio Paraná: MZUSP 42846, 1, 680,4 mm CP, rio Pardo, CETESB. São Paulo, bacia do rio Paranapanema: MZUSP 83720, 2, 560,3-580,8 mm CP, Piraju, rio Paranapanema, 23°21'S 49°37'O, Damato; MZUSP 83722, 1, 420,3 mm CP, rio Paranapanema, Lima; MZUSP 88016, 4, 407,0-472,0 mm CP, Piraju, rio Paranapanema agropecuária abaixo da barragem, 23°21'S 49°37'O, A. K. Oliveira, J. C. Garavello; MZUSP 88017, 1, 372,0 mm CP, Piraju, rio Paranapanema abaixo da barragem da UHE Jurumirim, 23°21'S 49°37'O, A. K. Oliveira, J. C. Garavello.

Diagnose. A espécie nova difere de *S. amblyrum*, *S. doceanum*, *S. parahybae* e *S. melanodermatum* pelo padrão de colorido, apresentando o corpo composto por manchas escuras circulares e alongadas (vs. manchas escuras grandes e vermiculações para *S. amblyrum* e *S. doceanum*, manchas escuras pequenas e grandes esparsas para *S. parahybae*, e inúmeras manchas escuras pequenas esparsas para *S. melanodermatum* (Figs. 3 e 4). *Steindachneridion* sp. n. ainda difere de *S. amblyrum* pela nadadeira caudal

emarginada (vs. arredondada, Fig. 5), de *S. doceanum* pelo número de rastros branquiais, 13-16 (vs. 18-20), de *S. amblyurum*, *S. doceanum*, *S. parahybae* e *S. melanodermatum* pelo formato da placa dentígera vomeriana, apresentando uma placa com formato de elipse alongada (vs. presença de duas placas em *S. amblyurum*, *S. doceanum* e *S. parahybae*, e placa de formato similar, porém com a extremidade distal levemente concava em *S. melanodermatum*, Fig. 6). *Steindachneridion* sp. n. diverge de *S. amblyurum*, *S. doceanum*, *S. parahybae* por uma maior distância entre a extremidade distal espinho do parieto-supraoccipital e a placa nugal anterior, na espécie nova, essa distância representa mais de 0,8 vezes o tamanho do espinho do parieto-supraoccipital (vs. distância pelo menos duas vezes menor em *S. amblyurum* e estruturas adjacentes em *S. doceanum* e *S. parahybae*, Fig 7). A espécie nova diferencia-se na sequência do gene COI de todos os demais congêneres na posição 267 em relação ao genoma mitocondrial completo, apresentando nesta posição uma guanina (G) (vs. adenina (A) para *S. amblyurum*, *S. doceanum*, *S. parahybae*, *S. melanodermatum* e *S. scriptum*, e citosina (C) para *S. parahybae*). A espécie aqui descrita é mais similar morfológicamente à *S. scriptum*, da qual difere pelo COI nas bases de posições 138, 219, 252, 267, 288, 387 e 435. Molecularmente, a espécie nova é diagnosticada pela exclusiva sequência do COI abaixo:

```

AGCTCTTAGCCTGTTAATTCGGGCAGAGCTAGCCCAACCTGGCACTCTCCTA
GGTGATGACCAAATCTATAATGTCATCGTCACTGCTCATGCCTTCGTAATAA
TTTTCTTTATAGTAATACCTATTATGATCGGAGGCTTTGGAAACTGATTAGT
CCCCTAATAATCGGGGCGCCAGATATAGCATTTCACGAATGAACAACAT
AAGCTTCTGATTACTCCCCCATCTTTTCTACTACTACTTGCCATCTGGGG
TAGAAGCAGGAGCAGGGACGGGTTGAACCGTATATCCGCCTCTTGCCGGAA
ATCTTGCACACGCAGGGGCTTCGTAGACTTAACTATTTTCTCCCTCCATTTG
GCAGGGGTCTCATCTATTCTAGGGGCTATTAACCTTTATTACAACCATTATTA
ACATGAAACCTCCAGCTATTTTACAATACCAAACACCACTATTTATTTGAGC
CATTTTAATTACGGCCGTACTACTCCTACTGTCCTCCAGTATTAGCTGCA
GGCATTACAATATTATTAACAGACCGAAATCTAAATACTACATTCTTTGACC
CAGCAGG.

```

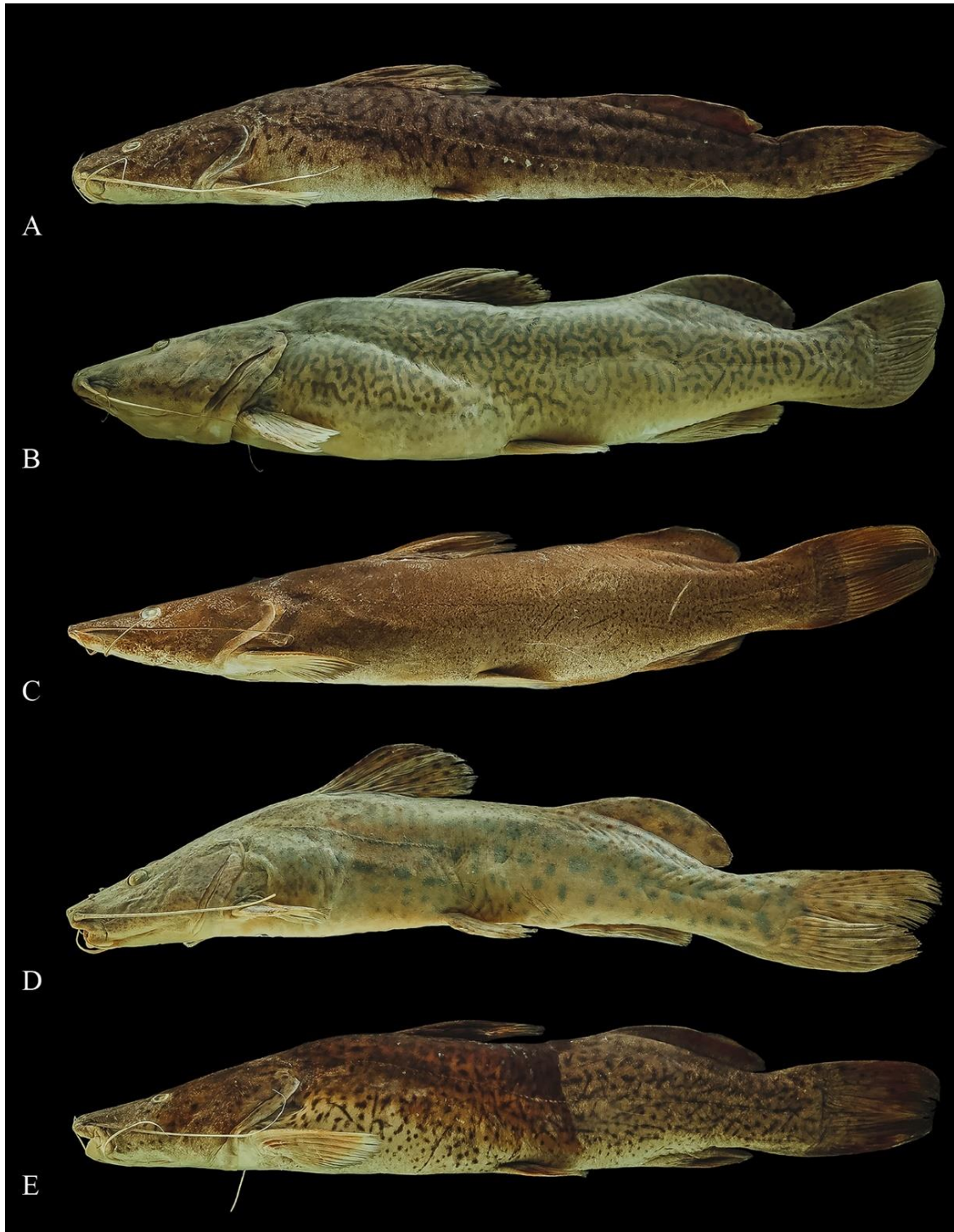


Figura 4 Exemplos das espécies de *Steindachneridion*. *S. amblyurum* 374,0 mm (A), *S. doceanum* 519,0 mm (B), *S. melanodermatum* 347,0 mm (C), *S. parahybae* 265,0 mm (D) e *S. scriptum* 534,0 mm (E).

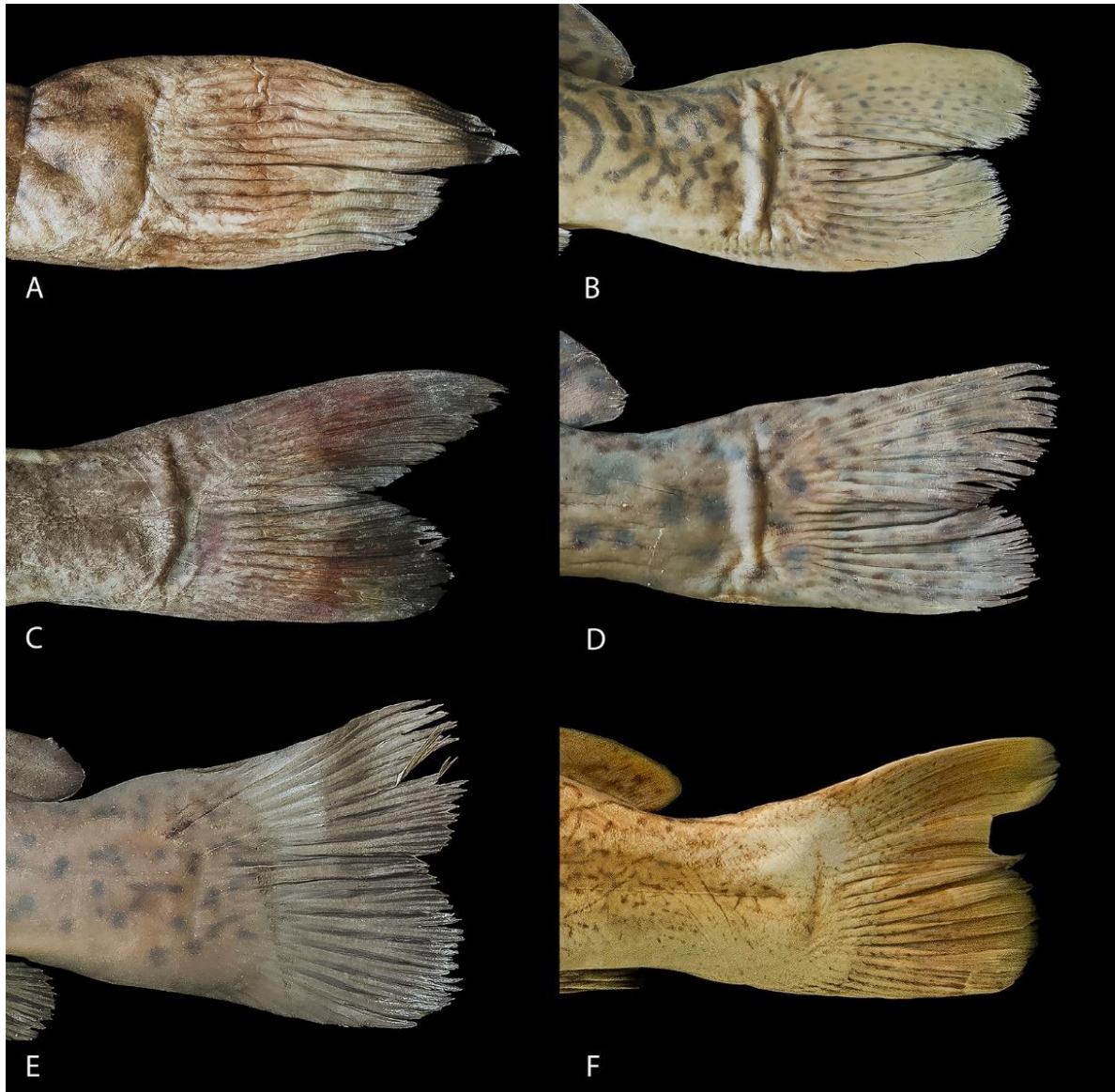


Figura 5 Detalhe das nadadeiras caudais das espécies de *Steindachneridion*. *S. amblyurum* (A), *S. doceanum* (B), *S. melanodermatum* (C), *S. parahybae* (D), *S. scriptum* (E) e *Steindachneridion* sp. n. (F)

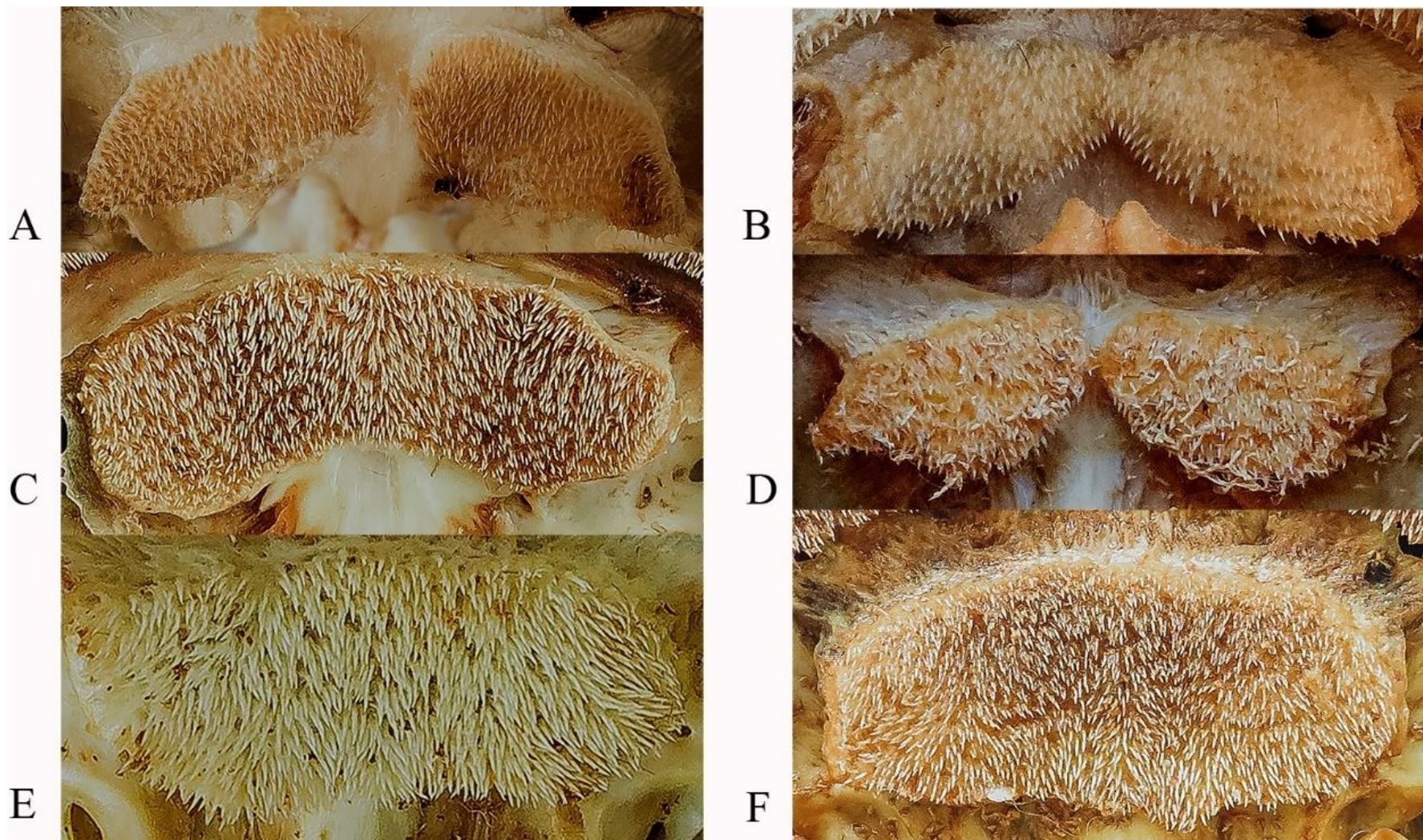


Figura 6 Detalhe das placas dentíferas vomerianas das espécies de *Steindachneridion*. *S. amblyurum* (A), *S. doceanum* (B), *S. melanodermatum* (C), *S. parahybae* (D), *S. scriptum* (E) e *Steindachneridion* sp. n. (F).

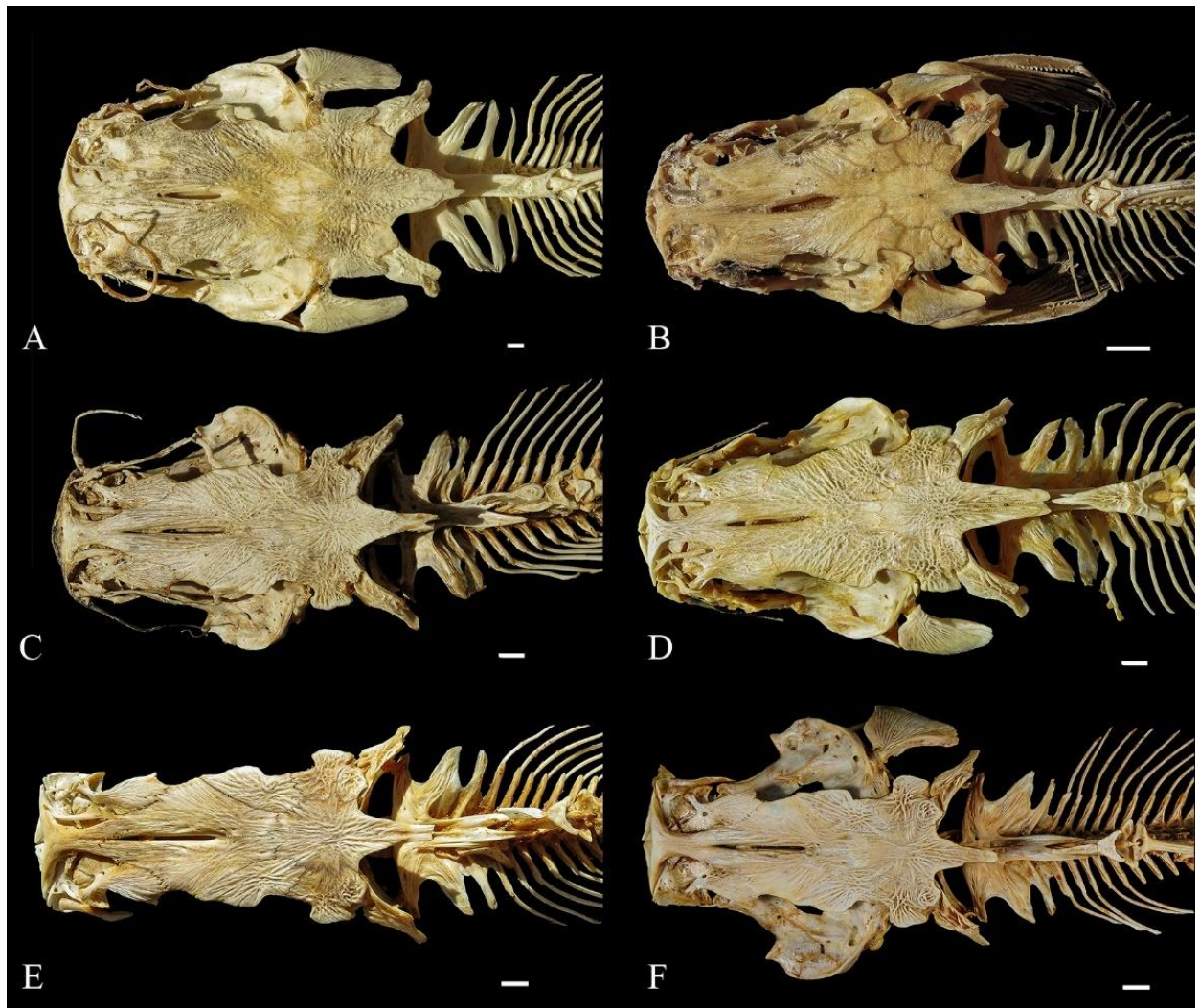


Figura 7 Parte do esqueleto das espécies de *Steindachneridion* em vista dorsal. *S. amblyurum*, A; *S. doceanum*, B; *S. melanodermatum*, C; *S. parahybae*, D; *S. scriptum*, E e *Steindachneridion* sp. n., F). Barra de escala= 10 mm.

Descrição. Dados morfométricos (Tab. 1, 2). Maior exemplar analisado 629,0 mm CP. Focinho grande, ponta do focinho quase arredondada em vista dorsal, narinas anterior e posterior sobressaindo levemente do perfil do focinho em vista lateral, narinas anteriores mais espaçadas entre si que as narinas posteriores. Cabeça larga, quase arredondada em vista dorsal. Perfil dorsal da cabeça reto da ponta do focinho até a placa nugal. Olhos dorsalmente posicionados, mais próximos da ponta do focinho do que da abertura opercular; órbita pequena, 13 a 16 rastros no primeiro arco branquial. Depressões profundas em ambos os lados da mandíbula. Boca grande e terminal, maxilar inferior ligeiramente mais curto que o maxilar superior, lábios finos; barbilhões maxilares longos, quando adpressos, atingindo a linha vertical que ultrapassa a inserção da nadadeira dorsal. Placa dentígera do pré-maxilar grande, separada de sua contraparte por um espaço mediano estreito, abruptamente estreita e curvadas para a região distal. Placa dentígera

do pré-maxilar estreita, em forma de meia lua, ligeiramente mais larga na região medial e pontiaguda na região distal. Placa dentígera única no vômer, contínua, quase elíptica e limitada pela placa dentígera pré-maxilar. Perfil corporal alto e convexo entre a placa nugal e o pedúnculo caudal. Base da nadadeira dorsal e região anterior à nadadeira adiposa reta. Região anterior e inserção da nadadeira adiposa inclinada. Perfil dorsal do pedúnculo caudal ligeiramente côncavo da nadadeira adiposa à base da nadadeira caudal. Perfil ventral inclinado da ponta do focinho à região abdominal e perfil ventral do pedúnculo caudal ligeiramente côncavo.

Cabeça e tronco cobertos com espessa camada de pele, exceto na região orbital, superfícies ventrais da cintura peitoral e pélvica inteiramente cobertas por pele. Processo supraoccipital curto coberto por fina camada de pele e atingindo a linha vertical que passa pela abertura opercular, processo pós-cleitoral posterior curto e coberto por pele. Nadadeira dorsal i, 5-6; dois primeiros raios não pungentes. Base da nadadeira dorsal inserida no espaço da linha vertical dorsal entre a parte distal da nadadeira peitoral e linha vertical da origem da nadadeira anal. Mecanismo de trava da nadadeira dorsal presente. Nadadeira peitoral i, 8-10. Primeiro raio da nadadeira peitoral não pungente e desprovido de serrilha. Nadadeira peitoral curta, margem distal da nadadeira reta; ponta da nadadeira peitoral, quando comprimida, atinge verticalmente a inserção da nadadeira dorsal. Nadadeira pélvica i,5. Margem distal da nadadeira pélvica levemente arredondada. Ponta da nadadeira pélvica, quando adpressa, ultrapassa o ânus, mas não atinge a origem da nadadeira anal. Nadadeira anal i,8. Nadadeira anal com margem distal arredondada nos três primeiros raios e reta nos demais. Nadadeira caudal i,15-16. Nadadeira caudal com raios profundamente entalhados, lobo dorsal maior do que o lobo ventral e ambas as pontas ligeiramente arredondadas, raios da nadadeira caudal, i,15-16; nadadeira caudal bifurcada, pedúnculo cilíndrico e baixo.

Coloração em álcool. Região dorsal da cabeça com pequenas manchas marrom escuras circulares ou tracejadas. Região lateral do corpo, dorso e cabeça cinza amarronzado, manchas circulares e alongadas esparsas. Olhos marrom escuros. Nadadeiras peitorais, dorsal, pélvicas, adiposa e anal marrons com manchas circulares e alongadas esparsas e bem demarcadas, nadadeira adiposa desprovida de manchas nas extremidades; nadadeira dorsal e anal sem manchas na parte distal. Região ventral da cabeça e do corpo de coloração mais clara, esbranquiçada; exemplares juvenis com coloração cinza médio,

com predomínio de pequenas manchas alongadas cinza escuras no dorso e na lateral do corpo.

Coloração em vida. Região dorsal da cabeça com pequenas manchas cinza escuras circulares ou estriadas. Região lateral do corpo, dorso e cabeça cinza médio, manchas circulares e alongadas esparsas. Olhos marrom claros. Nadadeiras peitorais, dorsal, pélvicas, adiposa e anal cinza escuras, com manchas circulares e alongadas esparsas e bem demarcadas, nadadeira adiposa sem manchas nas extremidades; nadadeira dorsal e anal sem manchas na parte distal. Região ventral da cabeça e do corpo cinza clara. Coloração observada apenas em um exemplar juvenil.

Distribuição geográfica. *Steindachneridion* sp. n. é amplamente distribuída ao longo da bacia do alto rio Paraná. A espécie também ocorre na bacia do rio Iguaçu a jusante das cataratas do Iguaçu, próximo à confluência com o rio Paraná (Fig. 8).

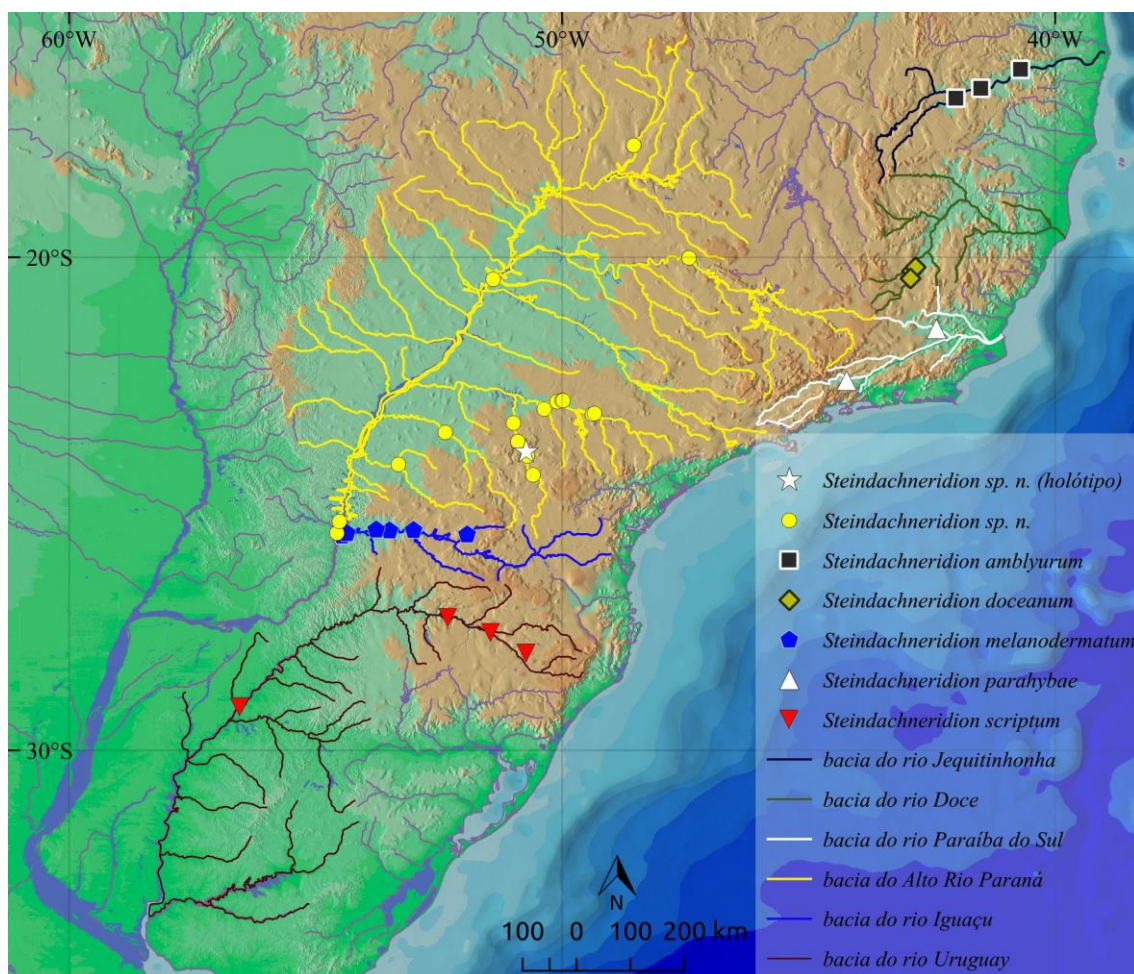


Figura 8 Distribuição geográfica das espécies de *Steindachneridion* analisadas.

Notas ecológicas. Espécies de *Steindachneridion* são encontradas, comumente, ocorrendo em rios de águas claras e de fluxo rápido, com corredeiras sobre grandes leitos rochosos (Garavello, 2005). Segundo pescadores locais, *Steindachneridion* sp. n. está fortemente associada a trechos de águas profundas, normalmente sendo capturada em locais conhecidos como poções ou locas.

Status de conservação. *Steindachneridion* sp. n. ocorre amplamente na bacia do Alto Paraná, desde a região do antigo Salto de Sete Quedas no Paraná até o rio Corumbá em Goiás (Fig. 8). Registros antigos apontam que a espécie ocorria mais frequentemente em alguns locais, onde fazia parte do estoque pesqueiro local, apesar de ser considerada naturalmente rara (Agostinho *et al.*, 1994). A espécie é de grande porte (atingindo tamanho máximo de 90 cm) (Zaniboni-Filho *et al.*, 2004), predadora (piscívora), migradora e reofílica (Zaniboni-Filho, Schultz, 2003; Rojas, 2017). A espécie é geralmente amostrada em poços profundos de trechos correntosos da calha principal de grandes rios, como o rio Tibagi (Obs. pess.), o rio Paranapanema (Garavello, 2005), o rio Araguari (ICMBio, 2018), ou o rio Paraná. Dado seu comportamento migratório e sua preferência por trechos correntosos de grandes rios, é provável que a espécie tenha sofrido um declínio populacional intenso desde a década de 1960, em decorrência da construção das inúmeras barragens de usinas hidrelétricas (como por exemplo, Itaipu). Entretanto, registros na última década em diferentes trechos da bacia do alto rio Paraná, incluindo o rio Paraná imediatamente a jusante da UHE Itaipu (2011, MZUEL 15649), o rio Araguari em Minas Gerais (2012) (ICMBio, 2018), bem como ovos e larvas coletados no rio Cinzas, tributário do rio Paranapanema em 2015 (Frantine-Silva *et al.*, 2015), indicam que a espécie ainda ocorre em diversos trechos da bacia do alto rio Paraná. A espécie é registrada em quase toda a extensão do rio Tibagi, que possui área total de drenagem de 25.000 km² e calha que percorre 550 km, exceto no trecho inferior que se encontra alagado pelo Reservatório de Rosana, e em parte do trecho médio que se encontra alagado pelo Reservatório da UHE Mauá. De forma similar, o corpo principal do rio Paraná conta atualmente com cerca de 480 km de água corrente, dos seus 810 originais (Agostinho *et al.*, 1997). Portanto, a Área de Ocupação (AOO) atual da espécie na drenagem do alto rio Paraná é provavelmente maior do que 2.000 km² (que é o limite do critério B2 da IUCN (Day *et al.*, 2019)), mesmo considerando somente os trechos que ainda permanecem correntosos dos rios Tibagi, Paranapanema, Paranaíba, Cinzas, Ivaí e Piquiri. Por outro

lado, houve um declínio populacional decorrente da perda de habitat (e AOO) em consequência da construção de barragens de usinas hidrelétricas, que transformaram o ambiente correntoso da calha dos rios em ambiente lântico, inviabilizando a ocorrência da espécie e fragmentando sua população original (critério A2c da IUCN (Day *et al.*, 2019)). Estimamos aqui que esse declínio deve ter sido menor do que 30% (categoria Vulnerável no critério A2 da IUNC (Day *et al.*, 2019), visto que a construção de barragens alterou em torno de 50% do rio Paraná e seus principais afluentes nos últimos 60 anos (Agostinho *et al.*, 1997). Esse declínio populacional de 30% foi calculado com base no período de aproximadamente 20 anos, o equivalente a três gerações, considerando que a primeira maturação ocorre pouco antes dos dois anos de idade (Rojas, 2017; Tessaro *et al.*, 2019), e a longevidade deve ser próxima de 15 anos (com base na longevidade de outras espécies de Pimelodidae de grande porte, incluindo *Brachyplatystoma* (Hauser *et al.*, 2018) e *Pseudoplatystoma* (Loubens, Panfili, 2000). Desta forma, consideramos que a espécie nova de *Steindachneridion* deva ser considerada como Ameaçada de Extinção, na categoria Vulnerável, pelo critério A2c da IUCN (Day *et al.*, 2019).

Observações. Miranda Ribeiro (1918) descreveu *S. punctatum* como uma variação de *S. scriptum*, descrita no mesmo trabalho, ambas com base em exemplares coletados no mesmo local (rio Uruguai em Itaqui). Ele reconheceu que o colorido de *S. punctatum* diferia sutilmente de *S. scriptum*, a primeira apresentando pontos escuros e a segunda pontos e traços escuros. Britski (1969) ao designar um lectótipo para *S. scriptum* considerou *S. punctatum* como um sinônimo júnior, o que foi acatado posteriormente (Eschmeyer, 1988). No entanto, na revisão taxonômica do gênero, Garavello (2005) reconheceu *S. punctatum* como uma espécie válida, a diferenciando de *S. scriptum* pelo menos número de rastros branquiais no primeiro arco branquial (12-14 vs. 15-17), colorido do corpo (pontos escuros vs. traços escuros) e no tamanho da órbita (26,4-36,5% na distância interorbital e 8,6-11,7% no comprimento da cabeça, vs. 21,2-31,7% e 7,3-10,1%, respectivamente). No entanto, com base nos resultados do presente estudo, ambas as espécies apresentam uma inconsistência de caracteres diagnósticos. Por exemplo, o número de rastros branquiais do primeiro arco de *S. scriptum* variou de 14 -18, enquanto *Steindachneridion* sp. n variou de 13 a 16, sobrepondo-se inclusive com *S. punctatum* (Figs. 9 e 10, Tab. 1). Os caracteres morfométricos apresentados por Garavello (2005) mostram uma grande sobreposição que impossibilita a distinção das duas espécies. As medidas apresentadas por Garavello (2005) estão relacionados ao tamanho dos

exemplares identificados como cada uma das duas espécies, sendo que o diâmetro da órbita é inversamente proporcional ao comprimento do corpo (alometria negativa). A variação no comprimento padrão dos exemplares identificados como *S. punctatum* foi de 245-632 mm com média de 407,0 mm, enquanto de *S. scriptum* foi de 327-774 mm, com média de 581,1 mm. Desta forma, conclui-se que o tamanho da órbita não pode ser usado para suportar a validade de *S. punctatum*.

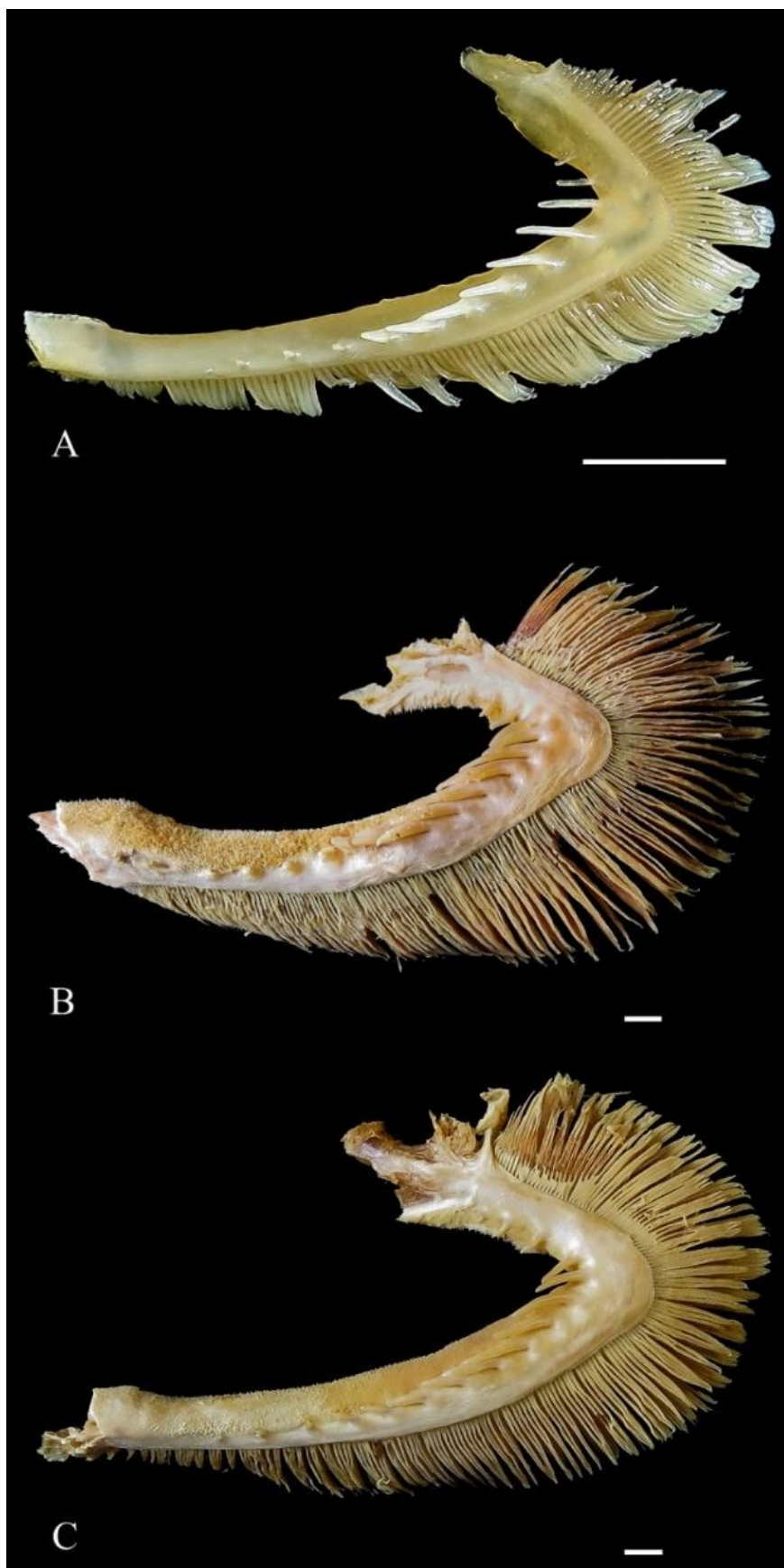


Figura 9. Primeiro arco branquial de *Steindachneridion* sp. n.; MZUEL 001482 (A, 13 rastros branquiais); MZUEL 866, holótipo, (B, 16 rastros branquiais); MZUEL 015649 (C, 16 rastros branquiais). Barra de escala=10 mm.

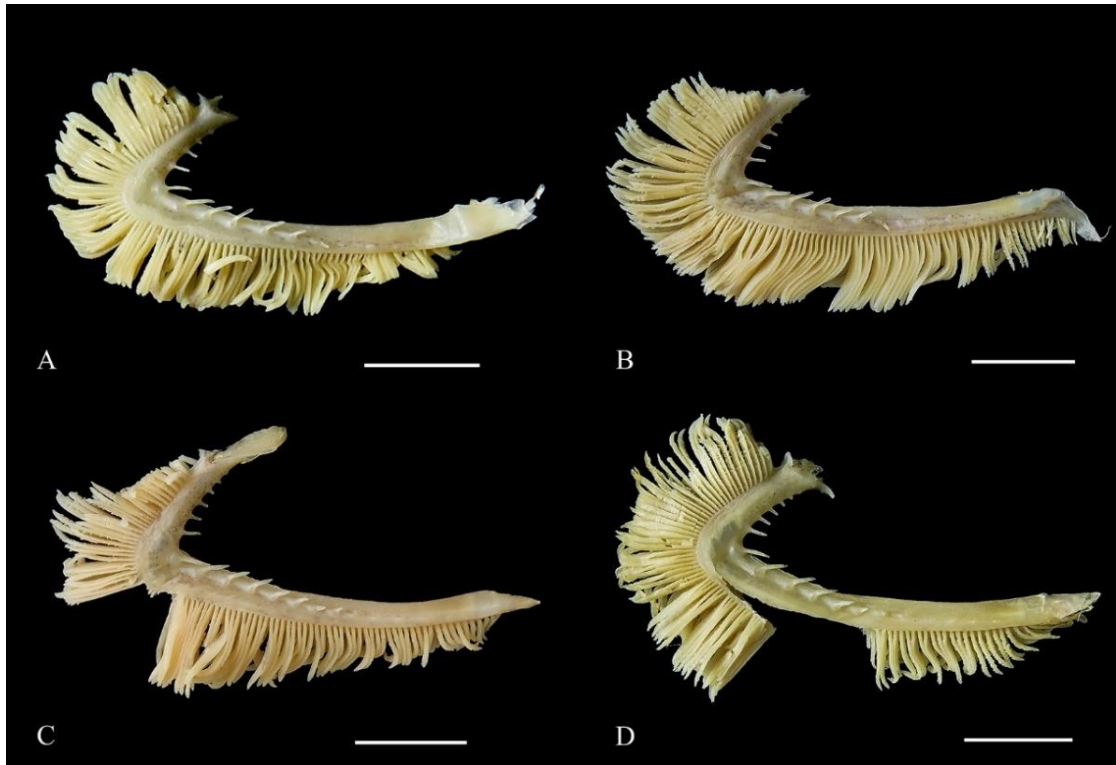


Figura 10 Primeiro arco branquial de *Steindachneridion scriptum*; MZUEL 016238 (A, 14 rastros branquiais), (B, 15 rastros branquiais), (C, 17 rastros branquiais) e (D, 18 rastros branquiais). Barra de escala=1cm.

Conforme demonstrado no presente estudo, o colorido de *S. scriptum* apresenta uma variação ontogenética em que exemplares menores tendem a ter o corpo coberto predominantemente por pontos escuros, enquanto exemplares maiores tendem a ter o corpo predominantemente coberto por traços escuros (Fig. 11). Além disso, há uma grande variação na combinação de pintas e traços, sendo muito raros os exemplares de grande tamanho sem essa combinação. O estudo dos rastros do primeiro arco branquial de *S. scriptum* e congêneres mostrou que a variação no número dos rastros é maior do que apresentado por Garavello (2005) (Figs. 9 e 10, Mat. Supl. S7). Portanto, conclui-se que as três características morfológicas utilizadas por Garavello (2005) para suportar a hipótese de validade de *S. punctatum* possuem variação, inclusive ontogenética, e apresentam grande sobreposição, impedindo que possam ser utilizadas como diagnósticas. Portanto, *S. punctatum* é reconhecida aqui como um sinônimo júnior de *S. scriptum*.



Figura 11 Detalhe da variação no padrão de colorido de acordo como o tamanho em exemplares de *Steindachneridion* sp. n. (A = 605,8 mm CP, B = 629,0 mm CP e C = 166,0 mm CP) e *S. scriptum* (D = 534,0 mm CP e E = 121,0 mm CP).

DISCUSSÃO

A espécie nova é alocada em *Steindachneridion* por apresentar o conjunto de caracteres utilizados por Garavello (2005) para definição do gênero: espinho do parieto-supraoccipital sem contato com a placa nugal anterior, placas dentíferas no pré-maxilar e dentário com dentes viliformes e separadas por um sulco mediano, uma [ou duas] placa

dentígera vomeriana, cabeça relativamente pequena e coberta por pele espessa, olhos relativamente pequenos e com margem orbital livre, oito raios branquiostegais, sete raios ramificados na nadadeira dorsal, acúleos das nadadeiras dorsal não pungentes, acúleo da nadadeira peitoral não pungente e com margens anterior e posterior lisas, 12 a 20 rastros no primeiro arco branquial, nadadeira adiposa longa e nadadeira caudal emarginada. Exemplos de *Steindachneridion* coletados na bacia do alto rio Paraná são identificados como *S. scriptum* com base na revisão proposta por Garavello (2005). Porém, os resultados aqui apresentados evidenciam um conjunto de caracteres que diferencia *Steindachneridion* sp. n. de exemplares de *S. scriptum* da bacia do rio Uruguai, onde foi descrita, assim como de suas demais congêneres.

Steindachneridion sp. n. apresenta variáveis com diferenças significativas nas proporções corporais em relação a *S. amblyurum* (9), *S. doceanum* (6), *S. melanodermatum* (3), *S. parahybae* (6) e *S. scriptum* (10). Três dos principais caracteres utilizados por Garavello (2005) para distinção das espécies de *Steindachneridion* foram corroborados no presente estudo, sendo o formato da placa dentígera vomeriana, a distância entre a extremidade do espinho do parieto-supraoccipital e a placa nugal anterior, principalmente, o padrão de colorido, características que permitem diferenciar a espécie nova de *S. amblyurum*, *S. doceanum*, *S. melanodermatum* e *S. parahybae*. No entanto, esses caracteres se mostraram insuficientes para a distinção da espécie nova em relação à *S. scriptum*. Desta forma, apenas com uma abordagem integrativa, na qual diferenças significativas nas análises morfométricas combinada com dados moleculares diagnósticos foi possível diferenciar as duas espécies.

Um dos caracteres morfológicos importantes para a separação das espécies de *Steindachneridion* utilizados por Garavello (2005), aqui utilizada também como diagnóstica para a espécie nova e demais espécies das bacias costeiras, a distância entre a extremidade do espinho do parieto-supraoccipital e a placa nugal anterior, mostrou-se eficaz nesse propósito. Essa mesma característica é utilizada também como diagnóstico para a definição do gênero (Garavello, 2005), apresentando ausência de contato entre o espinho do parieto-supraoccipital e a placa nugal. Entretanto, os dados aqui apresentados contradizem essa informação, pois para *S. doceanum* e *S. parahybae*, essas estruturas são adjacentes, o que mostra que tal característica não deve ser mais considerada diagnóstica para *Steindachneridion*.

No que diz respeito à distância genética interespecífica, apenas *S. melanodermatum* e *S. scriptum* apresentaram valores de distância um pouco menores do

que o normalmente utilizado para identificação de espécies de peixes de água doce neotropicais (2%) em relação à espécie nova. Porém, estudos demonstram que em alguns grupos a distância interespecífica se concentra entre 1% a 5% de divergência, sendo em alguns casos menor entre as espécies do que dentro de algumas delas (Ornelas-García *et al.*, 2008; Costa-Silva *et al.*, 2015). Para a bacia do alto rio Paraná, a média das distâncias entre espécies de peixes fica em 1,3% (Pereira *et al.*, 2013), valor inferior a distância entre a espécie nova e *S. melanodermatum* e muito próximo a diferença da mesma com *S. scriptum*, evidenciando que esses valores, menores que o comumente utilizado, estão muito próximos da média para a região de ocorrência e que esses valores podem estar associados a um tempo de diversificação recente para as três espécies em questão. Além disso, *Steindachneridion* sp. n. apresenta um par de bases diferente de todos os seus congêneres na posição 267 da sequência do gene COI. Somado a isso, as análises moleculares de delimitação de espécies são inequívocas ao demonstrar a separação das seis linhagens de *Steindachneridion* pelos diferentes métodos de discriminação de espécies utilizados.

Diversos estudos recentes têm apontado a eficiência de métodos moleculares no auxílio de questões taxonômicas, especialmente em peixes neotropicais (Ramirez *et al.*, 2017; Machado *et al.*, 2018; Ota *et al.*, 2020). Considerando ainda que os métodos moleculares de discriminação de espécies utilizados possam conter limitações, a congruência total dos resultados entre os métodos reflete uma maior probabilidade de se obter o arranjo mais próximo da realidade (Dellicour, Float, 2018). Neste sentido, os resultados moleculares não apenas suportam existência de *Steindachneridion* sp. n., mas também apontam para uma tendência de isolamento *Steindachneridion* sp. das espécies em suas respectivas bacias.

Steindachneridion é um gênero com espécies naturalmente raras (de Pinna, 1998; Lundberg, Littmann, 2003; Garavello, 2005; Lundberg, Akama, 2005), com um escasso número de trabalhos disponíveis na literatura e pequeno número amostral de espécimes depositados em coleções ictiológicas (Specielink, 2021) e com todas as espécies sob algum grau de ameaça de extinção, principalmente devido a destruição dos seus habitats pela construção de reservatórios para geração de energia por usinas hidrelétricas, e o assoreamento dos ambientes de corredeiras (Machado *et al.*, 2008) e a pesca predatória.

Dois registros recentes de *Steindachneridion* sp. n. chamam a atenção. O primeiro é a captura de um exemplar adulto no rio Paranapanema no município de Salto Grande (Pereira *et al.*, 2013). O segundo é o registro de dois ovos para o rio das Cinzas, no

município de Bandeirantes (Frantine-Silva *et al.*, 2015), um rio pertencente à bacia onde a espécie é aqui descrita. Diante do cenário atual de construções de barragens na bacia do alto rio Paraná para a geração de energia elétrica, o trecho compreendido entre Salto Grande e o rio das Cinzas torna-se o último reduto da bacia do rio Paranapanema livre de barramentos onde a nova espécie ocorre. Dessa forma, a presença recente de ovos da espécie na localidade evidencia que ela ainda encontra condições para se reproduzir.

A distribuição geográfica de *Steindachneridion* sp. n. restrita ao Alto Paraná, revela um padrão de distribuição conspícuo para o gênero, pois esse padrão alopatrico é também verificado em outras espécies do grupo, a exemplo de *S. doceanum* na bacia do rio Doce, *S. amblyurum* na bacia do Jequitinhonha, *S. parahybae* na bacia do rio Paraíba do Sul, e *S. melanodermatum* na bacia do rio Iguaçu (Garavello, 2005), e agora, *S. scriptum* com área de ocorrência delimitada apenas à bacia do rio Uruguai. Há uma clara tendência de que o isolamento entre bacias se apresente como fator determinante para a segregação das espécies do grupo. Importantes eventos históricos, relativamente recentes na constituição da bacia do alto rio Paraná durante o Pleistoceno, contribuíram para a formação, concomitantemente, das Cataratas do rio Iguaçu e do Salto de Sete Quedas (1,5 e 2,0 Ma) (Stevaux, 1994; Garavello, 2005; Stevoux, Latrubesse, 2010), com consequências previsíveis sobre a ictiofauna. Considerando, ainda, a dinâmica descrita por Garavello (2005) sobre a distribuição das espécies costeiras do gênero e sua associação com suas respectivas bacias, torna-se bastante parcimonioso esperar o endemismo das formas do alto rio Paraná e Iguaçu em relação àquela do rio Uruguai.

O conjunto de evidências aqui apresentado permitiu a descrição de uma nova espécie de *Steindachneridion* da bacia do alto rio Paraná, que deverá, urgentemente, ser avaliada com relação ao seu *status* de vulnerabilidade devido às diferentes ameaças antrópicas. Além disso, houve a redefinição da área de ocorrência de *S. scriptum*, agora restrita à bacia do rio Uruguai e tornou *S. punctatum* sinônimo júnior de *S. scriptum*. Por fim, verifica-se, no presente estudo, a importância do uso de ferramentas moleculares auxiliares em uma abordagem integrativa para o estudo da diversidade dos grupos recentes.

Material comparativo. Todos coletados no Brasil. *Steindachneridion amblyurum*: MZUEL 20072, 2, 211,4-235,21 mm CP; MZUSP 087986, 1, 334,0 mm CP; MZUSP 087987, 1, 299,0 mm CP; MZUSP 093709, 1, 189,88 mm CP. *Steindachneridion doceanum*: MZUEL 20071, 2, 219,03-545,9 mm CP; MZUSP 087988, 1, 422,0 mm CP;

MZUSP 087989, 1, 307,0 mm CP. *Steindachneridion melanodermatum*: MZUEL 05311, 2, 320,31-360,40 mm CP; MZUEL 15702, 1, 480,27 mm CP; MZUEL 15703, 1, 622,89 mm CP; MZUEL 15704, 1, 375,12 mm CP; MZUEL 15705, 1, 706,31 mm CP; MZUEL 17091, 1, 498,22 mm CP; MZUEL 17092, 1, 510,33 mm CP; MZUEL 17093, 1, 446,40 mm CP; MZUEL 17504, 1, 678,65 mm CP; MZUEL 17531, 1, 334,66 mm CP; MZUEL 19581, 1, 574,82 mm CP; MZUEL 19582, 1, 393,11 mm CP; MZUEL 19583, 1, 480,22 mm CP; MZUSP 087983, holótipo, 1, 530,0 mm CP; MZUSP 087984, 5, 380,0-733,0 mm CP; MZUSP 109206, 8, 327,43-601,22 mm CP. *Steindachneridion parahybae*: MZUEL 17715, 1, 412,55 mm CP; MZUEL 20073, 1, 366,43 mm CP; MZUSP 079912, 1, 240,28 mm CP; MZUSP 100672, 7, 361,0-550,32 mm CP; MZUSP 100924, 1, 470,0 mm CP; MZUSP 103722, 1, 587,11 mm CP; MZUSP 108433, 1, 431,88 mm CP. *Steindachneridion punctatum*: MZUSP 117153, 1, 271,32 mm CP. *Steindachneridion scriptum*: ANSP 206306, 2, 346,89-390,33 mm CP; ANSP 168862, 1, 264,21 mm CP; MZUEL 16238, 20, 94,68-127,38 mm CP; MZUEL 15569, 1, 387,45 mm CP; MZUEL 20074, 4, 471,88- 539,82 mm CP; MZUSP 078463, 3, 356,33-390,12 mm CP; MZUEL 001236, paralectótipo, 1, 489,44 mm CP; MZUSP 002286, lectótipo, 1, 573,77 mm CP.

AGRADECIMENTOS

RHCN agradece a José Birindelli e Fernando Jerep, do Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Londrina, pelo apoio e ensinamentos ao longo do desenvolvimento do trabalho. Agradecemos aos técnicos do MZUEL, em especial Edson Santana, e ao Prof. Dr. Cláudio Zawadzki e seu orientado, Ms. Iago Penido pelo auxílio na expedição de coleta de exemplares de *Steindachneridion*. Agradecemos a José Birindelli, Cláudio Zawadzki, Wilson Frantine pelas contribuições na correção inicial do trabalho. MZUSP e ANSP por ceder exemplares para as análises. A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

Agostinho AA, Borghetti JR, Vazzoler AEAM, Gomes LC. Itaipu Reservoir: impacts on the ichthyofauna and biological bases for its management. In: United Nations Centre for Regional Development. Environmental and social dimensions of reservoir development and management in the La Plata River Basin. Nagoya: UNCRD Research Report Series: 1994. p.135–148.

Agostinho AA, Júlio Júnior HF, Gomes LC, Bini LM, Agostinho CS. Composição, abundância e distribuição espaço-temporal da ictiofauna. In: Vazzoler AEAM, Agostinho

- AA, Hahn NS, editores. A Planície de inundação do alto rio Paraná: aspectos físicos, biológicos e socioeconômicos. Maringá: EDUEM, 1997. p.179-208.
- Bemis WE, Hilton EJ, Brown B, Arrindell R, Richmond AM, Little CD, Grande L, Forey PL, Nelson GJ. Methods for preparing dry, partially articulated skeletons of osteichthyans, with Notes on Making ridewood dissections of the Cranial Skeleton. *Copeia* 2004; (3):603–609. <https://doi.org/10.1643/CI-03-054R1>
- Bennemann ST, Silva-Souza T, Rocha GRA Ichthyofaunistic composition in five localities of the Rio Tibagi basin-PR. Brazil. *Interciencia*. 1995; 20(1), 7-13.
- Bouckaert R, Vaughan TG, Barido-Sottani J, Duchêne S, Fourment M, Gavryushkina A, Heled J, Jones G, Kühnert D, de Maio N, Matschiner M, Mendes FK, Müller NF, Ogilvie HA, du Plessis L, Poppinga A, Rambaut A, Rasmussen D, Siveroni I, Suchard MA, Wu CH, Xie D, Zhang C, Stadler T, Drummond AJ. BEAST 2.5: An advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis. *Plos Comput Biol*. 2019; 15(4):e1006650. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006650>
- Bouckaert RR, Drummond AJ. bModelTest: Bayesian phylogenetic site model averaging and model comparison. *BMC evolutionary biology*. 2017; 17(1):1-11. <https://doi.org/10.1186/s12862-017-0890-6>
- Britski HA. Lista dos Tipos de Peixes das Coleções do Departamento de Zoologia da Secretaria da Agricultura de São Paulo. *Papéis Avulsos de Zoologia*. 1969; 22(19):197-215.
- Costa-Silva GJ, Rodriguez MS, Roxo FF, Foresti F, Oliveira, C. Using Different Methods to Access the Difficult Task of Delimiting Species in a Complex Neotropical Hyperdiverse Group. *PloS one*. 2015; 10(9): e0135075. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135075>
- Day J, Dudley N, Hockings M, Holmes G, Laffoley D, Stolton S, Wenzel L. Guidelines for applying the IUCN protected area management categories to marine protected areas. IUCN. 2019.
- Dellicour S, Flot JF. The hitchhiker's guide to single-locus species delimitation. *Mol Ecol Resour*. 2018; 18(6):1234-1246. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12908>
- Drummond AJ, Rambaut A. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evol Biol*. 2007; 7(1):1-8. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-7-214>
- Eigenmann CH, Eigenmann RS. Preliminary notes on South American Nematognathi, I. *US For Serv T R PSW*. 1888; 1(2):119-172.
- Eigenmann CH, Eigenmann RS. *Steindachneridion*. *Science (new series)*. 1919; 50(1301):525-526.
- Frantine-Silva W, Sofia SH, Orsi ML, Almeida FS. DNA barcoding of freshwater ichthyoplankton in the Neotropics as a tool for ecological monitoring. *Mol Ecol Resour*. 2015; 15(5):1226-1237. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12385>
- Fujisawa T, Barraclough TG. Delimiting species using single-locus data and the Generalized Mixed Yule Coalescent approach: a revised method and evaluation on simulated data sets. *Syst Biol*. 2013; 62(5):707-724. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syt033>
- Garavello JC. Revision of genus *Steindachneridion* (Siluriformes: Pimelodidae). *Neotrop Ichthyol*. 2005; 3(4):607-623. <http://dx.doi.org/10.1590/S1679-62252005000400018>

- Goode GB, Bean TH. Sketches of the characteristic deep-sea types. In: Agassiz A, editores. Three cruises of the United States coast and geodetic survey steamer "Blake". Bulletin of the Museum of Comparative Zoology at Harvard College. 1888. p.195-224.
- Hajibabaei M, Dewaard JR, Ivanova NV, Ratnasingham S, Dooh RT, Kirk , Mackie PM, Hebert PD. Critical factors for assembling a high volume of DNA barcodes. *Philos T R Soc B*. 2005; 360(1462):1959-1967. <https://doi.org/10.1098/rstb.2005.1727>
- Hammer Ø, Harper DA, Ryan PD. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontol Electron*. 2001; 4(1), 9.
- Hauser M, Doria CR, Melo LR, Santos AR, Ayala DM, Nogueira LD, Amadio S, Fabré N, Torrente-Vilara G, García-Vásquez A, Renno JF, Carvajal-Vallejos FM, Alonso JC, Nuñez J, Duponchelle, F. Age and growth of the Amazonian migratory catfish *Brachyplatystoma rousseauxii* in the Madeira River basin before the construction of dams. *Neotrop Ichthyol*. 2018; 16(1). <http://dx.doi.org/10.1590/1982-0224-20170130>
- Hebert PD, Cywinska A, Ball SL, Dewaard JR. Biological identifications through DNA barcodes. *P Roy Soc Lond B Bio*. 2003; 270(1512):313-321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- Heled J, Drummond AJ. Bayesian inference of species trees from multilocus data. *Mol Biol Evol*. 2009; 27(3):570-580. <https://doi.org/10.1093/molbev/msp274>
- ICMBio/MMA. Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção. 2018.
- Jarduli LR, Garcia DAZ, Vidotto-Magnoni AP, Casimiro ACR, Vianna NC, Almeida FS, Jerep FC, Orsi ML (2020). Fish fauna from the Paranapanema River basin, Brazil. *Biota Neotrop*, 20(1): e20180707. <https://doi.org/10.1590/1676-0611-bn-2018-0707>
- Kapli P, Lutteropp S, Zhang J, Kobert K, Pavlidis P, Stamatakis A, Flouri T. Multi-rate Poisson tree processes for single-locus species delimitation under maximum likelihood and Markov chain Monte Carlo. *Bioinformatics*. 2017; 33(11):1630-1638. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx025>
- Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J Mol Evol*. 1980; 16(2):111-120.
- Loubens G, Panfili J. Biologie de *Pseudoplatystoma fasciatum* et *P. tigrinum* (Teleostei: Pimelodidae) dans le bassin du Mamoré (Amazonie Bolivienne). *Ichthyol Explor Fres*. 2000; 11(1):13-34.
- Lundberg JG, Akama A. *Brachyplatystoma capapretum*: a new species of goliath catfish from the Amazon basin, with a reclassification of allied catfishes (Siluriformes: Pimelodidae). *Copeia*, 2005; (3):492-516. <https://doi.org/10.1643/CI-04-036R1>
- Lundberg JG, Littmann MW. Family Pimelodidae. In: Reis RE, Kullander SO, Ferraris Jr CJ, editores. Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America. Porto Alegre: Edipucrs; 2003. p.432-446.
- Machado VN, Collins RA, Ota RP, Andrade MC, Farias IP, Hrbek T. One thousand DNA barcodes of piranhas and pacus reveal geographic structure and unrecognised diversity in the Amazon. *Sci Rep*. 2018; 8(1):8387. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26550-x>
- Meigen JW. Versuch einer neuen Gattungseintheilung der europäischen zweiflügeligen Insekten. *Magazin für Insektenkunde*, 1803; (2)259–281.
- Mikich SB, Bérnils RS. Livro Vermelho da Fauna Ameaçada no Estado do Paraná. Curitiba: Instituto Ambiental do Paraná. 2004.

- Miranda Ribeiro A. Três Gêneros e Dezesete Espécies Novas de Peixes Brasileiros. *Revista do Museu Paulista*. 1918; 10:629-646.
- Nascimento RHC, Frantine-Silva W, Souza-Shibatta L, Sofia SH, Ferrer J, Shibatta OA. Intrapopulational variation in color pattern of *Trichomycterus davisii* (Haseman, 1911) (Siluriformes: Trichomycteridae) corroborated by morphometrics and molecular analysis. *Zootaxa*. 2017; 4290(3):503-518. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4290.3.5>
- Nylander JAA. MrModeltest v2. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University. 2004.
- Ornelas-García, CP., Domínguez-Domínguez, O., Doadrio, I. Evolutionary history of the fish genus *Astyanax* Baird & Girard (1854) (Actinopterygii, Characidae) in Mesoamerica reveals multiple morphological homoplasies. *BMC evolutionary biology*, 2008; 8(1):1-17.
- Ota RP, Machado VN, Andrade MC, Collins RA, Farias IP, Hrbek T. Integrative taxonomy reveals a new species of pacu (Characiformes: Serrasalminae: *Myloplus*) from the Brazilian Amazon. *Neotrop Ichthyol*. 2020; 18(1). <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20190112>
- Paixão RV, Ribolli J, Zaniboni-Filho E. Genetic variation of the endangered neotropical catfish *Steindachneridion scriptum* (Siluriformes: Pimelodidae). *Frontiers in genetics*. 2018; 9:48. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00048>
- Pereira LH, Hanner R, Foresti F, Oliveira C. Can DNA barcoding accurately discriminate megadiverse Neotropical freshwater fish fauna?. *BMC Genet*, 2013; 14(1):1-14. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-14-20>
- De Pinna M. Phylogenetic relationships of neotropical Siluriformes (Teleostei: Ostariophysi): historical overview and synthesis of hypotheses. In: Malabarba LR, Reis RE, Vari RP, Lucena ZM, Lucena CAS, editores. *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes*. Porto Alegre: Edipucrs; 1998. p.279-330.
- Pires AC, Marinoni L. DNA barcoding and traditional taxonomy unified through Integrative Taxonomy: a view that challenges the debate questioning both methodologies. *Biota Neotrop*. 2010; 10(2):339-346. <http://dx.doi.org/10.1590/S1676-06032010000200035>
- Pons J, Barraclough TG, Gomez-Zurita J, Cardoso A, Duran DP, Hazell S, Kamoun S, Sumlin WD, Vogler AP. Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Syst Biol*, 2006; 55(4):595-609. <https://doi.org/10.1080/10635150600852011>
- Puillandre N, Lambert A, Brouillet S, Achaz G. ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Mol Ecol*. 2012; 21(8):1864-1877. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05239.x>
- R Core Team. R: A language and environment for statistical computing [Internet]. R Foundation for Statistical Computing; 2020. Disponível em: <https://www.R-project.org/>
- Rambaut A. FigTree, version 1.3. 1. Computer program distributed by the author, website: <http://treebioedacuk/software/figtree/>. 2009.
- Ramirez JL, Birindelli JL, Carvalho DC, Affonso PR, Venere PC, Ortega H, Carrillo-Avila M, Rodríguez-Pulido JA, Galetti Jr PM. Revealing hidden diversity of the underestimated neotropical ichthyofauna: DNA barcoding in the recently described genus

- Megaleporinus* (Characiformes: Anostomidae). *Frontiers in genetics*. 2017; 8:149. <https://doi.org/10.3389/fgene.2017.00149>
- Rojas JEJ. Aspectos reprodutivos de machos de suruvi *Steindachneridion scriptum* (Miranda Ribeiro, 1918) na primeira maturação sexual e indução hormonal da espermiacão. Tese de Doutorado. 2017
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular cloning: a laboratory manual* (No. Ed. 2). Cold spring harbor laboratory press. 1989.
- Schmid-Egger C, Straka J, Ljubomirov T, Blagoev GA, Morinière J, Schmidt S. DNA barcodes identify 99 per cent of apoid wasp species (Hymenoptera: Ampulicidae, Crabronidae, Sphecidae) from the Western Palearctic. *Mol Ecol Resour*. 2019; 19(2):476-484. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12963>
- Sheth BP, Thaker VS. DNA barcoding and traditional taxonomy: an integrated approach for biodiversity conservation. *Genome*. 2017; 60(7):618-628. <https://doi.org/10.1139/gen-2015-0167>
- Shibatta, OA, Orsi, ML, Bennemann, ST, Silva-Souza, AT. Diversidade e distribuição de peixes na bacia do rio Tibagi. In: Medri, ME, Bianchini, E, Shibatta, OA, Pimenta, JÁ, editores. *A bacia do rio Tibagi*. Londrina, ME Medri. 2002. p.403-423.
- SpecieLink. Coleção de Peixes (MCP-Peixes) [Internet]. 2021. Disponível em: <http://www.splink.org.br>
- Spix JB, Agassiz L. *Selecta genera et species piscium quos in itinere per brasiliam annos mdcccxvii-mdcccxx jussu et auspiciis maximiliani josephi. I. Colleget Et Pingendso Curavit Dr J B De Spix. Monachii. 2:83–138. 1829.*
- Steindachner F. Die Süßwasserfische des südöstlichen Brasilien (III). *Sitzungsbericht Akademie Wissenchaf Wien*. 1877; 74(1):559-694.
- Stevaux J. The upper Paraná River (Brazil): geomorphology, sedimentology and paleoclimatology. *Quaternary International*. 1994; 21:143-161. [https://doi.org/10.1016/1040-6182\(94\)90028-0](https://doi.org/10.1016/1040-6182(94)90028-0)
- Stevaux JC, Latrubesse EM. Iguazu falls: a history of differential fluvial incision. In: Migon P., editores. *Geomorphological Landscapes of the World*. Springer Science; 2010. p.101-109.
- Taylor, WR, Van Dyke GC. Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. *Cybium*. 1985; 9(2):107-119.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol Biol Evol*. 2013; 30(12):2725-2729. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>
- Tessaro L, Mazzoni TS, Bombardelli RA, Butze AJ, Quagio-Grassiotto I. Reproductive indicators during the male sexual maturation of *Steindachneridion melanoderdatum* (Teleostei: Siluriformes: Pimelodidae) in captivity. *Aquaculture Research*. 2019; 50(12):3507-3518. <https://doi.org/10.1111/are.14282>
- Togawa RC, Brigido MM. PHPH: Web based tool for simple electropherogram quality analysis. 1st International Conference on Bioinformatics and Computational Biology. 2003.

Ward RD, Zemplak TS, Innes BH, Last PR, Hebert PD. DNA barcoding Australia's fish species. *Philos T R Soc B*. 2005; 360(1462):1847-57. <https://doi.org/10.1098/rstb.2005.1716>

Zaniboni-Filho E, Schulz UH. Migratory fishes of the Uruguay River. In: Baer A, Ross C. *Migratory fishes of the South America: biology, social importance and conservation status*. Victoria: World Fisheries Trust; 2003. p.135-168.

Zaniboni-Filho E, Meurer S, Shibatta O, Nuñez ADO. *Catálogo de peixes ilustrado do alto Rio Uruguai*. Florianópolis: Ed. da UFSC; 2004. 128 p.

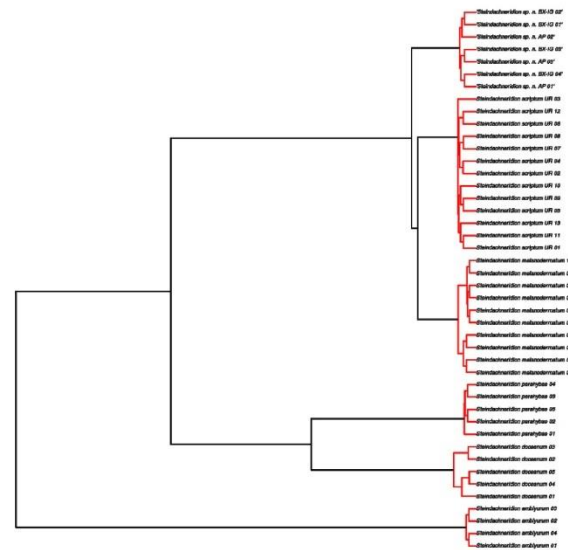
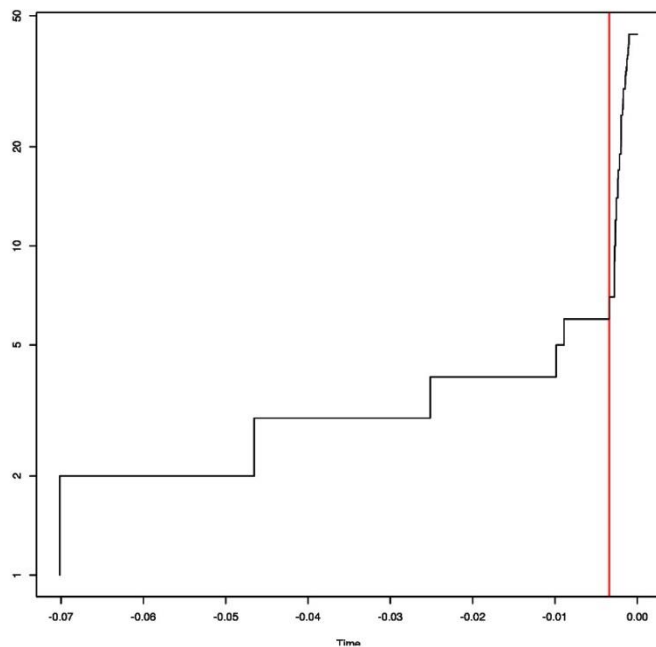
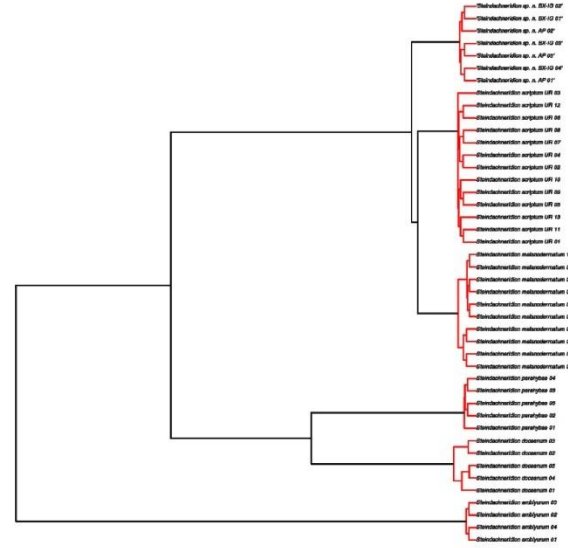
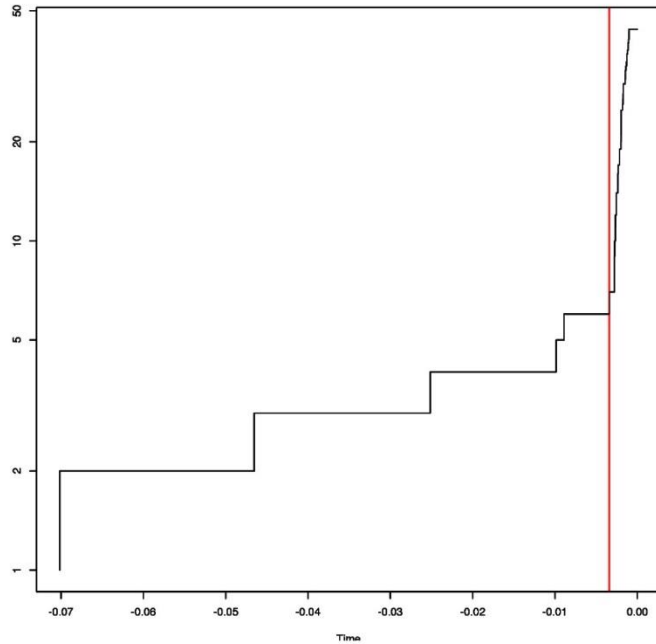
Zhang J, Kapli P, Pavlidis P, Stamatakis A. A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements. *Bioinformatics*, 2013; 29(22):2869-2876. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt499>

MATERIAL SUPLEMENTAR

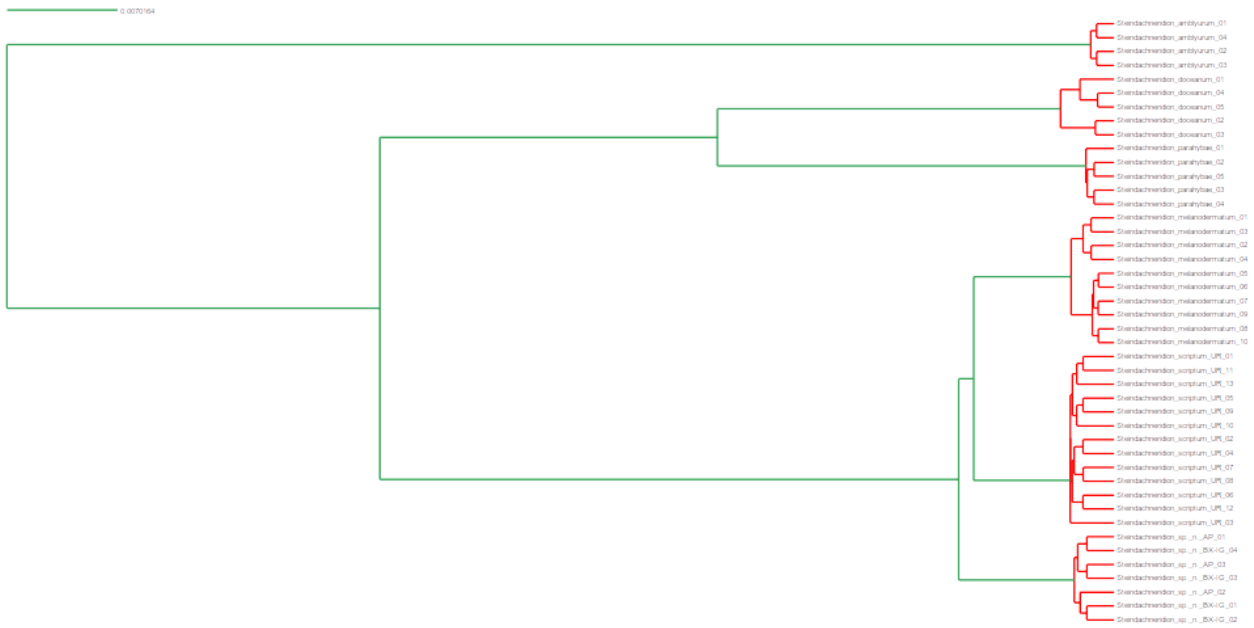
S1. Diferença entre as médias das proporções corporais com significância de t de *Student* em relação à *Steindachneridion* sp. n. ($\alpha < 0.05$). (*S. amb* = *S. amblyurum*; *S. doc* = *S. doceanum*; *S. mel* = *S. melanodermatum*; *S. par* = *S. parahybae*; *S. pun* = *S. punctatum*; *S. scr* = *S. scriptum*). † Valores não testados para significância estatística n=1, *Significativo $\alpha < 0,001$.

Proporções corporais	<i>S. amb</i>	<i>S. doc</i>	<i>S. mel</i>	<i>S. par</i>	<i>S. pun</i> †	<i>S. scr</i>
comprimento da cabeça	-	-	-	-	1,33	-
distância pré-dorsal	-	-	-	-	0,42	-
distância pré-anal	-	-	-	-	1,49	-
distância pélvica-ânus	1,10*	-2,55*	-	-4,08*	0,15	1,35*
distância ânus-anal	-2,10	6,82*	-	5,77*	0,51	-
comprimento da base da adiposa	-3,72*	-	-	-	-0,40	-2,91*
altura do pedúnculo	-	2,18*	1,05*	1,47	0,32	0,61
altura do corpo	-	-	-	-	0,47	4,33*
largura cleitral	-	1,75	1,49*	-	1,77	-
largura da base da dorsal	-3,71*	-4,32*	-	-3,84*	-0,52	-1,38
largura da base da pélvica	0,59	-	-	-	0,29	-
diâmetro orbital	-1,76	-2,63	-	-	-0,85	6,97*
largura da cabeça	-	-	-	-	-0,68	
largura interorbital	-4,47	-	-	-	-0,91	4,70*
largura das narinas	-4,58*	-	-	-2,86	-0,51	-2,44*
largura da boca	-8,04*	-	-	-	2,94	-
comprimento do focinho	-	-	1,85*	-	2,47	1,69*
altura da cabeça	-	-	-	-5,54	-2,85	11,38*

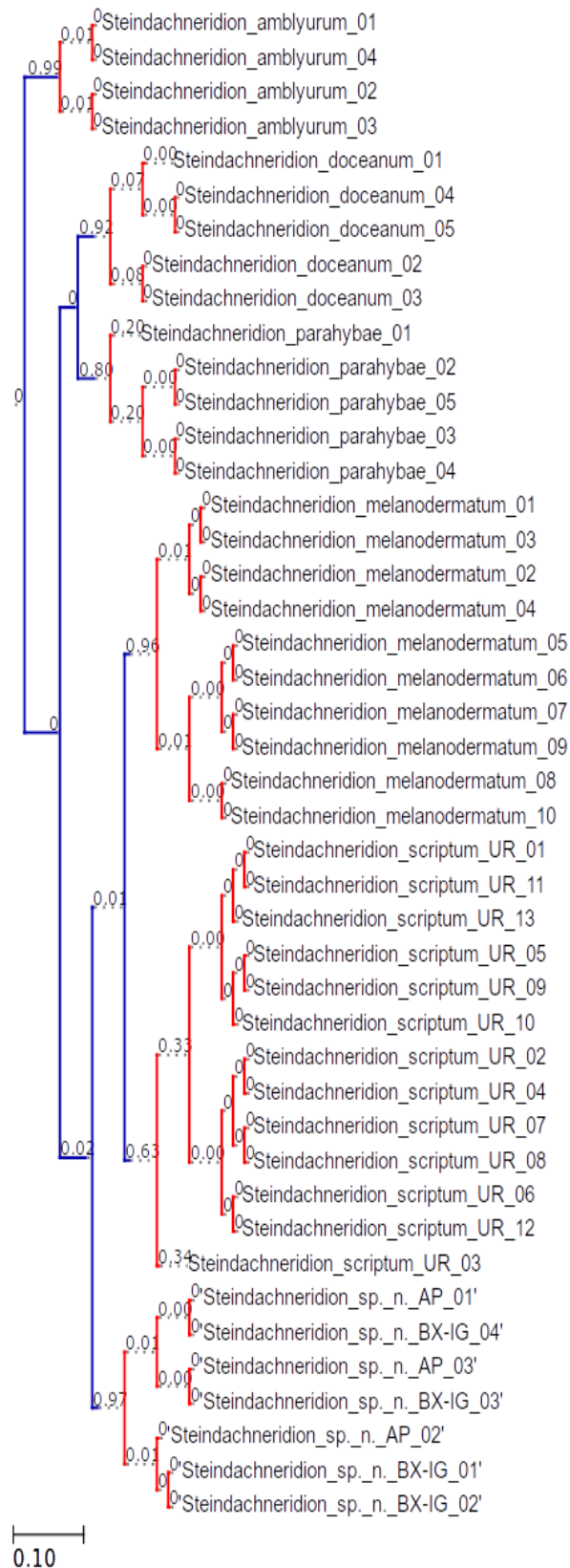
S2. GMYC para single (em cima) e múltiplo (em baixo) *threshold*. Máxima verossimilhança (ML) do modelo GMYC igual a 333.66, com razão de verossimilhança de 40,97 (teste LR = 1,265111e-09; $p < 0,001$) sobre o modelo nulo; seis clusters de ML (C.I. : 6-6), seis entidades de ML 6 (6-7) e *threshold* de -0.003411123.



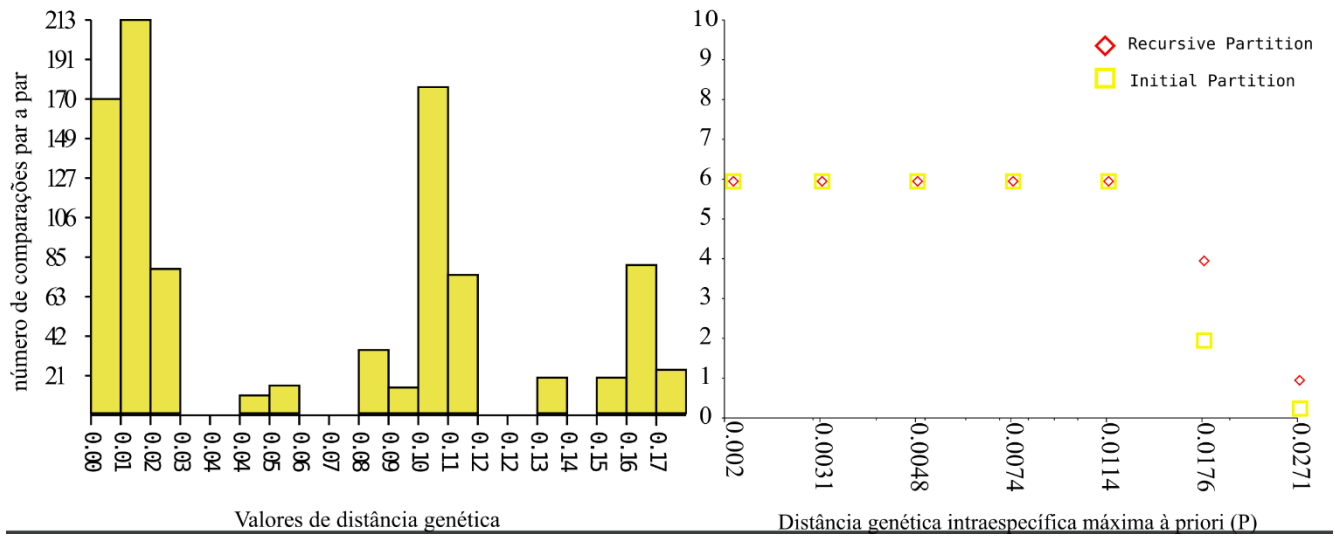
S3. Modelo mPTP indicando seis espécies com escore de 393.1293 para o melhor modelo com múltiplas taxas de coalescência contra um escore de 383.153805 para o modelo nulo.



S4. bPTP indicando seis espécies com suporte entre 0,63 (*S. scriptum*) e 0,99 (*S. amblyurum*).



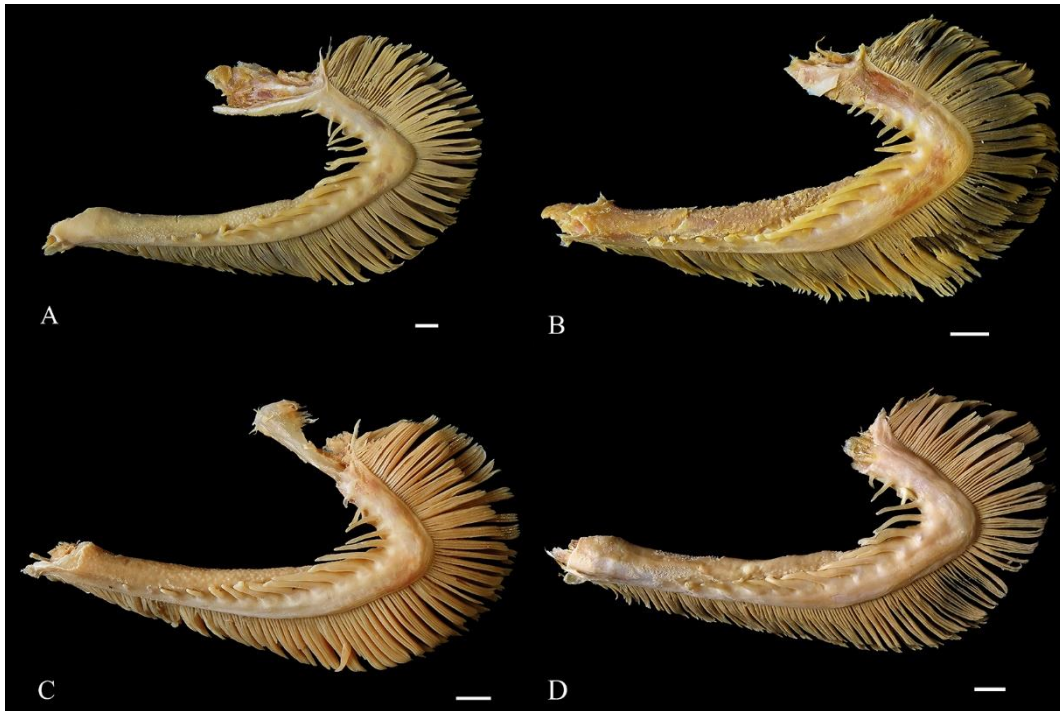
S5. Automated barcoding gap discovery (ABGD). Histograma de distância genética (K2P; à esquerda); Particionamento dos *clusters* genéticos considerando diferentes valores de distância.



S6. Caracteres moleculares diagnósticos das seis espécies de *Steindachneridion* com base na sequência completa do gene *citocromo c oxidase subunidade I* do genoma mitocondrial de *Pimelodus maculatus* (GenBank: NC 032695.1).

	101	106	117	121	129	132	136	138	144	159	162	165	168	171	174	177	180	189	198	216	219	222	225	228	234	243	246	249	252	253
<i>Steindachneridion</i> sp. n.	G	T	A	C	A	T	A	T	A	C	T	T	C	C	C	T	T	C	T	T	T	G	C	A	T	A	A	C	A	C
<i>Steindachneridion scriptum</i>	C	C	G	.
<i>Steindachneridion melanodermatum</i>	C	C/T	C	T
<i>Steindachneridion parahybae</i>	.	C	.	.	G	C	G	.	G	T	.	C	C	T	C	C	.	A	T	G	.	.	G	.	.	.
<i>Steindachneridion doceanum</i>	C/G	C	T	.	C	T	.	.	.	C	.	C	C	.	A	T	G
<i>Steindachneridion amblyurum</i>	.	C	G	T	.	C	G	C	.	T	C	.	T	T	T	G	C	.	.	C	.	.	T	G	C	G	.	A	C	.
	261	264	267	273	276	282	285	288	291	297	310	315	318	324	327	328	336	351	357	360	363	369	372	381	384	387	390	399	405	414
<i>Steindachneridion</i> sp. n.	C	G	G	T	A	T	A	A	G	C	T	C	C	T	T	C	A	G	A	A	A	G	G	C	A	T	G	C	T	C
<i>Steindachneridion scriptum</i>	.	.	A	G	C
<i>Steindachneridion melanodermatum</i>	.	.	A	T
<i>Steindachneridion parahybae</i>	T	.	C	C	A	C	.	.	.	A	.	C	.	A	A	T	C	.
<i>Steindachneridion doceanum</i>	T	A/G	A	C	.	C	G	.	A	.	.	T	T	C	.	.	.	A	.	.	G	A	A	T	.	.
<i>Steindachneridion amblyurum</i>	T	A	A	.	G	C	G	.	A	T	C	T	.	A	C	T	G	T	G	G	G	A	A	T	T	C	C	.	C	T
	420	423	426	429	435	450	453	456	459	463	465	471	480	483	486	489	492	495	501	504	513	519	525	528	540	546	549	552	553	555
<i>Steindachneridion</i> sp. n.	G	T	C	A	A	C	T	G	A	G	C	T	G	T	T	C	T	T	C	T	G	T	T	T	A	A	A	T	A	T
<i>Steindachneridion scriptum</i>	G
<i>Steindachneridion melanodermatum</i>	A	G
<i>Steindachneridion parahybae</i>	.	.	.	G	.	.	.	A	G	.	T	C	.	C	C	A	C	C	C	G	.
<i>Steindachneridion doceanum</i>	A	.	T	G	.	G	C	A	.	.	T	C	A	C	C	A	C	C	C	.	.	G	.	G	.
<i>Steindachneridion amblyurum</i>	A	C	T	.	.	A	.	A	.	.	A	A	.	C	C	T	C	C	A	C	A	A	C	C	.	C	G	C	G	A
	561	564	565	573	576	579	580	582	585	588	589	591	594	597	603	604	606	609	615	624	627	628	631	642	643	648	651	660	665	
<i>Steindachneridion</i> sp. n.	C	T	T	G	C	A	C	A	C	A	C	G	A	C	A	T	A	T	C	A	A	T	A	T	C	T	T	T	C	
<i>Steindachneridion scriptum</i>
<i>Steindachneridion melanodermatum</i>	T	G	
<i>Steindachneridion parahybae</i>	T	.	.	A	T	T	.	A	C	.	.	.	G	.	A	C	.	C	.	.	.	
<i>Steindachneridion doceanum</i>	T	.	.	A	T	.	.	T	T	T	.	A	T	.	.	C	.	.	A	.	.	C	C	C	G	
<i>Steindachneridion amblyurum</i>	.	C	C	A	T	T	T	.	.	C	T	A	.	T	.	.	.	C	T	G	G	.	.	C	T	.	C	C	.	

S7. Primeiro arco branquial de *Steindachneridion melanodermatum*; MZUEL015702 (A, 15 rastros branquiais), MZUEL015703 (B, 16 rastros branquiais), MZUEL015704 (C, 17 rastros branquiais) e MZUEL015705 (D, 18 rastros branquiais). Barra de escala=1cm.



4 CAPÍTULO 2

Filogenia mitocondrial e nuclear de *Steindachneridion* Eigenmman & Eigenmman (Siluriformes, Pimelodidae)

Esse trabalho está formatado de acordo com as normas de submissão
do periódico científico *Neotropical Ichthyology (NI)*

Filogenia mitocondrial e nuclear de *Steindachneridion* Eigenmman & Eigenmman (Siluriformes, Pimelodidae)

Raul Henrique Cardoso Nascimento¹, Oscar Akio Shibatta²

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil.

²Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Biologia Animal e Vegetal, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil.

RESUMO

Steindachneridion é tido como um dos gêneros basais dentre os bagres sul-americanos da família Pimelodidae, com seis espécies distribuídas em seis diferentes bacias hidrográficas. As hipóteses filogenéticas existentes para a família, até o presente, são incompletas, contendo apenas dados morfológicos ou moleculares que incluem apenas uma única espécie do grupo. A fim de avaliar as relações filogenéticas, o presente estudo utiliza dados moleculares de todas as espécies do gênero e sua relação com outros pimelodídeos. As relações filogenéticas foram avaliadas por inferência Bayesiana dos dados de três diferentes *loci* (COI, 12S + 16S: mtDNA; Rag2: nuDNA) totalizando 2218 pb. As análises Bayesiana e de máxima verossimilhança corroboram a monofilia de *Steindachneridion* e demonstram uma relação filogenética onde *S. amblyurum* se apresenta como grupo irmão das demais espécies. E o padrão de distribuição ancestral do grupo aponta para uma diversificação vicariante, suportando então uma diversificação alopatrica do grupo ao longo das diferentes bacias hidrográficas de norte para o sul.

Palavras-Chave: Ictiofauna, alto rio Paraná, bagre, surubim

ABSTRACT

Steindachneridium has been considered one of the basal genera among the South American catfish of the Pimelodidae family, with six species distributed in six different hydrographic basins. The current phylogenetic hypotheses for the family are incomplete, encompassing morphological or molecular for just a single species in the group. Herein, we analyze the phylogenetic relationships based on molecular data from all species of the genus, as well as other pimelodids. Bayesian inference and Maximum Likelihood trees from three different loci (COI, 12S + 16S: mtDNA; Rag2: nuDNA) totaling 2218 bp corroborate the monophyly of the *Steindachneridion*. The results also place *S. amblyurum* as a sister group of all the other species in *Steindachneridion*. The ancestral distribution pattern of the group points out to several vicariant events, supporting an allopatric diversification throughout the different river basins from north to south.

Keywords: Ichthyofauna, upper Paraná river, catfish, surubim.

INTRODUÇÃO

Siluriformes é uma das ordens mais especiosas de peixes existentes, com mais de 3.900 espécies válidas, distribuídas em 36 famílias e 477 gêneros (Ferraris, 2007; Fricke *et al.*, 2021). Membros desta ordem são amplamente distribuídos por ambientes de água doce de todos os continentes (com exceção da Antártica) e habitats estuarinos e marinhos na região das plataformas continentais (de Pinna, 1998; Agnolin, Bogan, 2020) apresentando uma grande diversidade de características morfológicas, ecológicas e comportamentais (Aedriens *et al.*, 2010). Dentro dessa ordem, Pimelodidae apresenta-se como um dos clados mais diversos de bagres da ictiofauna Neotropical (Reis *et al.*, 2003).

Um dos gêneros de pimelodídeos, *Steindachneridion* Eigenmann & Eigenmann, 1919, possui seis espécies viventes e duas espécies fósseis. São bagres de grande porte que vivem em ambientes de fundo rochosos e fluxo rápido, e são conhecidos popularmente como surubins (Garavello, 2005). A descrição da primeira espécie do gênero foi realizada por Steindachner em 1877 e desde então existem lapsos temporais entre os demais estudos com o grupo, que são encontrados em um pequeno número, provavelmente pelo fato das espécies serem naturalmente raras e difíceis de coletar. Conseqüentemente, é escasso o número de espécimes de *Steindachneridion* disponíveis em coleções ictiológicas, o que dificulta estudos de avaliação da diversidade do grupo e a obtenção de informações relacionadas aos demais membros da família (de Pinna, 1998; Lundberg & Littmann, 2003; Garavello, 2005; Lundberg, Akama, 2005). A contribuição mais recente ao grupo foi a descrição de uma espécie nova e sinonimização de outra, assim como atualizações nas áreas de ocorrências das espécies (Nascimento *et al.*, em preparação).

Steindachneridion, com suas duas espécies fósseis, *S. iheringi* Woodward (1898) e *S. silvasantosi* Figueiredo & Costa-Carvalho (1999) caracteriza-se como o primeiro registro fóssil indubitável dentre os pimelodídeos, datado do final do Oligoceno e início do Mioceno (Lima *et al.*, 1985; Lundberg *et al.*, 1998). Entretanto, não existem estudos filogenéticos para o gênero, sendo que até o momento análises moleculares e morfológicas apontam que o grupo ocupa uma posição filogenética basal dentro de Pimelodidae, constituindo o grupo irmão de todos os outros gêneros da família (Lundberg *et al.*, 2011; Sullivan *et al.*, 2013).

Deste modo, apesar da importância dessas espécies, tanto do ponto de vista ecológico quanto evolutivo, não há ainda estudos que comprovem o monofiletismo do gênero, e nem de suas relações filogenéticas interespecíficas. Essas informações são

extremamente importantes para a conservação e manejo das espécies, pois é possível determinar a real diversidade do grupo, além de possibilitar investigações biogeográficas que culminem em determinações de áreas prioritárias à conservação biológica.

Deste modo, propomos aqui uma filogenia *multiloci* considerando todas as espécies do gênero *Steindachneridion*, abordando informações filogenéticas intraespecíficas inéditas, corroborando hipóteses interespecíficas e padrões ancestrais de dispersão.

MATERIAL E MÉTODOS

AMOSTRAGEM DE TÁXONS

A análise foi baseada em um total de 28 táxons terminais, com representantes de 13 gêneros (*Brachyoplatystoma*, *Hemisorubim*, *Hypophthalmus*, *Leiarius*, *Megalonema*, *Pimelodus*, *Pinirampus*, *Phractocephalus*, *Pseudoplatystoma*, *Platysilurus*, *Sorubim* e *Zungaro*) e todas as espécies de *Steindachneridion* (*S. amblyurum*, *S. doceanum*, *S. melanodermatum*, *S. parahybae*, *S. scriptum* e *Steindachneridion* sp. n.). As sequências de dados das espécies de *Steindachneridion* foram obtidas em laboratório a partir de amostras de tecido coletadas pelos autores. Já as sequências dos demais táxons foram obtidas do GeneBank. Os *vouchers* das amostras de tecido estão depositados na coleção ictiológica do Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Londrina (MZUEL). A identificação taxonômica de espécimes de *Steindachneridion* foi validada por observação direta. Os números de catálogo dos *vouchers* e tecidos usados neste estudo são fornecidos na Tabela S1 suplementar.

ANÁLISES MOLECULARES

Todos os indivíduos tiveram o DNA total extraído conforme o protocolo de Sambrook *et al.* (1989), utilizando fenol-clorofórmio. Foram amplificados dois genes mitocondriais (COI e 12S-16S - um bloco contíguo dos genes mtDNA 12S, tRNA-val e 16S, referidos de forma mais simples como 12S-16S) e um gene nuclear (Rag2). Para o gene COI foram utilizados os primer FishF1 e FishR1 (Ward *et al.*, 2005); para o gene 12S-16S os primers L1015 e H2322, L1067 e H2322 (Sullivan *et al.*, 2013), e para o gene Rag2 os primers MHF e MHR, F88a e MHR (Sullivan *et al.* 2013).

Os produtos resultantes das ampliações foram visualizados em gel de agarose 1%, corados com SYBR® Safe DNA Gel Stain (Life Technologies), seguindo protocolo do fabricante. Após visualização, o restante do produto amplificado foi purificado com

ExoStar™ 1-Step (Illustra™) seguindo recomendações do fabricante. As amostras foram então sequenciadas bidirecionalmente em reações independentes, de acordo com o protocolo descrito por Hajibabaei *et al.* (2005). O produto das reações de sequenciamento foi analisado em sequenciador automático ABI 3500 XL (Applied Biosystems Inc., CA, USA).

Inicialmente, foram construídas matrizes para cada gene alinhadas de forma independente com o algoritmo MUSCLE (Edgar, 2004) com parâmetros padrão. Apenas regiões inequivocamente alinhadas foram incluídas; foram excluídas regiões não alinhadas na região terminal. Os *loci* foram concatenados em uma única matriz consistindo 2140 bp. Cada gene, exceto o trecho 12S-16S, foi particionado por gene e códon para determinar modelos de evolução molecular códon-específicos no PartitionFinder v1.1.1 (Lanfear *et al.*, 2012). Os melhores modelos foram escolhidos com o melhor valor para o critério de informação Bayesiano (BIC), posteriormente utilizado para as estimativas filogenéticas baseadas em máxima verossimilhança (ML). Para as análises de inferência Bayesiana (IB), o pacote *bModelTeste* (Bouckaert, Drummond, 2017) do software BEAST foi utilizado para estimar o melhor modelo, bem como as taxas de divergência mais adequada para cada partição gênica.

ANÁLISE FILOGENÉTICA, CALIBRAÇÃO DA ÁRVORE E DATAÇÃO

As hipóteses filogenéticas foram inferidas a partir de dois métodos de reconstrução (ML e IB) usando os dados particionados. As reconstruções filogenéticas de ML foram realizadas pelo *software* RAxML (Stamatakis, 2014) com *fast-tree algorithm* e 1000 pseudoréplicas com 100 repetições aleatórias utilizando o modelo GTR + G por meio do portal CIPRES (Miller *et al.*, 2010). A inferência Bayesiana foi conduzida no *software* BEAST 3.1.2 (Drummond *et al.*, 2012) em 10 milhões de gerações amostrando uma árvore a cada mil gerações. A convergência dos dados foi analisada graficamente pelo *software* Tracer v 1.3 (Drummond *et al.*, 2012) considerando a estabilidade das cadeias e valores de ESS acima de 200, descartando 10% iniciais como *burn-in*. As árvores restantes foram usadas para calcular a árvore de consenso pelo método de máxima credibilidade. As medidas de suporte de nós são dadas como probabilidade posterior e porcentagem de *bootstrap*.

Um relógio molecular relaxado não correlacionado (lognormal) com modelo *birth-death* foi estimado usando BEAST v.3.1.2 (Drummond *et al.*, 2012) e todas as inferências de idade dos nós são apresentadas como densidade posterior de 95% (HPD).

Para calibração, foi implementado um ponto médio com distribuição normal de 23 Ma a.p. usando um sigma de 3,5 Ma a.p. como ancestral comum mais recente de *Steindachneridion*. Os fósseis de *Steindachneridion* (*S. Iheringi* Woodward, 1898; *S. silvasantosi* Figueiredo & Costa-Carvalho, 1999) foram recentemente reclassificados ao final do Oligoceno e início do Mioceno (23,03 Ma a.p., Lima *et al.*, 1985; Lundberg, 1998) por estudos palinológicos feitos de sedimentos cenozóicos da bacia de Taubaté.

ESTIMATIVA DE DISTRIBUIÇÃO DE ÁREA ANCESTRAL

Uma abordagem baseada em modelagem de eventos biogeográficos foi utilizada para avaliar os processos possivelmente responsáveis pela atual distribuição das espécies de *Steindachneridion*. Para tanto, empregou-se o pacote estatístico em R BioGeoBears (Metzkie *et al.*, 2013) que utiliza diferentes modelos baseados em eventos biogeográficos (dispersão e vicariância - DIVA; cladogênese por dispersão e extinção - DEC; e inferência Bayesiana de dispersão-vicariância + evento fundador - BAYESarea). A performance dos modelos foi avaliada pelo escore de máxima verossimilhança, critério de Akaike com correção para pequenos tamanhos amostrais (AICc) e peso dos critérios de Akaike (wAICc). Os diferentes modelos foram testados considerando a árvore de máxima credibilidade estimada pelo *software* BEAST, além de uma matriz de ocorrência dos diferentes táxons terminais. A matriz de dados foi construída considerando as divisões físicas entre as bacias hidrográficas como unidades operacionais geográficas (Abell *et al.*, 2008; Wendt *et al.*, 2019). Um total de seis unidades geográficas foram consideradas (Figura 3): rio Jequitinhonha (J), rio Doce (D), rio Paraíba do Sul (P), alto rio Paraná (A), rio Iguaçu (I) e rio Uruguai (U). O número máximo de áreas ocupadas por uma linhagem foi definido em seis, que é maior do que o número de áreas ocupadas por qualquer táxon do grupo.

RESULTADOS

ASPECTOS GERAIS DA MATRIZ

A matriz concatenada dos genes mitocondriais e nuclear resultou em 2140 pb após o alinhamento (932 para trecho 12S-16S; 579 para COI; 629 para Rag2), dos quais 669 foram variáveis e 432 parcimoniosos informativos. A composição nucleotídica da matriz concatenada foi composta de 23,9% de timina, 26,2% de citosina, 30,4% de adenina e 19,5% de guanina. A matriz foi particionada por gene e posições de codificação, exceto para o segmento 12S-16S, resultando em sete seções. O esquema de particionamento e o

modelo evolutivo para cada gene e posição de códon avaliados no *PartitionFinder* e *bModelTest* são mostrados na Tab. 1.

Tabela 1 Modelos evolutivos por gene e códon encontrado pelo *PartitionFinder* e *bModelTest*.

Partição	N-bases	Códon	<i>PartitionFinder</i>	<i>bModelTest</i>
1	942	12S-16S	GTR+I+G	GTR*+I+G
2	193	COI.p1	HKY+G	GTR*+I+G
3	193	COI.p2	TRNEF+G	GTR*+I+G
4	193	COI.p3	F81+I	GTR*+I+G
5	388	Rag2.p3, Rag2.p1	K80+I+G	HKY+I+G
6	194	Rag2.p2	K80+G	HKY+I+G

HIPÓTESE FILOGENÉTICA E TEMPO DE DIVERGÊNCIA

As árvores estimadas pelas análises Bayesianas e de máxima verossimilhança apresentaram topologias idênticas envolvendo as espécies de *Steindachneridion* e confirmando a posição basal do gênero, porém juntamente à *Prhactocephalus*, em relação aos demais pimelodídeos. Vale ressaltar, no entanto, o menor suporte para essa associação na análise Bayesiana (*Prhactocephalus* + *Steindachneridion*: MV=0.77; IB=0.47), bem como o menor suporte estatístico de *S. amblyurum* na análise de máxima verossimilhança (MV = 0.53).

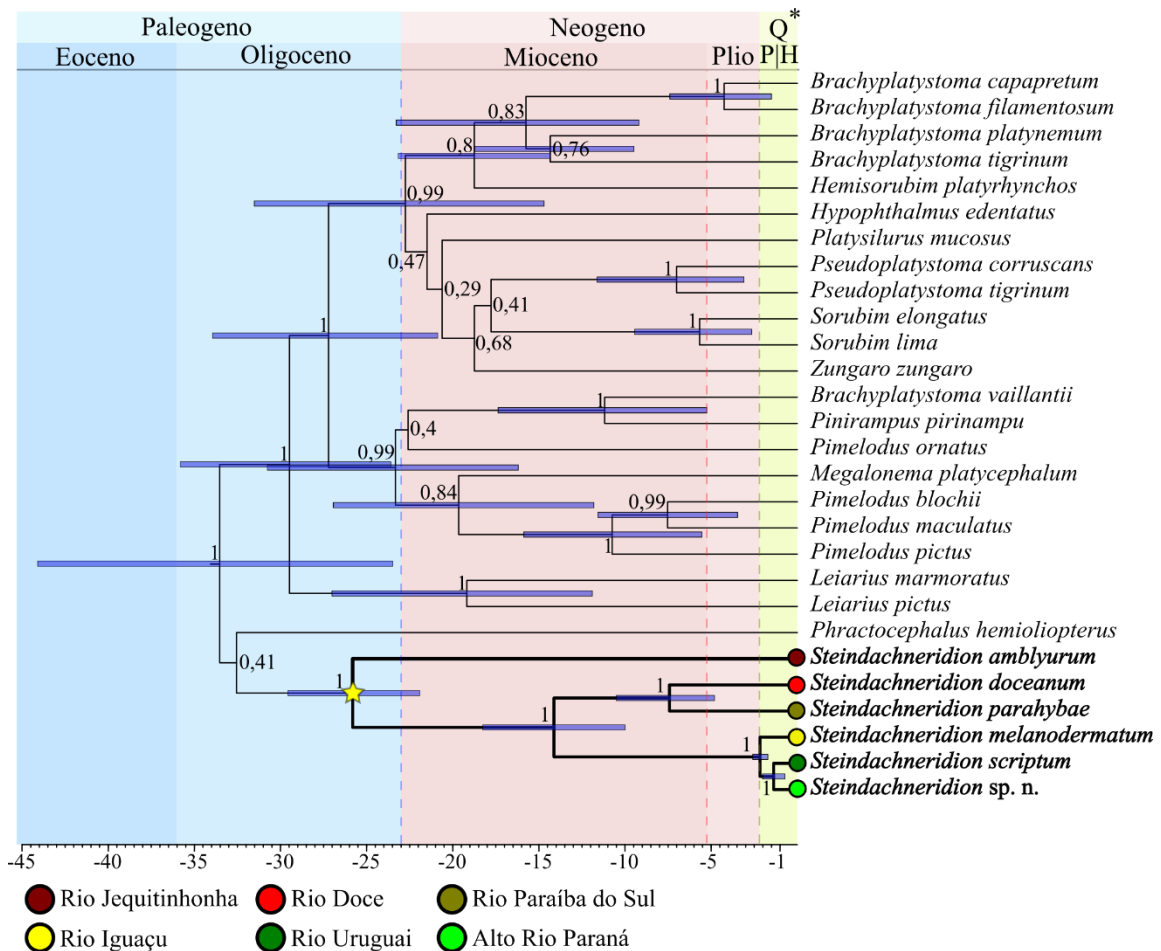


Figura 2. Estimativa bayesiana de relação filogenética calibrada em tempo geológico para *Steindachneridion* Eigenmann & Eigenmann e demais membros da família Pimelodidae. Estrela amarela: ponto de calibração (†*Steindachneridion iheringie* e †*Steindachneridion silvasantosi* 23,03 a 33,09 Ma a.p.); barras azuis representam o intervalo de confiança 95% para idade dos nós; valores próximos aos nós indicam a probabilidade *a posteriori*. Tempo em milhões de anos.

Já o ancestral comum mais recente (*most common recent ancestor* MCRA) dos demais membros de *Steindachneridion* apresenta coalescência datada em cerca de 14 Ma a.p. (C.I. 95% [18,5 – 10 Ma a.p.]) enquanto o MCRA de *S. doceanum* e *S. parahybae* apresenta coalescência estimada para o Mioceno tardio (7,5 Ma; C.I. 95% [3,5 – 11,5 Ma a.p.]). As demais espécies do gênero com distribuição interiorana apresentam MCRA estimado para a transição Plio-Pleistoceno (2,34 Ma a.p. C.I. [1,62 – 2,5]). Por fim, o último ponto de diversificação entre as espécies do gênero, *S. scriptum* e *Steindachneridion* sp. n. ocorreu há cerca de 1,94 Ma a.p. (CI 95% [0,71 e 2,01 Ma a.p.]), já inteiramente no intervalo correspondente ao Pleistoceno.

ESTIMATIVA DE DISTRIBUIÇÃO ANCESTRAL

As análises de estimativa de distribuição ancestral apontam o modelo DIVALIKE como aquele de melhor ajuste dentre os modelos avaliados, considerando os valores de $AICc$ e $wAIC$ (Tab. 1). Embora o modelo seja baseado em dispersão e vicariância, os resultados apontam para um valor estimado de dispersão e extinção desprezíveis (parâmetros d e e ; Tab. 2).

Tabela 2 Performance dos modelos biogeográficos de distribuição de área ancestral estimados a partir da relação filogenética de *Steindachneridion*. ($\ln L$: log de Máxima Verossimilhança; $n\text{-par}$: número de parâmetros em cada modelo; d : estimativa de dispersão para cada modelo; e : extinção; j : presença de especiação por evento fundador; $AICc$: critério de informação de Akaike corrigido para pequenas amostras; $AICc\text{-wt}$: critério de Akaike pesado para entre modelos).

Modelos	$\ln L$	$n\text{-par}$	d	e	j	$AICc$	$wAICc$
DIVALIKE	-10,27	2,00	0,00	0,00	0,00	28,53	0,750
DIVALIKE+J	-7,12	3,00	0,00	0,00	0,38	32,24	0,120
DEC+J	-7,68	3,00	0,00	0,01	1,33	33,37	0,067
BAYAREALIKE+J	-7,82	3,00	0,00	0,01	1,00	33,64	0,059
DEC	-15,78	2,00	0,01	0,01	0,00	39,56	0,003
BAYAREALIKE	-20,18	2,00	0,03	0,15	0,00	48,35	0,000

A hipótese de estimativa de distribuição ancestral suportada pelo modelo selecionado é ilustrada na Figura 3. Este modelo indica um evento vicariante precoce para a linhagem de *S. amblyurum*, a qual tornou-se isolada dos demais táxons do grupo há cerca de 26 Ma a.p. na bacia do Jequitinhonha. Em seguida, houve a separação entre as formas das bacias costeiras remanescentes (rio Doce e rio Paraíba do Sul) e interioranas (Alto Paraná, Iguazu e Uruguai) há 14 Ma a.p. O próximo evento de diversificação aconteceu há cerca de 7 Ma a.p. isolando *S. doceanum* e *S. parahybae* nas bacias do rio Doce e Paraíba do Sul, respectivamente. Por fim, o modelo aponta o isolamento de *S. melanodermatum* na bacia do Iguazu, seguida pela separação de *S. scriptum* e *Steindachneridion* sp. n. nas bacias do alto rio Paraná e Uruguai, durante a transição Pleistoceno (2.34 a 1.5 Ma a.p.; Fig. 3).

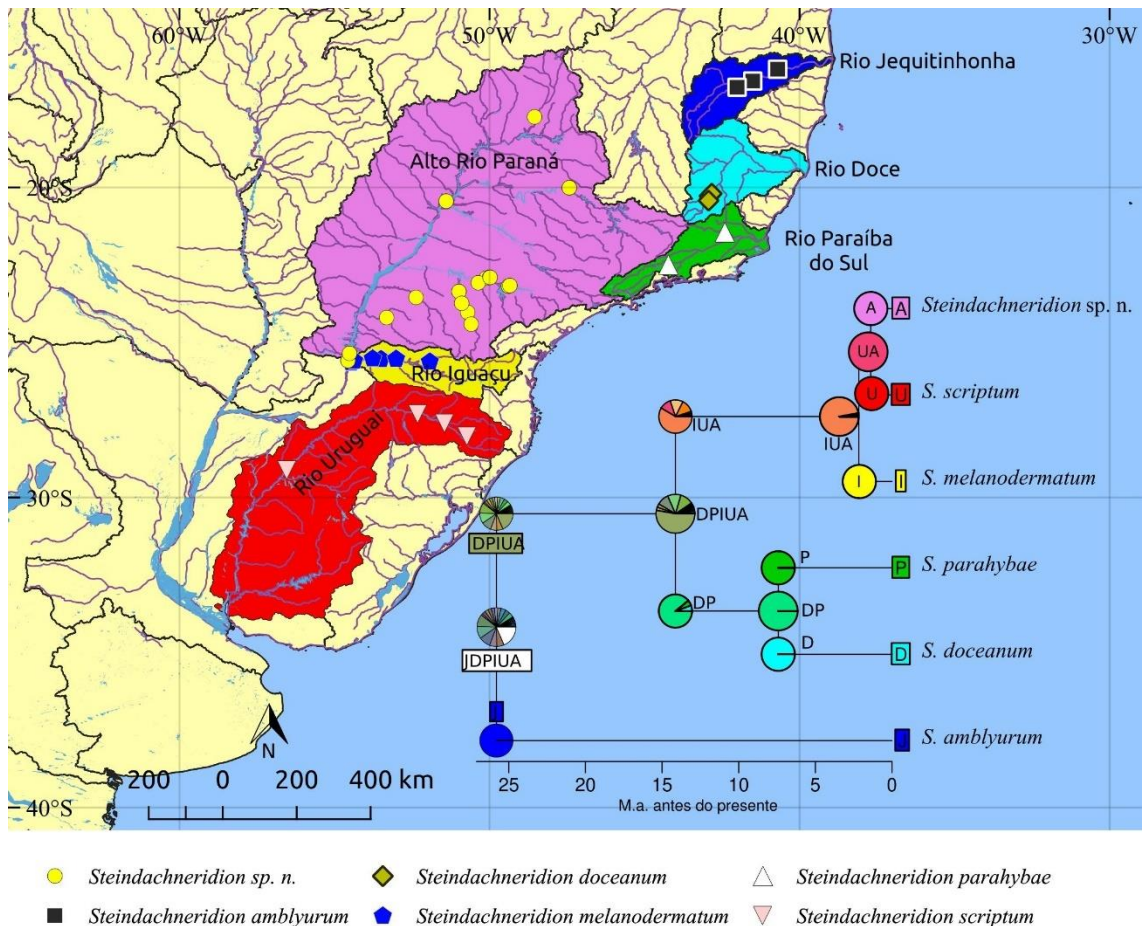


Figura 3. Estimativa de distribuição ancestral de *Steindachneridion* com modelo DIVALIKE. Gráficos de pizza representam a probabilidade da área de distribuição ancestral estimada pelo modelo. (Áreas biogeográficas: A = Alto Paraná, I = Iguaçu, U = Uruguai, J = Jequitinhonha, D = rio Doce, P = Paraíba do Sul).

DISCUSSÃO

A filogenia *multiloci* aqui apresentada é o maior conjunto de dados moleculares já reunidos para *Steindachneridion*, onde pela primeira vez todas as espécies do gênero foram incluídas em uma hipótese de reconstrução filogenética. Algumas relações intergenéricas são congruentes com hipóteses anteriores, como por exemplo, a posição basal de *Steindachneridion* na família (Lundberg *et al.*, 1988, Pedro, Nass, 1991, Hardman, Lundberg, 2006; Lundberg *et al.*, 2011). Ambas as análises, Bayesiana e de máxima verossimilhança, apresentam topologias bem resolvidas com alto suporte estatístico para as relações intragenéricas, corroborando sua monofilia. Pela primeira vez é demonstrada a relação filogenética entre as espécies de *Steindachneridion*, e são inferidas informações sobre o padrão de distribuição ancestral do grupo.

A posição basal de *Steindachneridion*, *Phractocephalus* e *Leiaris* em relação aos demais pimelodídeos tem sido evidenciada por dados morfológicos (Lundberg *et al.*, 1988, Pedro, Nass, 1991, Lundberg, Akama, 2005) e confirmados por evidências moleculares (Hardman, Lundberg, 2006, Lundberg *et al.*, 2011, Sullivan *et al.*, 2013). Como observado, os resultados das análises Bayesiana e de máxima verossimilhança colocam *Phractocephalus* como irmão de *Steindachneridion* na base de Pimelodidae, seguido pela junção de *Leiaris* e demais pimelodídeos. Hipóteses filogenéticas anteriores corroboram parcialmente essa posição basal de *Steindachneridion*, com certa variação em relação ao seu grupo irmão (*Phractocephalus* ou *Leiaris*) a depender do conjunto de dados e análises empregadas (Sullivan *et al.*, 2011, Sullivan *et al.*, 2013). Em resumo, essas hipóteses sugerem dois arranjos alternativos entre os gêneros “basais” de Pimelodidae. O primeiro, baseado em dados morfológicos, considera *Steindachneridion* como grupo irmão de *Phractocephalus* (Lundberg *et al.*, 1988, 1991). A segunda, com dados moleculares, recupera *Steindachneridion* como linhagem irmã a todos os demais pimelodídeos (Hardman & Lundberg, 2006, Sullivan *et al.*, 2013). Os dados aqui apresentados suportam uma hipótese híbrida, com *Steindachneridion* como grupo irmão de *Phractocephalus*, e ambos irmão dos demais, com um índice de suporte *bootstrap* de 0,77 e 0,41 de probabilidade posterior. Deste modo, considerando a variação do suporte estatístico dos ramos e a incongruência das hipóteses propostas nos diferentes estudos, recomenda-se a inclusão de uma matriz de dados especificamente delineada para o estudo das relações supragenéricas em Pimelodidae.

A monofilia de *Steindachneridion* foi corroborada pelas análises filogenéticas realizadas no presente estudo baseadas nos genes mitocondriais e nuclear analisados. Este

gênero também é caracterizado com base em diversas variáveis morfológicas, com destaque para: um sulco mediano separa as placas dentíferas no pré-maxilar e dentário com dentes viliformes; uma ou duas placas dentífera vomeriana; oito raios branquiostegais; nadadeira dorsal com sete raios ramificados; acúleos das nadadeiras dorsal e peitoral não pungentes; margens anterior e posterior da nadadeira peitoral lisas; primeiro arco branquial com 12 a 20 rastros (Garavello, 2005).

Uma subdivisão em três grupos é observada em *Steindachneridion*. O primeiro grupo é composto por *S. amblyurum* enquanto o segundo é composto pelas demais formas costeiras do Leste, *S. doceanum* e *S. parahybae*. *Steindachneridion amblyurm* apresenta uma distância entre espinho do parieto-supraoccipital com a placa nugal menor do que a metade do tamanho do espinho parieto-supraoccipital. Por outro lado, em *S. doceanum* e *S. parahybae* essas estruturas não apresentam distância entre si, sendo então adjacentes, possivelmente uma sinapomorfia dessas duas espécies (REF). Embora essas espécies apresentem as diferenças mencionadas, morfológicamente, compartilham a presença de duas placas dentíferas vomerianas, somado ao fato de as três espécies estarem associadas as bacias costeiras do Leste. O terceiro grupo, por sua vez, é composto pelas formas presentes nas bacias interioranas, compreendendo *S. melanodermatum*, *S. scriptum* e *Steindachneridion* sp. n. A relação filogenética deste grupo é suportada pela presença de placa dentífera vomeriana única, além de distância entre espinho do parieto-supraoccipital com a placa nugal sempre maior que três quartos do tamanho do espinho parieto-supraoccipital. Esses padrões morfológicos foram independentemente derivados nas formas costeiras do Leste em relação às formas interioranas, dividindo o gênero em três grupos de acordo com os caracteres supracitados (REF).

A reconstrução da área ancestral revela uma história biogeográfica complexa relacionada às mudanças hidrológicas e geográficas que ocorreram desde o Oligoceno tardio. O modelo de reconstrução biogeográfico aponta para um cenário de múltiplos eventos vicariantes. Segundo este modelo, o ancestral de *Stendachneridion* com duas placas dentíferas era distribuído nas bacias costeiras e interioranas, ficando isolado no sistema Jequitinhonha há cerca de 25 Ma a.p. dando origem a *S. amblyurum*. Posteriormente, o ancestral tornou-se restrito às atuais áreas das bacias dos rios Doce e Paraíba do Sul, separando-se há cerca de 15 Ma a.p do sistema Alto Paraná. Apenas a cerca de 7 Ma a.p. o ancestral de *S. doceanum* e *S. parahybae* sofreu um evento vicariante, isolando as formas que dariam origem às espécies atuais nas respectivas bacias. Concomitantemente, entre 15 e 2,3 Ma a.p. o ancestral das formas interioranas, a

linhagem com fusão das placas dentíferas do vômer, ocupava o sistema alto rio Paraná. Há cerca de 2 Ma a.p. esse ancestral foi isolado na bacia do Iguaçu, dando origem a *S. melanodermatum*. Ao longo do Pleistoceno superior e médio as formas do Alto Paraná e Uruguai foram isoladas, dando origem respectivamente a *Steindachneridion* sp. n. e *S. scriptum*.

Diversos intercâmbios ictiofaunísticos associados a eventos neotectônicos envolvendo as bacias costeiras e de interiores tem sido proposto durante o Paleógeno e Neógeno (Ribeiro, 2006). As trocas entre as bacias costeiras e interiores parecem ter acontecido ao menos uma vez durante a radiação de *Steindachneridion*, envolvendo as bacias do Alto Paraná e as bacias costeiras do Leste. Para este período, ao menos duas introgressões marinhas são registradas, as quais poderiam afetar a conformação das bacias atuais e o isolamento das respectivas formas nessas bacias, principalmente entre 25 e 18 Ma a.p. e 13 e 9,5 Ma a.p. (Rossetti *et al.*, 2013). Ambas as datações coincidem com os pontos de diversificação de *Steindachneridion* nas bacias costeiras, isolando *S. amblyurum* e subsequentemente as formas que daria origem a *S. doceanum* e *S. parahybae*. Hipóteses anteriores consideravam um cenário distinto deste suportado pelos dados aqui apresentados, atribuindo a diversificação das espécies do grupo costeiro às variações climáticas do Quaternário (Garavello, 2005). Contudo, tanto os dados filogenéticos quanto à estimativa de área ancestral apontam para uma divergência precoce dos clados costeiros em relação aos interioranos, atribuindo ao grupo costeiro do Leste uma origem e diversificação Oligo-Miocênica (Lima *et al.*, 1985, Lundberg, 1998).

Por outro lado, eventos geomorfológicos do Pleistoceno parecem ter tido grande importância para a diversificação das formas contidas nas bacias interioranas. Tais eventos resultaram em barreiras geográficas que isolaram *S. melanodermatum* no Iguaçu e o ancestral de *S. scriptum* e *Steindachneridion* sp. n. no Alto Paraná durante o Pleistoceno. A formação das cachoeiras do Iguaçu e Sete-Quedas, limites das atuais bacias do Iguaçu e do Alto Paraná, parece estar ligada a esses processos. Tais barreiras têm sido sugeridas como responsáveis pelo alto endemismo das duas bacias (Baumgartner *et al.*, 2012; Langeani *et al.*, 2007). Embora o período exato de formação de Sete-Quedas seja incerto, há suporte para o entendimento de que seu desenvolvimento aconteceu concomitantemente ao surgimento das cataratas do Iguaçu (Stevaux, 1994; Orfeo, Stevaux, 2002). As cataratas do rio Iguaçu, por sua vez, têm sua origem atribuída ao Pleistoceno entre 1,5 e 2,0 Ma a.p. (Latrubesse *et al.*, 2010). Essas datas geológicas são congruentes com as análises de ajuste de modelo propostas neste estudo e outros na

literatura (Wendt *et al.*, 2019; Mondin *et al.*, 2018), suportando o isolamento de *S. melanodermatum*, seguido de *S. scriptum* e *Steindachneridion* sp. n. A ocorrência de *Steindachneridion* sp. n. na bacia do rio Iguaçu, a jusante das cataratas, pode ser recente. Grande parte desse rio é isolado do rio Paraná pelas cataratas e sua desembocadura ocorre no baixo rio Paraná. Uma dispersão para o baixo rio Iguaçu pode ter ocorrido após a construção da hidrelétrica de Itaipu, pois não há registros anteriores dessa espécie para aquela região e nem para o baixo rio Paraná.

REFERÊNCIAS

Adriaens D, Baskin JN, Coppens H. Evolutionary morphology of trichomycterid catfishes: about hanging on and digging in. In: Nelson JS, Schultze HP, Wilson MV. Origin and phylogenetic interrelationships of teleosts. New York: Dr. Friedrich Pfeil; 2010. p. 337-362.

Agnolin FL, Bogan S. Goliath catfish *Brachyplatystoma* Bleeker, 1862 (Siluriformes: Pimelodidae) from the Miocene of Argentina. *Journal of South American Earth Sciences*. 2020; 100:102551.

De Pinna M. Phylogenetic relationships of neotropical Siluriformes (Teleostei: Ostariophysi): historical overview and synthesis of hypotheses. In: Malabarba LR, Reis RE, Vari RP, Lucena ZM, Lucena CAS, editores. *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes*. Porto Alegre: Edipucrs; 1998. p.279-330.

Eigenmann CH, Eigenmann RS. *Steindachneridion*. *Science* (new series). 1919; 50(1301):525-526.

Ferraris CJ. Checklist of catfishes, recent and fossil (Osteichthyes: Siluriformes), and catalogue of siluriform primary types. *Zootaxa*, 2017; 1418(1):1-628.

Figueiredo FJ, Costa Carvalho BCM. *Steindachneridion silvasantosi* n. sp. (Teleostei, Siluriformes, Pimelodidae) from the Tertiary of Taubaté Basin, São Paulo, Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 1999; 71:683-695.

Fricke R, Eschmeyer WN, Van der Laan R. Eschmeyer's catalog of fishes: genera, species, references [Internet]. San Francisco: *California Academy of Science*; 2021. Available from: <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>

Garavello JC. Revision of genus *Steindachneridion* (Siluriformes: Pimelodidae). *Neotrop Ichthyol.* 2005; 3(4):607-623. <http://dx.doi.org/10.1590/S1679-62252005000400018>

Lima MR, Salard-Cheboldaeff M., Suguio K. Étude palynologique de la formation Tremembé, Tertiary du Bassin de Taubaté (Etat de São Paulo, Bresil), d'après les échantillons du sondage, 42 du *Conselho Nacional de Petroleo*, MME-DNPM, serie Geologia, 1985; 27:379-393.

Lundberg JG, Akama A. *Brachyplatystoma capapretum*: a new species of goliath catfish from the Amazon basin, with a reclassification of allied catfishes (Siluriformes: Pimelodidae). *Copeia*, 2005; (3):492-516. <https://doi.org/10.1643/CI-04-036R1>

Lundberg JG, Littmann MW. Family Pimelodidae. In: Reis RE, Kullander SO, Ferraris Jr CJ, editores. *Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America*. Porto Alegre: Edipucrs; 2003. p. 432-446.

Lundberg JG, Marshall LG, Guerrero J, Horton B, Malabarba MCSL, Wesselingh F. The stage for Neotropical fish diversification: a history of tropical South American rivers. *Phylogeny and Classification of Neotropical fishes*, 1998; 27:13-48

Lundberg JG, Sullivan JP, Hardman M. Phylogenetics of the South American catfish family Pimelodidae (Teleostei: Siluriformes) using nuclear and mitochondrial gene sequences. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 2011;161:153-189.*Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 2011;161:153-189.

Reis RE, Kullander SO, Ferraris CJ, Jr., editores. *Check list of the freshwater fishes of South and Central America*. Porto Alegre: Edipucrs; 2003.

Steindachner F. Die Süßwasserfische des südöstlichen Brasilien (III). *Sitzungsbericht Akademie Wissenchaf Wien*. 1877; 74(1):559-694.

Sullivan J. P., Muriel-Cunha J., Lundberg J. G. Phylogenetic relationships and molecular dating of the major groups of catfishes of the Neotropical superfamily Pimelodoidea (Teleostei, Siluriformes). *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 2013; 162:89-110.

Woodward, A. S. Considerações sobre alguns peixes Terciários dos schistos de Taubaté, Estado de São Paulo, Brazil. *Revista do Museu Paulista*, 1898; 3:63-75.

Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T. *Molecular cloning: a laboratory manual* (No. Ed. 2). Cold spring harbor laboratory press. 1989.

Ward, R. D., Zemlak, T. S., Innes, B. H., Last, P. R., Hebert, P. D. DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2005; 360(1462), 1847-1857.

Hajibabaei, M., deWaard, J. R., Ivanova, N. V., Ratnasingham, S., Dooh, R. T., Kirk, S. L., Mackle P. M., Hebert, P. D. Critical factors for assembling a high volume of DNA barcodes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2005; 360(1462), 1959-1967.

Edgar, R. C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 2004; 32(5), 1792-1797.

Lanfear, R., Calcott, B., Ho, S. Y., Guindon, S. PartitionFinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. *Molecular Biology and Evolution*, 2012; 29(6), 1695-1701.

Bouckaert, R. R., Drummond, A. J. bModelTest: Bayesian phylogenetic site model averaging and model comparison. *BMC Evolutionary Biology*, 2017; 17(1), 1-11.

Stamatakis, A. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, 2014; 30(9), 1312-1313.

Drummond, A. J., Suchard, M. A., Xie, D., Rambaut, A. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular Biology and Evolution*, 2012; 29(8), 1969-1973.

Matzke, N. Probabilistic historical biogeography: new models for founder-event speciation, imperfect detection, and fossils allow improved accuracy and model-testing. 2013.

Abell, R., Thieme, M. L., Revenga, C., Bryer, M., Kottelat, M., Bogutskaya, N., Coad, B., Mandrak, N., Balderas, S. C., Bussing, W., Stiassny, M. L. J., Skelton, P., Allen, G. R., Unmack, P., Naseka, A., Ng, R., Sindorf, N., Robertson, J., Armijo, E., Higgins, J. V., Heibel, T. J., Wikramanayane, E., Olson, D., López, H. L., Reis, R. E., Lundberg, J. G., Pérez, M. H. S., Petry, P. Freshwater ecoregions of the world: a new map of biogeographic units for freshwater biodiversity conservation. *BioScience*, 2008; 58(5), 403-414.

Wendt, E. W., Silva, P. C., Malabarba, L. R., Carvalho, T. P. Phylogenetic relationships and historical biogeography of *Oligosarcus* (Teleostei: Characidae): Examining riverine landscape evolution in southeastern South America. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2019; 140, 106604.

Hardman, M., Lundberg, J. G. Molecular phylogeny and a chronology of diversification for “phractocephaline” catfishes (Siluriformes: Pimelodidae) based on mitochondrial DNA and nuclear recombination activating gene 2 sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2006; 40(2), 410-418.

Lundberg, J. G., Linares, O. J., Antonio, M. E., & Nass, P. *Phractocephalus hemiliopterus* (Pimelodidae, Siluriformes) from the upper Miocene Urumaco Formation, Venezuela: a further case of evolutionary stasis and local extinction among South American fishes. *Journal of Vertebrate Paleontology*, 1988; 8(2), 131-138.

Baumgartner, G., Pavanelli, C. S., Baumgartner, D., Bifi, A. G., Debona, T., Frana, V. A. *Peixes do baixo rio Iguaçu*. Eduem, 2012..

Langeani, F., Castro, R. M. C., Oyakawa, O. T., Shibatta, O. A., Pavanelli, C. S., Casatti, L. Diversidade da ictiofauna do Alto Rio Paraná: composição atual e perspectivas futuras. *Biota Neotropica*, 2007; 7(3), 181-197.

Stevaux, J. The upper Paraná River (Brazil): geomorphology, sedimentology and paleoclimatology. *Quaternary International*, 1994; 21, 143-161.

Orfeo, O., Stevaux, J. Hydraulic and morphological characteristics of middle and upper reaches of the Paraná River (Argentina and Brazil). *Geomorphology*, 2002; 44(3-4), 309-322.

Ribeiro, A. C. Tectonic history and the biogeography of the freshwater fishes from the coastal drainages of eastern Brazil: an example of faunal evolution associated with a divergent continental margin. *Neotropical Ichthyology*, 2006 4(2), 225-246.

Miller, M. A., Pfeiffer, W., Schwartz, T. The CIPRES science gateway: enabling high-impact science for phylogenetics researchers with limited resources. In *Proceedings of the 1st Conference of the Extreme Science and Engineering Discovery Environment: Bridging from the extreme to the campus and beyond* (pp. 1-8), 2012. (pp. 1-8), 2012.

Lundberg, J. G., Linares, O. J., Antonio, M. E., Nass, P. *Phractocephalus hemiliopterus* (Pimelodidae, Siluriformes) from the upper Miocene Urumaco Formation, Venezuela: a further case of evolutionary stasis and local extinction among South American fishes. *Journal of Vertebrate Paleontology*, 1988; 8(2), 131-138. *Journal of Vertebrate Paleontology*, 1988; 8(2), 131-138.

Latrubesse, E. M., Stevaux, J. C., Cremon, E. H., May, J. H., Tatumi, S. H., Hurtado, M. A., Bezada, M., Argollo, J. B. Late Quaternary megafans, fans and fluvio-aeolian interactions in the Bolivian Chaco, Tropical South America. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 2012; 356, 75-88.

Mondin, L. A., Machado, C. B., Resende, E. K. D., Marques, D. K., Galetti Jr, P. M. Genetic pattern and demographic history of *Salminus brasiliensis*: Population expansion in the Pantanal Region during the Pleistocene. *Frontiers in Genetics*, 2018; 9, 1.

Lundberg, J. G., Sullivan, J. P., Hardman, M. Phylogenetics of the South American catfish family Pimelodidae (Teleostei: Siluriformes) using nuclear and mitochondrial gene sequences. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 2011; 153-189.

Pedro E., Nass C. Anatomia comparada del bagre cunaguaro *Brachyplatystoma juruense* (Boulenger, 1898), incluyendo un analisis filogenetico de la familia Pimelodidae (*Doctoral dissertation, Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela.*), 1991.

MATERIAL SUPLEMENTAR

S1. Catálogo dos vouchers e tecidos utilizados.

Espécie	12 e 16S	COI	rag2
<i>Brachyplatystoma capapretum</i>	JF898674.1	KT952403.1	JF898745.1
<i>Brachyplatystoma filamentosum</i>	JF898677.1	FJ418760.1	JF898748.1
<i>Brachyplatystoma platynemum</i>	JF898669.1	KT952406.1	JF898740.1
<i>Brachyplatystoma tigrinum</i>	JF898668.1	KT952408.1	JF898739.1
<i>Hemisorubim platyrhynchos</i>	JF898664.1	GU570709.1	JF898735.1
<i>Hypophthalmus edentatus</i>	JF898661.1	MK874088.1	DQ492362.1
<i>Platysilurus mucosus</i>	JF898662.1	KT952424.1	JF898733.1
<i>Pseudoplatystoma corruscans</i>	JF898657.1	KP294243.1	HM107838.1
<i>Pseudoplatystoma tigrinum</i>	JF898658.1	HQ689351.1	JF898728.1
<i>Sorubim elongatus</i>	JF898654.1	KT952430.1	JF898724.1
<i>Sorubim lima</i>	JF898653.1	KM897649.1	JF898723.1
<i>Zungaro zungaro</i>	JF898650.1	KP294234.1	JF898720.1
<i>Brachyplatystoma vaillantii</i>	JF898667.1	HM453213.1	JF898738.1
<i>Pinirampus pirinampu</i>	JF898684.1	GU701900.1	JF898755.1
<i>Pimelodus ornatus</i>	JF898679.1	KT952422.1	JF898749.1
<i>Megalonema platycephalum</i>	JF898692.1	MK861720.1	JF898762.1
<i>Pimelodus blochii</i>	JF898717.1	KT952419.1	JF898786.1
<i>Pimelodus maculatus</i>	JF898708.1	KU288803.1	MF595402.1
<i>Pimelodus pictus</i>	JF898703.1	KT952417.1	JF898772.1
<i>Leiarius marmoratus</i>	JF898647.1	KT952448.1	JX899761.1
<i>Leiarius pictus</i>	JF898648.1	MK861716.1	DQ486782.1
<i>Phractocephalus hemiliopterus</i>	JF898646.1	MF489361.1	DQ492364.1

5 CONCLUSÃO GERAL

Os resultados obtidos no presente estudo permitiram a descrição de uma nova espécie de *Steindachneridion* da bacia do alto rio Paraná. *Steindachneridion* sp. n. difere de seus demais congêneres por uma combinação de caracteres morfológicos que compreendem diferenças no padrão de colorido, nadadeira caudal, número de rastros branquiais, formato da placa dentígera vomeriana, distância entre a extremidade distal espinho do parieto-supraoccipital e a placa nugal. Adicionalmente espécie nova diferencia-se também na sequência do gene COI de todos os demais congêneres na posição 267 em relação ao genoma mitocondrial completo. A espécie nova teve avaliado seu risco de ameaça, e consideramos que *Steindachneridion* sp. n. deva ser considerada como Ameaçada de Extinção, na categoria Vulnerável, pelo critério A2c da IUCN.

Adicionalmente, propomos aqui *S. punctatum* como sinônimo júnior de *S. scriptum*, que agora fica restrita à bacia do rio Uruguai. Esses resultados a partir do uso de ferramentas morfológicas e moleculares em uma abordagem integrativa, contribuíram para uma real noção da diversidade do grupo, possibilitando por exemplo estudos filogenéticos complementares apresentados a seguir.

Em diversos trabalhos filogenéticos *Steindachneridion*, geralmente incluindo apenas amostras de *S. scriptum*, ficam impossibilitados de avaliar o monofiletismo do gênero, atribuem o grupo como basal em Pimelodidade e desconhecem as relações filogenéticas das entre as espécies. Em resumo, os dados aqui apresentados adicionam alguns aspectos interessantes sobre a história evolutiva e biogeografia de *Steindachneridion*. Utilizando um conjunto de dados multilocus, apresenta-se aqui a primeira hipótese filogenética entre espécies de *Steindachneridion*, bem como tempos de divergência entre linhagem e estimativas de distribuição ancestral. As informações suportam *Steindachneridion* como grupo monofilético e basal em relação aos demais pimelodídeos. O modelo de estimativa de distribuição ancestral indica a separação das formas costeiras do Leste no Oligo-Mioceno, enquanto as espécies interioranas apresentam diversificação datada para o Pleistoceno.

6 ANEXOS

Normas de formatação da revista *Neotropical Ictiology* (N)

https://www.sbi.bio.br/ni/Instructions_to_authors_May20.pdf