

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AMBIENTAIS

Vitor Hugo Palomo Pinheiro

**REVISÃO DAS ESPÉCIES NOMINAIS DO GÊNERO *Proloricaria*  
ISBRÜCKER, 2001 (SILURIFORMES: LORICARIIDAE,  
LORICARIINAE): UM CASO DE APLICAÇÃO DE TAXONOMIA  
INTEGRATIVA**

SÃO CARLOS -SP  
2023

Vitor Hugo Palomo Pinheiro

**REVISÃO DAS ESPÉCIES NOMINAIS DO GÊNERO *Proloricaria* ISBRÜCKER,  
2001 (SILURIFORMES: LORICARIIDAE, LORICARIINAE): UM CASO DE  
APLICAÇÃO DE TAXONOMIA INTEGRATIVA**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Ciências  
Biológicas da Universidade Federal de  
São Carlos, para obtenção do título de  
Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Dr. Alexandre Kannebley de  
Oliveira

São Carlos-SP  
2023

Pinheiro, Vitor Hugo Palomo

Revisão das espécies nominais do gênero *Proloricaria* Isbrücker, 2001 (Siluriformes: Loricariidae, Loricariinae): um caso de aplicação de taxonomia integrativa / Vitor Hugo Palomo Pinheiro -- 2023.  
51f.

TCC (Graduação) - Universidade Federal de São Carlos, campus São Carlos, São Carlos

Orientador (a): Alexandre Kannebley de Oliveira

Banca Examinadora: Maria Elina Bichuette, Reinaldo José de Castro

Bibliografia

1. Ictiologia. 2. Taxonomia Integrativa. 3. *Proloricaria*. I. Pinheiro, Vitor Hugo Palomo. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática  
(SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Ronildo Santos Prado - CRB/8 7325



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde  
Departamento de Ciências Ambientais

---

**Folha de aprovação**

---

Vitor Hugo Palomo Pinheiro

**REVISÃO DAS ESPÉCIES NOMINAIS DO GÊNERO *Proloricaria* ISBRÜCKER,  
2001 (SILURIFORMES: LORICARIIDAE, LORICARIINAE): UM CASO DE  
APLICAÇÃO DE TAXONOMIA INTEGRATIVA**

Assinatura dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa do Trabalho de Conclusão de Curso do candidato Vitor Hugo Palomo Pinheiro, realizada em 20/03/2023:

---

Prof. Dr. Alexandre Kannebley de Oliveira  
UFSCar

---

Profa. Dra. Maria Elina Bichuette  
UFSCar

---

Prof. Dr. Reinaldo José de Castro  
UFSCar

Aos meus pais e irmão, Osmair, Eliane e Otávio,  
e aos meus avós, Leonice, Manoel e Josefa.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço aos meus pais, Osmair Pinheiro e Eliane Cristina da Silva Palomo, por toda a colaboração e apoio durante a realização deste curso que, independentemente de todas as dificuldades que surgiram ao longo do caminho, sempre se dispuseram a me ajudar, e torceram para que continuasse seguindo em frente.

Ao meu orientador Dr. Alexandre Kannebley de Oliveira, por todos os ensinamentos, ideias e sugestões que me auxiliaram na minha formação como pesquisador e nas atividades do laboratório, e pelas incontáveis memórias nele feitas. Foram experiências valiosíssimas que guardarei comigo pelo resto da minha vida.

Ao Dr. Júlio César Garavello, pela sua disposição a ajudar na realização desse e de outros trabalhos, e pela manutenção do LISDEBE.

Ao Luiz Aparecido Joaquim, pela colaboração nas atividades de coleta.

À Dra. Carolina de Barros Machado da Silva e ao Dr. Pedro Manoel Galetti Junior, por terem colaborado no sequenciamento genético de exemplares utilizados nesse trabalho.

À Dra. Maria Elina Bichuette e ao Dr. Reinaldo José de Castro por comporem a banca examinadora deste trabalho.

Aos doutores Osvaldo Takeshi Oyakawa e Francisco Langeani Neto por terem orientado as visitas às coleções do Museu de Zoologia da USP e do Departamento de Zoologia e Botânica de São José de Rio Preto da UNESP, respectivamente.

À agência de fomento FAPESP, pelo financiamento e custeio desta pesquisa na forma de Iniciação Científica (processo 2021/06334-4).

Aos meus colegas de turma, Isabela Giacomeli de Deus, Israel Cassiano de Oliveira, Hiago Freire Oliveira, Jacqueline Vieira Gardellin e Príncia Grejo Setti, por terem me acompanhado ao longo da graduação, e pelo apoio respondendo dúvidas e trocando conhecimentos.

À Sol e a Eva, pelo amor, carinho e companheirismo incondicional, que recuperaram meu ânimo várias vezes ao longo da graduação.

Por fim, a todos que de alguma forma contribuíram no desenvolvimento desse estudo.

## RESUMO

Os peixes cascudos da subfamília Loricariinae habitam ambientes de substrato nos rios da América do Sul e se distinguem dos demais da família Loricariidae por apresentarem pedúnculo caudal longo e deprimido e ausência de nadadeira adiposa. A maioria das mais de 250 espécies de Loricariinae foi descrita no gênero *Loricaria*, mas muitas se encontram atualmente alocadas em outros gêneros da subfamília. O gênero *Proloricaria* foi descrito em 2001 tendo como espécie tipo *Loricaria prolixa*, proveniente da bacia do rio Tietê. A outra espécie aceita para o gênero, *Proloricaria lentiginosa*, foi descrita originalmente como *L. prolixa lentiginosa*, a partir de exemplares provenientes da bacia do rio Grande. As duas espécies são amplamente distribuídas na bacia do alto rio Paraná, e são morfologicamente muito semelhantes. A distinção entre elas foi originalmente baseada na diferença de coloração da cabeça e do corpo, e na disposição das placas ósseas no abdômen. Tais caracteres são lábeis, havendo dúvidas quanto ao reconhecimento e validade taxonômica das duas espécies, sugerindo sinonímia. Este trabalho consiste em um estudo das espécies do gênero *Proloricaria* utilizando uma combinação de métodos morfológicos e de análises moleculares (DNA *barcoding*), de forma a testar a hipótese de validade das duas espécies nominais pertencentes ao gênero. Foram realizadas análises morfométrica, merística e qualitativa de exemplares depositados em coleções, bem como análises moleculares de DNA *barcoding* a partir do sequenciamento do gene Citocromo Oxidase I (COI) dos exemplares, comparando-as com as sequências disponíveis na BOLD Systems e Genbank. A análise morfológica das espécies demonstrou ter diferenças quanto a presença ou não de um par de placas supranumerárias anteriores pré-dorsais, e no número de linhas de odontódes no parieto-supraoccipital. As análises moleculares das sequências comparadas às sequências das bases de dados possibilitaram a distinção entre as duas espécies, sustentando a necessidade de correção das menções de ambas nos estudos da ictiofauna do alto rio Paraná. O embasamento morfológico e molecular obtidos neste estudo resolve muitos conflitos existentes em relação a identificação e validade das espécies, dá sustentação para distingui-las como duas espécies diferentes, corrige as menções de cada uma delas na literatura, e define o padrão de distribuição de *P. prolixa* nas bacias dos rios Tietê, Paranapanema e Paraná, e *P. lentiginosa* na bacia do rio Grande, ambas integrando o sistema do alto rio Paraná.

**Palavras-chave:** alto rio Paraná; taxonomia integrativa; *Proloricaria*

## ABSTRACT

The catfishes of the Loricariinae subfamily inhabit the substrate environments of South American rivers and are distinguished from the rest of the Loricariidae family by having a long, depressed caudal peduncle and the absence of an adipose fin. Most of the more than 250 species of Loricariinae were described in the genus *Loricaria*, but many are currently located in other genera of the subfamily. The genus *Proloricaria* was described in 2001, having as type species *Loricaria prolixa*, from the Tietê river basin. The other species accepted for the genus, *Proloricaria lentiginosa*, was originally described as *L. prolixa lentiginosa*, from specimens of the rio Grande basin. The two species are widely distributed in the upper rio Paraná basin, and are morphologically very similar. The distinction between them was originally based on the difference of color on the head and body, and the arrangement of bony plates on the abdomen. Such characters are labile, with doubts regarding the recognition and taxonomic validity of the two species, suggesting synonymy. This monograph consists in a study of the species of the genus *Proloricaria* using a combination of morphological methods and molecular analysis (DNA *barcoding*), in order to test the hypothesis of validity of two nominal species belonging to the genus. Morphometric, meristic and qualitative analyzes of specimens deposited in collections were carried out, as well as molecular analyzes of DNA *barcoding* from the sequencing of the Cytochrome Oxidase I (COI) gene of specimens, comparing them with the sequences available at BOLD Systems and Genbank. The morphological analysis of the species showed differences regarding the presence or absence of a pair of pre-dorsal supernumerary anterior plates, and the number of rows of odontodes on the parieto-supraoccipital. Molecular analyzes of the sequences compared with the database sequences allowed the distinction of the two species, supporting the necessity of correction of the mentions of both in the studies of the ichthyofauna of the upper Paraná river. The morphological and molecular basis obtained in this study resolves many of the existing conflicts regarding the identification and validity of the species, presents support to distinguish them as two different species, corrects the mentions of each one of them in the literature, and defines the distribution pattern of *P. prolixa* in the Tietê, Paranapanema and Paraná river basins, and *P. lentiginosa* in the rio Grande basin, both integrating the upper Paraná river system.

**Keywords:** upper Paraná river; integrative taxonomy; *Proloricaria*

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** – Desenho esquemático indicando as medidas utilizadas na análise morfométrica....20
- Figura 2** – Desenho esquemático da disposição das placas ósseas pré-dorsais (em cinza) na região anterior em *P. lentiginosa* (à esquerda) e *P. prolixa* (à direita). As setas indicam as placas supranumerárias em *P. lentiginosa*, ausentes em *P. prolixa*. Escala 1 cm.....23
- Figura 3** - Gráfico de dispersão da Análise de Componentes Principais (ACP) realizado a partir dos espécimes analisados de *P. lentiginosa* (pontos) e *P. prolixa* (quadrados vazios).....26
- Figura 4** – Árvore construída a partir da distância genética (K2P) entre as amostras de *P. lentiginosa* e *P. prolixa*.....30
- Figura 5** – *P. lentiginosa* (LISDEBE 6345, 384 mm CP). Em (a): vista dorsal; (b): vista lateral; (c): vista ventral.....36
- Figura 6** – *P. prolixa* (LISDEBE 7710, 313 mm CP). Em (a): vista dorsal; (b): vista lateral; (c): vista ventral.....40
- Figura 7** – Mapa da distribuição das localidades dos lotes observados de *P. prolixa* (círculos azuis) e *P. lentiginosa* (círculos vermelhos). A localidade tipo de *P. prolixa* (estrela azul) e de *P. lentiginosa* (estrela vermelha) também se encontra representada.....41

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1** - Morfometrias de *P. lentiginosa* e *P. prolixa* expressas como porcentagens do comprimento padrão e da cabeça. Os dados merísticos estão com os números de espécimes de cada contagem entre parênteses.....24

**Tabela 2** - Autovalores, variâncias e pesos das medidas morfométricas de *P. lentiginosa* e *P. prolixa* utilizados na Análise de Componentes Principais (ACP). Os caracteres discriminantes estão em negrito.....27

**Tabela 3** - Táxon, voucher, localidade e número de acesso da BOLD Systems dos espécimes de *Proloricaria* analisados na abordagem molecular.....29

**Tabela 4** - Matriz de distância K2P entre as sequências COI das amostras de *Proloricaria*....31

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVO.....</b>	<b>16</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>17</b>
3.1	ANÁLISES MORFOLÓGICAS.....	17
3.2	ANÁLISES MOLECULARES.....	21
<b>4</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>23</b>
4.1	ANÁLISES MORFOLÓGICAS.....	23
4.2	ANÁLISES MOLECULARES.....	28
4.3	DIAGNOSE ENTRE AS ESPÉCIES .....	32
4.4	DESCRIÇÃO DAS ESPÉCIES.....	33
4.5	DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA.....	41
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>42</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>46</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>47</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Dentre todos os Siluriformes de água doce da região Neotropical, a família Loricariidae apresenta maior riqueza de espécies. A família é constituída por peixes que habitam principalmente o fundo dos leitos de rios e são caracterizados por possuírem corpo e cabeça revestidos por placas ósseas e boca posicionada ventralmente, normalmente com lábios em forma de ventosa que possibilitam a fixação em substratos. Londoño-Burbano & Reis (2021) apontam que estudos filogenéticos e taxonômicos têm procurado elucidar as relações de parentesco entre espécies e grupos de espécies na família, mas que ainda há inconsistências no número de subfamílias e nos caracteres diagnósticos para cada um de seus subgrupos.

Loricariinae é a segunda subfamília mais diversa em Loricariidae, atrás de Hypostominae, contando atualmente com 255 espécies válidas, distribuídas em 30 gêneros (FRICKE et al. 2021). Trata-se de um grupo reconhecidamente monofilético, cujos membros são caracterizados por um longo e deprimido pedúnculo caudal e pela ausência de uma nadadeira adiposa (COVAIN et al., 2016). Quase metade dessas espécies foi descrita no gênero *Loricaria* Linnaeus 1758, mas posteriormente realocadas em outros gêneros (THOMAS & RAPP PY-DANIEL, 2008). Na revisão taxonômica do gênero, Isbrücker (1981) menciona que diferentes autores, entre o final do século XIX e metade do século XX, adotaram uma subdivisão de *Loricaria* em subgêneros, elevados por ele ao *rank* genérico e resultando em apenas 11 espécies válidas para *Loricaria* naquele momento.

Desde o estudo de Isbrücker (op. cit) não foram realizadas revisões taxonômicas do gênero, mas novas espécies foram descritas e realocações genéricas realizadas, sendo consideradas 18 espécies válidas atualmente (LONDOÑO-BURBANO et al. 2020; FRICKE et al. 2021). *Loricaria* constitui um grupo monofilético, sendo sustentado por características osteológicas, incluindo palatino, placa faríngea, cintura pélvica e morfologia do canal sensorial (RAPP PY-DANIEL, 1997).

Um exemplo de alteração decorrente do processo de revisão e realocação genérica das espécies de *Loricaria* é a descrição do gênero *Proloricaria* Isbrücker 2001, em Isbrücker et al. (2001). O gênero tem como espécie tipo *Loricaria prolixa* Isbrücker & Nijssen 1978, abrigando também a espécie descrita originalmente como *Loricaria prolixa lentiginosa* Isbrücker 1979, elevada à categoria de espécie por Isbrücker (1981). Ferraris Jr. (2003) considerou as duas espécies pertencentes a *Loricaria* mas, posteriormente, Ferraris Jr. (2007) reconheceu

*Proloricaria* como um gênero válido, constituído por *P. prolixa* e *P. lentiginosa*. Por falta de uma descrição de características morfológicas diagnósticas claras, o gênero *Proloricaria* foi considerado por Covain & Fish-Muller (2007) como sinônimo júnior de *Loricaria*. Por outro lado, Covain et al. (2016), a partir da filogenia molecular da subfamília Loricariinae, consideraram *Proloricaria* um gênero válido, pertencente ao grupo que inclui *Loricaria*, porém filogeneticamente mais próximo de *Brochiloricaria* Isbrücker & Nijssen 1979 e *Paraloricaria* Isbrücker 1979 do que do restante das espécies de *Loricaria*.

Ainda que reconhecido por métodos moleculares, o gênero *Proloricaria* possui diagnose morfológica superficial, que inclui a menção de placas reduzidas no abdômen (vs. abdômen fortemente ossificado em *Loricaria*), e corpo achatado e largo na região da cintura peitoral (ISBRÜCKER et al., 2001), necessitando-se uma diagnose morfológica mais robusta para o gênero. A própria distinção entre as duas espécies descritas é insatisfatória, o que levou inicialmente à descrição de *P. lentiginosa* como subespécie de *P. prolixa* por Isbrücker (1979). As duas espécies são originalmente distintas pelo padrão de colorido e pela quantidade e disposição de placas ósseas na região do abdômen. *P. lentiginosa* possui região dorsal da cabeça com numerosas, pequenas e bem definidas manchas escuras marrom acinzentadas, ausentes em *P. prolixa*; e região dorsal do corpo com grandes manchas e faixas escuras mal definidas, bem como pontos e máculas irregulares. As placas na região do abdômen tendem a ser menores e mais numerosas em *P. lentiginosa* em comparação a *P. prolixa*, mas há variação dessas placas em função do tamanho dos exemplares.

As duas espécies de *Proloricaria* foram descritas a partir de material coletado na bacia do alto rio Paraná, sistema esse que integra e drena uma área aproximada de 900.000 km<sup>2</sup> (LANGEANI et al., 2007) no sudeste brasileiro, inserido, portanto, na região Neotropical, expoente na diversidade de ictiofauna e que abriga uma estimativa de 8000 espécies (SCHAEFER, 1998). A localidade-tipo de *P. prolixa* é o rio Piracicaba, afluente do rio Tietê, e de *P. lentiginosa*, a Represa de Volta Grande, no rio Grande, ambas localizadas no estado de São Paulo. *Proloricaria* é amplamente distribuída no alto rio Paraná, sendo frequentemente relatada a ocorrência de *P. prolixa* nos principais rios da porção paulista da bacia (rios Grande, Paranaíba, Tietê e Paranapanema). *P. lentiginosa* é menos relatada em outras bacias do sistema alto Paraná que não a do rio Grande, mas a imprecisão da definição morfológica das duas espécies suscita o questionamento das identificações e de suas ocorrências nas diferentes bacias do sistema do alto rio Paraná.

Algumas incongruências no uso dos nomes das espécies em diferentes estudos evidenciam a dificuldade em distingui-las. Na literatura a distinção de *P. prolixa* e *P. lentiginosa* e até mesmo a validade do gênero *Proloricaria* são colocadas em questão. Jerep (2006), estudando os Loricariidae da bacia do rio Paranapanema, observa variação de coloração tal qual descrita para as duas espécies por Isbrücker (1979) porém, na ausência de diferenças morfométricas e merísticas, identifica os exemplares da bacia como *Loricaria prolixa*. Graça & Pavanelli (2007) salientam que as duas espécies são dificilmente separadas, a não ser pelo padrão de colorido, identificando exemplares do rio Paraná como *Loricaria prolixa*. Ota et al. (2018) revisitando o mesmo material de Graça & Pavanelli (*op. cit.*) mantém a identificação como *Loricaria prolixa*, não considerando o gênero *Proloricaria*. Nos estudos de Thereza (2018) e Ribeiro et al. (2019), conduzidos na bacia do rio Grande, e Froehlich et al. (2017), na porção sul mato grossense do alto rio Paraná, as duas espécies são identificadas, porém como *Proloricaria prolixa* e *Loricaria lentiginosa*, demonstrando o cenário controverso acerca da identificação dessas espécies e sua alocação genérica. Esses são alguns exemplos que evidenciam a necessidade de revisar essas espécies na busca de solução para essas questões.

No ano de 2015, foram coletados exemplares topótipos de *P. lentiginosa* na região de Volta Grande, além de outros exemplares na bacia do rio Mogi Guaçu, também pertencente à bacia do rio Grande. Esses exemplares e as amostras de tecidos obtidas para análises moleculares constituem um excelente material comparativo e foram utilizados neste trabalho. A comparação foi feita com exemplares provenientes de outros rios da bacia do alto rio Paraná e já presentes em coleções, e do material coletado no rio Batalha, afluente do rio Tietê, próximo à localidade-tipo de *P. prolixa*.

O estudo morfológico de exemplares e a análise das amostras de DNA obtidas dos espécimes possibilitou que se realizasse um estudo integrativo mais robusto, com duas fontes de informação, acerca das semelhanças e diferenças entre as espécies. A chamada taxonomia integrativa é uma ferramenta abrangente atualmente utilizada para delimitar e descrever táxons, geralmente combinando dados moleculares e morfológicos (DAYRAT, 2005; PANTE et al., 2015). A ideia geral é que, ao aplicar diferentes metodologias, as hipóteses de delimitação de espécies se tornam mais consistentes (de QUEIROZ, 2007; SCHLICK-STEINER et al., 2010). Essa abordagem tem sido aplicada com sucesso em peixes da família Loricariidae, do gênero *Guyanancistrus* por Fisch-Muller et al. (2018), e do gênero *Hypostomus* por Azevedo et al. (2021), por exemplo. Um estudo integrando análises morfológicas e moleculares e incluindo

exemplares topótipos pode auxiliar na resolução da questão taxonômica envolvendo as espécies de *Proloricaria*, conforme exposto acima. Isso iria efetivamente testar a hipótese de que as duas espécies nominais pertencentes ao gênero *Proloricaria* são de fato válidas, ao demonstrar se há, ou não, diferenças significativas entre elas.

## 2 OBJETIVO

Este estudo teve por objetivo a realização de uma revisão taxonômica das espécies do gênero *Proloricaria* combinando métodos morfológicos e análises moleculares (DNA *barcoding*), para demonstrar se há distinção morfológica e molecular entre elas que sustentem a validade das duas espécies. Os métodos buscam a caracterização morfológica das espécies, comparar sequências gênicas do gene Citocromo Oxidase I (COI) de exemplares das espécies e verificar a divergência genética entre elas, e realizar o mapeamento dos exemplares de *Proloricaria* a fim de analisar o padrão de distribuição das espécies nos rios da bacia do alto rio Paraná.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram empregadas análises morfológicas de exemplares depositados em coleções de peixes de diferentes instituições, sendo elas a do próprio Laboratório de Ictiologia Sistemática do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva da UFSCar (LISDEBE), do Museu de Zoologia da USP (MZUSP) e do Departamento de Zoologia da UNESP de São José do Rio Preto (DZSJRP). Adicionalmente, foram realizadas análises de dados moleculares de exemplares coletados nas bacias dos rios Tietê e Grande.

O acervo do LISDEBE conta com lotes de *Proloricaria* provenientes de grandes rios do Estado de São Paulo, tais como os rios Tietê, Grande e Paranapanema, perfazendo um total de 92 exemplares do gênero depositados na coleção, todos analisados morfológicamente neste trabalho. Esse número inclui os já citados espécimes que foram coletados recentemente em locais da bacia do rio Grande, alguns inclusive em proximidade com a localidade-tipo de *P. lentiginosa*, e os de *P. prolixa* que foram coletados no rio Batalha, afluente do rio Tietê, no dia 07 de maio de 2022. Ainda, destes últimos espécimes mencionados foram retiradas amostras de tecido de nadadeiras peitorais e/ou ventrais de 5 exemplares para análises moleculares, e posteriormente foram fixados em solução de formaldeído 10% e então conservados em solução de etanol 70%, encontrando-se atualmente depositado no acervo do LISDEBE, no lote LISDEBE 7826.

Nos acervos do MZUSP e do DZSJRP, foram analisados 71 exemplares de *Proloricaria*, dentre eles o holótipo (MZUSP 13188) e parátipos (MZUSP 13187, 13190) de *P. lentiginosa*, e os parátipos (MZUSP 333, 13186, 13394) de *P. prolixa*.

Ao todo, 163 espécimes foram analisados, sendo 71 exemplares de *P. lentiginosa* oriundas da bacia do rio Grande, e 92 exemplares de *P. prolixa*, provenientes das bacias dos rios Paranapanema, Tietê e Paraná. Todos os espécimes analisados estão registrados nas listas de material examinado para cada uma das espécies, disponíveis nos resultados.

#### 3.1 ANÁLISES MORFOLÓGICAS

As análises morfológicas consistiram no exame de caracteres externos, que incluem particularmente o formato geral do corpo e da cabeça, além de outros caracteres quantitativos e qualitativos, tais como o padrão de coloração, disposição das placas ósseas do abdômen, arranjo de placas ósseas pré-dorsais e de linhas de odontódes na cabeça e no corpo. Todas as

medidas e contagens foram feitas utilizando preferencialmente o lado esquerdo dos exemplares examinados, a menos que ele estivesse danificado, sendo nesses casos optado o exame do lado direito.

Análises morfométricas e merísticas foram feitas para 101 exemplares do total. Foram retirados dados de 28 variáveis morfométricas e 16 variáveis merísticas, além do exame da coloração (padrões e disposições de manchas) e da disposição de placas ósseas e de odontódes da cabeça e do corpo. As variáveis utilizadas seguem modelos tradicionais de análises morfométricas, e teve como principal referência o trabalho de Thomas & Rapp Py-Daniel (2008).

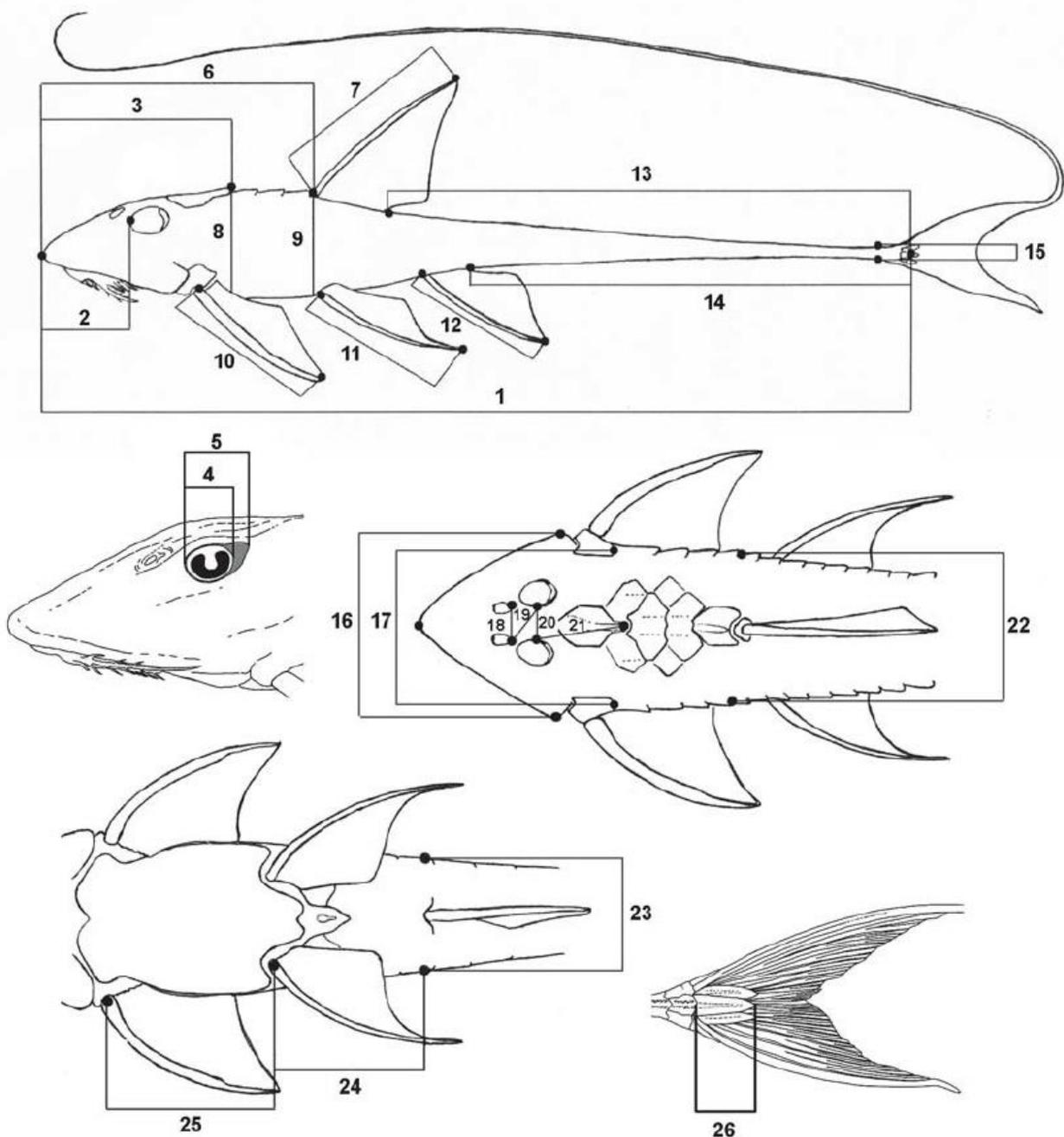
As medidas de cada exemplar foram obtidas utilizando um paquímetro com precisão de 0,1 mm, e estão representadas na Figura 1. As medidas que foram utilizadas e os seus respectivos números que as referenciam na figura estão dispostos a seguir:

- 1** - Comprimento padrão: A medida da ponta do focinho até o final do pendúnculo caudal.
- 2** - Comprimento do focinho: da ponta do focinho até a margem óssea da órbita.
- 3** - Comprimento da cabeça: a medida da ponta do focinho até a ponta posterior do processo parietal-supraoccipital.
- 4** - Diâmetro intraorbital mínimo: diâmetro da órbita entre as margens anterior e posterior, excluindo o entalhe.
- 5** - Diâmetro intraorbital máximo: diâmetro da órbita entre as margens anterior e posterior, incluindo o entalhe.
- 6** - Comprimento pré-dorsal: da ponta do focinho até a origem da nadadeira dorsal.
- 7** - Comprimento do espinho da nadadeira dorsal: entre a origem proximal e a ponta distal.
- 8** - Altura da cabeça: na ponta posterior do processo parieto-supraoccipital.
- 9** - Altura do corpo: do ponto anterior onde se inicia o espinho da nadadeira dorsal.
- 10** - Comprimento do espinho da nadadeira peitoral: entre a origem proximal e a ponta distal.
- 11** - Comprimento do espinho da nadadeira pélvica: entre a origem proximal e a ponta distal.

- 12** - Comprimento do espinho da nadadeira anal: entre a origem proximal e a ponta distal.
- 13** - Comprimento pós dorsal: intersecção entre o último raio da nadadeira dorsal e o fim do pendúnculo caudal.
- 14** - Comprimento pós anal: intersecção entre o último raio da nadadeira anal e o fim do pendúnculo caudal.
- 15** - Altura do pendúnculo caudal: menor altura (geralmente na segunda placa lateral anterior a base da nadadeira caudal).
- 16** - Largura da cabeça: na margem lateral do opérculo.
- 17** - Largura do corpo pós cleitral: na ponta posterior do processo cleitral.
- 18** - Largura entre narinas na margem posterior: distância entre cada narina na margem posterior.
- 19** - Distância da narina esquerda à órbita direita do olho: entre a margem posterior da narina até a margem mediana interna da órbita.
- 20** - Distância interorbital: na junção frontal-esfenótica.
- 21** - Distância entre a margem interna da órbita à margem posterior do parieto-supraoccipital: da margem interna da órbita esquerda até a ponta posterior do processo parieto-supraoccipital.
- 22** - Largura do corpo na origem do espinho dorsal: na ponta anterior ao início da nadadeira dorsal.
- 23** - Largura do corpo na origem do espinho anal: na ponta anterior ao início da nadadeira anal.
- 24** - Comprimento abdominal: entre o ponto anterior a origem da nadadeira pélvica até o ponto anterior a origem da nadadeira anal.
- 25** - Comprimento torácico: entre o ponto anterior a origem da nadadeira peitoral até o ponto anterior da origem da nadadeira pélvica.
- 26** - Comprimento da placa basicaudal: entre a base anterior até a ponta posterior da placa triangular alongada na base do pendúnculo caudal.

**27** - Comprimento da base da nadadeira anal: base da nadadeira, entre o início (anterior) e o término (posterior) da nadadeira anal. Não está representada na Figura 1

**28** - Comprimento da base da nadadeira dorsal: base da nadadeira, entre o início (anterior) e o término (posterior) da nadadeira dorsal. Não está representada na Figura 1.



**Figura 1** – Desenho esquemático indicando as medidas utilizadas na análise morfométrica.

Fonte: Extraído de Thomas & Rapp Py-Daniel, 2008.

As contagens realizadas para a obtenção dos dados merísticos foram feitas a olho nu ou com o auxílio de um estereoscópio binocular, sendo elas:

- Placas laterais coalescidas e totais;
- Placas abdominais laterais e medianas pré-anal e pós-ânus;
- Placas pós anal;
- Raios das nadadeiras dorsal, peitorais, ventrais, anal e caudal;
- Dentes do pré-maxilar e do dentário;
- Número de linhas de odontódes no parieto-supraoccipital;
- Quantidade de placas anteriores pré-dorsais.

Os dados morfométricos coletados de ambas as espécies foram primeiramente transformados em logaritmos, e então foram utilizados na Análise de Componentes Principais (ACP) utilizando a matriz de variância-covariância, cuja execução foi feita com o software PAST versão 4.03 e encontra-se disponível nos resultados (Figura 3).

A partir desses dados morfométricos também foram feitos oito cálculos de proporções corporais em relação ao comprimento padrão, e outros oito em relação ao comprimento da cabeça, bem como suas respectivas médias, mínimos, máximos e desvios padrões, todos expressos como porcentagens dos comprimentos. Os cálculos foram feitos utilizando o software Microsoft Excel versão 2205 (*build* 15225.20204), e empregados na identificação e descrição das espécies.

A descrição de cada uma das duas espécies é primeiramente acompanhada pelas listas de sinonímia, material tipo e de material examinado nesse trabalho, esta última contendo a coleção, o número de tombo, número de exemplares no dado lote, comprimento padrão mínimo e máximo, localidade de coleta e, em seguida, pela fotografia de um dos exemplares da espécie.

### 3.2 ANÁLISES MOLECULARES

As análises moleculares foram conduzidas pela Dra. Carolina de Barros Machado da Silva e pelo Dr. Pedro Manoel Galetti Junior, no Departamento de Genética e Evolução da UFSCar (DGE). Elas ocorreram a partir da extração do DNA contido no fragmento de nadadeiras peitorais e pélvicas, a fim de não prejudicar a identificação por caracteres

morfológicos, sendo empregado o protocolo de precipitação salina para extração, conforme proposto por Aljanabi & Martinez (1997).

Uma vez extraído, foi feita a amplificação de 650 pb (pares de base) da região 5' do gene Citocromo Oxidase I (COI) utilizando os primers FishF1 e FishR1 (WARD et al., 2005). As reações de PCR ocorreram em um volume final de 25 µL contendo 16,9 µL de água mili-Q, 2,5 µL tampão 10X de PCR Invitrogen (1X), 2,5 µL dNTPs (0,25 mM), 1 µL MgCl<sub>2</sub> (2 mM), 0,5 µL de cada primer (0,2 µM), 0,1 µL Platinum® Taq polimerase (0,5 unidade) e 1µL DNA (50ng/µL). As condições em que a amplificação do gene ocorreu consistiram em uma desnaturação inicial a 94 °C por 2 min, seguido de 35 ciclos de 30s a 94°C, 45s a 52°C, 1 min. a 72°C; e finalizando a temperatura de extensão de 72°C por 10 min. Após a verificação da amplificação em gel de agarose a 1%, todos os produtos de PCR foram purificados utilizando o protocolo de polietilenoglicol 20% (KUSUKAWA et al., 1990). Os fragmentos foram sequenciados nas duas direções (*forward* e *reverse*) em sequenciador automático ABI3730XL, Applied Biosystems. As sequências e eletroferogramas foram depositados no *Barcode of Life Data System* (BOLD Systems), projeto *Freshwater fish topotypes from São Paulo state*, código FFTSP.

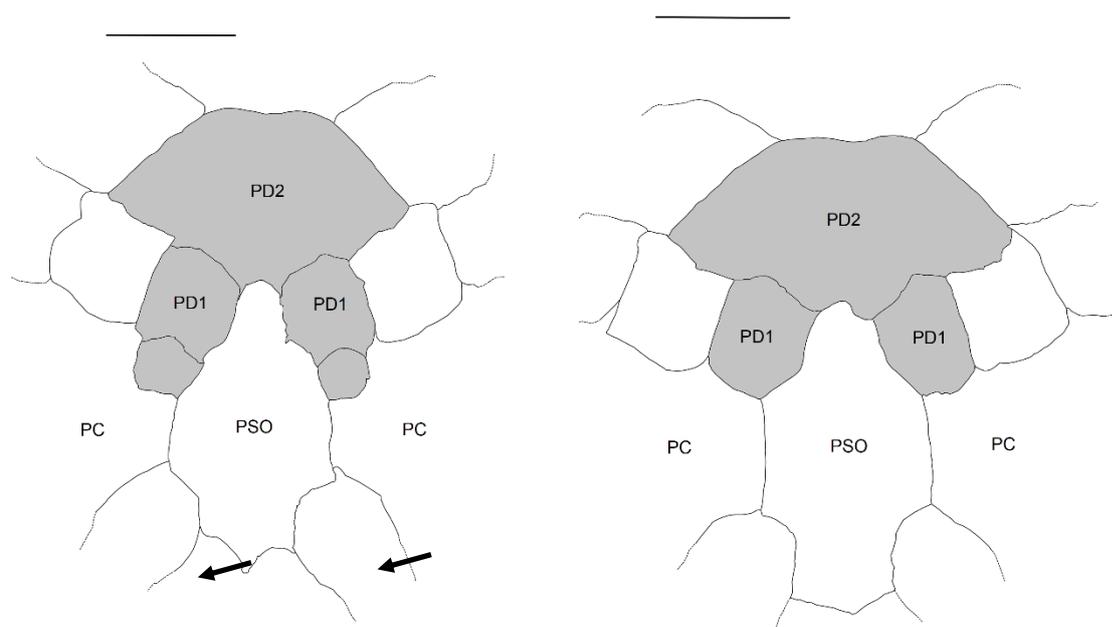
As sequências obtidas foram alinhadas, utilizando o algoritmo ClustalW (THOMPSON et al., 1994), e editadas utilizando o software Geneious R7 v6.1.6 (KEARSE et al., 2012). Os dados foram comparados com sequências disponíveis nas plataformas GenBank e BOLD Systems, utilizando o método de distância (RATNASINGHAM & HEBERT, 2013).

Ao todo foram utilizadas 15 amostras de tecidos de espécimes para a realização das análises moleculares. Três das amostras são de *P. prolixa* coletadas em maio de 2022 no rio Batalha, e foram analisadas e comparadas com 12 amostras de *P. lentiginosa*, das quais três são de espécimes topótipos, e as outras nove provenientes de espécimes do rio Mogi-Guaçu. Dentre as amostras de espécimes do Mogi-Guaçu, seis são de dados obtidos na BOLD Systems, utilizando a ferramenta “identification” (BOLD ID Numbers FUPR761-09, FUPR762-09, FUPR763-09, FUPR764-09, FUPR765-09, FUPR766-09).

## 4 RESULTADOS

### 4.1 ANÁLISES MORFOLÓGICAS

As análises merísticas não demonstraram haver diferenças entre as espécies para 13 das 16 variáveis merísticas observadas, ocorrendo sobreposição das amplitudes registradas para cada uma das espécies. Por outro lado, as que evidenciaram divergências entre as espécies foram o número de placas pós-anal e de linhas de odontódes no parieto-supraoccipital, propensos a serem diferentes entre as espécies, e também o número de placas ósseas bordeando lateralmente o parieto-supraoccipital. Para esse último caráter, em específico, foi constatado a presença, ou ao menos tendência à formação, de um par de placas supranumerárias anteriores pré-dorsais em *P. lentiginosa* quando em comparação à *P. prolixa*, cuja representação foi ilustrada na Figura 2. As proporções corporais calculadas e os dados merísticos coletados das duas espécies estão disponíveis na Tabela 1 para consulta.



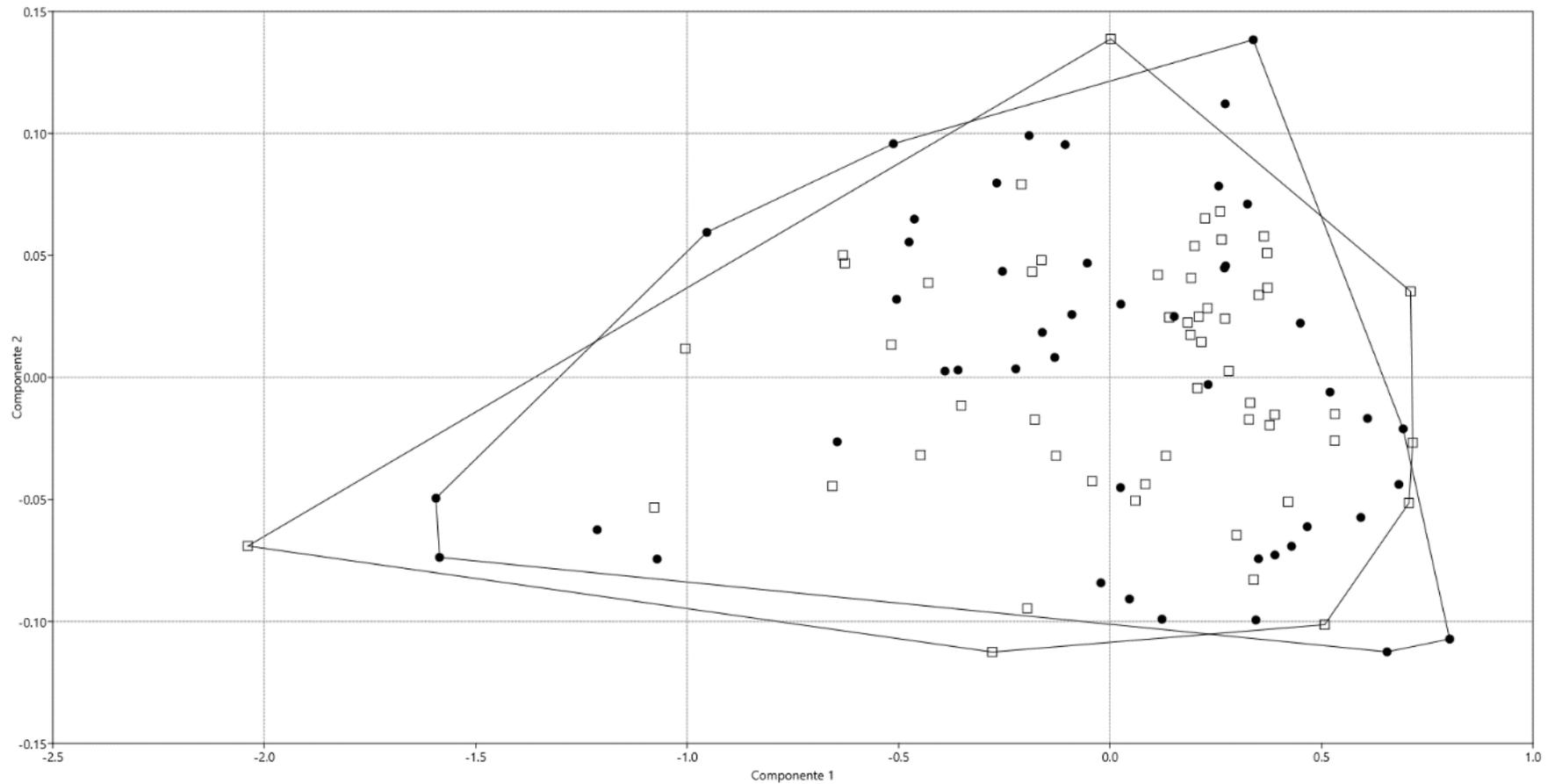
**Figura 2** – Desenho esquemático da disposição das placas ósseas pré-dorsais (em cinza) na região anterior em *P. lentiginosa* (à esquerda) e *P. prolixa* (à direita). As setas indicam as placas supranumerárias em *P. lentiginosa*, ausentes em *P. prolixa*. Escala 1 cm. Legenda: PC – Pterótico composto, PD1-PD2 – Primeiro e segundo par de placas pré-dorsais, PSO – Parieto-supraoccipital. Fonte: Elaborada pelo autor.

**Tabela 1** - Morfometrias de *P. lentiginosa* e *P. prolixa* expressas como porcentagens do comprimento padrão e da cabeça. Os dados merísticos estão com os números de espécimes de cada contagem entre parênteses.

Morfometria	<i>Proloricaria lentiginosa</i> (N = 47)					<i>Proloricaria prolixa</i> (N = 55)			
	Holótipo	Amplitude		Média	Desvio Padrão	Amplitude		Média	Desvio Padrão
Comprimento Padrão	297	128	420	289,5	69,0	105	415	297,7	65,1
Porcentagens do Comprimento Padrão									
Comprimento da cabeça	21,3	19,8	24,7	22,2	0,9	20,1	23,9	21,9	0,8
Altura do corpo	10,4	7,8	12,7	10,1	1,1	6,8	12,4	9,8	1,1
Comprimento pré-dorsal	31,0	28,2	33,3	32,0	0,9	30,0	34,3	32,1	0,9
Largura do corpo pós-cleitoral	18,2	15,6	20,1	18,4	0,9	15,0	20,7	18,6	1,0
Largura do corpo na origem do espinho anal	17,3	13,9	18,6	16,7	1,2	10,7	19,8	17,2	1,6
Comprimento torácico	13,8	12,8	17,4	15,3	1,2	12,5	18,1	15,7	1,1
Comprimento abdominal	15,3	11,3	24,3	16,3	1,6	13,7	18,2	16,4	0,9
Comprimento pós-anal	48,1	41,5	51,3	48,0	1,7	44,7	51,1	48,1	1,4
Porcentagens do Comprimento da Cabeça									
Comprimento do focinho	57,8	54,7	61,3	58,2	1,4	45,1	60,7	57,7	2,5
Distância interorbital	18,7	17,0	21,0	18,9	1,0	17,0	20,6	18,7	0,9
Diâmetro orbital máximo	13,3	10,4	17,0	13,0	1,5	10,1	17,0	12,5	1,6
Largura da cabeça	94,0	81,1	100,1	92,5	4,5	64,1	97,7	92,4	5,4
Altura da cabeça	38,9	33,5	57,3	43,1	6,4	30,4	54,3	43,1	5,1
Largura entre narinas na margem posterior	8,9	6,5	10,6	8,3	0,8	5,6	9,8	7,8	0,8
Distância da narina esquerda à órbita direita do olho	18,7	13,7	20,2	18,9	1,2	16,3	20,1	18,5	0,8
Margem interna da órbita à margem posterior do parieto-supraoccipital	40,2	39,3	44,2	41,5	1,1	38,6	44,4	41,0	1,4
Merística									
Placas totais laterais	<i>Proloricaria lentiginosa</i> (N = 47)					<i>Proloricaria prolixa</i> (N = 55)			
Placas laterais coalescidas	32 (1) - 33 (4) - 34 (33) - 35 (9)					33 (2) - 34 (21) - 35 (30) - 36 (2)			
Placas pós-anal	12 (4) - 13 (22) - 14 (15) - 15 (6)					12 (11) - 13 (28) - 14 (14) - 15 (2)			
Dentes do pré-maxilar esquerdo	19 (3) - 20 (30) - 21 (14)					19 (6) - 20 (45) - 21 (4)			
Dentes do pré-maxilar direito	1 (2) - 2 (15) - 3 (26) - 4 (4)					1 (1) - 2 (27) - 3 (21) - 4 (3) - 5 (2)			
Dentes do dentário esquerdo	1 (1) - 2 (20) - 3 (22) - 4 (2) - 5 (2)					1 (1) - 2 (21) - 3 (26) - 4 (4) - 5 (2)			
Dentes do dentário direito	4 (5) - 5 (17) - 6 (18) - 7 (7)					3 (1) - 4 (6) - 5 (18) - 6 (26) - 7 (3) - 9 (1)			
Número de placas ósseas bordeando o parieto-supraoccipital	4 (4) - 5 (14) - 6 (21) - 7 (8)					4 (5) - 5 (20) - 6 (22) - 7 (7)			
Número de linhas de odontódes no parieto-supraoccipital	2 (1) - 3 (9) - 4 (36)					2 (44) - 3 (4) - 4 (6)			
	1 (38) - 2 (9)					1 (31) - 2 (23)			

Além dessas diferenças merísticas encontradas entre as duas espécies, a distinção entre elas normalmente leva em consideração o padrão de colorido e a quantidade e disposição de placas ósseas na região do abdômen, tal qual originalmente apontado por Isbrücker & Nijssen (1978) e Isbrücker (1979). *P. lentiginosa* foi descrita apresentando na região dorsal da cabeça numerosas, pequenas e bem definidas manchas escuras marrom-acinzentadas, ausentes em *P. prolixa*; e a região dorsal do corpo com grandes manchas e faixas escuras mal definidas, contendo também pontos e máculas irregulares. Ainda segundo os autores, as placas na região do abdômen de *P. lentiginosa* são mais numerosas e de tamanhos menores em relação a *P. prolixa*, porém o tamanho e número dessas placas variam de acordo com o tamanho dos exemplares em ambas as espécies. Os dados deste trabalho de fato constataram esta variação nas placas abdominais entre os exemplares de diferentes tamanhos em cada uma das espécies, porém também foi observada variação entre indivíduos de mesmo tamanho pertencentes a uma mesma espécie, indicando não ser um bom caráter para a distinção das duas espécies.

As análises morfométricas e o cálculo das proporções corporais demonstraram não haver diferenças significativas entre as espécies, ocorrendo sobreposição das amplitudes para todas as medidas registradas e calculadas (Tabela 1). A ACP foi elaborada utilizando 21 caracteres morfométricos (ver Figura 3). Os eixos 1 e 2 explicam 95,0% e 1,1% da variância, respectivamente. No componente 1, as variáveis de maior peso foram o comprimento do espinho peitoral (0,2664), altura da cabeça (0,2640) e largura do corpo na origem do espinho anal (0,2597). No componente 2, foram o comprimento do espinho da nadadeira pélvica (0,6760), altura da cabeça (-0,4923) e altura do corpo (-0,3913). Os autovalores, a variância e os pesos atribuídos às demais variáveis nos dois componentes podem ser vistos na Tabela 2. Tanto a ACP quanto o contraste entre as proporções corporais não foram capazes de indicar a separação entre as duas espécies.



**Figura 3** - Gráfico de dispersão da Análise de Componentes Principais (ACP) realizado a partir dos espécimes analisados de *P. lentiginosa* (pontos) e *P. prolixa* (quadrados vazios).

**Tabela 2** - Autovalores, variâncias e pesos das medidas morfométricas de *P. lentiginosa* e *P. prolixa* utilizados na Análise de Componentes Principais (ACP). Os caracteres discriminantes estão em negrito.

	CP 1	CP 2
Autovalor	0,2823	0,0034
Variância (%)	95,019	1,1546
Comprimento padrão	0,2046	0,0420
Comprimento da cabeça	0,1897	0,0279
Altura do corpo	0,2411	<b>-0,3913</b>
Comprimento pré dorsal	0,2050	-0,0222
Comprimento do focinho	0,2040	0,1053
Distância interorbital	0,2036	-0,0402
Diâmetro orbital máximo	0,1182	0,0326
Largura do corpo pós cleitral	0,2337	-0,0313
Largura do corpo origem espinho anal	<b>0,2597</b>	-0,1127
Comprimento espinho peitoral	<b>0,2664</b>	0,2030
Comprimento espinho pélvica	0,2282	<b>0,6760</b>
Comprimento espinho dorsal	0,2038	0,0806
Comprimento espinho anal	0,2206	0,0355
Comprimento torácico	0,2264	-0,1620
Comprimento abdominal	0,2309	0,0966
Comprimento pós anal	0,2023	0,0778
Largura da cabeça	0,2190	0,0416
Altura da cabeça	<b>0,2640</b>	<b>-0,4923</b>
Largura entre narinas na margem posterior	0,2330	-0,0012
Distância da narina esquerda à órbita direita do olho	0,1981	0,1285
Margem interna da órbita à margem posterior do parieto-supraoccipital	0,1813	-0,0908

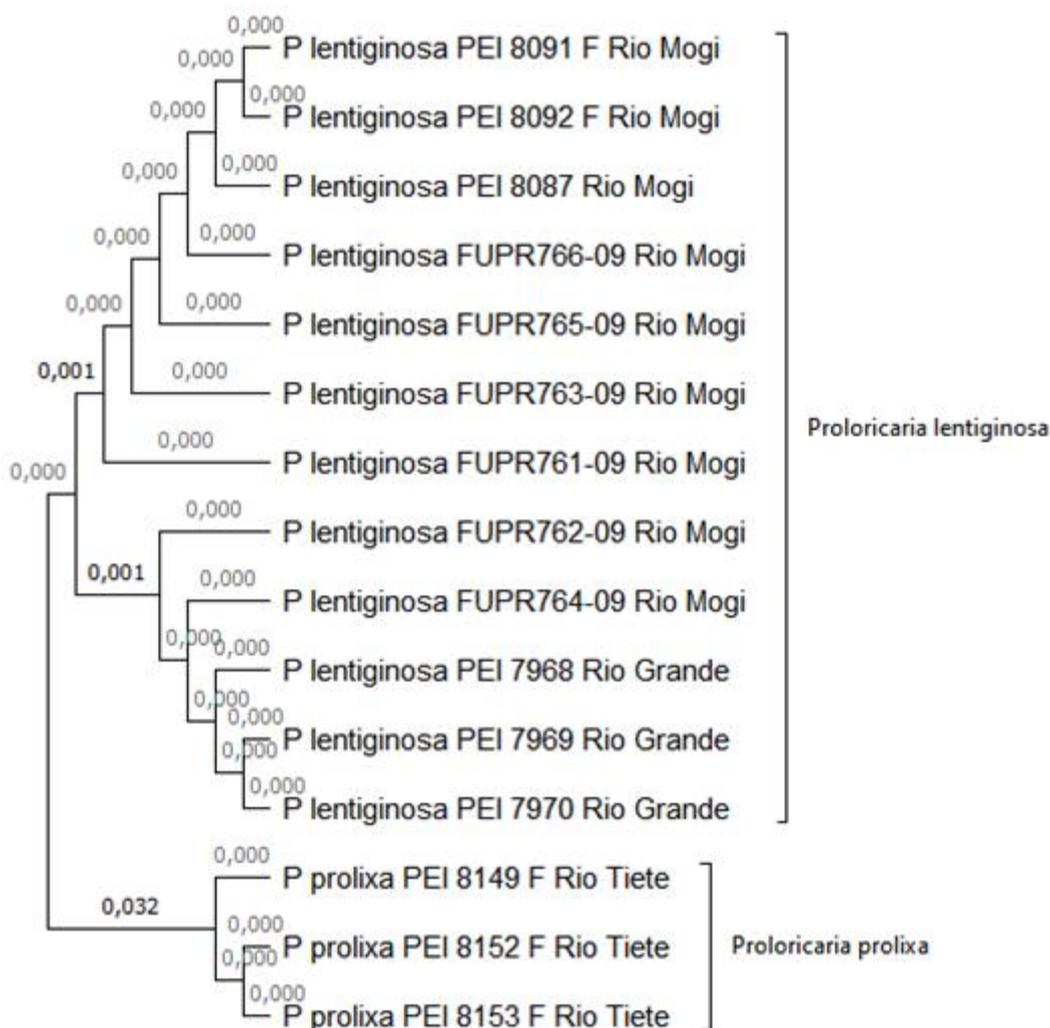
## 4.2 ANÁLISES MOLECULARES

Os resultados moleculares obtidos nesse estudo sustentam a distinção e o reconhecimento das duas espécies. Das três amostras obtidas de *P. prolixa*, houve apenas o sequenciamento das fitas *forward*, mas ainda assim são válidas as análises e comparações feitas com as outras 12 amostras de *P. lentiginosa*. As nove sequências obtidas para a realização desse estudo serão incluídas na BOLD Systems em sua totalidade, e somam-se aos dados já presentes na base, como aqueles publicados por Pereira et al. (2013) que incluem as seis sequências de *Proloricaria* provenientes do rio Mogi-Guaçu. Os autores utilizaram o nome *P. prolixa*, mas nesse trabalho esse nome foi corrigido para *P. lentiginosa* em virtude da similaridade apresentada em relação às sequências obtidas para essa espécie, encontrando-se disponível na lista de sinônimas da descrição de *P. lentiginosa*. Os dados sobre o táxon, voucher (registro de coleção e nº de tombo), localidade e número de acesso da BOLD Systems estão disponíveis na Tabela 3.

**Tabela 3** – Táxon, voucher, localidade e número de acesso da BOLD Systems dos espécimes de *Proloricaria* analisados na abordagem molecular.

Taxon	Voucher	Localidade	Cidade	Bold System
<i>Proloricaria lentiginosa</i>	LISDEBE 6345	Rio Grande	Miguelópolis	FFTSP010-20
<i>Proloricaria lentiginosa</i>	LISDEBE 6345	Rio Grande	Miguelópolis	FFTSP011-20
<i>Proloricaria lentiginosa</i>	LISDEBE 6345	Rio Grande	Miguelópolis	FFTSP012-20
<i>Proloricaria lentiginosa</i>	LISDEBE 5782	Rio Mogi-Guaçu	Mogi-Guaçu	a numerar
<i>Proloricaria lentiginosa</i>	LISDEBE 5782	Rio Mogi-Guaçu	Mogi-Guaçu	a numerar
<i>Proloricaria lentiginosa</i>	LISDEBE 5054	Rio Mogi-Guaçu	Pirassununga	a numerar
<i>Proloricaria lentiginosa</i>	LBP 34923	Rio Mogi-Guaçu	Pirassununga	FUPR761-09
<i>Proloricaria lentiginosa</i>	LBP 34924	Rio Mogi-Guaçu	Conchal	FUPR762-09
<i>Proloricaria lentiginosa</i>	LBP 34925	Rio Mogi-Guaçu	Conchal	FUPR763-09
<i>Proloricaria lentiginosa</i>	LBP 34926	Rio Mogi-Guaçu	Conchal	FUPR764-09
<i>Proloricaria lentiginosa</i>	LBP 34927	Rio Mogi-Guaçu	Conchal	FUPR765-09
<i>Proloricaria lentiginosa</i>	LBP 34928	Rio Mogi-Guaçu	Porto Ferreira	FUPR766-09
<i>Proloricaria prolixa</i>	LISDEBE 7826	Rio Batalha, afluente do Rio Tietê	Reginópolis	a numerar
<i>Proloricaria prolixa</i>	LISDEBE 7826	Rio Batalha, afluente do Rio Tietê	Reginópolis	a numerar
<i>Proloricaria prolixa</i>	LISDEBE 7826	Rio Batalha, afluente do Rio Tietê	Reginópolis	a numerar

O alinhamento final das sequências do gene COI apresentou comprimento de 547 pb, sendo 18 locais variáveis e informativos de parcimônia. A distância genética (K2P) entre os espécimes das duas espécies foi de 3,3%. Os indivíduos de *P. prolixa* não apresentaram divergência entre si, e os indivíduos de *P. lentiginosa* demonstraram divergência máxima de 0,2%. Foram elaboradas uma árvore e uma matriz de distâncias que evidenciaram dois grupos principais distintos, um com os exemplares de *P. prolixa* e outro com os exemplares de *P. lentiginosa* (Figura 4 e Tabela 4).



**Figura 4** – Árvore construída a partir da distância genética (K2P) entre as amostras de *P. lentiginosa* e *P. prolixa*.

**Tabela 4** - Matriz de distância K2P entre as sequências COI das amostras de *Proloricaria*.

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.
1. <i>P_lentiginosa</i> _FUPR761-09_Rio_Mogi														
2. <i>P_lentiginosa</i> _FUPR762-09_Rio_Mogi	0,002													
3. <i>P_lentiginosa</i> _FUPR763-09_Rio_Mogi	0,000	0,002												
4. <i>P_lentiginosa</i> _FUPR764-09_Rio_Mogi	0,002	0,000	0,002											
5. <i>P_lentiginosa</i> _FUPR765-09_Rio_Mogi	0,000	0,002	0,000	0,002										
6. <i>P_lentiginosa</i> _FUPR766-09_Rio_Mogi	0,000	0,002	0,000	0,002	0,000									
7. <i>P_lentiginosa</i> _PEI_7968_Rio_Grande	0,002	0,000	0,002	0,000	0,002	0,002								
8. <i>P_lentiginosa</i> _PEI_7969_Rio_Grande	0,002	0,000	0,002	0,000	0,002	0,002	0,000							
9. <i>P_lentiginosa</i> _PEI_7970_Rio_Grande	0,002	0,000	0,002	0,000	0,002	0,002	0,000	0,000						
10. <i>P_lentiginosa</i> _PEI_8087_Rio_Mogi	0,000	0,002	0,000	0,002	0,000	0,000	0,002	0,002	0,002					
11. <i>P_lentiginosa</i> _PEI_8091_F_Rio_Mogi	0,000	0,002	0,000	0,002	0,000	0,000	0,002	0,002	0,002	0,000				
12. <i>P_lentiginosa</i> _PEI_8092_F_Rio_Mogi	0,000	0,002	0,000	0,002	0,000	0,000	0,002	0,002	0,002	0,000	0,000			
13. <i>P_prolixa</i> _PEI_8149_F_Rio_Tiete	0,032	0,034	0,032	0,034	0,032	0,032	0,034	0,034	0,034	0,032	0,032	0,032		
14. <i>P_prolixa</i> _PEI_8152_F_Rio_Tiete	0,032	0,034	0,032	0,034	0,032	0,032	0,034	0,034	0,034	0,032	0,032	0,032	0,000	
15. <i>P_prolixa</i> _PEI_8153_F_Rio_Tiete	0,032	0,034	0,032	0,034	0,032	0,032	0,034	0,034	0,034	0,032	0,032	0,032	0,000	0,000

#### 4.3 DIAGNOSE ENTRE AS ESPÉCIES

*P. lentiginosa* distingue-se de *P. prolixa* por apresentar na região dorsal da cabeça uma grande quantidade de manchas arredondadas marrom-acinzentadas, pequenas, bem definidas e concentradas, normalmente maiores do que as observadas em *P. prolixa*. Em *P. prolixa*, as manchas na região dorsal da cabeça ocorrem em menor número e densidade, porém uma faixa transversal escura entre as narinas e a margem anterior das órbitas se faz presente em quase todos os exemplares, constituindo uma característica primária na diagnose desta espécie. Essa faixa inclusive pode ser seguida por uma outra faixa transversal clara, menos pigmentada, e posicionada sobre as órbitas. A quantidade e disposição de placas abdominais em ambas as espécies demonstrou ser um caráter bastante variável, que raramente foi viável para ser levado em consideração na diagnose. Em *P. lentiginosa* ocorrem ocasionalmente uma ou, mais frequentemente, duas placas supranumerárias anteriores na série de placas pareadas pré-dorsal (vs. nenhuma placa, raramente uma ou duas placas em *P. prolixa*), e uma linha única de odontódes no parieto-supraoccipital (vs. uma ou duas linhas em *P. prolixa*).

#### 4.4 DESCRIÇÃO DAS ESPÉCIES

##### *Proloricaria lentiginosa* (Isbrücker, 1979)

*Loricaria lentiginosa*. – Isbrücker, 1979:97 (rio Mogi Guaçu e rio Grande). – Oliveira, 2006 (rio do Pântano, bacia do rio Grande). – Froehlich et al., 2017:8 (alto rio Paraná). – Thereza, 2018:43 (em parte; rio Grande). – Ribeiro et al., 2019:138 (rio Uberaba).

*Loricaria prolixa*. – Isbrücker & Nijssen, 1978:189-194 (em parte; rio Mogi Guaçu e rio Grande, bacia do alto rio Paraná). – Jerep, 2006, 124-125 (em parte; espécimes designados como holótipo e dois parátipos, rio Mogi Guaçu e rio Grande).

*Proloricaria prolixa*. – Pereira et al., 2013 (rio Mogi Guaçu, bacia do alto rio Paraná). – Thereza, 2018:44 (afluente do ribeirão da Onça, drenagem Turvo-Grande, e rio Uberaba). – Ribeiro et al., 2019:139 (Rio Uberaba).

**Material tipo:** *Loricaria prolixa lentiginosa* Isbrücker 1979: 97. Holótipo: MZUSP 13188, 292,5 mm CP, localidade tipo: Bacia do alto rio Paraná, Represa de Volta Grande, rio Grande, Estado de São Paulo, Brasil; Parátipos: MZUSP 13187 (1), 13190 (1); ZMA 115.183 [ex MZUSP 13189] (1).

**Material Examinado:** MZUSP 13188, holótipo, 297 mm CP, Represa de Volta Grande, rio Grande, Miguelópolis, SP; MZUSP 13190, parátipo, 261 mm CP, Represa de Volta Grande, rio Grande, Miguelópolis, SP; MZUSP 13187, parátipo, 265 mm CP, rio Mogi-Guaçu, Emas, Pirassununga, SP; MZUSP 85885, 2, 166 – 167 mm CP, rio Jaguarí Mirim, entre São João da Vista e Vargem Grande, São João da Boa Vista, SP; MZUSP 24778, 1, 318 mm CP, Usina Peixoto, rio Grande, MG; MZUSP 2932, 1, 327 mm CP, rio Mogi Guaçu, Estação Experimental de Pirassununga, Pirassununga, SP; MZUSP 25694, 2, 190,2 – 319 mm CP, rio Pardo, SP; LISDEBE 4337, 5, 294 - 351 mm CP, rio Sapucaí- Mirim, afluente do rio Grande, São Joaquim da Barra, SP; LISDEBE, 4102, 2, 276 - 320 mm CP, rio Sapucaí- Mirim, afluente do rio Grande, São Joaquim da Barra, SP; LISDEBE 5410, 7, 223 - 329 mm CP, Rio Grande, Jaguará, Sacramento, MG; LISDEBE 5322, 2, 253 - 268 mm CP, rio Grande, na altura do município de Sacramento, Sacramento, MG; LISDEBE 5403, 1, 272 mm CP, rio Grande, Jaguará, Sacramento, MG; LISDEBE 6345, 4, 365 – 420 mm CP, rio Grande, Reservatório de Porto Colômbia, a jusante da barragem de Volta Grande, Miguelópolis, SP; LISDEBE 5222, 1, 236 mm CP, rio Grande, a jusante do reservatório de Jaguará, Sacramento, MG; LISDEBE

5782, 5, 284 – 368 mm CP, rio Mogi Guaçu, a jusante da PCH Mogi Guaçu, Mogi Guaçu, SP; LISDEBE 6033, 2, 267 – 302 mm CP, rio Araguari, Barra do Ribeirão Brejão, a mais ou menos 5 km abaixo de Nova Ponte, Nova Ponte, MG; LISDEBE 7570, 1, 276 mm CP, rio Mogi-Guaçu na Cachoeira de Emas, Pirassununga, SP; LISDEBE 7883, 2, 350 – 354 mm CP, rio Eleutério, Espírito Santo do Pinhal, SP; LISDEBE 7885, 3, 228 – 261 mm CP, rio Eleutério, Espírito Santo do Pinhal, SP; LISDEBE 7887, 1, 228 mm CP, rio Eleutério, Espírito Santo do Pinhal, SP; LISDEBE 4376, 7, 284 – 369 mm CP, rio Sapucaí- Mirim, afluente do rio Grande, São Joaquim da Barra, SP; LISDEBE 4312, 1, 332 mm CP, rio Sapucaí- Mirim, afluente do rio Grande, Guaíra, SP; LISDEBE 5054, 2, 328 – 350 mm CP, rio Mogi-Guaçu na Cachoeira de Emas, Pirassununga, SP; LISDEBE 7888, 1, 260 mm CP, Ribeirão do Pântano, SP; LISDEBE 7889, 1, 339 mm CP, Ribeirão do Pântano, SP; LISDEBE 7890, 2, 320 – 330 mm CP, Ribeirão do Pântano, SP; DZSJRP 16102, 2, 128 – 132 mm CP, rio Uberaba, rio Grande, Conceição das Alagoas, MG; DZSJRP 15969, 1, 220 mm CP, rio Capivari, drenagem do rio Paranaíba, Indiará, GO; DZSJRP 16057, 4, 214 – 217 mm CP, rio dos Bois, drenagem do rio Paranaíba, Campestre de Goiás, GO; DZSJRP 8423, 1, 379 mm CP, rio Grande, próximo à UHE Marimondo, Icem, SP.

**Descrição:** O comprimento padrão dos exemplares examinados esteve entre 128 – 420 mm. Corpo achatado dorso-ventralmente, aumentando em altura da ponta do focinho até a origem do espinho dorsal, e então declinando reto e paulatinamente até a terceira placa anterior a base da nadadeira caudal. Perfil dorsal do corpo ligeiramente convexo, da ponta do focinho até a origem do espinho dorsal. Perfil da cabeça reto e levemente inclinado da ponta do focinho até a margem anterior da órbita, de onde então se nivela longitudinalmente até a origem do espinho dorsal. Perfil ventral levemente convexo, quase que completamente achatado, com a altura aumentando muito pouco da cabeça até a origem dos espinhos das nadadeiras ventrais, de onde declina de maneira reta até a terceira placa anterior à base da nadadeira caudal. O espinho superior da nadadeira caudal é alongado, formando um grande filamento.

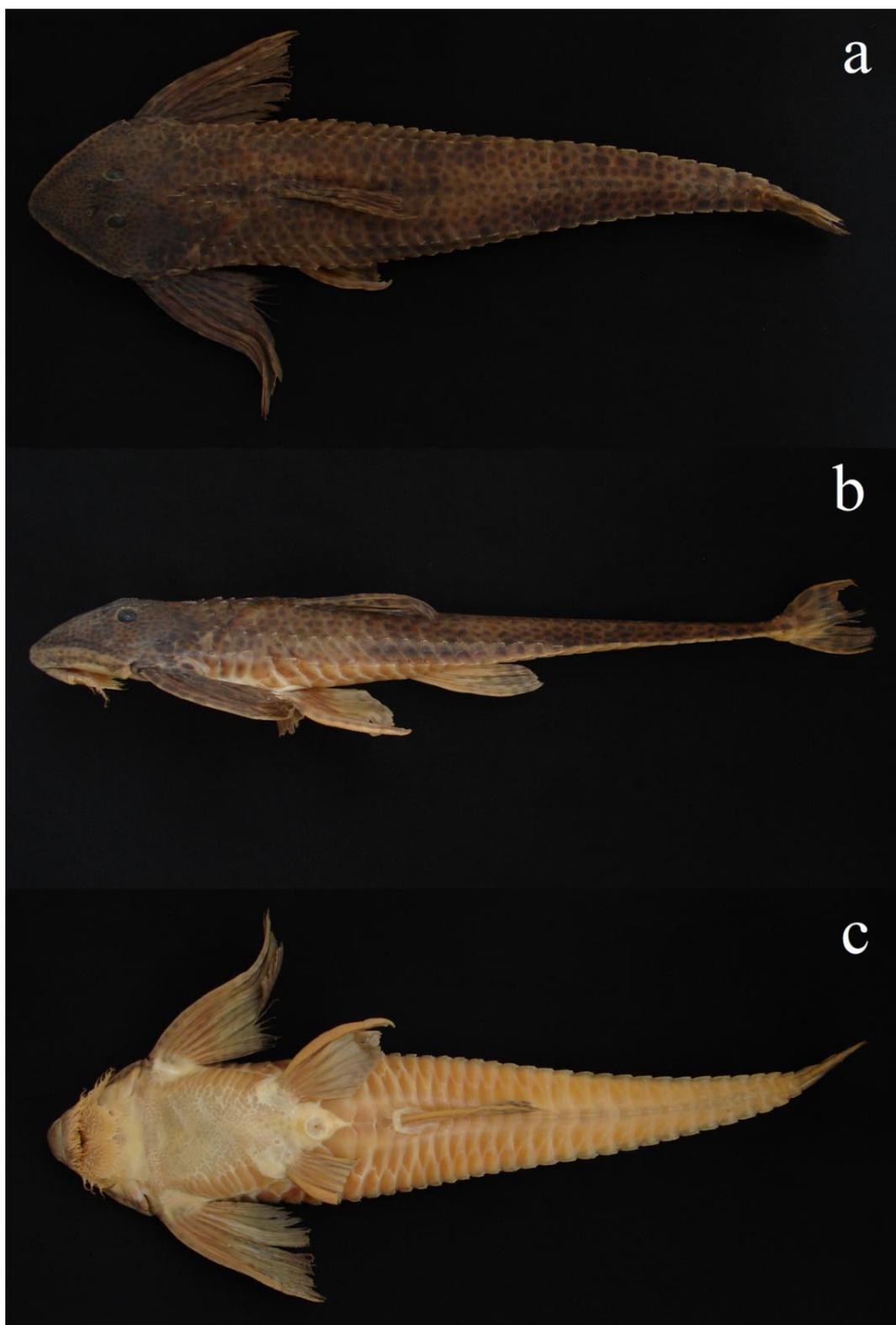
Boca ventral, com lábio superior fino e dotado de pequenos filamentos finos e cônicos. No lábio superior, os filamentos ocorrem em maior densidade, se espalhando por toda superfície labial. Dois grandes barbilhões rictais ocorrem, um de cada lado do lábio superior, e se estendem para além do lábio inferior, ocasionalmente alcançando as aberturas branquiais. Os barbilhões rictais são ramificados e apresentam vários filamentos similares aos observados no lábio superior. O lábio inferior é amplo, dotado de filamentos mais curtos e mais dispersos

em comparação com os do lábio superior. A borda posterior é arredondada de cada lado e dotada de filamentos mais alongados dos que os outros observados neste lábio inferior. Dentes presentes tanto no pré-maxilar quanto no dentário. A coroa de cada dente possui um lóbulo externo pequeno, um lóbulo interno maior e pontas arredondadas. Os dentes do pré-maxilar são mais longos e curvados para o interior da boca, com cerca do dobro do tamanho dos observados no dentário.

Corpo totalmente coberto por placas, exceto no tórax e abdômen, onde esse caráter demonstra ser variável. O abdômen é geralmente coberto por pequenas e numerosas placas, contudo não é incomum encontrar espécimes em que ele se apresenta parcialmente nu, sendo um caráter mais associado à variação de tamanho e ao desenvolvimento dos exemplares (indivíduos mais jovens costumam apresentar o abdômen mais exposto).

O parieto-supraoccipital comumente apresenta apenas uma única linha mediana de odontódes, às vezes com indícios de divergência, ocorrendo ocasionalmente duas linhas de odontódes. *P. lentiginosa* possui um par de placas supranumerárias adjacentes e posicionadas lateralmente ao parieto-supraoccipital, anteriores ao primeiro par de placas pré-dorsal. Placas pós-anal com número variando entre 20 e 21, sendo possível encontrar exemplares mais jovens apresentando apenas 19 placas.

Coloração caracterizada pela presença de várias manchas arredondadas marrom-acinzentadas, pequenas, bem definidas e concentradas na região dorsal da cabeça, aumentando em tamanho entre as partes mais posteriores no dorso da cabeça e anteriores do corpo. No dorso do corpo ocorrem numerosas manchas arredondadas, maiores e mais dispersas que, embora raro, podem eventualmente se apresentar fusionadas, formando linhas longitudinais em ziguezague de cada lado da superfície dorsal do corpo, na região de encontro entre as séries de placas dorsais com as laterais medianas. Ocasionalmente podem ocorrer faixas transversais escuras inconspícuas no dorso do corpo.



**Figura 5** – *P. lentiginosa* (LISDEBE 6345, 384 mm CP). Em (a): vista dorsal; (b): vista lateral; (c): vista ventral.

***Proloricaria proluxa* (Isbrücker & Nijssen, 1978)**

*Loricaria proluxa*. – Isbrücker & Nijssen, 1978:189-194 (em parte; rio Piracicaba). – Oliveira, 2006 (rio Corumbataí, bacia do rio Tietê). – Graça & Pavanelli, 2007:120 (Bacia do alto rio Paraná). – Langeani et al., 2007:188 (rio Borá, drenagem do rio Tietê).

*Loricaria lentiginosa*. – Thereza, 2018:43 (em parte; rio Borá, drenagem do Tietê). – Langeani et al., 2007:188 (U.H.E. Porto Primavera – Ensecadeira, rio Paraná).

**Material Tipo:** *Loricaria proluxa* Isbrücker & Nijssen 1978: 188. Holótipo: NMW 45091, 295 mm CP, localidade tipo: rio Piracicaba, 22°45' S, 47°40' W, Sistema do rio Paraná, Estado de São Paulo, Brasil. Parátipos: BMNH 1905.6.9:6 (1); MZUSP 333 (1), 13186 (1); NMW 45088 (1), 45089 (1); ZMA 113537 [ex NMW 45090] (1).

**Material Examinado:** MZUSP 13186, parátipo, 230 mm CP, rio Corumbataí, Corumbataí, SP; MZUSP 333, parátipo, 303 mm CP, Piracicaba, SP; MZUSP 21650, 4, 273 – 409 mm CP, rio Paraná, acima de Sete Quedas, Guaíra, PR; MZUSP 3104, 1, 209 mm CP, Piracicaba, SP; MZUSP 13394, 1, 343 mm CP, rio Paraná, Guaíra, PR; MZUSP 3243, 1, 363 mm CP, Indústria Animal, SP; MZUSP 22238, 1, 346 mm CP, rio Tietê, Barra Bonita, SP; MZUSP 23071, 3, 85 – 341 mm CP, rio Paraná (ensecadeira), Ilha Solteira, SP; MZUSP 87134, 1, 104,8 mm CP, rio Corumbataí, Corumbataí, SP; MZUSP 413, 1, 277 mm CP, rio Piracicaba, Piracicaba, SP; MZUSP 24436, 2, 67,5 – 326 mm CP, MZUSP 37986, 3, 218 – 364 mm CP, rio Paraná; MZUSP 24380, 2, 327 – 364 mm CP, rio Tietê, Penápolis, SP; LISDEBE 7657, 3, 271 – 315 mm CP, rio Paranapanema, reservatório da UHE Ourinhos, Ourinhos, SP; LISDEBE 6071, 1, 180 mm CP, rio Novo, afluente do reservatório de Salto Grande, próximo à barragem, Salto Grande, SP; LISDEBE 4409, 1, 273 mm CP, Bacia do rio Paranapanema, SP; LISDEBE 4485, 1, 224 mm CP, rio Paranapanema, reservatório da UHE Ourinhos, Ourinhos, SP; LISDEBE 3464, 1, 267 mm CP, rio Jacaré-Guaçu-Gavião Peixoto, próximo à ponte da rodovia entre Gavião Peixoto e Boa Esperança do Sul, Gavião Peixoto, SP; LISDEBE 3463, 1, 274 mm CP, rio Jacaré-Guaçu-Gavião Peixoto, próximo à ponte da rodovia entre Gavião Peixoto e Boa Esperança do Sul, Gavião Peixoto, SP; LISDEBE 7709, 4, 297 – 400 mm CP, Reservatório da UHE Ourinhos, Ourinhos, SP; LISDEBE 7710, 2, 313 – 330 mm CP, rio Paranapanema, UHE Ourinhos, Ourinhos, SP; LISDEBE 4408, 5, 219 – 265 mm CP, Bacia do rio Paranapanema, SP; LISDEBE 4473, 4, 206 – 305 mm CP, rio Paranapanema, reservatório da UHE Ourinhos, Ourinhos, SP. LISDEBE 7891, 6, 321 – 360 mm CP, Bacia do rio Tietê, SP; LISDEBE 7892,

1, 415 mm CP, Bacia do alto rio Paraná, SP; LISDEBE 7826, 12, 174 – 350 mm CP, rio Batalha, afluente do rio Tietê, Reginópolis, SP; DZSJRP 6312, 2, 105 – 116 mm CP, rio Borá, entre Nova Aliança e Potirendaba, drenagem do Tietê, Nova Aliança, SP; DZSJRP 21342, 2, 233 – 289 mm CP, rio Sorocaba, Usina de Santa Adélia, médio rio Tietê, Tatuí, SP; DZSJRP 5388, 1, 44 mm CP, rio Borá, entre Nova Aliança e Potirendaba, drenagem do Tietê, Nova Aliança, SP.

**Descrição:** O comprimento padrão dos exemplares examinados variou entre 105 – 415 mm. Corpo achatado dorso-ventralmente, aumentando em altura da ponta do focinho até a origem do espinho dorsal, e então declinando reto e paulatinamente até a terceira placa anterior a base da nadadeira caudal. Perfil dorsal do corpo ligeiramente convexo, da ponta do focinho até a origem do espinho dorsal. Perfil da cabeça reto e levemente inclinado da ponta do focinho até a margem anterior da órbita, de onde então se nivela longitudinalmente até a origem do espinho dorsal. Perfil ventral levemente convexo, quase que completamente achatado, com a altura aumentando muito pouco até a origem dos espinhos das nadadeiras ventrais, de onde declina de maneira reta até a terceira placa anterior à base da nadadeira caudal. O espinho superior da nadadeira caudal é alongado, formando um grande filamento.

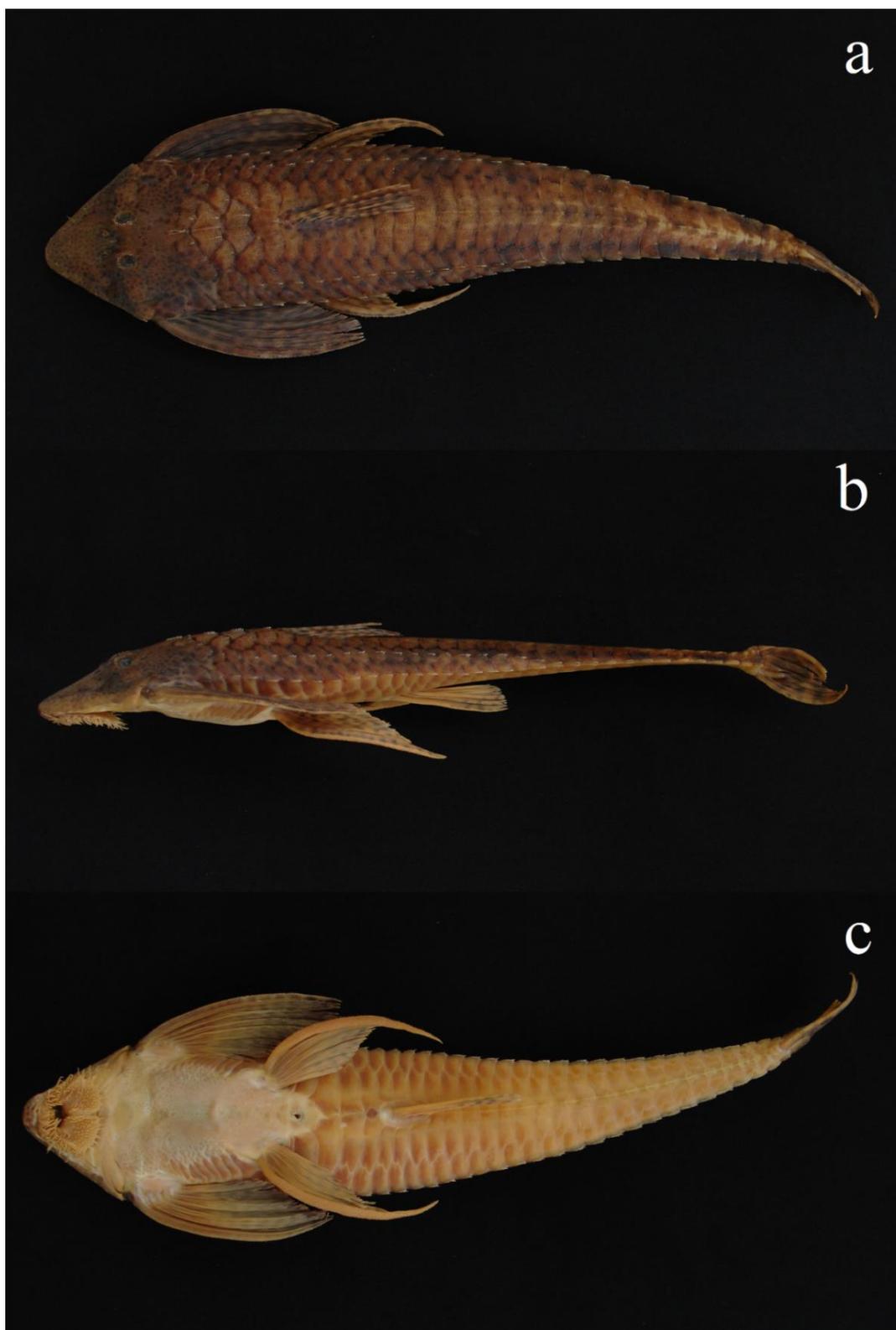
Boca ventral, com lábios finos e dotados de pequenos filamentos finos e cônicos. No lábio superior os filamentos ocorrem em maior concentração, se distribuindo por toda a superfície. Dois grandes barbilhões rictais, um de cada lado do lábio, se estendem para além do lábio inferior, ocasionalmente alcançando as aberturas branquiais. Os barbilhões rictais são ramificados, apresentando vários filamentos similares aos observados no lábio superior. O lábio inferior é amplo, dotado de filamentos menores e mais dispersos em comparação com os do lábio superior. A sua borda posterior é arredondada e dotada de filamentos mais alongados dos que os outros observados neste lábio. Dentes estão presentes tanto no pré-maxilar quanto no dentário. Cada dente possui um lóbulo externo pequeno, e um lóbulo interno maior, além de suas pontas serem arredondadas. Os dentes do pré-maxilar são curvados para o interior da boca e são mais longos, com cerca do dobro do tamanho dos observados no dentário.

Corpo totalmente coberto por placas, exceto no tórax e abdômen, onde esse caráter costuma ser variável. O abdômen pode apresentar pequenas e diminutas placas ósseas que o revestem, no entanto também pode ser visto parcialmente nu, sendo em geral um caráter inconstante na espécie. Esta característica demonstra estar mais associada com a variação do tamanho e desenvolvimento dos exemplares, com os mais jovens comumente possuindo menos

placas do que os adultos.

O parieto-supraoccipital comumente apresenta uma única linha mediana de odontódes, apesar de também ser possível observar com frequência em alguns exemplares a ocorrência de duas linhas. Adjacentes ao parieto-supraoccipital, não costuma ocorrer nenhuma placa supranumerária anterior na série de placas pareadas pré-dorsal, sendo incomum encontrar indivíduos com 1 ou 2 dessas placas posicionadas lateralmente ao parieto-supraoccipital. Placas pós-anal com número variando entre 19 e 21, sendo mais comum encontrar 20 placas.

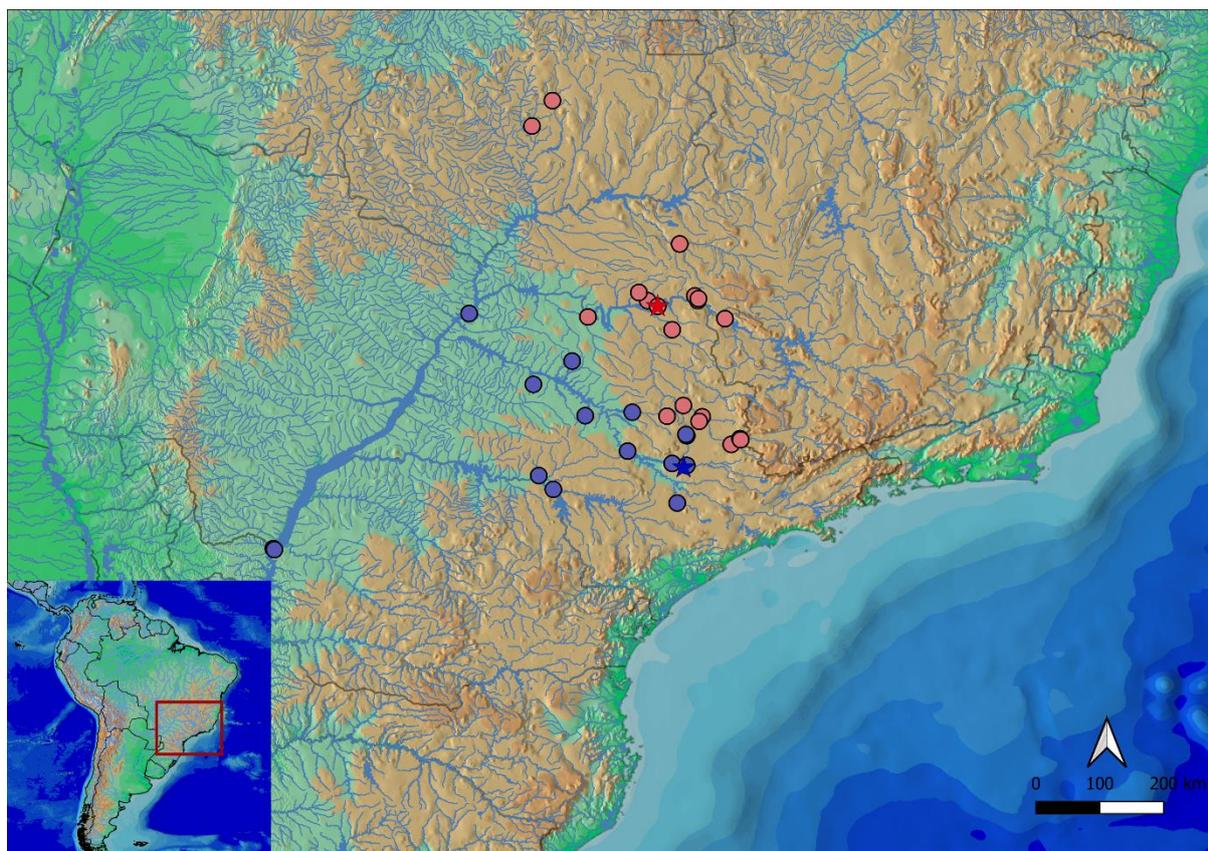
A coloração é caracterizada pela presença de várias manchas arredondadas marrom-acinzentadas, geralmente muito pequenas ou até pontuais, bem definidas e relativamente concentradas no dorso da cabeça, apesar de ser comum a observação de exemplares em que são totalmente ou parcialmente ausentes. Essa concentração de manchas diminutas pode ocorrer distribuída tanto anteriormente quanto posteriormente no dorso da cabeça, mas aquelas que se encontram situadas entre as partes mais posteriores da cabeça e anteriores do corpo são maiores. Ocorre uma faixa transversal escura na altura das narinas, que atinge a margem anterior das órbitas, caráter aparentemente muito relevante para a identificação da espécie. Essa faixa transversal escura costuma ser seguida por uma outra faixa transversal clara, menos pigmentada ou tão pigmentada quanto a região anterior à faixa transversal escura, com uma largura do tamanho do diâmetro orbital e se estendendo sobre as órbitas. No dorso do corpo são observadas manchas maiores, mal definidas e menos concentradas em relação às da cabeça, apresentando uma distribuição irregular, por vezes formando uma linha longitudinal em zig-zague de cada lado da superfície dorsal do corpo, na região de encontro entre as séries de placas dorsais com as laterais medianas.



**Figura 6** – *P. prolixa* (LISDEBE 7710, 313 mm CP). Em (a): vista dorsal; (b): vista lateral; (c): vista ventral.

#### 4.5 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

As espécies de *Proloricaria* são amplamente distribuídas na bacia do alto rio Paraná, porém o material examinado demonstra haver indícios de segregação na distribuição das duas espécies (Figura 7). *Proloricaria lentiginosa* se encontra distribuída predominantemente nas bacias dos rios Grande e Paranaíba, nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Goiás, e *Proloricaria prolixa* está distribuída nas bacias dos rios Tietê, Paranapanema e Paraná, em São Paulo, Paraná e Mato Grosso do Sul.



**Figura 7** – Mapa da distribuição das localidades dos lotes observados de *P. prolixa* (círculos azuis) e *P. lentiginosa* (círculos vermelhos). As localidades tipo de *P. prolixa* (estrela azul) e de *P. lentiginosa* (estrela vermelha) também se encontram representadas.

## 5 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho evidenciaram a distinção entre as duas espécies, corroborando a hipótese de que se trata mesmo de duas espécies distintas. As descrições originais e a diagnose feitas por Isbrücker & Nijssen (1978) e Isbrücker (1979) foram colocadas a prova, e a maioria dos caracteres utilizados para distinguir as duas formas foram revalidados. Todavia, alguns pontos nas descrições originais demonstraram ser inconsistentes para a distinção entre as espécies, sendo esse o caso da disposição de placas no abdômen em *P. prolixa* e *P. lentiginosa*. Nesse aspecto, é provável que tal caráter tenha se mostrado instável por conta de os exemplares examinados por Isbrücker comporem um número amostral reduzido em comparação ao desse trabalho, levando a uma presunção incorreta. Com o exame de 163 exemplares, cujo comprimento padrão vai de 105 a 420 mm, assegura-se que a análise incluiu desde fases de estágios juvenis até formas adultas, e permitiu constatar que tal variação estaria mais associada ao desenvolvimento ontogenético dos indivíduos de cada espécie, do que propriamente a uma distinção entre as espécies em si, sendo assim inviável que seja levada em consideração na diagnose das espécies. Além de possibilitar tal correção, essa amostra torna as descrições aqui realizadas mais robustas quanto a esse caráter e possibilita evitar erros de identificação decorrentes de variações no estágio de desenvolvimento dos exemplares.

Outro ponto que precisou de melhores esclarecimentos foi o padrão de colorido. Esse caráter, de fato, demonstrou ser preciso para a diagnose das espécies. Todavia, em Isbrücker (1979) e Isbrücker (1981), é colocado que “*Loricaria lentiginosa* difere consideravelmente no padrão de colorido: no dorso da cabeça (incluindo a margem ventralmente ossificada do focinho), há numerosos, pequenos e bem definidos pontos marrons acinzentados, ausentes em *Loricaria prolixa*”. Na realidade, alguns exemplares *P. prolixa* podem sim apresentar tais pontuações como foram descritas para *P. lentiginosa*, como evidenciado na Figura 6. Ainda assim, é compreensível tal apontamento, já que não é incomum encontrar exemplares de *P. prolixa* desprovidos dessas pontuações, seja por uma própria variação morfológica do animal, ou por decaimento ao longo do tempo em função da preservação em álcool. Por serem normalmente menos numerosas e de tamanho menor do que as observadas em *P. lentiginosa*, essas manchas são mais suscetíveis a desaparecerem nos exemplares depositados em coleções.

Quanto à coloração do corpo, alguns detalhes merecem atenção. Observa-se que em *P. prolixa*, alguns exemplares costumam apresentar as manchas distribuídas entre as séries de placas dorsais e laterais medianas fusionadas, de maneira a formar uma linha longitudinal em

zigue-zague que acompanha a divisão entre as séries de placas ao longo do corpo. Essa linha longitudinal pode aparecer tanto anteriormente quanto posteriormente no corpo, interrompida ou não. Em *P. lentiginosa*, esse arranjo é mais difícil de ser encontrado, e a distribuição de manchas é predominantemente irregular. Tal caráter havia sido suscitado anteriormente em Isbrücker & Nijssen (1978) na descrição de *Loricaria prolixa*, onde apontaram, de maneira breve, a ocorrência de manchas arredondadas marrom acinzentadas no dorso do corpo, que tendem a ser arranjadas numa linha em cada uma das metades das placas meio-dorsais.

Ainda que a ACP e os cálculos das proporções corporais não tenham sido capazes de distinguir as espécies com base na morfometria, as análises dos caracteres qualitativos e merísticos permitiram a distinção entre elas. Um dos principais resultados deste estudo foi a identificação e inclusão de dois novos caracteres diagnósticos: a presença de placas supranumerárias anteriores na série pré-dorsal, e o número de linhas de odontódes no parieto-supraoccipital. Espera-se que esses novos caracteres, junto com as correções e o melhor detalhamento das características diagnósticas originalmente apontadas por Isbrücker & Nijssen (1978) e Isbrücker (1981), como o padrão de colorido do dorso do corpo e da cabeça, permitam a distinção morfológica das espécies sem que haja mais dificuldades.

As análises moleculares demonstraram que a distância genética média (K2P) entre os exemplares de *P. lentiginosa* e *P. prolixa* foi de 3,3%, enquanto que para cada espécie divergiram internamente em 0,2% e 0%, respectivamente, o que demonstra haver coesão genética dentro dos grupos de indivíduos analisados e, principalmente, que a distância genética interespecífica superou com grande margem (cerca de 33 vezes mais) a média das distâncias genéticas intraespecíficas. Isso está de acordo com o princípio de DNA *barcoding* de que a divergência interespecífica deve ser suficientemente maior do que a divergência intraespecífica (BINGPENG et al., 2018; JAMDADE et al., 2021). O valor obtido para a distância genética interespecífica é, inclusive, mais alto que os limiares comumente adotados para a distinção de espécies de peixes utilizando o gene COI, que geralmente variam entre 1 a 2% (WANG et al., 2020). Logo, as análises moleculares sustentam a hipótese de que as espécies são de fato distintas.

Quanto à distribuição geográfica das espécies (Figura 7), há, presumivelmente, uma segregação espacial entre as espécies, uma vez que não foram analisados lotes de mesma localidade com as duas espécies. Os exemplares examinados provenientes das bacias dos rios Grande e Paranaíba pertencem a *P. lentiginosa*, e aqueles das bacias dos rios Tietê,

Parapanema, Paraná, e seus afluentes da margem direita são de *P. prolixa*. Embora a bacia do alto rio Paraná integre todas as bacias citadas, existindo, portanto, certa continuidade das águas nesse sistema, ainda assim não foi constatada sobreposição entre as distribuições das espécies. Não se sabe ao certo qual o motivo exato dessa segregação, podendo ser decorrente de um antigo processo de especiação simpátrica, ou até mesmo por interposições geográficas que levassem a redução e/ou desaparecimento de áreas de contato entre as espécies.

A segregação espacial oriunda de obstáculos geográficos naturais (e.g. cachoeiras e cascatas) já é um fenômeno observado e reconhecido na literatura da bacia do alto rio Paraná. O estudo de Silva et al. (2016) conduzido no rio Verde, no estado do Mato Grosso do Sul, atesta que mesmo pequenas barreiras naturais conseguem ser capazes de segregar comunidades de peixes, ressaltando a associação delas com os dois biótopos (montante e jusante) que são segregados espacialmente pela cachoeira Branca. Outros autores como Júlio Júnior et al. (2009) também confirmam esse tipo de segregação, como na antiga cachoeira de Sete Quedas, em Guaíra, onde algumas espécies de Loricariidae como *Hypostomus cochliodon*, *H. comersoni*, *H. ternetzi*, *H. microstomus*, *Loricariichthys rostratus* e *Loricariichthys platymetopon*, antes restritas às águas do baixo rio Paraná, à jusante da cachoeira de Sete Quedas, passaram a ser encontradas no alto rio Paraná após a construção da barragem de Itaipu, que inundou a área da cachoeira e permitiu a colonização dessas espécies nas águas à montante da antiga barreira geográfica. Ainda segundo Júlio Júnior et al. (2009), além das espécies de Loricariidae citadas, outras 27 espécies de peixes nativas da bacia do baixo rio Paraná também obtiveram sucesso nesse processo de colonização do alto rio Paraná.

Levando em consideração a existência das várias barreiras geográficas ocorrentes na bacia do alto rio Paraná, especialmente em trechos em que haveria uma possível sobreposição das distribuições de *P. prolixa* e *P. lentiginosa* (e.g. Salto de Urubupungá no alto rio Paraná, divisa entre os estados de São Paulo e Mato Grosso do Sul), há uma possibilidade de que essas interposições possam ter provocado a segregação espacial das espécies no passado, a qual pode ter se mantido mesmo após a eliminação de alguns desses obstáculos através dos alagamentos resultantes da construção de represas nas últimas décadas. As distribuições de cada espécie já estariam bem consolidadas a ponto não ocorrer novas colonizações, o que revela o padrão de distribuição notado atualmente. De qualquer maneira, explicar essa observação detalhadamente iria requerer uma investigação aprofundada sobre a geomorfologia e hidrologia da bacia do alto rio Paraná, o que foge do escopo deste trabalho.

O reconhecimento da validade de *P. prolixa* e *P. lentiginosa* neste estudo traz algumas implicações no que se refere à conservação das espécies na bacia do alto rio Paraná. Sabe-se que essa bacia sofre com uma intensa interferência antrópica, principalmente pela construção de reservatórios responsáveis por causar grandes impactos na fauna de peixes do alto rio Paraná (PELICICE et al., 2005). Esses represamentos promovem o alagamento das margens e desconfiguram em muito a dinâmica natural dos rios, alterando profundamente a capacidade de sobrevivência das espécies por reduzirem a área alagada utilizada na reprodução, além de provocarem a fragmentação e diminuição da qualidade dos habitats. Como consequência, a construção de barragens pode provocar restrições na distribuição de *P. prolixa* e *P. lentiginosa* e acentuar ainda mais a segregação espacial já observada entre elas, sendo inclusive possível que tal segregação, pelo menos em parte, seja exatamente por decorrência desse fato. Além disso, uma vez que as espécies são consideradas distintas, as populações de cada uma delas são menores do que caso fosse demonstrado o contrário, o que torna esses impactos ambientais potencialmente ainda mais nocivos à sobrevivência de ambas na bacia do alto rio Paraná.

## 6 CONCLUSÃO

As novas descrições ratificam muitos dos pontos apresentados nas descrições originais, além de retificarem e inserirem os adendos necessários principalmente naqueles em que a diagnose se baseava, como o padrão de colorido. Além disso, a inserção de novos caracteres diagnósticos foi determinante em tornar concreta a distinção morfológica entre as espécies.

De maneira geral, os dados obtidos através da aplicação da taxonomia integrativa fornecem embasamento suficiente para realizar a distinção morfológica e molecular das espécies nominais do gênero *Proloricaria*, e colaboram para minimizar as controvérsias no meio científico quanto à identificação e validade de cada uma delas. Tendo em vista todos os resultados obtidos nesse estudo, a distinção de *P. prolixa* e *P. lentiginosa* como duas espécies diferentes deve ser considerada válida.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALJANABI, S.; MARTINEZ, I. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR- based techniques. **Nucleic Acids Research**, [s. l.], v. 25, n. 22, p. 4692–4693, 1997. Disponível em: <<https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/25.22.4692>>. Acesso em: 24 jan. 2023.

AZEVEDO, F. M.; ZAWADZKI, C. H.; SORIA, T. V.; FABRIN, T. M. C.; OLIVEIRA, A. V. D.; PRIOLI, S. M. A. P.; PRIOLI, A. J. Integrative taxonomy reveals the historically poorly defined armoured catfish *Hypostomus variipictus* (Ihering 1911), from the upper rio Paraná basin, Brazil (Siluriformes, Loricariidae). **Journal of Fish Biology**, [s. l.], v. 99, n. 1, p. 143–152, 2021. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jfb.14706>>. Acesso em: 15 fev. 2023.

BINGPENG, X.; HESHAN, L.; ZHILAN, Z.; CHUNGUANG, W.; YANGUO, W.; JIANJUN, W. DNA barcoding for identification of fish species in the Taiwan Strait. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 13, n. 6, p. e0198109, 2018. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0198109>>. Acesso em: 23 fev. 2023.

COVAIN, R.; FISCH-MULLER, S.; OLIVEIRA, C.; MOL, J. H.; MONTOYA-BURGOS, J. I.; DRAY, S. Molecular phylogeny of the highly diversified catfish subfamily Loricariinae (Siluriformes, Loricariidae) reveals incongruences with morphological classification. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, [s. l.], v. 94, p. 492–517, 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1055790315003218>>. Acesso em: 24 jan. 2023.

COVAIN, R.; FISCH-MULLER, S. The genera of the Neotropical armored catfish subfamily Loricariinae (Siluriformes: Loricariidae): a practical key and synopsis. **Zootaxa**, [s. l.], v. 1462, n. 1, p. 1–40, 2007. Disponível em: <<https://biotaxa.org/Zootaxa/article/view/zootaxa.1462.1.1>>. Acesso em: 24 jan. 2023.

DAYRAT, B. Towards integrative taxonomy: INTEGRATIVE TAXONOMY. **Biological Journal of the Linnean Society**, [s. l.], v. 85, n. 3, p. 407–415, 2005. Disponível em: <<https://academic.oup.com/biolinnean/article-lookup/doi/10.1111/j.1095-8312.2005.00503.x>>. Acesso em: 24 jan. 2023.

FERRARIS, C. J., Jr. Loricariinae. In: Reis, R.E., Kullander, S.O.; Ferraris, C.J., Jr. (Eds.), **Check list of the Fresh-water Fishes of South and Central America**. Porto Alegre: EDIPUCRS, p. 330–350, 2003.

FERRARIS, C. J., Jr. Checklist of catfishes, recent and fossil (Osteichthyes: Siluriformes), and catalogue of siluriform primary types. **Zootaxa**, [s. l.], v. 1418, n. 1, p. 1–628, 2007. Disponível em: <<https://biotaxa.org/Zootaxa/article/view/zootaxa.1418.1.1>>. Acesso em: 24 jan. 2023.

FISCH-MULLER, S.; MOL, J. H. A.; COVAIN, R. An integrative framework to reevaluate the Neotropical catfish genus *Guyanancistrus* (Siluriformes: Loricariidae) with particular emphasis on the *Guyanancistrus brevispinis* complex. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. e0189789, 2018. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0189789>>. Acesso em: 24 jan. 2023.

FRICKE, R.; ESCHMEYER, W. N.; FONG, J. D. 2021 Eschmeyer's Catalog of fishes: Genera/species by family/subfamily.

(<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>).  
Electronic version accessed 21 may 2021.

FROEHLICH, O.; CAVALLARO, M.; SABINO, J.; SÚAREZ, Y. R.; VILELA, M. J. A. Checklist da ictiofauna do Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Iheringia. Série Zoologia**, [s. l.], v. 107, n. suppl, 2017. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0073-47212017000200251&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0073-47212017000200251&lng=pt&tlng=pt)>. Acesso em: 24 jan. 2023.

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

ISBRÜCKER, I. J. H.; NIJSSEN, H. Two new species and a new genus of neotropical mailed catfishes of the subfamily Loricariinae Swaisson, 1838 (Pisces, Siluriformes, Loricariidae). **Beaufortia**, v. 27, n. 339, p. 177-206, 1978.

ISBRÜCKER, I. J. H. Descriptions préliminaires de nouveaux taxa de la famille des Loricariidae, poissons-chats cuirassés néotropicaux, avec un catalogue critique de la sous-famille nominale (Pisces, Siluriformes). **Revue française d'Aquariologie Herpétologie**, v. 5, n. 4, p. 86-117, 1979.

ISBRÜCKER, I. J. H. Revision of Loricaria Linnaeus, 1758 (Pisces, Siluriformes, Loricariidae). **Beaufortia**, v. 31, n. 3, p. 51-96, 1981.

ISBRÜCKER, I. J. H.; SEIDEL, I.; MICHELS, J. P.; SCHRAML, E.; WERNER, A. Diagnose vierzehn neuer Gattungen der Familie Loricariidae Rafinesque, 1815 (Teleostei, Ostariophysi). **Datz - Sonderheft Harnischwelse**, 2, p.17-24, 2001.

JAMDADE, R.; UPADHYAY, M.; AL SHAER, K.; AL HARTHI, E.; AL SALLANI, M.; AL JASMI, M.; AL KETBI, A. Evaluation of Arabian Vascular Plant Barcodes (rbcL and matK): Precision of Unsupervised and Supervised Learning Methods towards Accurate Identification. **Plants**, [s. l.], v. 10, n. 12, p. 2741, 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2223-7747/10/12/2741>>. Acesso em: 23 fev. 2023.

JEREP, F. C. **Cascudos (Loricariidae; Siluriformes) da Bacia do Médio e Baixo rio Paranapanema, Alto rio Paraná, Brasil**. 262 p., 2006. Dissertação (Mestrado em Zoologia), Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

JÚLIO JÚNIOR, H. F.; DEI TÓS, C.; AGOSTINHO, Â. A.; PAVANELLI, C. S. A massive invasion of fish species after eliminating a natural barrier in the upper rio Paraná basin. **Neotropical Ichthyology**, [s. l.], v. 7, n. 4, p. 709–718, 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1679-62252009000400021&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-62252009000400021&lng=en&tlng=en)>. Acesso em: 23 fev. 2023.

KEARSE, M.; MOIR, R.; WILSON, A.; STONES-HAVAS, S.; CHEUNG, M.; STURROCK, S.; BUXTON, S.; COOPER, A.; MARKOWITZ, S.; DURAN, C.; THIERER, T.; ASHTON, B.; MEINTJES, P.; DRUMMOND, A. Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. **Bioinformatics**, [s. l.], v. 28, n. 12, p. 1647–1649, 2012. Disponível em:

<<https://academic.oup.com/bioinformatics/article/28/12/1647/267326>>. Acesso em: 22 fev. 2023.

KUSUKAWA, N.; UEMORI, T.; ASADA, K.; KATO, I. Rapid and reliable protocol for direct sequencing of material amplified by the polymerase chain reaction. **Biotechniques**, 9, p. 66-72, 1990.

LANGGANI, F.; CASTRO, R. M. C. E; 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**, [s. l.], v. 7, n. 3, p. 181–197, 2007. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1676-06032007000300020&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-06032007000300020&lng=pt&tlng=pt)>. Acesso em: 24 jan. 2023.

LONDOÑO-BURBANO, A.; REIS, R. E. A combined molecular and morphological phylogeny of the Loricariinae (Siluriformes: Loricariidae), with emphasis on the *Harttiini* and *Farlowellini*. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 16, n. 3, p. e0247747, 2021. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0247747>>. Acesso em: 24 jan. 2023.

LONDOÑO-BURBANO, A.; URBANO-BONILLA, A.; THOMAS, M. R. *Loricaria cuffyi* (Siluriformes: Loricariidae), a new species of loricariin catfish from the Guiana Shield. **Journal of Fish Biology**, [s. l.], v. 98, n. 1, p. 154–167, 2020. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jfb.14566>>. Acesso em: 24 jan. 2023.

OLIVEIRA, A. K. **Composição e distribuição da ictiofauna de tributários do Rio Mogi Guaçu e do Rio Corumbataí, Estado de São Paulo**. 144 p., 2006. Dissertação (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais), Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

OTA, R. R.; DEPRÁ, G. de C.; GRAÇA, W. J. Da; PAVANELLI, C. S. Peixes da planície de inundação do alto rio Paraná e áreas adjacentes: revised, annotated and updated. **Neotropical Ichthyology**, [s. l.], v. 16, n. 2, 2018. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1679-62252018000200202&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-62252018000200202&lng=en&tlng=en)>. Acesso em: 24 jan. 2023.

PANTE, E.; SCHOELINCK, C.; PULLANDRE, N. From Integrative Taxonomy to Species Description: One Step Beyond. **Systematic Biology**, [s. l.], v. 64, n. 1, p. 152–160, 2015. Disponível em: <<https://academic.oup.com/sysbio/article/64/1/152/1634986>>. Acesso em: 24 jan. 2023.

PELICICE, F. M.; AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C. Biodiversidade e conservação de peixes na planície de inundação do alto rio Paraná. **Cadernos da Biodiversidade**, Curitiba, v.5, n.1, p. 34-44, 2005. Disponível em: <<http://repositorio.uem.br:8080/jspui/handle/1/5167>>. Acesso em: 28 mar 2023.

PEREIRA, L. H.; HANNER, R.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. Can DNA barcoding accurately discriminate megadiverse Neotropical freshwater fish fauna? **BMC Genetics**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 20, 2013. Disponível em: <<http://bmgenet.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2156-14-20>>. Acesso em: 22 fev. 2023.

DE QUEIROZ, K. Species Concepts and Species Delimitation. **Systematic Biology**, [s. l.], v.

56, n. 6, p. 879–886, 2007. Disponível em: <<https://academic.oup.com/sysbio/article/56/6/879/1653163>>. Acesso em: 24 jan. 2023.

RAPP PY-DANIEL, L. H. **Phylogeny of the Neotropical armored catfishes of the subfamily Loricariinae (Siluriformes, Loricariidae)**. The University of Arizona, 1997. 284 p.

RATNASINGHAM, S.; HEBERT, P. D. N. A DNA-Based Registry for All Animal Species: The Barcode Index Number (BIN) System. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 8, n. 7, p. e66213, 2013. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0066213>>. Acesso em: 24 jan. 2023.

RIBEIRO, D. de C.; CHAGAS, J. M. A.; THEREZA, M. R.; LANGEANI, F. Checklist and key for the identification of fish fauna of the Uberaba River, Upper Paraná River system, Brazil. **ZooKeys**, [s. l.], v. 875, p. 129–155, 2019. Disponível em: <<https://zookeys.pensoft.net/article/31977/>>. Acesso em: 24 jan. 2023.

SCHAEFER, S. A. Conflict and Resolution: Impact of new taxa on phylogenetic studies of the neotropical cascudinhos (Siluroidei: Loricariidae). In: MALABARBA, L. R.; REIS, R. E.; VARI, R. P.; LUCENA, Z. M. S.; LUCENA, C. A. S. **Phylogeny and classification of Neotropical fishes**. Porto Alegre: EDIPUCRS, p. 375-400, 1998.

SCHLICK-STEINER, B. C.; STEINER, F. M.; SEIFERT, B.; STAUFFER, C.; CHRISTIAN, E.; CROZIER, R. H. Integrative Taxonomy: A Multisource Approach to Exploring Biodiversity. **Annual Review of Entomology**, [s. l.], v. 55, n. 1, p. 421–438, 2010. Disponível em: <<https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-ento-112408-085432>>. Acesso em: 24 jan. 2023.

SILVA, J. C.; GUBIANI, É. A.; PIANA, P. A.; DELARIVA, R. L. Effects of a small natural barrier on the spatial distribution of the fish assemblage in the Verde River, Upper Paraná River Basin, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, [s. l.], v. 76, n. 4, p. 851–863, 2016. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1519-69842016000400851&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-69842016000400851&lng=en&tlng=en)>. Acesso em: 23 fev. 2023.

THEREZA, M. B. **Guia de Identificação dos Peixes Siluriformes (Teleostei: Ostariophys) da bacia do rio Grande, Alto rio Paraná**. 104 p., 2018. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) - Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto.

THOMAS, M. R.; RAPP PY-DANIEL, L. H. Three new species of the armored catfish genus *Loricaria* (Siluriformes: Loricariidae) from river channels of the Amazon basin. **Neotropical Ichthyology**, [s. l.], v. 6, n. 3, p. 379–394, 2008. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1679-62252008000300011&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-62252008000300011&lng=en&tlng=en)>. Acesso em: 24 jan. 2023.

THOMPSON, J. D.; HIGGINS, D. G.; GIBSON, T. J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**, [s. l.], v. 22, n. 22, p. 4673–4680, 1994. Disponível em: <<https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/22.22.4673>>. Acesso em: 24 jan. 2023.

WANG, T.; ZHANG, Y.; YANG, Z.; LIU, Z.; DU, Y. DNA barcoding reveals cryptic diversity in the underestimated genus *Triplophysa* (Cypriniformes: Cobitidae, Nemacheilinae) from the

northeastern Qinghai-Tibet Plateau. **BMC Evolutionary Biology**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 151, 2020. Disponível em: <<https://bmcevolbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12862-020-01718-0>>. Acesso em: 23 fev. 2023.

WARD, R. D.; ZEMLAK, T. S.; INNES, B. H.; LAST, P. R.; HEBERT, P. D. N. DNA barcoding Australia's fish species. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, [s. l.], v. 360, n. 1462, p. 1847–1857, 2005. Disponível em: <<https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rstb.2005.1716>>. Acesso em: 24 jan. 2023.