

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Curso de Ciências Biológicas: Ênfase Ambiental

João Paulo de Miranda Santos

**Revisão e descrição das espécies do Clado “P” *sensu*
Bockmann, 1998 (Ostariophysi: Siluriformes:
Heptapteridae)**

Porto Alegre
2014

João Paulo de Miranda Santos

**Revisão e descrição das espécies do Clado “P” *sensu*
Bockmann, 1998 (Ostariophysi: Siluriformes:
Heptapteridae)**

**Trabalho de Conclusão de Curso de Bacharel em Ciências
Biológicas – ênfase Ambiental**

**Orientador: Prof. Dr.
Luiz Roberto Malabarba**

**Porto Alegre
2014**

CIP - Catalogação na Publicação

Miranda, João Paulo Santos
Revisão e descrição das espécies do Clado "P" sensu
Bockmann, 1998 (Ostariophysi: Siluriformes:
Heptapteridae) / João Paulo Santos Miranda. -- 2014.
42 f.

Orientador: Luiz Roberto Malabarba.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto
de Biociências, Bacharelado em Ciências Biológicas,
Porto Alegre, BR-RS, 2014.

1. Heptapteridae. 2. Morfologia. 3. Barcoding. 4.
Heptapterus sp.. 5. Peudeptapterus. I. Roberto
Malabarba, Luiz, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

João Paulo de Miranda Santos

**Revisão e descrição das espécies do Clado “P” *sensu*
Bockmann, 1998 (Ostariophysi: Siluriformes:
Heptapteridae)**

**Trabalho de Conclusão de
Curso de Bacharel em Ciências
Biológicas – ênfase Ambiental**

Aprovado em _____/_____/_____

Banca examinadora:

M. Sc. Priscilla Caroline Silva

M. Sc. Rafael Angrizani

Prof. Dr. Luiz Roberto Malabarba

Orientador

Porto Alegre 15 de Dezembro de 2014

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos os meus amigos por tornar mais fácil esta jornada.

Agradeço ao prof. Dr. Luiz Roberto Malabarba e ao prof. Dr. Flavio Alicino Bockmann por me confiar este trabalho em que aprendi muito.

Agradeço a meu Pai José Antônio, minha mãe Maria Cândida, minha irmã Ana Paula e minha namorada Daniela pelo apoio nos momentos difíceis.

RESUMO

A família Heptapteridae é endêmica da região Neotropical e um dos principais componentes da ordem Siluriformes da fauna de cabeceira de rios da América do Sul e Central (Bockmann, 1998). São peixes de pequeno e médio porte composta por 31 gêneros válidos. O gênero *Heptapterus* inclui 11 espécies amplamente distribuídas na região Neotropical (Suriname até Buenos Aires). Bockmann (1998) propôs em sua tese não publicada, 11 clados monofiléticos na família dentre eles o chamado clado “Ps”, aparentado com as espécies do gênero *Heptapterus*. Reconheceu três morfótipos pertencentes a este clado para os sistemas costeiros do sul do Brasil (rios Araranguá, Cubatão, Itajá-Açu, Tubarão, Mampituba, Jacuí, Tramandaí e sistema da laguna dos Patos) e bacia do rio Uruguai, sendo um morfótipo endêmico deste último sistema. Eles apresentam os seguintes caracteres diagnósticos: boca ventral; ramo pós-orbital do canal sensorial supra-orbital ausente; barbilhão maxilar não atingindo a origem da nadadeira peitoral; tronco com padrão de pigmentação “marmoreado” e focinho cônico. O objetivo do presente estudo é revisar e descrever as espécies do clado “Ps” *sensu* Bockmann (1998), utilizando técnicas morfológicas e moleculares de obtenção de dados. As análises morfométricas e merísticas possibilitaram a definição de 3 morfótipos, denominados aqui de *Heptapterus* sp. 1, *Heptapterus* sp. 2 e *Heptapterus* sp. 3. *Heptapterus* sp. 1 difere de *H.* sp. 2 pela largura do corpo próximo a inserção da nadadeira pélvica (8,2-9,1% do Comprimento Padrão-CP *vs.* 9,3-11,8 % do CP, respectivamente). *Heptapterus* sp. 1 difere de *H.* sp. 3 no número de raios da nadadeira anal (11-13 raios *vs.* 15-18 raios, respectivamente); largura do corpo próximo a inserção da nadadeira peitoral (12,1-13,6 % do CP *vs.* 14,2-15,9 % do CP, respectivamente); largura do corpo próximo a inserção da nadadeira pélvica (8,2-9,1 % do CP *vs.* 9,6-11,6 % do CP, respectivamente); altura do corpo (9,3-11,4 % do CP *vs.* 12,6-16,4 % do CP, respectivamente); distância pré- dorsal (33,8-36,4 % do CP *vs.* 37,8-39,6 % do CP,

respectivamente); distância medida da inserção do primeiro raio da nadadeira pélvica até a inserção do primeiro raio da nadadeira anal (26,6-30,8 % do CP vs. 21,1-25,4 % do CP, respectivamente); comprimento do pedúnculo caudal (21,8-24,9 % do CP vs. 17,7-20,8 % do CP, respectivamente); comprimento da base da nadadeira anal (12,7-14,6 % do CP vs. 17,3-20,8 % do CP, respectivamente); comprimento da nadadeira anal (16,7-18,5 % do CP vs. 21,0-24,9 % do CP, respectivamente); altura da cabeça medida na posição dos olhos (44,5-48,3 % do CP vs. 51,0-56,1 % do CP, respectivamente); e comprimento do barbilhão maxilar (49,9-58,9 % do Comprimento da cabeça-CC vs. 59,9-70,7 % do CC, respectivamente).

Heptapterus sp. 2 difere de *H. sp. 3* pelo número de raios da nadadeira anal (11-14 raios vs. 15-18 raios, respectivamente); distância medida da inserção do primeiro raio da nadadeira pélvica até a inserção do primeiro raio da nadadeira anal (25,9-28,7 % do CP vs. 21,1-25,4 % do CP, respectivamente); comprimento da base da nadadeira anal (12,9-16,9 % do CP vs. 17,3-20,8 % do CP, respectivamente). A análise osteológica permitiu diagnosticar um quarto morfótipo denominado de *Heptapterus* sp. 4. *Heptapterus* sp. 1 e *H. sp. 2* difere de *H. sp. 3* e *H. sp. 4* pela morfologia da fontanela posterior (delgada em relação a sua porção posterior vs. não delgada, respectivamente). *Heptapterus* sp. 1 difere de *H. sp. 2*, *H. sp. 3* e *H. sp. 4* pela morfologia da margem do osso lateral etmoide (muito côncavo vs. pouco côncavo ou concavidade central acentuada, respectivamente). *Heptapterus* sp. 4 difere de *H. sp. 1*, *H. sp. 2* e *H. sp. 3* pela morfologia da margem do osso lateral etmoide (concavidade central acentuada vs. pouco côncavo, respectivamente); pela morfologia da margem do osso cleitro (concavidade central acentuada vs. pouco côncavo ou sem concavidade, respectivamente).

Heptapterus sp. 3 difere de *H. sp. 1*, *H. sp. 2* e *H. sp. 4* pelo número de vértebras (16 vértebras pré-caudais + 36 vertebras caudais vs. 18 vértebras pré-caudais + 39 vertebras caudais, respectivamente); pela morfologia da margem posterior do cleitro (sem concavidade central vs. com concavidade central, respectivamente). Para análise molecular utilizando o gene

mitocondrial CO-I (Citocromo C Oxidase I), os resultados mostram 4 grupos genéticos: bacia do rio Tramandaí (*H. sp. 1*), bacia da laguna dos Patos drenagem Alto-Jacuí (*H. sp. 2*), Taquari-Antas (*H. sp. 3*) e um outro grupo genético diferente para a bacia do rio Mampituba refutando a hipótese de apenas um morfótipo (*H. sp. 1*) coexistindo nas bacias dos rios Tramandaí, Mampituba e Araranguá.

SUMÁRIO

Agradecimentos	v
Resumo.....	vi
Sumário	ix
Lista de tabela e figuras.....	xi
1 Introdução.....	1
2 Objetivos.....	3
2.1 Objetivo geral	3
2.2 Objetivos específicos	4
3 Material e métodos	4
3.1 Estudo morfológico.....	4
3.1.1 Material examinado	4
3.1.2 Análise do material.....	4
3.1.3 Análise dos dados morfométricos e merísticos	8
3.2 Análise molecular	8
3.2.1 Material examinado	8
3.2.2 Extração e amplificação de DNA	8
3.2.3 Análise das sequencias	9
4 Resultados.....	9
4.1 Análise morfológica.....	9
4.1.1 Heptapterus sp. 1 (Fig. 2).	10

4.1.2	Heptapterus sp. 2 (Fig. 3).	12
4.1.3	Heptapterus sp. 3 (Fig. 4).	13
4.1.4	Heptapterus sp. 4 (Fig. 5).	14
4.2	Análise molecular	16
4.2.1	Material utilizado (H. sp. 1)	16
4.2.2	Material utilizado (H. sp. 2)	17
4.2.3	Material utilizado (H. sp. 4)	17
5	Nota ecológica	17
6	Discussão	17
7	Conclusão	19
8	Bibliografia	20
9	Tabela e figuras	22

LISTA DE TABELA E FIGURAS

Tabela 1. Dados morfométricos e merísticos de *Heptapterus* sp.

Fig. 1. Mapa de distribuição de *Heptapterus* sp. Quadrado vermelho: *H. sp. 1*; Circulo amarelo: *H. sp. 2*; Pentágono verde: *H. sp. 3*; Estrela azul: *H. sp. 4*; TRA= bacia do rio Tramandaí; Mam= drenagem do rio Mampituba; Ara= bacia de Araranguá; AJA= drenagem do Alto Jacuí URU=bacia do rio Uruguai.

Fig. 2. *H. sp. 1*; lote UFRGS 16431; comprimento padrão: 113,05mm; vista lateral.

Fig. 3. *H. sp. 2*; lote UFRGS 6878; comprimento padrão:116,90mm; vista lateral.

Fig. 4. *H. sp. 3*; lote UFRGS 10728; comprimento padrão: 109,98 mm; vista lateral.

Fig. 5. *H. sp. 1*; lote UFRGS 8834; comprimento padrão: 97,26mm; vista lateral.

Fig. 6. Número de raios da nadadeira anal de *Heptapterus* sp. 1, *H. sp. 2* e *H. sp. 3*.

Fig. 7. Comprimento do pedúnculo caudal como função do comprimento padrão de *H. sp. 1* (círculos pretos; $R^2 = 0.93$, $P < 0.05$) *H. sp. 2* (círculos brancos; $R^2 = 0.90$, $P < 0.05$).

Fig. 8. Comprimento da base da nadadeira anal como função do comprimento padrão de *H. sp. 1* (círculos pretos; $R^2 = 0.77$, $P < 0.05$) *H. sp. 2* (círculos brancos; $R^2 = 0.93$, $P < 0.05$).

Fig. 9. Comprimento da base da nadadeira anal como função do comprimento padrão de *H. sp. 1* (círculos pretos; $R^2 = 0.77$, $P < 0.05$) *H. sp. 3* (círculos brancos; $R^2 = 0.99$, $P < 0.05$).

Fig. 10. Comprimento da nadadeira anal como função do comprimento padrão de *H. sp. 1* (círculos pretos; $R^2 = 0.88$, $P < 0.05$) *H. sp. 3* (círculos brancos; $R^2 = 0.99$, $P < 0.05$).

Fig. 11. Distância pré-dorsal como função do comprimento padrão de *H. sp. 2* (círculos pretos; $R^2 = 0.98$, $P < 0.05$) *H. sp. 3* (círculos brancos; $R^2 = 0.99$, $P < 0.05$).

Fig. 12. Comprimento da nadadeira adiposa como função do comprimento padrão de *H. sp. 2* (círculos pretos; $R^2 = 0.96$, $P < 0.05$) *H. sp. 3* (círculos brancos; $R^2 = 0.99$, $P < 0.05$).

Fig. 13. Vista dorsal do crânio de *Heptapterus* sp. *H. sp. 1* tra. UFRGS 17532, *H. sp. 1* mam. UFRGS 15982, CP: 70,09 mm; *H. sp. 2*, UFRGS 6986, CP:73,39 mm; *H. sp. 3*, UFRGS 6976, CP: 53,26 mm; *H. sp. 4*, UFRGS 16804, CP: 62,87mm. Abreviações: SU- supraoccipital; FP- fontanela posterior (fontanela posterior em evidência-amarelo); FA-

fontanela anterior; FR- frontal; ME- mesethmoide; LE- lateral etmoide; tra- Tramandaí; mam- Mampituba.

Fig. 14. Vista lateral do crânio de *Heptapterus* sp. H. sp. 2, UFRGS 6986, CP:73,39 mm; H. sp. 3, UFRGS 6976, CP: 53,26 mm; H. sp. 4, UFRGS 16804, CP: 62,87 mm. Abreviações: SU- supraoccipital; FP- fontanela posterior; FA- fontanela anterior; FR- frontal; ME- mesethmoide; cle-Cleitro (margem posterior do cleitro em evidência- amarelo).

Fig. 15. Vista dorsal do crânio de *Heptapterus* sp. H. sp. 1 tra. UFRGS 17532, H. sp. 1 mam. UFRGS 15982, CP: 70,09 mm; H. sp. 2, UFRGS 6986, CP:73,39 mm; H. sp. 3, UFRGS 6976, CP: 53,26 mm; H. sp. 4, UFRGS 16804, CP: 62,87 mm. Abreviações: SU- supraoccipital; FP- fontanela posterior; FA- fontanela anterior; FR- frontal; ME- mesethmoide; LE- lateral etmoide (margem posterior do lateral etmoide em evidência- amarelo); tra- Tramandaí; mam- Mampituba.

Fig. 16. Cladograma gerado utilizando o programa Neighbor Joining. Para calcular as distâncias genéticas entre as espécies utilizou-se o modelo *Kimura-2-parameter* (K2P). Os números e nos nós indicam os aos valores *bootstrap*.

1 INTRODUÇÃO

Os bagres (no inglês *catfish*) é a denominação popular para alguns representantes da ordem Siluriformes, possuindo importância comercial e esportiva. Siluriformes é um dos grupos de teleósteos mais diversificado morfologicamente (Bockmann, 1998). É composto por peixes de pele nua e também por peixes com o corpo coberto por placas ósseas, popularmente chamados de cascudos. Dentro da ordem Siluriformes existem espécies de pequeno porte, com 20 mm de comprimento padrão e outras espécies de grande porte com 3 m de comprimento como o *Silurus glanis* do Velho Mundo (Menezes, 2007). Formam um grupo monofilético que já era proposto desde Cuvier (1816). É composto por 3093 espécies válidas distribuídas por 478 gêneros e 36 famílias, entre espécies recentes e fósseis (Ferraris, 2007).

A família Heptapteridae da Ordem Siluriformes tem distribuição restrita a Região Neotropical, ocorrendo na América central e América do sul (Menezes, 2007). É um dos principais componentes da ordem Siluriformes da fauna de cabeceira de rios da América do Sul e Central (Bockmann, 1998). São peixes de pequeno e médio porte. É composta por 31 gêneros válidos (*Acentronichthys*, *Brachyglanis*, *Brachyrhamdia*, *Pimelodella*, *Rhamdia*, *Rhamdella*, *Rhamdioglanis*, *Rhamdiopsis*, *Taunayia*, *Typhlobagrus*, *Cetopsorhamdia*, *Chasmocranus*, *Gladioglanis*, *Goeldiella*, *Horiomyzon*, *Imparales*, *Imparfinis*, *Leptorhamdia*, *Mastiglanis*, *Myoglanis*, *Nannorhamdia*, *Phenacorhamdia*, *Medemichthys*, *Nannoglanis*, *Pariolius*, *Nemuroglanis*, *Phenacorhamdia*, *Rhamdella*, *Phreatobius*, *Typhlobagrus* e *Heptapterus*), 208 espécies válidas e 297 espécies ainda sendo avaliadas (Eschmeyer, 2014). Segundo Nelson (2006), a Família é definida pelos seguintes caracteres: pele normalmente nua, três pares de barbilhão, nadadeira adiposa longa, nadadeira caudal profundamente bifurcada.

O gênero *Heptapterus* da família Heptapteridae é representado por 11 espécies amplamente distribuídas do Suriname até Buenos Aires, e ao longo da região Andina da Argentina, Bolívia e Peru Azpelicueta (2011). Bockmann (1998) diagnostica o gênero pelos seguintes caracteres: 54-57 vértebras; 18-20 raios na nadadeira anal; mais de 26 raios no lobo inferior da nadadeira caudal; e porção látero-posterior do tronco com pigmentos alinhados ao longo dos mioseptos, demarcando o limite entre os miômeros. Como caracteres auxiliares: 8-9 raios branquiostégios; 5-15 rastros no ceratobranquial 1; 0-2 rastros no epibrânquial 1, 0-1 na maioria; 49-57 vértebras; 6-10 costelas pleurais; I+5-I+8 raios na nadadeira peitoral; 18-21 raios na nadadeira anal; 44-49 raios na nadadeira caudal, sendo 17-19 no lobo superior e 26-31 no lobo inferior; 6 raios ramificados no lobo superior da nadadeira caudal e 5-8 no lobo inferior, geralmente 6; 7 raios articulados à placa hipural superior e 5 à inferior; radial basal 1 da nadadeira dorsal inserido acima ou logo atrás do espinho neural da vértebra 11-13, geralmente 12; base do primeiro raio da nadadeira ventral localizado logo abaixo do centro vertebral 14-15, geralmente 15; radial basal 1 da nadadeira anal inserido abaixo ou logo atrás do espinho hemal da vértebra 27-28; origem da nadadeira adiposa logo acima do centro vertebral 24-26.

Dentre os representantes do gênero *Heptapterus*, *H. mustelinus* é a espécie tipo do gênero. Conhecido popularmente como bagre pedra e charutinho é uma espécie amplamente distribuída nas porções baixas das bacias dos rios Paraná-Paraguai e Uruguai, laguna dos Patos e rios costeiros do Uruguai e sul do Brasil (Bockmann & Guazelli, 2003). Na bacia do rio Tramandaí ocorre nas porções médias e baixas dos rios Maquiné e Três Forquilhas (Malabarba *et al.*, 2013). Esta espécie é considerada como críptica e possivelmente o que hoje é denominado *Heptapterus mustelinus*, seja um complexo de espécies.

Bockmann (1998) propôs em sua tese não publicada, 11 clados monofiléticos na família dentre eles o chamado clado “Ps”, aparentado com as espécies do gênero *Heptapterus*.

Ele reconheceu três morfótipos pertencentes a este clado para os sistemas costeiros do sul do Brasil (rios Araranguá, Cubatão, Itajáí-Açu, Tubarão, Mampituba, Jacuí, Tramandaí e sistema da laguna dos Patos) e bacia do rio Uruguai, sendo um morfótipo endêmico deste último sistema. Eles apresentam os seguintes caracteres diagnósticos: boca ventral; ramo pós-orbital do canal sensorial supra-orbital ausente; barbilhão maxilar não atingindo a origem da nadadeira peitoral; tronco com padrão de pigmentação “marmoreado” e focinho cônico.

A filogenia em Bockmann (1998) foi baseada em caracteres morfológicos. Apesar de não estar presente em seu trabalho, as técnicas moleculares são ferramentas presentes nos estudos de filogenia, biogeografia e nas descrições de espécies atualmente. A utilização do *DNA Barcoding* foi proposto por Hebert *et al.* (2003) para uso do gene mitocondrial Citocromo Oxidase subunidade I (Cox 1) como um sistema global de identificação para as plantas e animais, simplificando, um “código de barras do *DNA*”. Trata-se de uma sequência formada de 648 pares de bases do gene mitocondrial citocromo oxidase subunidade I (COI) (Hebert *et al.*, 2003). Esta técnica tem revelado espécies crípticas difíceis de identificar usando métodos morfológicos tradicionais (Hebert *et al.*, 2004). *Neste trabalho são empregadas análises moleculares e morfológicas para obter mais riqueza de dados e clareza nos resultados.*

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo do presente estudo é revisar e descrever as espécies do clado “Ps” sensu Bockmann (1998).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Diagnosticar as possíveis novas espécies através de dados, morfométricos, merísticos e osteológicos.

Avaliar a diversidade genética dentro do grupo utilizando como marcador molecular sequencias de *DNA* da região *COI* do *mtDNA*.

Comparar os resultados obtidos pelo estudo morfológicos com os resultados moleculares.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ESTUDO MORFOLÓGICO

3.1.1 Material examinado

Todos os lotes de exemplares identificados como sendo do gênero *Heptapterus* pertencentes à coleção ictiológica do Departamento de Zoologia da UFRGS foram revisados e os espécimes separados de acordo com os caracteres morfológicos proposto em Bockmann (1998) para o clado “Ps”.

3.1.2 Análise do material

Os espécimes foram separados por bacia e sub-bacia. Os padrões morfológicos foram identificados, comparando indivíduos da mesma bacia hidrográfica e indivíduos de bacias hidrográficas diferentes, assim, estimando morfótipos. Estes morfótipos foram submetidos a 36 medidas e 6 contagens baseados em Anza (2006), no entanto, como algumas medidas estavam configuradas para grupos de peixes com morfologia diferente do grupo de estudo, algumas medidas foram alteradas. As medidas foram obtidas em linha reta, de ponto-a-ponto, feitas em relação ao lado esquerdo de cada espécime. As medidas contagens utilizadas neste trabalho são:

- DNA - distância entre as margens externas das narinas anteriores;
- DNAP - distância entre a margem anterior da narina anterior e a margem posterior da narina posterior;
- CP - comprimento padrão (medido da ponta do focinho à margem posterior das placas hipurais);
- LC - largura do corpo (medida no ponto de maior largura do cleitro, anterior à origem do espinho das nadadeiras peitorais);
- LC1 - largura do corpo (medida do corpo na origem das nadadeiras pélvicas);
- AC - altura do corpo (medida na origem do primeiro raio da nadadeira dorsal);
- DPD - distância pré-dorsal (medida da ponta do focinho à origem do primeiro raio da nadadeira dorsal);
- DDC - distância dorsal-caudal (medida da origem do primeiro raio da nadadeira dorsal à margem posterior das placas hipurais);
- DDAD - distância entre as nadadeiras dorsal e adiposa (medida da origem do primeiro raio da nadadeira dorsal à origem da nadadeira adiposa);
- DPP - distância pré-peitoral (medida da ponta do focinho à origem das nadadeiras peitorais);
- DPV - distância pré-ventral (medida da ponta do focinho à origem das nadadeiras pélvicas);
- DPAN - distância pré-anal (medida da ponta do focinho à origem do primeiro raio da nadadeira anal);
- DPEAN - distância pélvica-anal (medida da origem das nadadeiras pélvicas à origem do primeiro raio anal);
- CPC - comprimento do pedúnculo caudal (medido da origem do último raio da nadadeira anal a margem posterior das placas hipurais);

- APC - altura do pedúnculo caudal (altura do corpo na extremidade posterior da origem da nadadeira adiposa);
- CNP - comprimento da nadadeira pélvica (medido da origem à extremidade do primeiro raio da nadadeira pélvica);
- CBAN - comprimento da base da nadadeira anal (medido da origem do primeiro raio à origem do último raio da nadadeira);
- CNAN - comprimento da nadadeira anal (medida do primeiro raio à projeção no corpo da extremidade posterior da nadadeira);
- CBD - comprimento da base da nadadeira dorsal (medida da origem do primeiro raio do último raio da nadadeira);
- AND - altura da nadadeira dorsal (medida da origem da nadadeira à extremidade do segundo raio mole);
- CED - comprimento do primeiro raio da nadadeira dorsal (medido da origem à extremidade do espinho, considerando apenas a porção enrijecida do espinho);
- CEP - comprimento do primeiro raio da nadadeira peitoral (medido da origem à extremidade do primeiro raio);
- CBAD - comprimento da base da nadadeira adiposa (medido da origem ao limite posterior da nadadeira);
- CC - comprimento da cabeça (medido da ponta do focinho à margem posterior óssea do opérculo);
- CF - comprimento do focinho (medida da ponta do focinho ao centro das órbitas);
- ACab - altura da cabeça nos olhos (medida vertical da altura da cabeça na base do processo supra – occipital);
- ORB - diâmetro da órbita (medida na maior horizontal entre as margens anterior e posterior da órbita);

- DIO - distância interorbital (menor distância entre as órbitas);
- LB - largura da boca (medida da uma extremidade à outra, incluindo o sulco submandibular presente em cada uma das extremidades);
- LPMx - largura da placa dentígena pré-maxilar (medida da maior distância entre as margens anterior e posterior da placa pré-maxilar esquerda);
- CPMx - comprimento da placa dentígena pré-maxilar (medida entre as margens externa e interna da placa pré-maxilar esquerda);
- LPMb - largura da placa dentígena mandibular (medida da maior distância entre as margens anterior e posterior da placa mandibular esquerda);
- CPMb - comprimento da placa dentígena mandibular (medida entre as margens externa e interna da placa mandibular esquerda);
- DBM - distância entre as margens externas das bases dos barbilhões maxilares;
- DNOP - menor distância entre a margem anterior da narina posterior e a margem anterior da órbita.

Para as medidas foi utilizado um paquímetro eletrônico com preciso de 0,01 mm. Para as contagens, medidas de exemplares menores que 90 mm e medidas relacionadas a raios e subunidades da cabeça foi utilizando um microscópio estereoscópio.

Exemplares de cada sistema, previamente identificados, foram submetidos ao processo de diafanização em seguida corados para diferenciação dos ossos e cartilagens, conforme o método de Taylor & Van Dyke (1985). Os exemplares diafanizados e corados para estudo osteológico estão depositados na Coleção Ictiológica do Departamento de Zoologia da UFRGS.

3.1.3 *Análise dos dados morfométricos e merísticos*

Os dados morfométricos e merísticos foram analisados através do programa EXCEL. Os caracteres morfométricos e merísticos foram plotados no Sigma plot 12.0 e gerados gráficos de Regressão Linear Múltipla para os dados morfológicos. As contagens foram analisadas em gráficos BoxPlot. Ambos com de valor de $\alpha=5\%$.

As medidas consideradas subunidades do comprimento da cabeça foram primeiramente analisadas como proporções do comprimento da cabeça e as medidas consideradas subunidades do comprimento padrão foram analisadas como proporções do comprimento padrão.

3.2 ANÁLISE MOLECULAR

3.2.1 *Material examinado*

Para a análise molecular, foram utilizados espécimes da coleção de tecidos do laboratório de Ictiologia do Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, UFRGS. Amostras da bacia da laguna dos Patos (sistema Taquari-Antas e sistema Alto Jacuí), bacia do rio Tramandaí (rios Maquiné e Três Forquilhas), bacia do rio Mampituba e bacia do rio Uruguai.

3.2.2 *Extração e amplificação de DNA*

O DNA foi extraído de tecidos conservados em álcool 96% seguindo o protocolo modificado de precipitação em sal (Medrano *et al.*, 1990). Em seguida, submetido à amplificação pela técnica de reação em cadeia da polimerase (*Polimerase Chain Reaction*, PCR). Para amplificar a região COI, foram utilizados os primers *foward* fishF2_t1 (TGTA AACGACGGCCAGTCGACTAATCATAAAGATATCGGCAC) e VF2_t1 (TGTA AACGACGGCCAGTCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC) e *reverse* FishR2_t1 (CAGGAAACAGCTATGACACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA) e

FR1d_t1 (CAGGAAACAGCTATGACACCTCAGGGTGTCCGAARAAAYCARAA) para o gene COXI (*mitochondrial Citocromo C Oxidase*). Para as reações de PCR, com volume de 20µL, foram utilizados os seguintes reagentes e suas respectivas concentrações: cerca de 1µL do DNA extraído, 2µL de cada primer (0,2µg cada), 2µL de dNTP (0,2µg), 2µL de tampão, 0,6µL de MgCl₂ (1,5mM), 0,1µL de Taq DNA polimerase platinum (Invitrogen) e 10,3µL de água destilada. O sucesso das reações foi verificado com eletroforese em gel de agarose 1%. Em seguida, as amostras foram purificadas utilizando-se EXOSAP. Os fragmentos amplificados foram purificados e sequenciados pela empresa ACTGENE.

3.2.3 Análise das sequências

As sequências geradas e os cromatogramas foram visualizados e editados no programa o BioEdit 7 (Hall, 1999). As sequências foram automaticamente alinhadas com o software Clustal/W. Foi gerado um cladograma utilizando o programa Neighbor Joining e para calcular as distâncias genéticas entre as espécies utilizou-se o modelo *Kimura-2-parameter* (K2P) (Kimura, 1980). A correção das distâncias nucleotídicas e a confiabilidade de cada nó foi estimada pelo método de bootstrap, com 1000 réplicas (Felsenstein, 1985).

4 RESULTADOS

Os resultados obtidos foram divididos em duas partes: na primeira parte são apresentados os resultados das análises morfológicas e na segunda parte são apresentados os resultados das análises moleculares. Os dados morfométricos e merísticos de *Heptapterus* sp. 1, *H.* sp. 2, *H.* sp. 3 e *H.* sp. 4 são apresentados na Tabela 1.

4.1 ANÁLISE MORFOLÓGICA

As análises morfológicas permitem diagnosticar três morfótipos. *Heptapterus* sp. 1 é encontrado nas drenagens costeiras do rio Mampituba, Tramandaí e Araranguá, assim como

na sub bacia Taquari-Antas do sistema da laguna dos Patos (Fig. 1). *Heptapterus* sp. 2 é encontrado no sistema da laguna dos Patos nas sub bacias do alto rio Jacuí e rios Taquari-Antas e na bacia do rio Uruguai (Fig. 1). *Heptapterus* sp. 3 é encontrado somente na bacia do rio Uruguai (Fig. 1). A análise osteológica possibilitou diagnosticar um quarto morfótipo ocorrendo na laguna dos Patos, drenagem Taquari-Antas e no Sistema do rio Uruguai (Fig. 1). As listas de material examinado apresentadas neste trabalho estão subdivididas de acordo com a bacia hidrográfica e trazem a seguinte ordem de apresentação de informações: número de catálogo; número de exemplares examinados; município, estado e país.

4.1.1 *Heptapterus* sp. 1 (Fig. 2).

Diagnose: *Heptapterus* sp. 1 difere de *H.* sp. 2 pelo número de raios da nadadeira anal (11-14 raios vs. 15-18 raios, respectivamente) (Fig. 6), pelo comprimento do pedúnculo caudal (21,5-25,8 % do CP vs. 13,8-18,6 % do CP, respectivamente) (Fig. 7) e pelo comprimento da base da nadadeira anal (12,7-15,7 % do CP vs. 17,3-22,0 % do CP, respectivamente) (Fig. 8).

Heptapterus sp. 1 difere de *H.* sp. 3 pelo comprimento da base da nadadeira anal (11,3-16,9 % do CP vs. 17,4-22,8 % do CP, respectivamente) (Fig. 9), pelo comprimento da nadadeira anal (16,1-22,3 % do CP vs. 22,5-26,6 % do CP, respectivamente) (Fig. 10) e pelo comprimento da base da nadadeira adiposa (35,0-43,6 % do CP vs. 44,0-48,0 % do CP, respectivamente).

Diagnose osteológica: *Heptapterus* sp. 1: Apresenta 18 + 39 vertebras. Possui a porção média-posterior ou posterior da fontanela posterior– FP (Fig. 13) ampla quando comparada com a porção inferior, sendo que este último se afunila consideravelmente tornando-se bastante delgada. A margem posterior do cleitro-cle é levemente côncava (Fig. 14). Apresenta margem posterior do osso lateral etmoide-LE côncava (Fig. 15)

Material examinado (*H. sp. 1*) - Morfometria e Merística

Bacia do rio Tramandaí (Sistemas Maquiné e Três Forquilhas):

- UFRGS 3963, 2ex., Maquiné, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 5006, 1 ex., Maquiné, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 6300, 2 ex., Itati, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 8834, 1 ex., Maquiné, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 15548, 2 ex., Três Forquilhas, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 16540, 5 ex., Itati, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 16902, 2 ex., Maquiné, Rio Grande do Sul, Brasil.

Sistema Mampituba:

- UFRGS 10870, 1 ex.; Praia Grande, Santa Catarina, Brasil.
- UFRGS 15974, 2 ex.; Praia Grande, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 15982, 3 ex.; Praia Grande, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 15983, 1 ex.; Praia Grande, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 15987, 1 ex.; Mampituba, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 16005, 2 ex.; Praia Grande, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 16081, 2 ex.; Praia Grande, Santa Catarina, Brasil.
- UFRGS 16087, 1 ex.; Praia Grande, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 17230, 2 ex.; Praia Grande, Rio Grande do Sul, Brasil.

Sistema Araranguá:

- UFRGS 6340, 1 ex.; Trevisco, Santa Catarina, Brasil.

Material examinado (*H. sp. 1*) - Osteologia

Bacia do rio Tramandaí (Sistemas Maquiné e Três Forquilhas):

- UFRGS 17352, (1ex).
- UFRGS 15548, (1ex).

Sistema Mampituba:

- UFRGS 15982, (1ex); Praia Grande, Rio Grande do Sul, Brasil
- UFRGS 16005, (2ex); Praia Grande, Rio Grande do Sul, Brasil
- UFRGS 16081, (2ex); Praia Grande, Rio Grande do Sul, Brasil

4.1.2 *Heptapterus* sp. 2 (Fig. 3).

Diagnose: *Heptapterus* sp. 2 difere de *H.* sp. 1 pelo número de raios da nadadeira anal (15-18 raios vs. 11-14 raios, respectivamente) (Fig. 6), pelo comprimento do pedúnculo caudal (13,8-18,6 % do CP vs. 21,5-25,8 % do CP, respectivamente) (Fig. 7) e pelo comprimento da base da nadadeira anal (17,3-22,0 % do CP vs. 12,7-15,7 % do CP, respectivamente) (Fig. 8).

Heptapterus sp. 2 difere de *H.* sp. 3 pela distância pré-dorsal (33,3-36,1% do CP vs. 36,3-40,9 % do CP, respectivamente) (Fig. 12) e pelo comprimento da base da nadadeira adiposa (36,7-43,6 % do CP vs. 44,0-48,0 % do CP, respectivamente) (Fig. 13).

Diagnose osteológica: *Heptapterus* sp. 2 apresenta 18 + 39 vertebras. A morfologia da fontanela posterior– FP é mais uniforme na porção média, afunilando nas extremidades (Fig. 13). A margem posterior do cleitro-cle é levemente côncava (Fig. 14). Possui margem do osso lateral etmoide-LE com menor concavidade centralizada (Fig. 15).

Material examinado (*H.* sp. 2) – Morfometria e Merística

Bacia da Laguna dos Patos (sistema Alto Jacuí):

- UFRGS 4170, Santa Bárbara do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 5808, Júlio de Castilhos, Rio Grande do Sul, Brasil.

- UFRGS 14976, 1 ex., Júlio de Castilhos, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 14991, Cruz Alta, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 19613, 5 ex., Espumoso, RS; Brasil.
- UFRGS 19614, 3 ex., Quinze de Novembro, RS, Brasil.
- UFRGS 19615, 2 ex., Quinze de Novembro, RS, Brasil.
- UFRGS 19616, 6 ex., Tapera, RS, Brasil.
- UFRGS 19617, 5 ex., Espumoso, RS; Brasil.

Material examinado (*H. sp. 2*) – Osteologia

Bacia da Laguna dos Patos (sistema Taquari Antas):

- UFRGS 6878 *H. sp. 2* (2ex), Bacia da Laguna dos Patos (sistema Taquari Antas) Jaquirana, Rio Grande do Sul, Brasil.

Bacia da Laguna dos Patos (sistema Alto Jacuí):

- UFRGS 19619 *H. sp. 2* (2ex.), Bacia da Laguna dos Patos (sistema Alto Jacuí) Mormaço, RS, Brasil.

4.1.3 Heptapterus sp. 3 (Fig. 4).

Diagnose: *Heptapterus sp. 3* difere de *H. sp. 1* pelo comprimento da base da nadadeira anal (17,4-22,8 % do CP vs. 11,3-16,9 % do CP, respectivamente) (Fig. 9), pelo comprimento da nadadeira anal (22,5-26,6 % do CP vs. 16,1-22,3 % do CP, respectivamente) (Fig. 10) e pelo comprimento da base da nadadeira adiposa (44,0-48,0 % do CP vs. 35,0-43,6 % do CP, respectivamente).

Heptapterus sp. 3 difere de *H. sp. 2* pela distância pré-dorsal (36,3-40,9 % do CP vs. 33,3-36,1% do CP, respectivamente) (Fig. 11) e pelo comprimento da base da nadadeira adiposa (44,0-48,0 % do CP vs. 36,7-43,6 % do CP, respectivamente) (Fig. 12).

Diagnose osteológica: *Heptapterus* sp. 3 difere de todos os outros morfótipos por apresentar um menor número de vertebras com 16 + 36 vertebras. Apresenta a porção posterior da fontanela posterior– FP mais uniforme, afunilando na sua extremidade. É mais ampla na extremidade anterior, originando assim um formato de clava (Fig. 13). A margem posterior do cleitro-cle possui uma silhueta bastante suave na porção lateral-ventral, formando uma leve concavidade na porção superior, mas não na região central da margem (Fig. 14). Também possui a margem do osso lateral etmoide-LE com concavidade menos acentuada (Fig. 15).

Material examinado (*H. sp. 3*) - Morfometria e Merística

- UFRGS 6976, (6 ex.).
- UFRGS 10728, (1ex.); Trindade do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil.

Material examinado (*H. sp. 3*) - Osteologia

- UFRGS 6976, (3ex.), Bacia do rio Uruguai.

4.1.4 Heptapterus sp. 4 (Fig. 5).

Diagnose osteológica: *Heptapterus* sp. 4 apresenta 18 + 39 vertebras. A porção posterior da fontanela posterior– FP é mais uniforme, afunilando na sua extremidade posterior. Apresenta na sua extremidade anterior morfologia globosa. (Fig. 15). Possui a margem posterior do cleitro-cle com concavidade na região central da margem acentuada (Fig. 16). A margem do osso lateral etmoide-LE com concavidade menor, central e acentuada (Fig. 17).

Material examinado (*H. sp. 4*) - Morfometria e Merística

Bacia da Laguna dos Patos (sistema Taquari Antas):

- UFRGS 9187, 4 ex.; Veranópolis, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 9706, 3 ex., Dois Lajeados, Rio Grande do Sul, Brasil.

- UFRGS 10100, 40 ex.; Dois Lajeados, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 10436, 1 ex., Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 11126, 1 ex., Veranópolis, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 11951, 1 ex., Nova Roma do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 12292, 2 ex., Serafina Corrêa, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 13893, Serafina Corrêa, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 14200, 3 ex., Marques de Souza, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 14264, 1 ex., Marques de Souza, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 16431, 1 ex., Monte Alegre dos Campos, Rio Grande do Sul, Brasil.

Bacia do rio Uruguai:

- UFRGS 4167, 1 ex., Ijuí, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 5817, 3ex., Carazinho, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 5826, 1ex., Carazinho, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 6982, 4 ex., Lages, Santa Catarina, Brasil.
- UFRGS 6985, 2 ex., Lages, Santa Catarina, Brasil.
- UFRGS 10815, 4 ex., Entre-Ijuis, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 11398 2 ex.; Nonoai, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 11880, 1 ex., Vacaria, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 11896, 1 ex., Vacaria, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 15746, 1, ex., Três Passos, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 16458, 2 ex., Três Passos, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 16804, 7 ex., Vacaria, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 17592, 2 ex., Vacaria, Rio Grande do Sul, Brasil.

Material examinado (*H. sp. 4*) - Osteologia

- UFRGS 14200, (2ex.), Bacia da Laguna dos Patos (sistema Taquari Antas), Marques de Souza, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 13188, (1ex.), Bacia da Laguna dos Patos (sistema Taquari Antas), Ipê, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 13282, (1ex.), Bacia da Laguna dos Patos (sistema Taquari Antas), Dois Lajeados, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 16804, (3ex), Bacia do rio Uruguai, Vacaria, Rio Grande do Sul, Brasil.

4.2 ANÁLISE MOLECULAR

A partir dos dados moleculares foi construído um cladograma (Fig. 13). As Amostras da bacia do rio Tramandaí, drenagem do rio Maquiné e rio Três Forquilhas, bacia do rio Mampituba e bacia da laguna dos Patos drenagem, Alto-Jacuí e Taquari-Antas, formam 4 grupos genéticos distintos. Os valores de *bootstrap* são de 94% para a hipótese de um grupo *Heptapterus*. sp. 1 (amarelo) para a bacia do rio Tramandaí; 99% para hipótese de um grupo *H*. sp. 2 (azul), para a bacia da laguna dos Patos, Alto-Jacuí; 98% para a hipótese de um grupo *H*. sp. 4 (verde), para a bacia da laguna dos Patos, Taquari-Antas e 98% para a hipótese de um novo de um grupo geneticamente diferente para o gene mitocondrial Cito cromo Oxidase subunidade I para a bacia do rio Mampituba (vermelho).

4.2.1 Material utilizado (*H. sp. 1*)

Sistema Mampituba:

- UFRGS 12722, 1 ex., TEC 1459, Vila São João, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 17223, 3 ex., TEC 3228, Praia Grande, Rio Grande do Sul, Brasil.
- UFRGS 17230, 2 ex., TEC 3235, Praia Grande, Rio Grande do Sul, Brasil.

Bacia do rio Uruguai:

- UFRGS 18229, 2 ex., TEC 3728, Condor, Rio Grande do Sul, Brasil.

4.2.2 *Material utilizado (H. sp. 2)*

Bacia da Laguna dos Patos (sistema Alto Jacuí):

- UFRGS17933, 5 ex., TEC 3606, Espumoso, Rio Grande do sul Brasil.

Bacia do rio Uruguai:

- UFRGS 15284, TEC 1900, 1 ex., Panambi, Rio Grande do Sul, Brasil.

4.2.3 *Material utilizado (H. sp. 4)*

Bacia da Laguna dos Patos (sistema Taquari-Antas):

- UFRGS 17901, TEC 3235, 2 ex., Dois Lajeados, Rio Grande do Sul, Brasil.

5 NOTA ECOLÓGICA

Heptapterus sp. 2, ocorre em ambiente de riacho, com correntezas médias a rápidas. É considerada uma espécie invertívora, se alimentando principalmente de invertebrados aquáticos em sua fase larval, grande quantidade de *Aegla* sp., plantas terrestres e Megalopteras em pequenas proporções mas em maiores frequências (Bonato & Fialho, 2014).

Não há registros ecológicos de H. sp. 1, H. sp. 3 e H. sp. 4.

6 DISCUSSÃO

Bockmann (2008), propõe um novo gênero denominado *Pseudeptapterus*. Este “gênero” é composto por 3 espécies, diagnosticadas, como citado anteriormente, por um conjunto de caracteres: boca ventral; ramo pós-orbital do canal sensorial supra-orbital ausente; barbilhão maxilar não atingindo a origem da nadadeira peitoral; tronco com padrão de pigmentação marmoreado; focinho cônico. Estes caracteres foram reconhecidos no material analisado, no entanto, alguns morfótipos apresentaram algumas particularidades.

O caráter “boca ventral” foi observado em todos os espécimes, no entanto, apresenta-se menos evidente em *H. sp. 3*. O barbilhão curto é claramente observado em *H. sp. 1*, *H. sp. 2* e *H. sp. 4*, principalmente nos exemplares de maior porte. O morfótipo *H. sp. 3*, apresenta o barbilhão mais alongado, no entanto, não ultrapassando a origem da nadadeira peitoral. A coloração marmoreada é facilmente notada em *H. sp. 1* e *H. sp. 2*. Alguns exemplares apresentaram este padrão de coloração mesmo depois de anos fixado em formol 20% e conservados em álcool 70%. Os exemplares *H. sp. 3* apresentaram o padrão marmoreado discreto no dorso, e, no exemplar de maior porte, a coloração variou de marrom a marrom claro na lateral e no ventre. Nos exemplares de menor porte, sua coloração é escura no dorso, e variando de marrom a marrom claro no ventre. O padrão marmoreado não é evidente, no entanto, podem ter perdido devido ao tempo de conservação. Os exemplares de *H. sp. 4* apresentaram coloração marrom e ventre mais claro, variando de marrom a branco, muito semelhante a *H. mustelinus*, como descrito em Malabarba *et al.* (2013). O focinho apresentou morfologia cônica em todos os exemplares. O caracter “ramo pós-orbital do canal sensorial supra-orbital ausente” foi identificado em *H. sp. 1*, *H. sp. 2* e *H. sp. 4*, no entanto, não foi claramente reconhecido em *H. sp. 3* nos exemplares preparados para análise osteológica.

Quanto a distribuição dos morfótipos, o clado “Ps” está distribuído pelo sistema costeiro do sul do Brasil e Uruguai, assim como os morfótipos aqui apresentados. *Pseudepterus sp. n. A* é diagnosticado para sistema costeiro do sul brasileiro, bacia do rio Araranguá, bacia do rio Mampituba e bacia do rio Tramandaí, assim como *Heptapterus sp. 1*, possivelmente se tratando da mesma espécie. *Pseudepterus sp. n. B* foi descrito para sistema costeiro do sul brasileiro, bacia do Cubatão, bacia do Itajaí-Açu, bacia da lagoa dos Patos, drenagem do rio Jacuí e sistema do rio Uruguai. Segundo os dados morfológicos e distribuição dos indivíduos estudados, possivelmente, seja *H. sp. 2*, registrado para bacia laguna dos Patos Alto-Jacuí, Taquari-Antas e sistema Uruguai. *H. sp. 3*, apresentou-se restrito

ao sistema Uruguai enquanto *H. sp. 4* possui distribuição para a bacia laguna dos Patos Taquari-Antas e Uruguai. A ausência de informações sobre *Pseudepterus sp. n. C*, impossibilita relacioná-lo aos morfótipos *H. sp. 3* e *H. sp. 4*.

As análises genéticas, utilizando o *DNA Barcoding*, corrobora os resultados morfométricos, merísticos e osteológicos, apresentando grupos genéticos consistentes para a bacia do rio Tramandaí, (*Heptapterus sp. 1*), drenagem do rio Maquiné e rio Três Forquilhas e bacia da laguna dos Patos drenagem Alto-Jacuí (*H. sp. 2*) e Taquari-Antas (*H. sp. 4*). Os resultados genéticos sugerem a existência de um novo morfótipo para a bacia do rio Mampituba, no entanto, análises morfológicas, merísticas e osteológicas refutam este resultado. Neste presente trabalho foi considerado um único morfótipo *Heptapterus sp. 1* coexistindo nas bacias dos rios Mampituba, Tramandaí e Araranguá, no entanto, novas análises serão feitas para e comparadas com os resultados obtidos neste trabalho. Por não possuir material conservados em álcool 98% para extração de *DNA* do morfótipo *H. sp. 3* e morfótipo *H. sp. 1* da bacia do rio Araranguá não foi possível incluí-los nas análises moleculares. Também não obtivemos resultados moleculares dos morfótipo *H. sp. 2* da bacia do rio Uruguai pois não foi obtido sucesso no PCR deste morfótipo.

7 CONCLUSÃO

Os resultados corroboram a hipótese de Bockmann (1998) para a existência de um morfótipo para a bacia dos rios Araranguá, Mampituba e rio Tramandaí assim como para a existência de outro morfótipo ocorrendo na bacia laguna dos Patos, Alto-Jacuí, sistema Uruguai e uma nova ocorrência para a drenagem Taquari-Antas. Devido à falta de informações sobre o morfótipo *P. sp. n. C* de Bockmann (2008), endêmico sistema Uruguai, não se pode concluir se trata-se de *H. sp. 3*, também endêmico para o sistema Uruguai, de *H. sp. 4*, ou se *P. sp. n. C* é um outro não apresentado neste trabalho.

8 BIBLIOGRAFIA

- Anza, J. A. 2006. Revisão das espécies do gênero *Rhamdia* (Siluriformes: Heptapteridae) de drenagens costeiras do sul e sudeste do Brasil, um exemplo de diversidade subestimada do gênero. Dissertação de mestrado, UFRGS, Porto Alegre, 135 p.
- Azpelicueta, M.L.M. 2011. *Heptapterus mbya* (Siluriformes: Heptapteridae), a new species of catfish from the Paraná river basin, in Argentina. *Revue Suisse de Zoologie*, 118: 319-327.
- Bockmann, F. A. 1998. Análise filogenética da família Heptapteridae (Teleostei, Ostariophysi, Siluriformes) e redefinição de seus gêneros. Tese de Doutorado, USP, São Paulo, 423p.
- Bockmann, F. A. & G. M. Guazzelli. 2003. Family Heptapteridae (heptapterids). Pp. 406-431. In: Reis, R. E., S. O. Kullander & C. J. Ferraris, Jr. (Eds.). Check list of the freshwater fishes of South and Central America. Porto Alegre, Edipucrs, 729p.
- Bonato, K. O. & Fialho, C. B. 2014. Prova de partição de nicho sob influências Ontogenéticas entre três Siluriformes morfologicamente semelhantes em pequenas Subtropical Streams. *PLoS ONE* 9 (10).
- Cuvier [, G.]. 1816. Le règne animal distribué d'après son organisation, pour servir de base à l'histoire naturelle des animaux et d'introduction à l'anatomie comparée. Avec figures dessinées d'après nature. Tome II, contenant les reptiles, les poissons, les mollusques et les annélides. Paris, Deterville. 532 p.
- Eschmeyer W. N. & J. D. Fong 2014. Species of Fishes by family/subfamily. Acesso em: 12/08/2014.
- Excoffier, L., G. Laval, S. Schneider. 2005. Arlequin 3.01: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinformatics Online* 1: 47-50.
- Ferraris, C. J. 2007. Checklist of catfishes, recent and fossil (Osteichthyes: Siluriformes), and catalogue of siluriform primary types. *Zootaxa*, 1418:1-628.
- Fink, W. L. & S. H. Weitzman. 1974. The so-called cheirodontin characids of Central America, with descriptions of two new species (Pisces: Characidae). *Smithsonian Contributions to Zoology*, 172: 1-46.

- Hall, T. A. 1999. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 95-98.
- Hebert, P. D. N., A. Cywinska, S. L. Ball & J. R. DeWaard. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *P. Roy. Soc. B-Biol. Sci.*, 270: 313–321.
- Hebert, P. D.N.; H. E. Penton, M. J. Burns, H. D. Janzen & W. Wallwachs. 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *PNAS*, Washington, v. 101, p. 14812-14817.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.*, 16: 111–120.
- Malabarba, L. R., P. Carvalho Neto, V. A. Bertaco, T. P. Carvalho, J. Ferrer dos Santos & L. G. S. Artioli. 2013. *Guia de Identificação de Peixes da Bacia do Rio Tramandaí*. Porto Alegre: Ed. Via Sapiens, 2013. 140p.
- Medrano, J. F., E. Aasen & L. Sharrow. 1990. DNA extraction from nucleated red blood cells. *Biotechniques*, 8(1): 43.
- Menezes, N. A., S. E. Weitzman, O. T. Oyakawa, F. C. Lima, R. M. C. C. Castro, & M. J. Weitzman. 2007. *Peixes de água doce da Mata Atlântica: lista preliminar das espécies e comentários sobre conservação de peixes de água doce neotropicais*. São Paulo: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo. v. 1. 407p.
- Nelson, J. 2006. *Fishes of the World*. New York. Fourth edition, 601p.
- Souza-Shibatta, L., P. L. Forim, F. D. Gomes, A. F. Simoes, S. S. Helena & S. O. Akio. 2013. Cryptic species of the genus *Pimelodella* (Siluriformes: Heptapteridae) from the Miranda River, Paraguay River basin, Pantanal of Mato Grosso do Sul, Central Brazil. *Neotropical Ichthyology*. 11(1): 101-109.
- Taylor, W. R. & G. C. Van Dyke. 1985. Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. *Cybium*, 9: 107-109.

9 TABELA E FIGURAS

Tabela 1: Dados morfométricos e merísticos de *Heptapterus* sp.

	<i>H. sp. 1</i>				<i>H. sp. 2</i>				<i>H. sp. 3</i>				<i>H. sp. 4</i>			
	Min	Max	Med	DP	Min	Max	Med	DP	Min	Max	Med.	DP	Min	Max	Med	DP
Cp (mm)	70,09	167,88	109,32	-	52,71	121,20	82,97	-	54,67	109,98	82,33	-	51,12	148,73	100,24	-
Porcentagens do comprimento padrão (Cp)																
LC	12,1	14,6	13,5	0,68	13,5	15,4	14,3	0,46	12,8	14,6	13,7	1,27	12,3	17,3	14,2	1,27
LC1	8,2	10,6	9,6	0,66	8,7	10,8	9,7	0,56	9,5	10,9	10,2	1,01	8,6	11,8	10,1	0,88
AC	11,3	14,2	12,9	0,79	10,6	15,6	12,5	1,07	11,8	12,6	12,2	0,58	9,9	15	12,3	1,33
DPD	33,1	37,2	35,4	1,16	36,3	40,9	38,2	0,99	35,8	40,9	38,3	3,63	32,5	39,3	36,2	1,79
DDC	64,8	69,7	66,7	1,47	60,3	65,8	62,9	1,42	60,9	65,5	63,2	3,25	52	59,7	56,4	1,98
DDAp	23,3	26,7	25	0,97	17,9	24,9	21,2	1,57	16,4	17,9	17,2	1,04	13,7	19,7	16,5	1,81
DPP	17,4	19,9	18,7	0,7	19,2	22,6	20,7	0,83	21,3	65,4	43,3	31,20	16,6	22	19	1,33
DPV	34,6	39,4	36,3	1,16	36,2	41,6	39,5	1,21	38,7	40,8	39,8	1,49	34,7	40,1	37,5	1,57
DPAN	60,6	65,9	63,5	1,57	62,4	66,7	64,3	1,27	61,9	64,7	63,3	2,02	62,5	68,6	65	1,37
DPEAN	25,3	29,7	27,9	1,09	22,0	27,6	24,9	1,13	22,8	23,5	23,2	0,49	26,2	30,8	28	1,29
CPC	21,5	25,8	22,8	1,05	13,8	18,6	16,8	1,12	16,2	16,5	16,3	0,22	18,2	25,1	22,3	1,96
APC	7,4	9,4	8,4	0,58	7,1	9,0	8,1	0,44	8,6	10,3	9,4	1,24	7	10	8,8	0,69
CNP	11	14,8	13	1,01	10,6	15,3	13,4	1,16	11,1	12,9	12,0	1,32	6,2	14,8	9,7	2,36
CBAN	12,7	15,7	14	0,84	17,3	22,0	19,3	1,37	20,1	22,8	21,5	1,88	11,3	16,9	14,2	1,55
CNAN	17,6	22,3	19,5	1,2	21,9	26,6	24,0	1,17	24,3	26,6	25,5	1,60	16,1	22,3	18,9	1,62
CBD	8,7	13,9	9,8	1,17	9,1	10,6	10,0	0,40	9,4	10,7	10,0	0,96	8,8	10,9	9,9	0,57
AND	11,5	16	13,8	1,32	12,2	17,5	15,0	1,25	12,3	15,2	13,8	2,02	9,5	16,3	12,9	1,77
CED	8,7	12,8	10,8	1,26	8,3	13,4	11,6	1,19	9,8	12,6	11,2	2,01	8,1	13,7	10,3	1,45
CEP	8,7	11,8	10,3	1,07	8,1	11,8	10,1	0,99	8,6	10,0	9,3	0,98	7,8	12,1	9,6	1,2
CBAd	35,3	41,3	39	1,74	36,7	44,8	40,6	1,79	41,2	48,0	44,6	4,84	35	44,3	38,9	2,23
CC	17,8	19,9	18,9	0,63	19,5	23,0	21,2	0,90	20,2	22,6	21,4	1,68	16,5	22,5	19	1,6
Porcentagens do comprimento da cabeça																
CF	43,2	49,3	46,3	1,87	40,1	49,0	45,0	2,31	45,5	46,6	46,0	0,80	43,3	51,2	47,4	2,01
AC ab	35	40,4	38,8	1,6	30,9	40,1	35,0	2,05	39,5	41,8	40,6	1,61	35,7	44,9	39,4	2,63
AC ab1-a	48,8	54,6	51	1,52	43,7	50,9	46,4	1,99	48,8	50,5	49,7	1,22	43,1	54,6	49,9	2,87
ORB	9	14,1	11,3	1,2	10,0	14,6	12,3	1,15	9,3	13,8	11,6	3,12	6,2	13,5	11,2	1,85
DIO	15,3	21,1	18,3	1,75	13,2	19,4	16,1	1,68	15,9	19,1	17,5	2,26	17,4	29,1	24,5	2,81
LB	47	53,2	50,4	2,19	40,7	52,6	47,0	2,79	45,3	56,8	51,1	8,13	43,7	52,2	47,5	2,25
DBM	35	43,9	40,5	1,94	34,1	42,4	38,0	2,05	40,5	41,2	40,8	0,51	34,3	43,7	38,4	2,02
DNA	19,7	25,2	21,2	1,36	19,4	25,7	22,0	1,43	23,6	23,9	23,7	0,19	18,5	23,2	21	1,32
DNAP	19,2	23,4	21	1,14	19,7	22,9	21,3	0,94	21,7	24,1	22,9	1,73	19,3	25,8	22,3	1,51
DNPO	12,5	17,8	15,1	1,26	10,4	16,0	13,3	1,29	12,9	14,9	13,9	1,37	12,2	19,7	16,3	1,74
Contagens																
RA	11	14	12,7	0,79	15	20	16,8	1,38	18	18	18,0	0,00	10	14	12,4	0,96
RD	7	7	7	0	6	7	6,9	0,25	7	7	7,0	0,00	7	8	7	0
RP	9	11	10,1	0,6	9	10	9,3	0,48	9	9	9,0	0,00	8	10	8,9	0,38
RPL	6	6	6	0	6	6	6,0	0,00	6	6	6,0	0,00	5	6	6	0,19
RCS	6	7	6,4	0,51	6	7	6,2	0,43	6	6	6,0	0,00	6	8	6,5	0,64
RCl	6	8	7,2	0,66	6	8	7,1	0,43	6	7	6,5	0,71	6	9	7,2	0,82

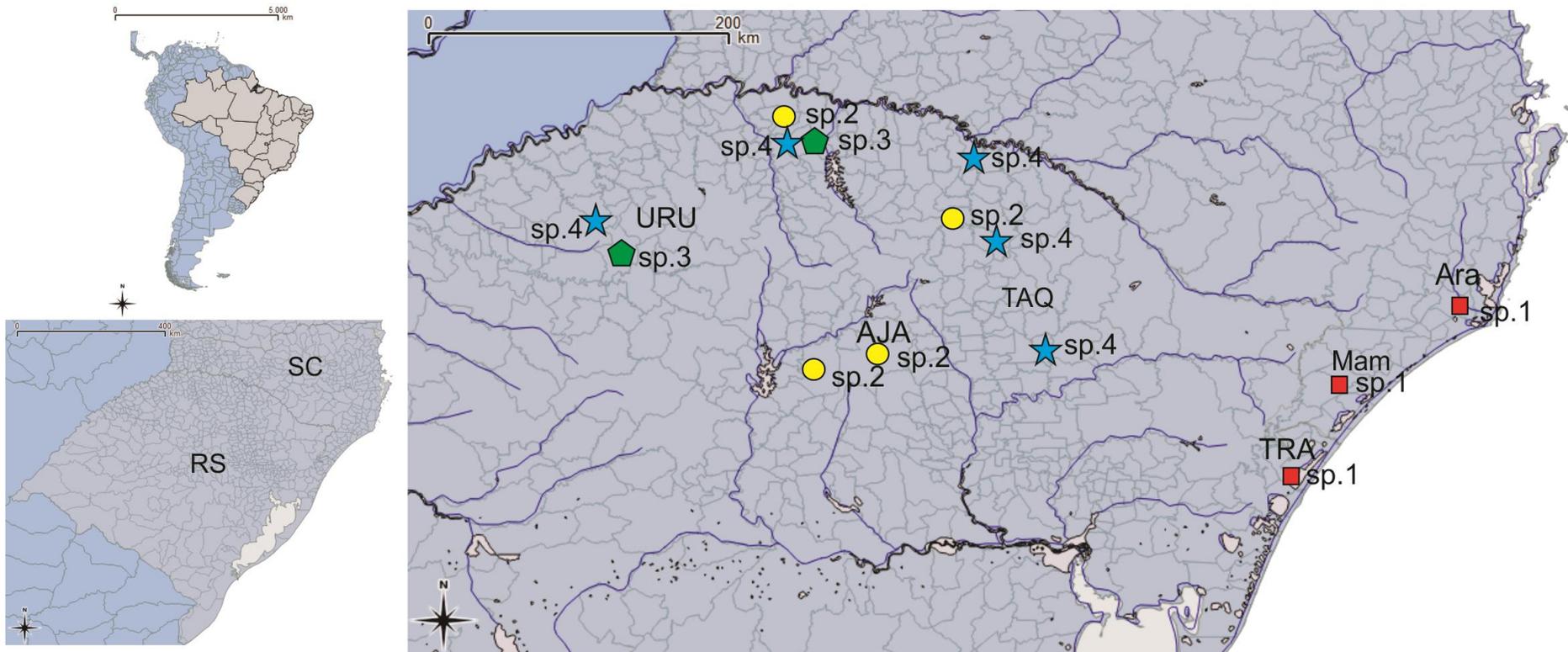


Fig. 1. Mapa de distribuição de *Heptapterus* sp. Quadrado vermelho: *H. sp. 1*; Circulo amarelo: *H. sp. 2*; Pentágono verde: *H. sp. 3*; Estrela azul: *H. sp. 4*; TRA= bacia do rio Tramandaí; Mam= drenagem do rio Mampituba; Ara= bacia de Araranguá; AJA= drenagem do Alto Jacuí URU=bacia do rio Uruguai



Fig. 2. H. sp. 1; lote UFRGS 16431; comprimento padrão: 113,05mm; vista lateral.



Fig. 3. H. sp. 2; lote UFRGS 6878; comprimento padrão: 116,90mm; vista lateral.



Fig. 4. H. sp. 3; lote UFRGS 10728; comprimento padrão: 109,98 mm; vista lateral.



Fig. 5. H. sp. 1; lote UFRGS 8834; comprimento padrão: 97,26mm; vista lateral

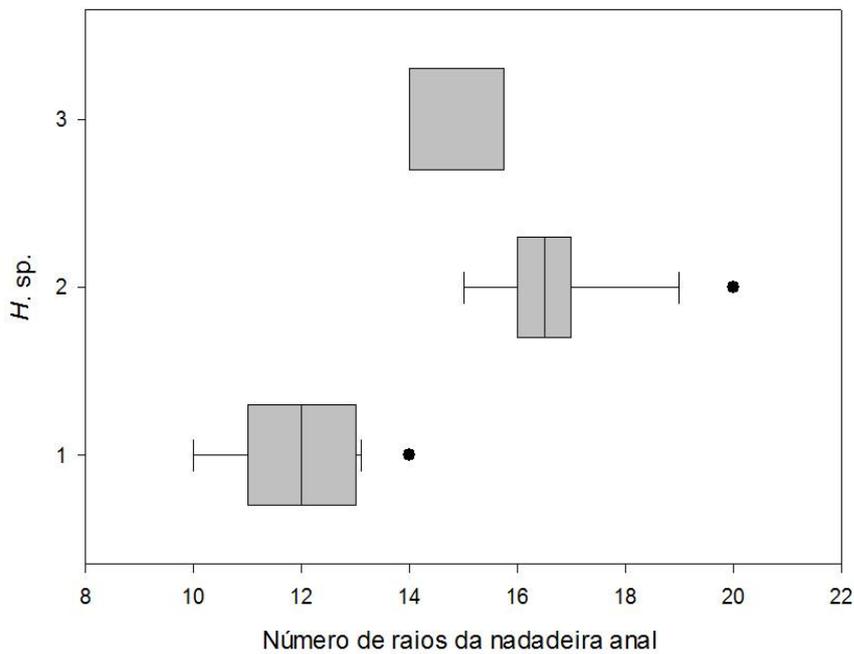


Fig. 6. Número de raios da nadadeira anal de *Heptapterus* sp. 1, *H. sp. 2* e *H. sp. 3*.

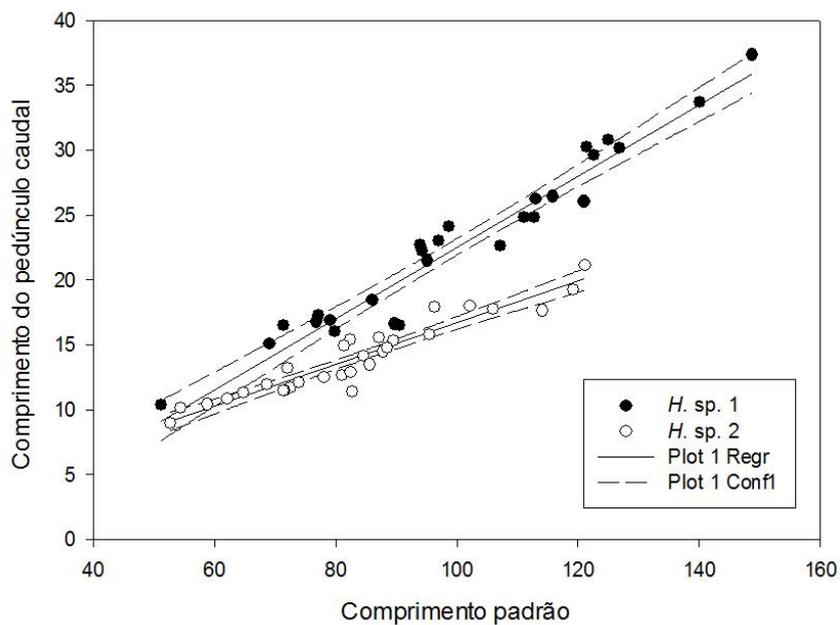


Fig. 7. Comprimento do pedúnculo caudal como função do comprimento padrão de *H. sp. 1* (círculos pretos; $R^2 = 0.93$, $P < 0.05$) *H. sp. 2* (círculos brancos; $R^2 = 0.90$, $P < 0.05$).

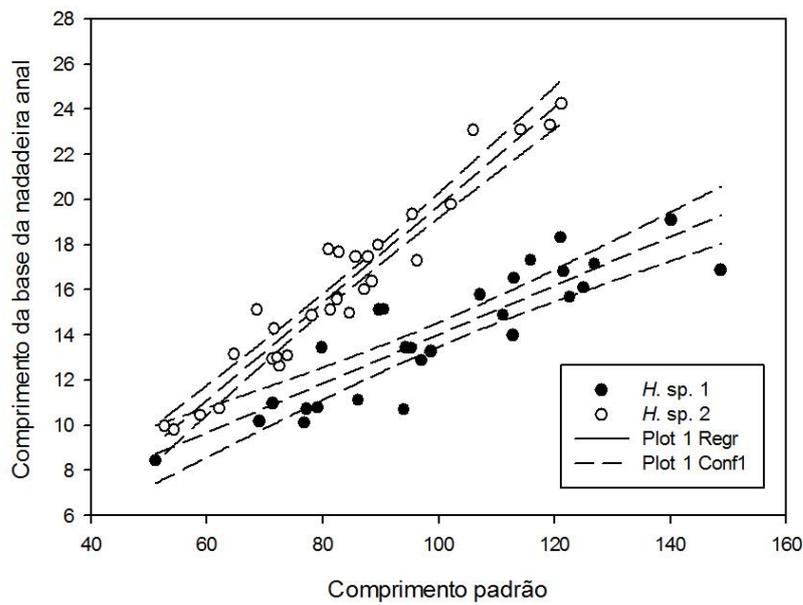


Fig. 8. Comprimento da base da nadadeira anal como função do comprimento padrão de *H. sp. 1* (círculos pretos; $R^2 = 0.77$, $P < 0.05$) *H. sp. 2* (círculos brancos; $R^2 = 0.93$, $P < 0.05$).

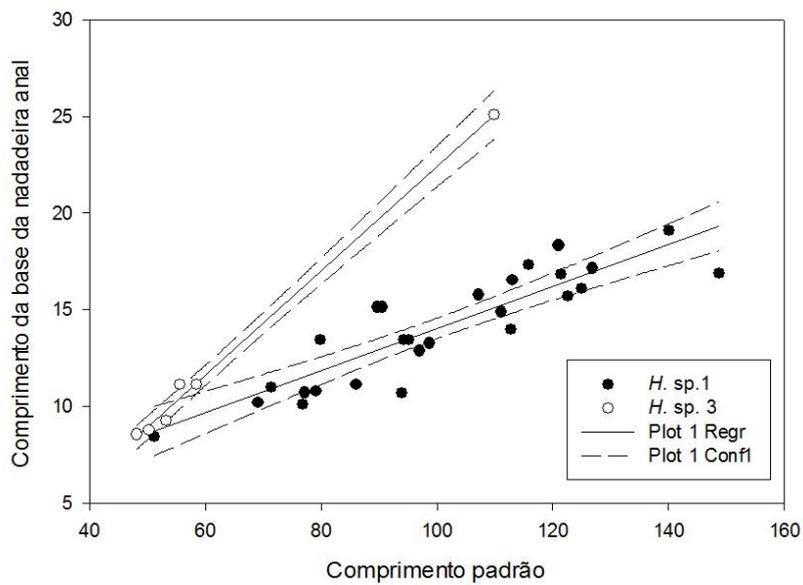


Fig. 9. Comprimento da base da nadadeira anal como função do comprimento padrão de *H. sp. 1* (círculos pretos; $R^2 = 0.77$, $P < 0.05$) *H. sp. 3* (círculos brancos; $R^2 = 0.99$, $P < 0.05$).

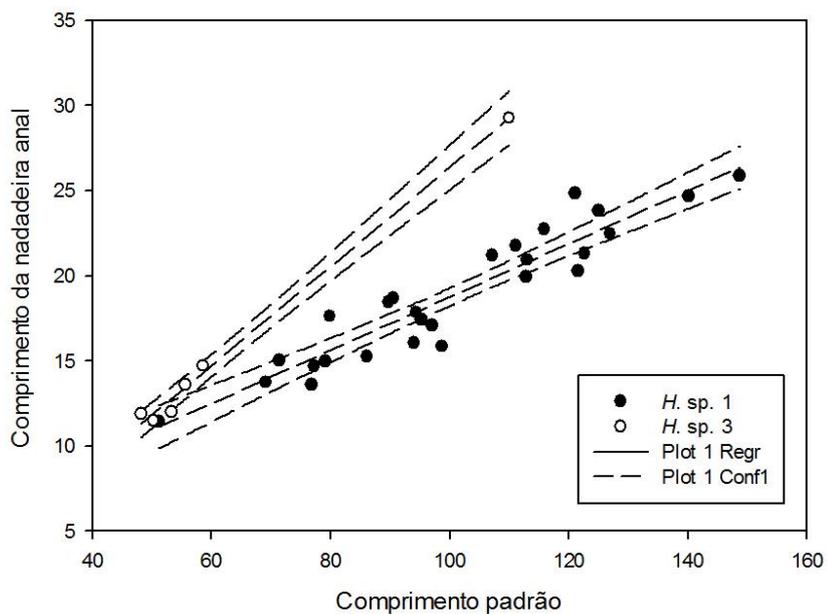


Fig. 10. Comprimento da nadadeira anal como função do comprimento padrão de *H. sp. 1* (círculos pretos; $R^2 = 0.88$, $P < 0.05$) *H. sp. 3* (círculos brancos; $R^2 = 0.99$, $P < 0.05$).

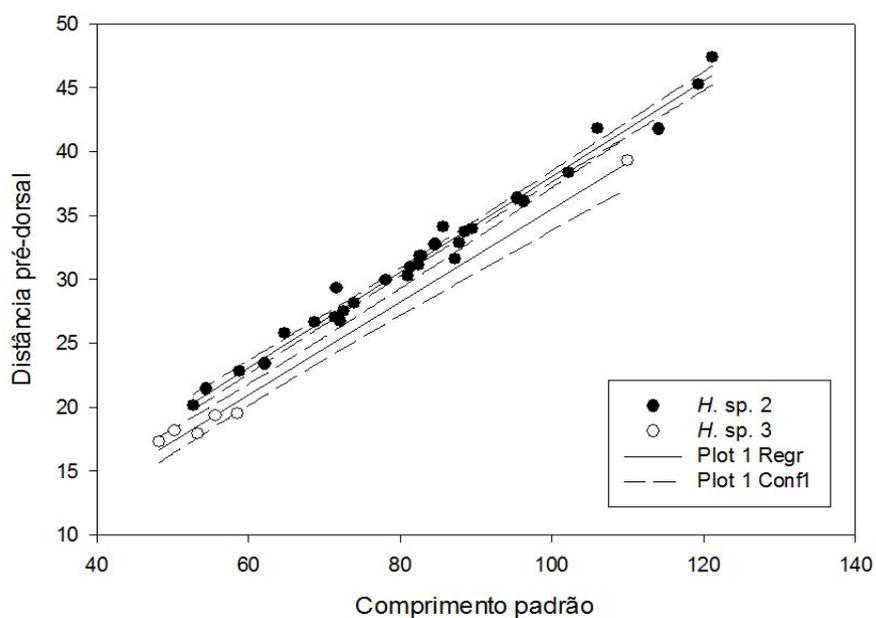


Fig. 11. Distância pré-dorsal como função do comprimento padrão de *H. sp. 2* (círculos pretos; $R^2 = 0.98$, $P < 0.05$) *H. sp. 3* (círculos brancos; $R^2 = 0.99$, $P < 0.05$).

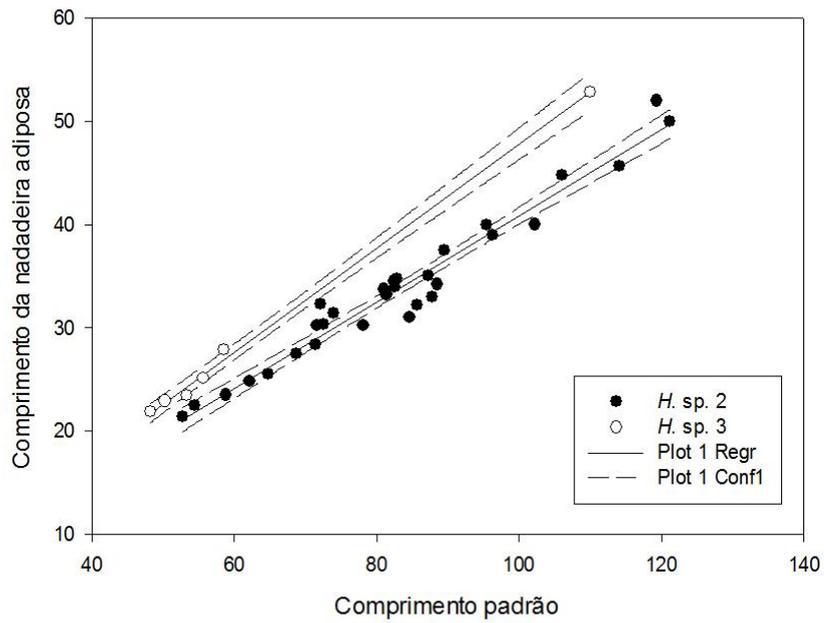


Fig. 12. Comprimento da nadadeira adiposa como função do comprimento padrão de *H. sp. 2* (círculos pretos; $R^2 = 0.96$, $P < 0.05$) *H. sp. 3* (círculos brancos; $R^2 = 0.99$, $P < 0.05$).

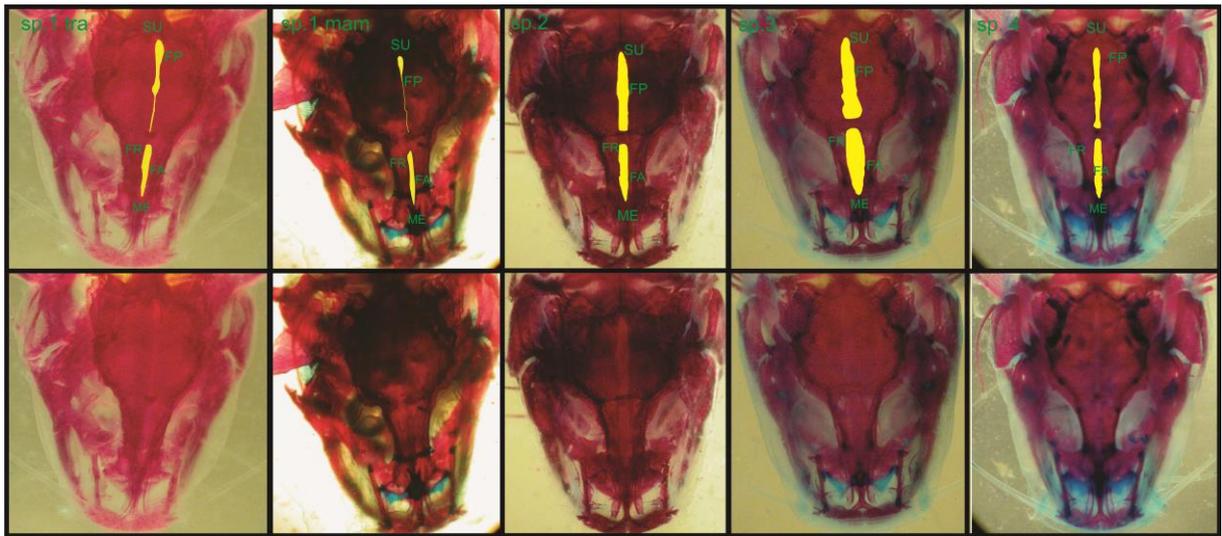


Fig. 13. Vista dorsal do crânio de *Heptapterus* sp. *H. sp. 1 tra.* UFRGS 17532, *H. sp. 1 mam.* UFRGS 15982, CP: 70,09 mm; *H. sp. 2*, UFRGS 6986, CP:73,39 mm; *H. sp. 3*, UFRGS 6976, CP: 53,26 mm; *H. sp. 4*, UFRGS 16804, CP: 62,87mm. Abreviações: SU- supraoccipital; FP- fontanela posterior (fontanela posterior em evidência-amarelo); FA- fontanela anterior; FR- frontal; ME- mesethmoide; LE- lateral etmoide; tra- Tramandaí; mam- Mampituba.

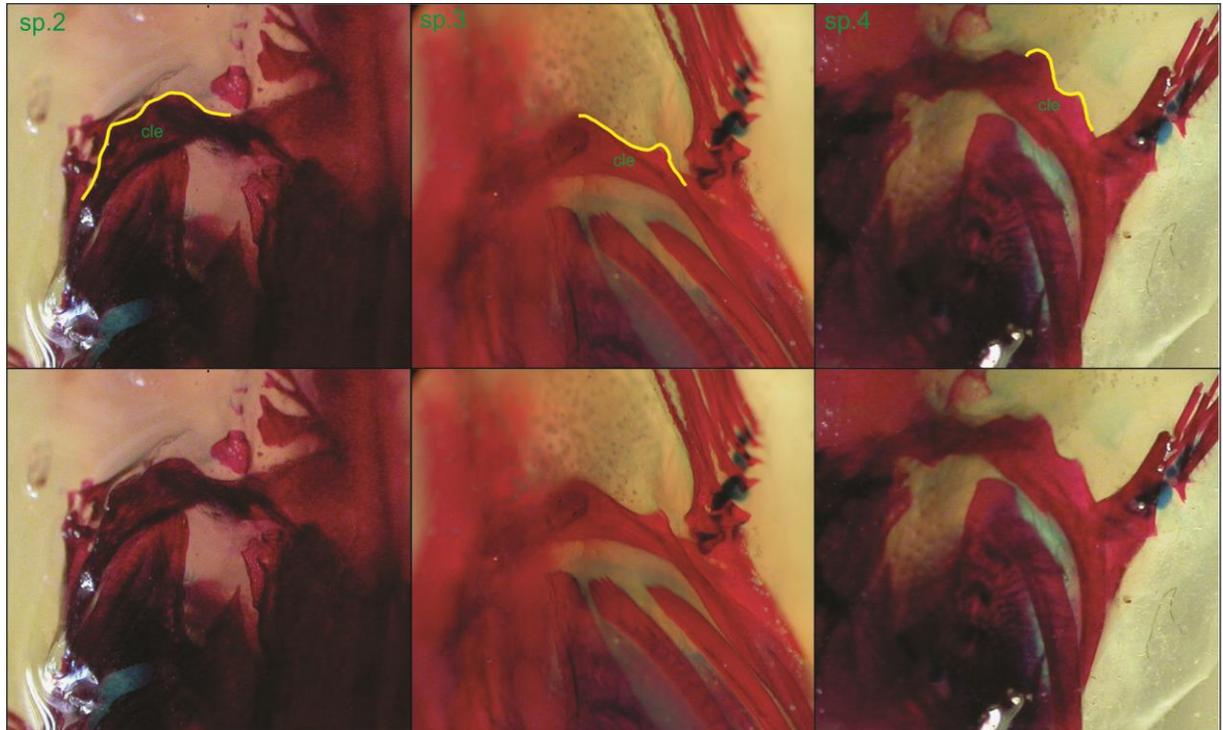


Fig. 14. Vista lateral do crânio de *Heptapterus* sp. *H. sp. 2*, UFRGS 6986, CP:73,39 mm; *H. sp. 3*, UFRGS 6976, CP: 53,26 mm; *H. sp. 4*, UFRGS 16804, CP: 62,87 mm. Abreviações: SU- supraoccipital; FP- fontanela posterior; FA- fontanela anterior; FR- frontal; ME- mesethmoide; cle-Cleitro (margem posterior do cleitro em evidência- amarelo).

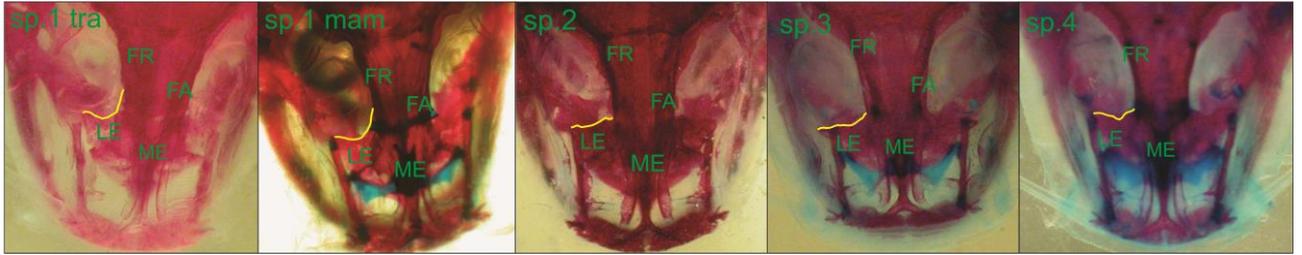


Fig. 15. Vista dorsal do crânio de *Heptapterus* sp. *H. sp. 1 tra*, UFRGS 17532, *H. sp. 1 mam*, UFRGS 15982, CP: 70,09 mm; *H. sp. 2*, UFRGS 6986, CP:73,39 mm; *H. sp. 3*, UFRGS 6976, CP: 53,26 mm; *H. sp. 4*, UFRGS 16804, CP: 62,87 mm. Abreviações: SU- supraoccipital; FP- fontanela posterior; FA- fontanela anterior; FR- frontal; ME- mesethmoide; LE- lateral etmoide (margem posterior do lateral etmoide em evidência-amarelo); tra- Tramandaí; mam- Mampituba.

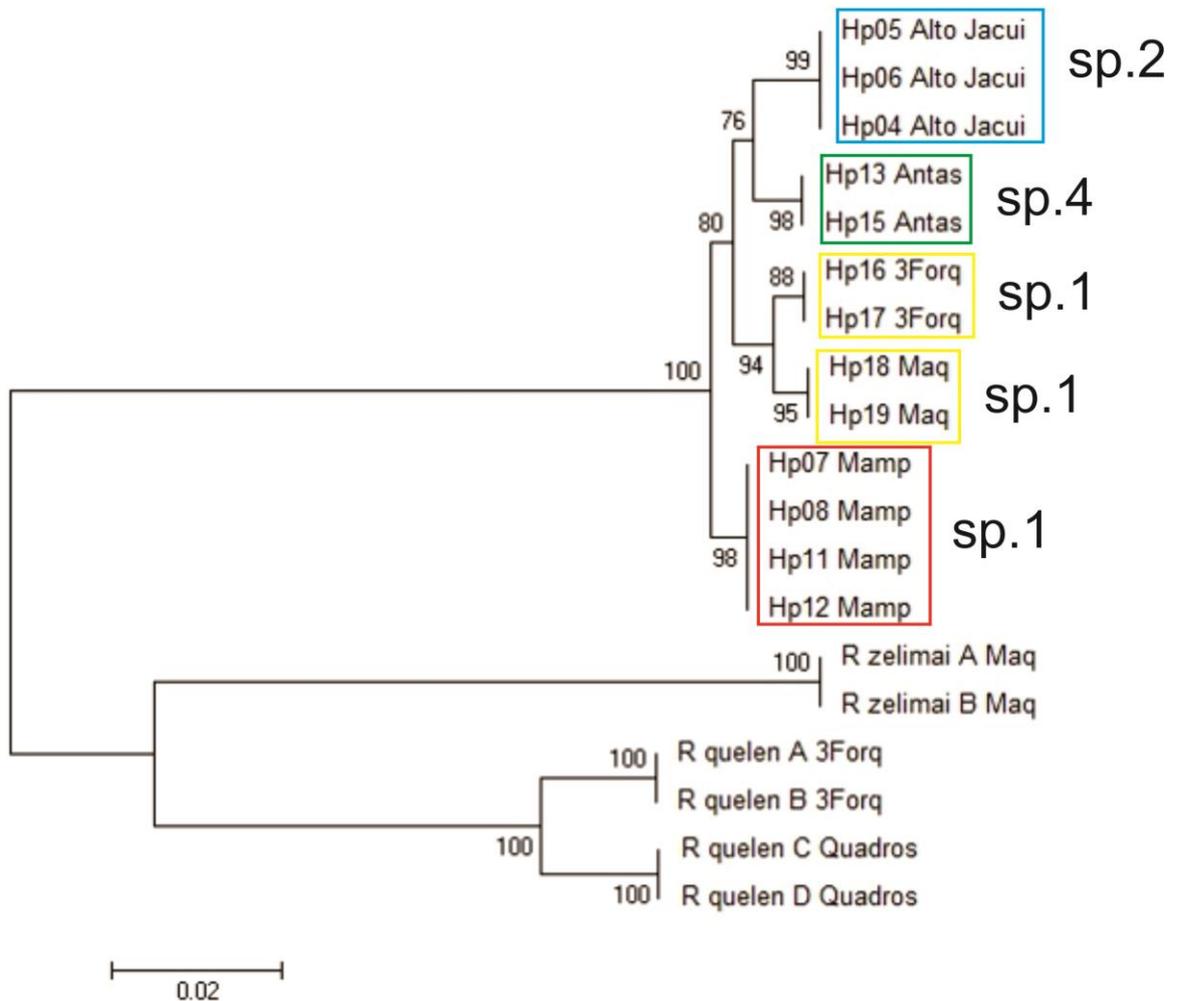


Fig. 16 Cladograma gerado utilizando o programa Neighbor Joining. Para calcular as distâncias genéticas entre as espécies utilizou-se o modelo Kimura-2-parameter (K2P). Os números e nos nós indicam os valores bootstrap.