



**INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

FERNANDA KUHN

**MORFOLOGIA DA MANDÍBULA FARINGEAL DE TRÊS ESPÉCIES DO GÊNERO
CRENICICHLA (CICHLIFORMES: CICHLIDAE) E SUA RELAÇÃO COM A DIETA
EM RIACHOS DAS BACIAS DOS RIOS URUGUAI E JACUÍ, RIO GRANDE DO SUL.**

PORTO ALEGRE
2017

FERNANDA KUHN

MORFOLOGIA DA MANDÍBULA FARINGEAL DE TRÊS ESPÉCIES DO GÊNERO *CRENICICHLA* (CICHLIFORMES: CICHLIDAE) E SUAS RELAÇÕES COM A DIETA EM RIACHOS DAS BACIAS DOS RIOS URUGUAI E JACUÍ, RIO GRANDE DO SUL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.

Área de concentração: Biodiversidade

Orientador(a): Profa. Dra. Clarice Bernhardt Fialho

PORTO ALEGRE

2017

FERNANDA KUHN

**MORFOLOGIA DA MANDÍBULA FARINGEAL DE TRÊS ESPÉCIES DO GÊNERO
CRENICICHLA (CICHLIFORMES: CICHLIDAE) E SUAS RELAÇÕES COM A DIETA
EM RIACHOS DAS BACIAS DOS RIOS URUGUAI E JACUÍ, RIO GRANDE DO SUL.**

Aprovada em ____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA

Dr/a. Avaliador/a 1

Dr/a. Avaliador/a 2

Dr/a. Avaliador/a 3

“Toda a nossa ciência comparada com a realidade, é primitiva e infantil – e, no entanto, é a coisa mais preciosa que temos.”

(Albert Einstein)

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a minha família, minhas irmãs, Jaqueline e Adriana e ao cunhado Daniel, por todos os momentos de apoio, conselhos, incentivo e descontração. Em especial meus pais Jorge e Maristela, pelos ensinamentos e pela vida. Amo vocês!

Agradeço as amigas Alice e Vanessa pelo exemplo e incentivo. Alice, por ser inspiração antes mesmo de eu me formar bióloga e por continuar sendo. Vanessa, pela amizade verdadeira e todo apoio durante esse processo. Ambas foram de fundamental importância e serei eternamente grata. Amo vocês!

A minha orientadora, Profa. Dra. Clarice Bernhardt Fialho, pela oportunidade de realizar um sonho, pelos ensinamentos e pela paciência.

Aos colegas de laboratório, por todo conhecimento compartilhado, artigos discutidos, conversas de bancada e bons momentos de convívio e confraternização. Dario, obrigada pelos mapas. Especialmente as meninas da Ictio, por cada palavra de incentivo, pela amizade, por compartilharem a sala, o café, o ombro, o banco do ônibus, a mesa do bar, a pista de dança e a pasta de dente. Mulheres lindas, inteligentes e empoderadas, me inspiram e me enchem de orgulho!

Ao Professores, Dr. Luís Roberto Malabraba pelo bom humor, pelo conhecimento transmitido, pelas fotos das *Crenicichlas* e por todas as dúvidas sanadas.

A Profa. Dra. Júlia Giori e ao Prof. Dr. Tiago Carvalho Pinto, por aceitar me acompanhar, conduzir e pelas contribuições a esse trabalho.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Fornel por aceitar fazer parte da banca examinadora e por compartilhar seus conhecimentos e seu entusiasmo pela morfometria geométrica, ambos contribuíram imensamente no desenvolvimento desse projeto.

A Dra. Karine Orlandi Bonato, por aceitar ser minha banca examinadora, pelo arroio Caixões e pela amizade cultivada!

Ao professor Dr. Renato Bolson Dala Corte por aceitar ser minha banca examinadora.

Aos médicos da Oncosinos, Dr. Antônio Fabiano Ferreira Filho e Dra. Daniela Lessa da Silva, pelo apoio e incentivo, por me inspirarem e me tornarem uma profissional. Sou gata a vocês por todos os ensinamentos.

As minhas amigas, colegas e companheiras da Oncosinos, que não mediram esforços para me ajudar, por quebrarem os galhos, enviarem os documentos e me lembrarem sempre como é bom trabalhar como vocês. Especialmente a Luci, por toda a dedicação à pesquisa clínica durante a minha ausência. Obrigada por toda ajuda.

As minhas amigas de uma vida, que torcem por mim e comemoram comigo, mesmo estando longe, Mulherada, Amo vocês! Julinha, obrigada de coração pela edição das fotos, adorei ter sua participação nesse projeto. Em especial Betina e Franciele, obrigada por nunca faltarem quando precisei, por compreenderem minha ausência, por me acompanharem nessa jornada, vocês com certeza tornaram ela mais leve.

Á Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pelo ensino de qualidade.

Ao CNPQ pelo apoio financeiro.

RESUMO

A evolução fenotípica e sua influência na diversificação dos organismos tem gerado interesse nos assuntos relacionados com a evolução biológica. Nós analisamos a morfologia das mandíbulas faríngeais inferiores de três espécies do gênero *Crenicichla*, associando essas estruturas ao hábito alimentar de cada uma das espécies. Usando morfometria geométrica como ferramenta para quantificar diferenças de forma entre organismo, nós exploramos o complexo aparato faríngeal dos ciclídeos, que é altamente especializado e integrado à sua funcionalidade ecológica, tanto que é descrita como uma inovação chave para a família. Sabe-se que essas estruturas e suas adaptações estão diretamente relacionadas com a rápida radiação adaptativas observadas nos ciclídeos. A morfometria geométrica tem sido uma ferramenta importante nas análises de forma, principalmente nessas estruturas em que a adaptação funcional pode submeter a especiação. Nós investigamos as mandíbulas faríngeais inferiores das espécies *Crenicichla lepidota*, *Crenicichla scottii* e *Crenicichla punctata* e comparamos suas formas e dentes aos seus hábitos alimentares. Os resultados mostraram que *C. lepidota* consumiu um volume maior de peixes (54%) seguido de insetos autóctones (31%), esta espécie foi classificada como piscívora facultativa. *Crenicichla scottii* foi classificada como piscívora, devido a contribuição de 92% do volume total dos estômagos ser do item peixes. Insetos autóctones foi o item alimentar com o maior volume (44%) para espécie *C. punctata*, seguido de *Aegla* sp. (22%) e insetos alóctones (11%), permitindo classificar a espécie como insetívora generalista. Dois morfotipos distintos de mandíbula faríngeal inferior foram encontradas em diferentes locais de coleta para a espécie *C. punctata*, nos levando a explorar os padrões, os mecanismos e as consequências da diversificação ecologia associadas a plasticidade fenotípica e adaptativa dessas espécies, estando a morfologia adaptativa influenciando o genótipo e o fenótipo dos espécimes.

Palavras-chave: Cichlidae, aparato faríngeal, morfometria geométrica, plasticidade fenotípica, alimentação.

ABSTRACT

Phenotypic evolution and its influence on the diversification of organisms has generated interest in matters related to biological evolution. We analyzed the morphology of lower pharyngeal jaws of three species of the genus *Crenicichla*, associating these structures with the food habit of each species. Using geometric morphometry as a tool to quantify differences in form between organisms, we explore the complex pharyngeal apparatus of cichlids, which is highly specialized and integrated with its ecological functionality, so much so that it is described as a key innovation for the family. It is known that these structures and their adaptations are directly related to the rapid adaptive radiation observed in cichlids. Geometric morphometrics has been an important tool in form analyzes, especially in those structures in which functional adaptation submits speciation. We investigated the lower pharyngeal mandibles of the species *Crenicichla lepidota*, *Crenicichla scottii* and *Crenicichla punctata* and compared their shapes and teeth to their eating habits. The results showed that *C. lepidota* consumed a larger volume of fish (54%) followed by autochthonous insects (31%), this species was classified as an optional piscivorous. *Crenicichla scottii* was classified as piscivorous, due to the contribution of 92% of the total volume of the stomachs contained fish item. Autochthonous insects was the food item with the largest volume (44%) for *C. punctata* species, followed by *Aegla* sp. (22%) and allochthonous insects (11%), allowing to classify the species as a generalist insectivorous. Two distinct morphotypes of lower pharyngeal mandible were found at different collection sites for the species *C. punctata*, leading us to explore the patterns, mechanisms and consequences of ecology diversification associated with phenotypic and adaptive plasticity of these species, with adaptive morphology influencing the genotype and the phenotype of the specimens.

Keywords: Cichlidae, pharyngeal apparatus, geometric morphometry, phenotypic plasticity, feeding.

Sumário

Resumo.....	i
Abstract	ii
1.Estrutura da dissertação.....	10
2.Introdução.....	10
3.Material e Métodos.....	13
3.1Área de estudo e coleta de dados	13
3.2Análise da alimentação.....	15
3.3Análise morfométricas	16
4. Resultados.....	18
4.1 Análises interespecíficas.....	18
4.2 Análises intraespecíficas.....	24
5. Discussão.....	32
6. Referências bibliográficas	37

1. ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO

Redigida conforme normas estipuladas por Neotropical Ichthyology (Official Journal of the Sociedade Brasileira de Ictiologia): <http://www.scielo.br/revistas/ni/iinstruc.htm>

2. INTRODUÇÃO

A família Cichlidae é a única família da ordem Cichliformes confinada a água doce (Malabarba et al., 2014) e constitui uma das principais famílias de vertebrados, com mais de 2.245 espécies (Malabarba et al., 2014; Eschmeyer, Fricke, 2017). As espécies dessa família estão distribuídas pelas Américas Central e do Sul, Caribe, África, Madagascar, Leste e Sudeste da Ásia para Israel, Síria, Índia, e Sri Lanka (Kullander, 2003; Nelson, 2006). Kullander (1998), baseado em uma análise filogenética e morfológica das espécies dessa família, propôs a subfamília Geophaginae, a qual incluía 16 gêneros divididos em três tribos: Acarichthyini, Crenicaratini e Geophagini, sendo a tribo Geophagini a mais rica em espécies, ecomorfologicamente diversa (López-Fernández et al., 2012) e de diversificação mais antiga (López-Fernández et al., 2005). O gênero *Crenicichla* foi alocado dentro da tribo Geophagini (Sparks, Smith, 2004; Smith et al., 2008), com 85 espécies válidas (Kullander, 2003) distribuídas nas drenagens cis-Andinas tropicais e subtropicais do Norte da América do Sul ao Rio Negro na Patagônia Argentina (Casciotta, 1987; Kullander, Lucena, 2006).

Os ciclídeos são organismos-modelo em biologia evolutiva e têm sido fundamentais na compreensão da radiação adaptativa e especiação entre os vertebrados (Burruss et al., 2015). A convergência morfológica é crescente entre os indivíduos dessa família, provavelmente devido à enorme versatilidade ecológica do grupo, que tem sofrido frequentes modificações adaptativas associadas à ecologia trófica, uso de habitat, biologia reprodutiva e comportamental (Winemiller et al., 1995; López-Fernández et al., 2005). Wainwright et al. (1991) constatou que os fatores ambientais podem influenciar diretamente o fenótipo, caso em que, uma estreita correlação entre a variação morfológica e ambiental é esperada. Segundo Helling et al. (2010) o design funcional de um organismo está relacionado à sua ecologia, e, assim, as especializações e diferentes dietas são tipicamente associadas com desenhos morfológicos distintos. Este fato é especialmente manifestado no aparato mandibular e faringeal dos ciclídeos, o qual consiste em uma série de adaptações evolutivas do aparato bucal como um todo, incluindo musculatura e elementos ósseos. Além disso, está associada ao aumento da habilidade para processar alimentos e para utilização de novos recursos, considerada uma inovação

chave que proporciona uma diversificação trófica incomparável (Liem, 1973; Hulsey, León, 2005; Burress et al., 2015).

A morfologia da estrutura faringeal de ciclídeos é bem documentada por Liem (1973), Claes, Vree (1991), Casciotta, Arratia (1993), Wainwright (2005). Helling et al. (2010), Elmer et al. (2010), Muschick et al. (2011), López-Fernández et al. (2012), Young (2013), Gunter, Mayer (2014), Schneider et al. (2014) analisaram as mudanças morfológicas das mandíbulas faringeais, tanto superior quanto inferior, associadas com a dieta, a plasticidade fenotípica e consequentemente a radiação adaptativa desse grupo. Arbour, López-Fernández (2014) analisaram a diversidade funcional e ecológica dos ciclídeos neotropicais, assim como Burress et al. (2015) Burress (2016).

O aparato faringeal é constituído de duas placas ósseas dentadas, as mandíbulas faringeais, uma superior e outra inferior (Liem, 1973; Wainwright, 2005). A mandíbula inferior, consiste na sinartrose dos quintos arcos ceratobranquiais, esquerdo e direito, consistindo em uma única estrutura óssea e funcional (Liem, 1973; Wainwright, 2005). A união desses arcos ceratobranquiais promove um aumento significativo no controle e no movimento do aparato bucal, devido ao aumento de inserções musculares dedicadas a uma única estrutura (Liem, 1973; Wainwright, 2005). Com 12 elementos esqueléticos envolvidos no complexo e influenciado por outros 15, o aparato faringeal potencializa os movimentos e a força da mordida (Wainwright, 2005). Essa independência da mandíbula faringeal em relação à mandíbula oral permite uma autonomia potencial na sua evolução, pelo fato das funções de captura e processamento de presa serem potencialmente dissociados, promovendo a diversidade trófica (Nelson, 1967; Liem, 1973; Wainwright, 2005).

As mandíbulas faringeais dos Cichlidae são dentadas e os dentes da mandíbula faringeal inferior variam em forma e tamanho, refletindo as diferentes especializações de dieta (Hellig et al., 2010). Hulsey, León (2005) descreveu morfotipos diferentes de mandíbulas faringeais inferiores para ciclídeos, associados com o tipo de alimento consumido e a força necessária para o processamento dos itens. Segundo Helling et al., (2010) os tipos de presas que não requerem força para serem partidas, como peixes, são geralmente associadas com uma mandíbula faringeal inferior reduzida, com dentes cônicos e recurvados, apropriados para segurar e manipular as presas, que são consumidas inteiras. As espécies que se alimentam de presas que exigem força para serem partidas, como macro crustáceos e moluscos, tem todos os elementos da mandíbula faringeal inferior reforçados, com dentes mais largos e com formato molariforme (Wainwright, 2005; Burress, 2016). São esses alguns dos motivos pelos

quais os ciclídeos representam um sistema ideal para testar as hipóteses de adaptação e verificar quais são os processos responsáveis pela diversificação desse grupo em riachos neotropicais (Lucena, Kullander, 1992; Piálek et al., 2001; López-Fernández, 2012).

A maioria das espécies de ciclídeos apresenta problemas específicos para análises utilizando métodos morfológicos comparativos, devido ao grande número de espécies morfológicamente similares e estreitamente relacionadas (Elmer et al. 2010; Helling et al. 2010; Kerschbaumer, Sturmbauer, 2011; López-Fernández, 2012; Burress et al. 2013b; Burress et al. 2015, 2016). Diante desse fato, a morfometria geométrica vem sendo aplicada crescentemente (Rohlf, 1990, Bookstein, 1996; Rohlf, 1998; Kerschbaumer, Sturmbauer, 2011, Rohlf 2015; Klingenberg, 2010; 2016).

Na morfometria tradicional, os dados são mensurados como medidas lineares das estruturas. Entretanto, esses dados contêm menos informação de forma, pois toda a informação é referente ao tamanho (Zelditch et al., 2012); isto é, são índices distribuídos ao longo dos comprimentos. Uma alternativa é a utilização da morfometria geométrica. A morfometria geométrica é a análise estatística das variações de forma, partindo diretamente de coordenadas de marcos anatômicos em um plano cartesiano, podendo ter duas ou três dimensões (Bookstein, 1991; Kerschbaumer, Sturmbauer, 2011).

Bookstein (1991) classificou esses marcos anatômicos em três categorias distintas. Os marcos anatômicos tipo 1, aqui referidos como *landmarks*, podem ser mais claramente distinguidos como pontos cujas definições referem-se unicamente a uma estrutura (Zelditch et al., 2012). Estão associados a estruturas homólogas, o que significa que um determinado ponto em uma espécie deve corresponder a esse mesmo ponto em todos os indivíduos (Zelditch et al., 2012). Os marcos anatômicos de tipo 2 (*semilandmarks*), segundo a classificação de Bookstein (1991), são localmente definidos, mas não têm um ponto específico como os marcos do tipo 1 e frequentemente fazem referência às construções geométricas do tipo estruturais, como uma protuberância ou um local de máxima e mínima de uma curvatura (Zelditch et al., 2012). A categoria tipo 3 de Bookstein (1991) pode parecer incluir esses “extremos quase definidos localmente”, como os pontos finais do olho, sendo extremos em relação a uma estrutura local muito pequena. Essa categoria não foi aplicada nesse estudo.

Os *landmarks*, assim como os *semilandmarks*, podem ser individualmente adaptados para a hipótese de cada estudo, de modo que os métodos de morfometria geométrica podem ser aplicados a uma ampla variedade de questões evolutivas envolvendo alterações complexas nas formas (Kerschbaumer, Sturmbauer, 2011).

A análise da forma tem um papel importante em diversos estudos biológicos, podendo sinalizar diferenças nos processos de crescimento e morfogênese, bem como nas respostas à pressão seletiva, até mesmo do próprio organismo (Zelditch et al., 2012).

Assim, levando-se em consideração que ciclídeos são bons modelos para estudos morfológicos, esse trabalho teve como objetivo principal descrever e analisar a morfologia da mandíbula faríngea inferior, bem como a dieta de três espécies simpátricas do gênero *Crenicichla*, a saber: *Crenicichla lepidota* (Heckel, 1840), *Crenicichla scottii* (Eigenmann, 1907) e *Crenicichla punctata* (Hensel, 1870). Essas espécies são *amplamente* distribuídas em riachos Neotropicais. A hipótese que testamos é que existe correlação entre a morfologia da mandíbula faríngea e a alimentação para esse grupo de espécies.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de estudo e coleta de dados

Os espécimes utilizados para esse estudo provem de duas bacias hidrográficas distintas. Parte das amostras é proveniente da sub-bacia do Alto Jacuí, situada na porção central do estado do Rio Grande do Sul, sendo afluente da sub-bacia da Lagoa dos Patos (FEPAM, 2017). Nessa bacia, as coletas ocorreram em 2012 e 2013, bimestralmente, utilizando a técnica de pesca elétrica (Bonato, Fialho 2016). A outra parte foi amostrada na bacia do rio Uruguai, no rio Uruguai e na sub-bacia do rio Ibicuí, localizadas à Oeste do mesmo Estado (Fig. 1). Nessa bacia, as coletas foram realizadas nos anos de 2013, 2014 e 2015, utilizando a técnica da pesca elétrica, seguindo protocolo de Dala-Corte et al. (2016). Após cada coleta, os peixes foram eutanaziados com 10% de eugenol (Lucena et al., 2013) e fixados em solução de formalina a 10%. Posteriormente, os exemplares foram transferidos para o laboratório, onde foram separados e identificados a nível de espécie, através de chaves taxonômicas pertinentes e auxílio de especialistas. Os espécimes foram conservados em álcool 70% e tombados na coleção de peixes do Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Tab. 1).

Tab. 1. Espécies utilizadas no estudo, seus respectivos números de coleção e pontos de coleta. Os pontos de coleta da bacia do Rio Uruguai e sub-bacia do rio Ibicuí são representados pelos

códigos: LAV1 (Lavras do Sul), SLI1 (Santana do Livramento), SAM (Santo Antônio das Missões), SPS2 (Quevedos), SAT (Jaguari) e os pontos da sub-bacia do Alto Jacuí, RV (Riacho Valoroso), RC (Rio Caixões), RD (Riacho Divinéia), RT (Rio Turvo), RP (Rio da Paz).

Espécies	Nº UFRGS	Ponto de coleta	Localidade
<i>Crenicichla lepidota</i>	UFRGS 21162	LAV1	Lavras do Sul, RS, Brasil
	UFRGS 21145	SLI1	Santana do Livramento, RS, Brasil
	UFRGS 21150	SAM	Santo Antônio das Missões, RS, Brasil
	UFRGS 21157	SPS2	Quevedos, RS, Brasil
	UFRGS 2366/3883	RV	Tapera, RS, Brasil
	<i>Crenicichla punctata</i>	UFRGS 1578/1579/24 69/2470/4329	RC
UFRGS 4070/4073/38 82/5199		RV	Tapera, RS, Brasil
UFRGS 4874/4878/48 77		RD	Tapera, RS, Brasil
UFRGS 6054/7077		RT	Espumoso, RS, Brasil
UFRGS 6212/6213/62 23		RP	Tapera, RS, Brasil
<i>Crenicichla scottii</i>		UFRGS 23609/23602	SAT

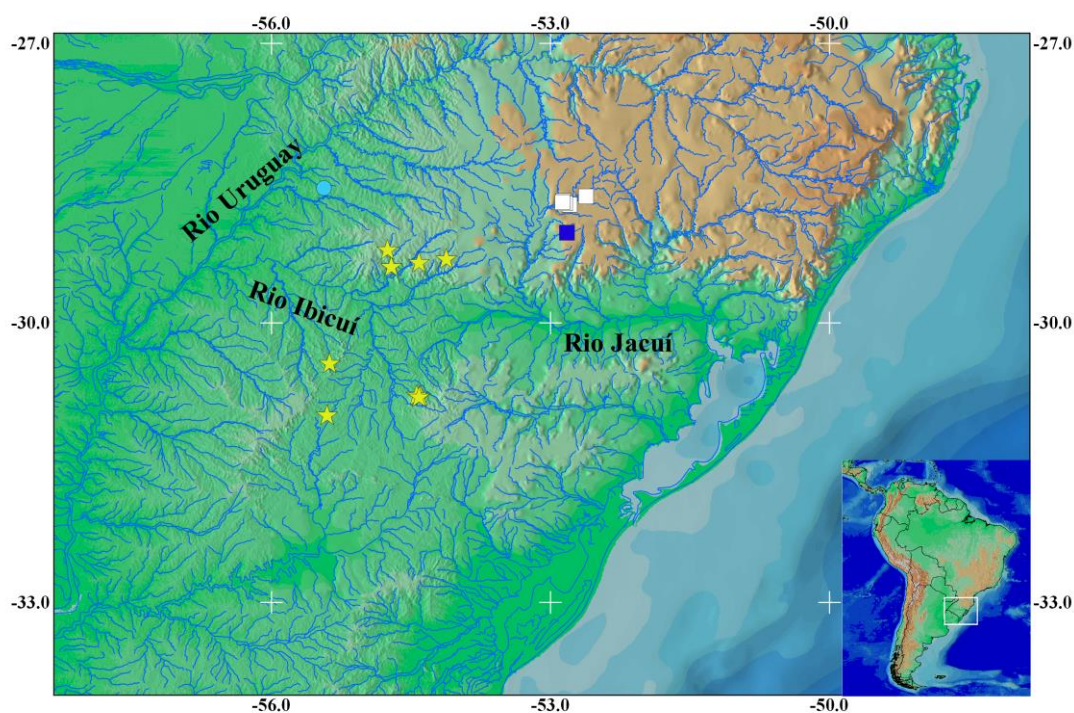


Fig. 1 Mapa dos pontos de coletas dos espécimes analisados, provenientes de riachos localizados na sub-bacia do Alto Jacuí (quadrados), também da bacia do rio Uruguai, em um riacho afluente do Rio Uruguai (círculo) e riachos da sub-bacia do Rio Ibicuí (estrelas), que também pertencente a bacia do rio Uruguai, no estado do Rio Grande do Sul.

3.2 Análise da alimentação

Todos os indivíduos das espécies *Crenicichla lepidota* (N = 24; 68,29 - 121,68 mm CP), *Crenicichla scottii* (N = 35; 81,62 – 159,49 mm CP) e *Crenicichla punctata* (N=27; 57,21 – 216,78 mm CP), amostrados foram medidos em seu comprimento corporal total (CT) e comprimento corporal padrão (CP), utilizando paquímetro digital com precisão de 0,01 mm. Os espécimes foram pesados em balança digital de precisão 0,0001 g, antes da retirada do estômago e das mandíbulas faríngeas inferiores.

Os estômagos foram extraídos através de corte ventral longitudinal e conservados em álcool 70%. Após, seus conteúdos foram identificados com auxílio de microscópio estereoscópico até o menor nível taxonômico possível, utilizando bibliografias específicas (Merritt, Cummins, 1996; Mugnai et al., 2010). Para quantificar os itens alimentares encontrados nos conteúdos estomacais, o volume de cada item foi obtido utilizando papel milimetrado sobre placa de Petri e placas metálicas com 1 mm de altura. O volume em mm³ foi estabelecido considerando a proporção de quadrículas ocupadas por cada item sobre o papel milimetrado, atra-

vés de compressão do material alimentar com lâmina de vidro entre as placas metálicas (Hewell, Abel, 1971). Assim, o volume em mm³ foi obtido através do cálculo da razão entre a altura da placa metálica e a quantidade de quadrículas ocupadas.

Para os itens alimentares maiores, onde a compressão entre as placas metálicas não era aplicável, o volume em mm³ foi obtido através do deslocamento da coluna da água em proveta graduada (Hyslop, 1980; Windell, Bowen, 1978). Os itens foram colocados dentro da proveta graduada com água e o deslocamento em mm³ foi observado e considerado como volume final do item.

3.3 Análise morfométrica

Para a retirada da mandíbula faríngeal inferior (LPJ) foi realizada a dissecação da cabeça de cada indivíduo das espécies *Crenicichla lepidota* (N = 10), *Crenicichla scottii* (N = 8) e *Crenicichla punctata* (N = 21). Através de uma incisão ventral a mandíbula faríngeal inferior foi liberada dos músculos associados ao arco hioide e posteriormente os músculos do processo faríngeal ligados ao neurocrânio foram acessados pelas aberturas dos opérculos em ambos os lados da cabeça, e o corte desses músculos liberou a mandíbula faríngeal inferior do aparato muscular branquial dos espécimes. Para a limpeza, as mandíbulas foram submersas em hipoclorito de sódio. Após, foram fotografadas em vista dorsal, em Lupa Nikon AZ100M. Nas fotografias digitalizadas, os *landmarks* de importância para a análise da alimentação foram determinados seguindo Burrett et al. (2015). Devido as partes curvadas da mandíbula faríngeal, um passo adicional foi incluído para padronizar pontos em curvas e superfícies (*semilandmarks*) seguindo Bookstein (1996). Para a inserção dos *landmarks* e *semilandmarks* foi utilizado o software TpsDig2 (Rohlf, 2017). Quatro *landmarks* foram escolhidos e um total de 32 *semilandmarks* foram traçados entre eles para descrever as curvaturas da estrutura (Fig. 2) utilizando os softwares TpsUtil64 (Rohlf, 2017) e TpsRelw (Rohlf, 2007), este último utilizado para gerar o consenso entre os arquivos e alinhar os *semilandmarks* aos *landmarks*.

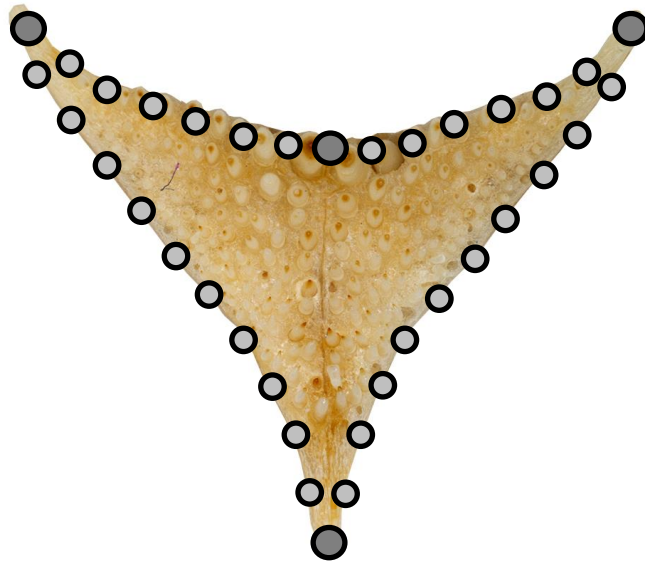


Fig. 2. Posicionamento dos *landmarks* e *semilandmarks* para as análises morfométricas das mandíbulas faríngeais inferiores. Em cinza escuros os *landmarks* utilizados e em cinza mais claro, os *semilandmarks*, utilizados nas análises de curvas das formas analisadas.

As imagens das mandíbulas faríngeais inferiores com os *landmarks* e *semilandmarks* foram investigadas, a fim de verificar se existem diferenças interespecíficas e intraespecífica. Para as análises interespecíficas, a análise generalizada de Procrustes (GPA) (Rohlf, Slice, 1990) foi aplicada aos dados das mandíbulas faríngeais inferiores (LPJ) das espécies *C. lepidota*, *C. scottii* e *C. punctata*. Geometricamente essa ação sobrepõe os organismos, alinhando assim os *landmarks* do primeiro com o segundo, e desses com o terceiro e assim consecutivamente (Rohlf, Slice, 1990). As diferenças na forma são mostradas na posição dos *landmarks* e *semilandmarks* correspondentes, através da análise dos resíduos (Rohlf, Slice, 1990). As LPJs foram analisadas quanto ao seu tamanho, utilizando análise gráfica e análise estatística, utilizando uma ANOVA, através da função `aov()` no software R (R Core Team, 2017), as diferenças interespecíficas dos tamanhos dos centroides das LPJs e o hábito alimentar estabelecido para cada uma das espécies através da análise do conteúdo estomacal, foram utilizados como co-variável. Para verificar entre quais espécies as diferenças ocorreram, o pós-teste de TukeyHSD foi aplicado usando a função de mesmo nome no software R. Um método de ordenação multivariada de Análise de Componentes Principais (PCA), foi aplicada na matriz das coordenadas de forma das LPJ, a fim de identificar os padrões e conjunto de características morfológicas que poderiam ser responsáveis pela separação dos espécimes (Legendre, Legendre, 1998). Para verificar estatisticamente a existência de diferenças entre as espécies, uma análise multivariada de Variância com Permutação (PERMANOVA) (Zuluaga-Gómez et al.,

2016) foi aplicada, utilizando a mesma matriz das coordenadas de forma das LPJ das três espécies, ambas análises foram realizadas no software R . A Análise de Variância Canônica (CVA) foi utilizada para descrever as diferenças entre as espécies e a direção na qual a média de cada uma delas se difere, utilizando o programa MorphoJ 1.06d.

Para as análises intraespecíficas os espécimes foram agrupados através da medida linear de comprimento padrão do corpo (CP) em classes de tamanho, utilizando a fórmula de Sturges (1926). Essas classes foram usadas nas análises de ontogenia. Foi aplicada a GPA e a PCA em cada uma das espécies. Para verificar a existência de diferenças significativas nas observações amostrais da forma das LPJ dentro de uma mesma espécie e verificar possíveis variáveis correlacionadas, a análise PERMANOVA foi aplicada, utilizando como covariáveis à forma, os pontos de coleta e as classes de Sturges. A fim de simplificar a descrição de possíveis diferenças encontradas e agrupar os espécimes através de uma função discriminante das variáveis, foi aplicada a Análise de Variância Canônica (CVA), utilizando as variáveis que apresentaram diferenças significativas na PERMANOVA, permitindo assim, estimar a proporção na qual os espécimes podem ser classificados como membros de um grupo *a priori*. Os dentes das mandíbulas faríngeas inferiores foram analisados quantitativamente e descritos qualitativamente de acordo com Casciotta, Arratia (1993), os buracos provenientes de perda ou reposição de dentes também foram contados.

4. RESULTADOS

4.1 Análise interespecífica

As medidas do comprimento padrão (CP) dos espécimes mostrou que a espécie *Crenicichla lepidota* é a menor dentre as três espécies: o indivíduo com menor CP mediu 68,29 mm e a maior 121,68 mm. *Crenicichla scottii* teve um CP maior que *C. lepidota*, mas menor que *Crenicichla punctata*, sendo o menor espécie com 81,62 mm CP e o maior com 159,49 mm CP. *Crenicichla punctata* foi a espécie com maior variação corporal, sendo que o menor indivíduo para a espécie mediu 57,21 mm CP e o maior 216,78 mm CP.

Foram encontrados 21 itens alimentares no conteúdo estomacal das três espécies do gênero *Crenicichla* estudadas. Estes foram agrupados em oito categorias taxonômicas amplas, distintas e expressas em valores percentuais do volume total dos itens encontrados nos estômagos (VO%) (Tab. 2 e Tab. 3).

Tab. 2 Categorias taxonômicas dos itens alimentares encontrados nos estômagos de *C. lepidota*, *C. scottii* e *C. punctata*, seus respectivos códigos e a descrição dos itens alimentares incluídos em cada categoria.

Categoria taxonômica	Código	Itens alimentares
Insetos autóctones	IAU	Chironomidae Ephemeroptera Trichoptera Diptera (imaturu) Lepidopteta (imaturu) Odonata (imaturu) Coleoptera (imaturu) Plecoptera Megaloptera
Insetos alóctones	IAL	Diptera (adulto) Hemiptera (adulto) Odonata (adulto) Coleoptera (adulto)
Outros invertebrados aquáticos	OIA	Copepoda Cladocera Acari Nematoda
<i>Aegla</i> sp.	AEG	<i>Aegla</i>
Bivalve	BIV	Bivalvia
Peixe	PEX	Peixes
Restos plantas	VEG	Resto de plantas superiores
Matéria orgânica	MOR	Matéria orgânica em processo digestivo avançado

Os resultados mostraram que *C. lepidota* consumiu um volume maior de peixes (54%) seguido de insetos autóctones (31%) (Tab. 3). Desta forma, esta espécie foi classificada como piscívora facultativa (PF). *Crenicichla scottii* foi classificada como piscívora (P), devido a contribuição de 92% do volume total dos estômagos ser do item peixes (Tab. 3). Insetos autóctones foi o item alimentar com o maior volume (44%) para espécie *C. punctata*, seguido de *Aegla* sp. (22%) e insetos alóctones (11%) (Tab. 3), permitindo classificar a espécie como insetívora generalista (IG).

Tab. 3 Itens alimentares, por categoria, ingeridos por *Crenicichla lepidota*, *Crenicichla scottii* e *Crenicichla punctata* com suas respectivas porcentagens volumétricas.

Item alimentar (categoria)	<i>Crenicichla lepidota</i>		<i>Crenicichla scottii</i>		<i>Crenicichla punctata</i>	
	VO(mm ³)	VO(%)	VO(mm ³)	VO(%)	VO(mm ³)	VO(%)
IAU	0,4895	31	0,5565	4	0,4825	44
IAL	0,0505	3	0,012	0	0,123	11
OIA	0,052	3	0,001	0	0,0057	1
AEG	0,01	1	0,452	3	0,241	22
BIV	0,008	1	0	0	0	0
PEX	0,848	54	13,39	92	0,11	10
VEG	0	0	0,04	0	0,004	0
MOR	0,1195	8	0,039	0	0,012	1

Os tamanhos das LPJs foram analisados utilizando o logaritmo do tamanho do centroide associado ao hábito alimentar. Os resultados da análise gráfica mostraram que *C. lepidota* (CRLE), apresentou uma variação maior da dieta nos espécimes com mandíbulas faríngeas menores (Fig. 3). A espécie que apresentou menor variabilidade na dieta quando comparada ao logaritmo da distância do centroide da mandíbula faríngeal, foi *C. scottii* (Fig. 3). *Crenicichla punctata* tem uma maior variabilidade de tamanho das LPJs (Fig. 3) indicando uma dieta mais variada.

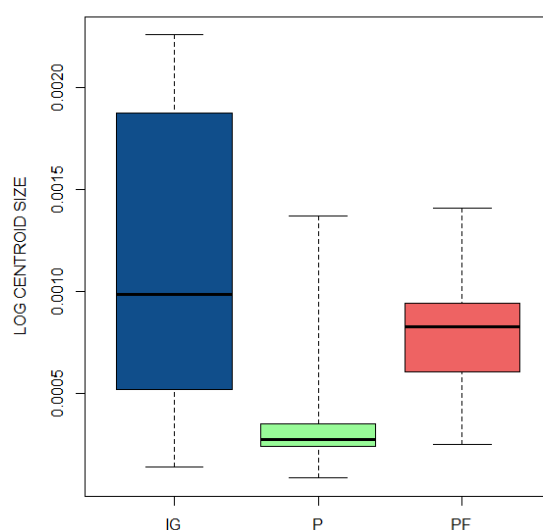


Fig. 3 Variação da dieta das três espécies de *Crenicichla* analisadas, quando comparados a distância dos centroides (log) das LPJs. Os retângulos do gráfico representam 50% dos dados para cada uma das espécies, sendo *C. punctata* (azul), *C. scottii* (verde) e *C. lepidota* (vermelho). Sendo as siglas IG, insetívora generalista, P piscívora e PF piscívora facultativa.

O teste estatístico de Análise de Variâncias (ANOVA), utilizando a distância do centroide mostrou que existem diferenças significativas entre as espécies analisadas ($F = 4,62$; $P = 0,017$). O teste de TukeyHSD foi aplicado ao resultado da ANOVA, demonstrando existir diferença significativa entre o tamanho do centroide das LPJs e o hábito alimentar de *C. scottii* e *C. punctata* ($P = 0,010$).

A PCA para a forma das LPJs das três espécies de *Crenicichla* revelou uma separação nítida entre as espécies (Fig. 4). No eixo x, o PC1 explicou 83,3% das variações que ocorrem principalmente no processo posterior das LPJs, esse processo corresponde ao local de inserção muscular das LPJs com o neurocrânio, estando fortemente associados a alimentação. Na PC1, as modificações também ocorrem na curvatura das LPJs. Assim, nos valores negativos da PC1 as placas tendem a ser mais delgadas e côncavas, com as extremidades do processo posterior curvadas. A PC2 explicou 6,1% das variações, mostrando que as modificações ocorrem na estrutura como um todo, sendo mais estreitas ao longo do score positivo do eixo y e mais largas no quadrante negativo desse mesmo eixo. *Crenicichla lepidota* agrupou-se no quadrante negativo da PC1 e no quadrante positivo da PC2, demonstrando que as LPJs dessa espécie tendem a ser mais delgadas e estreitas (Fig. 4). A espécie *C. scottii*, agrupou-se na central do gráfico (Fig. 4), com a maioria dos espécimes situadas no quadrante negativo da PC1 e no quadrante negativo da PC2, indicando que o formato da placa para essa espécie é mais robusto e não muito estreito e a curvatura mais sutil quando compara com *C. lepidota*. Os espécimes de *C. punctata* agruparam-se no quadrante positivo da PC1, indicando que as LPJs dessa espécie são mais robustas comparadas com as outras duas espécies. Ao longo da PC2, os espécimes de *C. punctata* ficaram distribuídos tanto no quadrante positivo como no negativo, próximos ao valor de origem desse eixo, demonstrando que a LPJ de *C. punctata* tem uma largura mediana, sendo a maior LPJ das três espécies analisadas (Fig. 4).

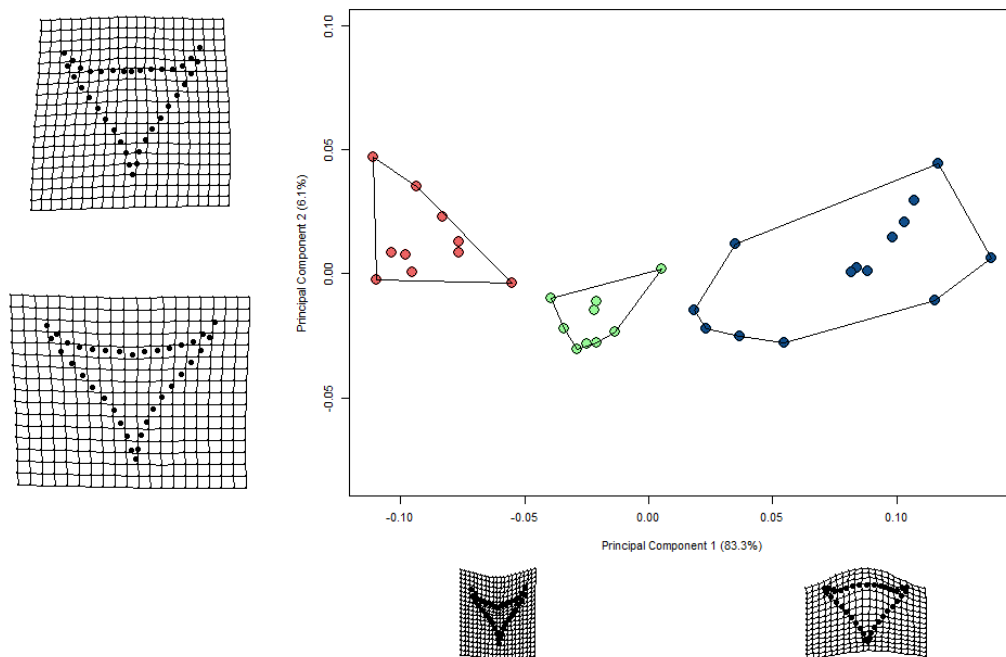


Fig. 4 Análise de Componente Principal (PCA) das mandíbulas faringiais inferiores (LPJs) das espécies, em vermelho, estão representados os espécimes de *C. lepidota*, em verde os de *C. scottii* e em azul os de *C. punctata*. As grades de deformação mostram as variações da forma das LPJs ao longo da PC1 e da PC2.

A análise de PERMANOVA mostrou que existem diferenças significativas na forma dessas LPJs para as diferentes espécies estudadas ($F = 48,79$; $P = 0,010$). As três espécies se diferenciam umas das outras significativamente nos testes entre pares: *C. lepidota* e *C. punctata* ($P = 0,001$) e *C. lepidota* com *C. scottii* ($P = 0,02$) e entre *C. scottii* e *C. punctata* com o ($P = 0,001$).

A análise das mandíbulas faringiais inferiores (LPJs) permitiu verificar que a espécie *C. lepidota* possui uma placa mais delgada e mais estreita, o que pode ser verificado através da imagem da LPJ e na grade de transformação (Fig. 5c-d). Analisando a dieta, constatou-se que a espécie alimentou-se principalmente de peixes e insetos autóctones (Fig. 5b). A espécie *C. scottii* tem uma LPJ mais larga, porém intermediária no aspecto de robustez (Figs. 5.2c-d), sendo a alimentação composta predominantemente de peixes (Fig. 5.3b). *Crenicichla punctata* apresentou duas formas de LPJ distintas (Figs 5.3d). As modificações entre essas placas ocorrem no processo posterior dessas estruturas, conforme já descrito.

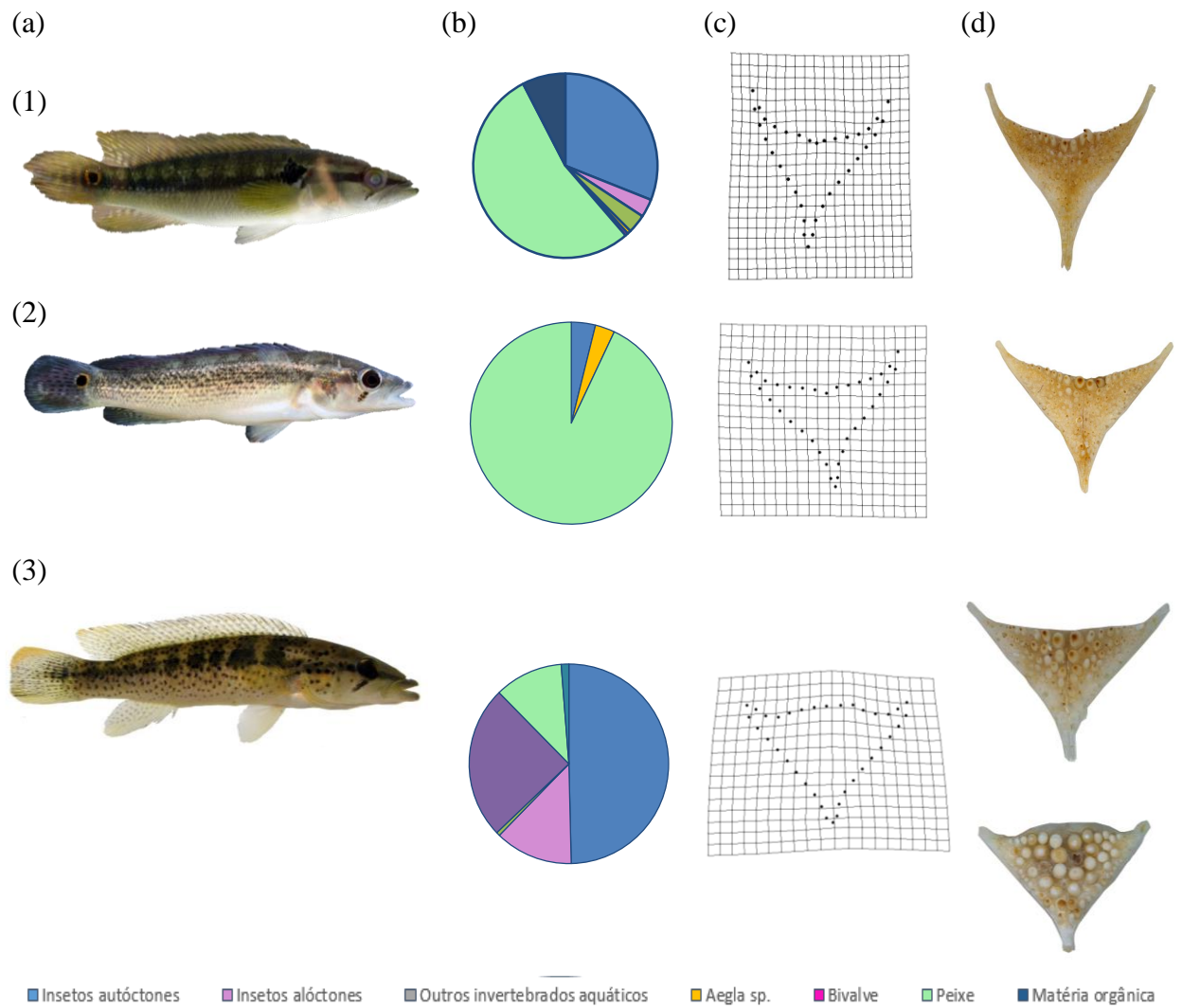


Fig. 5 (a) representantes das espécies *Crenicichla lepidota* (1), *Crenicichla scottii* (2) e *Crenicichla punctata*; (b) gráfico da porcentagem dos volumes dos itens alimentares, por categoria para cada espécie; (c) grade de deformação demonstrando onde estão ocorrendo as variações das mandíbulas faríngeas inferiores (LPJs); (d) LPJs das respectivas espécies, sendo 2 morfotipos distintos de LPJ de *C. punctata*.

No gráfico da análise de CVA (Fig. 6), foi possível verificar que a CV1, explica 92% da variação de forma das placas faríngeas e a CV2 explica 7.6%. O teste de CVA com permutação confirmou a diferença significativa entre as espécies, todas com o valor $P = 0,0001$.

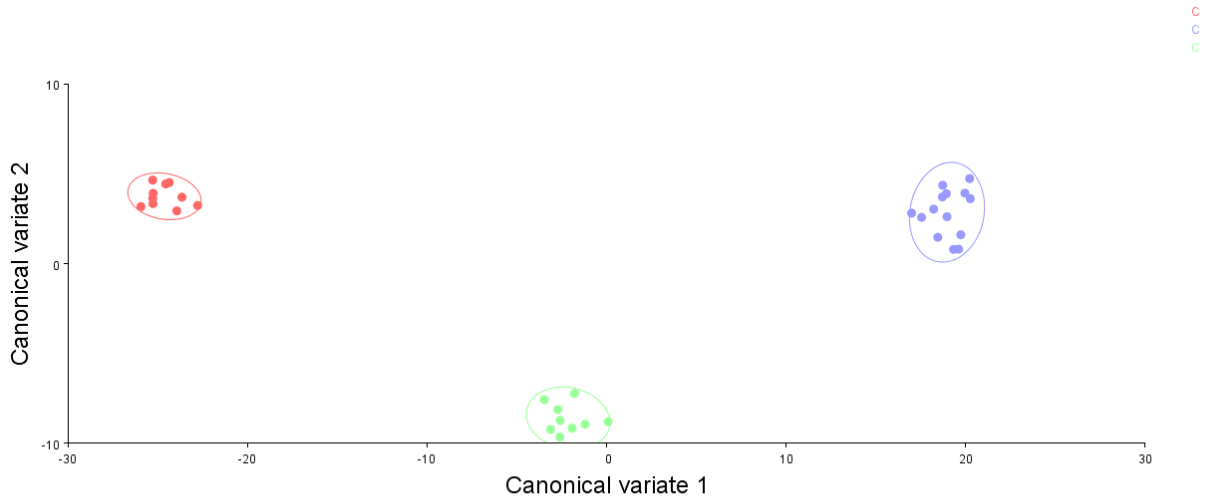


Fig. 6 Análise de Variância Canônica com permutação mostrando que existem diferenças significativas entre as três espécies de *Crenicichla*, analisadas nesse estudo. Em vermelho, *Crenicichla lepidota*, em verde *Crenicichla scottii* e em azul *Crenicichla punctata*. A CV1 descreve 92% das alterações de forma da mandíbula ao longo do eixo x e a CV2 explica 7,6% das alterações na forma das placas ao longo do eixo y.

4.2 Análise intraespecífica

Crenicichla lepidota

Foram analisados 24 estômagos de indivíduos da espécie *C. lepidota*, dos quais quatro encontravam-se vazios. Do volume total dos estômagos, 8% foram representados por itens alimentares em processo avançado de digestão e foram classificados como matéria orgânica (MOR). A contribuição de apenas 3% de insetos alóctones sobre o volume total da dieta de *C. lepidota* indica que a espécie para esse estudo não possui orientação para alimentação na lâmina da água. A categoria outros invertebrados aquáticos (OIA), também representou apenas 3% do volume total de estômagos, não sendo, portanto, um item relevante na dieta dessa espécie. Apenas 1% do volume total continha *Aegla* sp. (AEG) e o mesmo valor foi encontrado para a categoria Bivalves (BIV). *Crenicichla lepidota* foi considerada piscívora facultativa, já que o item peixe (PEX) foi o maior em volume para essa espécie ($VO\%=54$) mas só ocorreu

em dois estômagos. O gênero *Characidium* esteve presente nessa categoria, seguido de insetos autóctones com 31%, que foi representada principalmente por Ephemeroptera.

A matriz das coordenadas de forma LPJs de *C. lepidota*, já com o alinhamento da análise de GPA, foram utilizadas para a Análise de Componentes Principais (PCA), que não demonstrou nenhum padrão de agrupamento entre os espécimes (Fig. 7), demonstrando que não existem diferenças significativas de forma entre as LPJs dessa espécie para esse estudo.

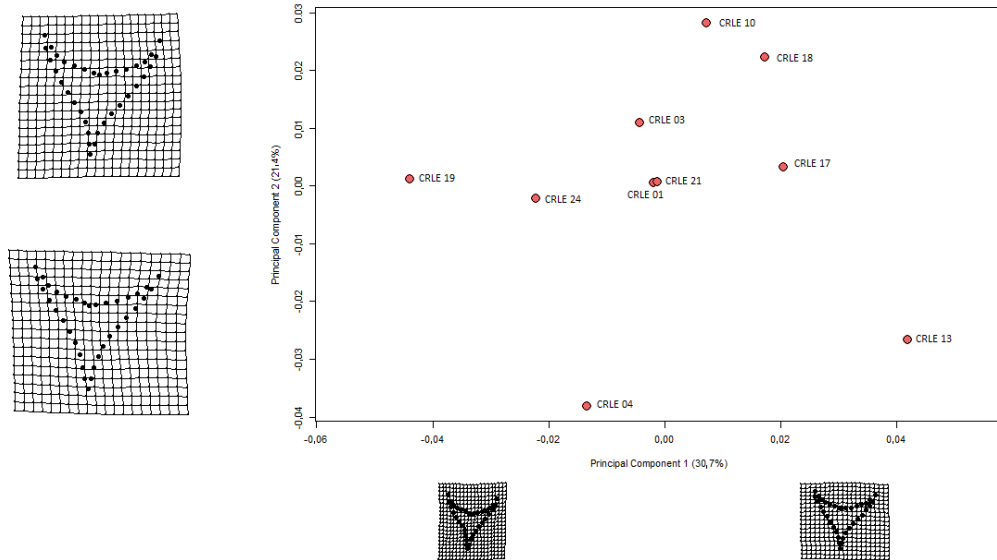


Fig. 7 Análise de Componentes Principais (PCA) para a espécie *Crenicichla lepidota* incluindo a matriz dos dados de forma da LPJs, demonstrando que não existem agrupamentos intraespecíficos. Ao longo dos eixos x e y é possível verificar as grades de transformação do formato das LPJs para a espécie.

A análise de PERMANOVA com a covariável pontos de coleta também não apresentou diferenças significativas. A PERMANOVA correlacionando a forma das LPJs e as classes de Sturges (Tab. 4), também não apresentou resultado estatisticamente significativo, desconsiderando ontogenia dentro da espécie.

Tab. 4 Intervalos do comprimento padrão do corpo dos espécimes *C. lepidota* divididos em classes através da fórmula de Sturges, sendo N o número de indivíduos por classe.

Intervalos (mm)	N	Classe
68,29 - 77,96	4	1
77,97 - 87,63	10	2
87,64 - 97,31	6	3
97,32 - 106,98	1	4
106,99 - 121,68	2	5

Quanto a dentição, as LPJs de *C. lepidota* apresentaram uma média de 83 dentes com três morfologias diferentes, sendo a maioria dentes crenulados bicúspides, encontrados na porção posterior e central da LPJ, dentes recurvados unicúspides, presentes nas porções central inferior e lateral da LPJ e dentes chanfrados na porção anterior (Fig. 8b). A LPJ de *C. lepidota*, que apresentou menos dentes, teve 23 dentes contados e 124 foi o número máximo de dentes para a espécie nesse estudo. Buracos são comumente encontrados nas LPJ do gênero, uma média de 29 buracos foram contados para essa espécie.

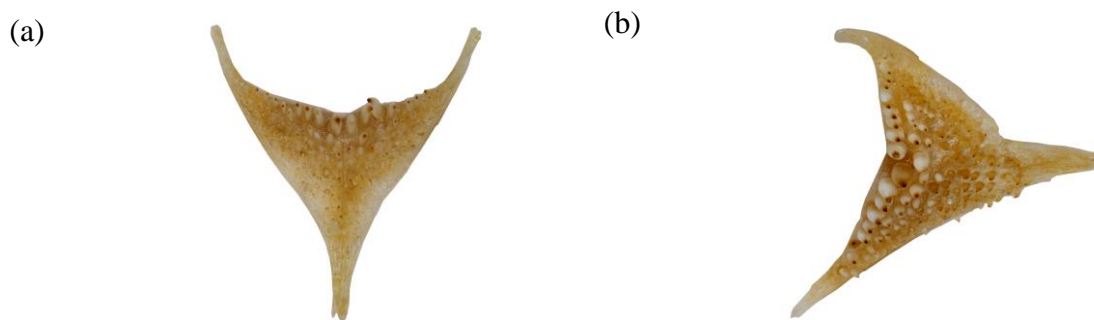


Fig. 8 Mandíbula faringeal inferior de *Crenicichla lepidota* (a) e a dentição da mesma (b).

Crenicichla scottii

A análise do conteúdo estomacal de *Crenicichla scottii*, incluiu 35 estômagos e permitiu verificar que o item alimentar mais consumido por essa espécie foi peixe, perfazendo 92% do volume total do estômago. Entre os peixes encontrados nas análises, estruturas da família Characidae foram observadas em 7 estômagos dos 10 que continham o item PEX. Insetos autóctones (IAU) foram o segundo item mais consumido, embora com uma representação de apenas 4% do volume total dos estômagos, enquanto *Aegla* sp. (AEG) representou 3%. O volume dos itens das categorias IAL, OIA, VEG e MOR representaram o 1% restante do volume total dos estômagos analisados para essa espécie. Onze estômagos estavam sem conteúdo.

Todos os indivíduos analisados dessa espécie são provenientes do mesmo local de coleta. Nesse sentido foram necessárias as análises comparativas da forma das LPJs com a covariável do local de coleta. A fim de verificar a existência de possíveis influências ontogenética na forma das LPJs, a PCA foi analisada utilizando as classes de Sturges, previamente definidas (Tab. 5). Alterações ontogenéticas não foram encontradas para a espécie (Fig. 9). Os resultados da PERMANOVA também não apresentaram significância estatística para a análise de ontogenia utilizando as classes de Sturges ($F = 1,09$; $P = 0,397$).

Tab. 5 Classes de comprimento padrão para a espécie *C. scottii*, utilizando a formula de Sturges para classificação, sendo N o número de indivíduos por classe.

Intervalo (mm)	N	Classe
81,62 - 94,32	9	1
94,33 - 107,04	8	2
107,05 - 119,75	10	3
119,76 - 132,47	5	4
132,48 - 145,18	2	5
145,19 - 159,49	1	6

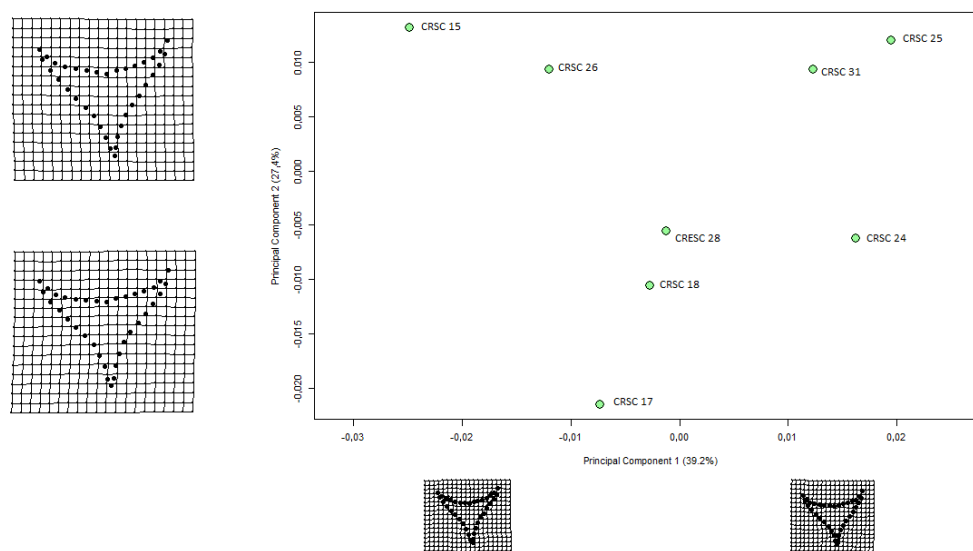


Fig. 9 Análise de componente principal (PCA) para a espécie *Crenicichla scottii*. Ao longo dos eixos x e y é possível observar as grades de deformação das LPJs.

Os dentes de *C. scottii* são molariformes nas porções central e posterior, na região central da LPJ, com uma maior concentração no processo posterior, os dentes dessa espécie tendem para um formato molariforme, embora sejam mais estreitos do que os descritos como molariformes, por isso considerados papiliformes. Ao longo do processo lateral é possível observar dentes unicúspides cônicos e à medida que distribuem para a extremidade anterior tendem a curva-se, caracterizando dentes chanfrados (Fig. 9b). A média de dentes nas mandíbulas faringais inferiores de todos indivíduos dessa espécie foi de 137 dentes, sendo o mínimo 94 e o máximo 177 dentes. Foram contados em média 21 buracos nas LPJs de *C. scottii*.

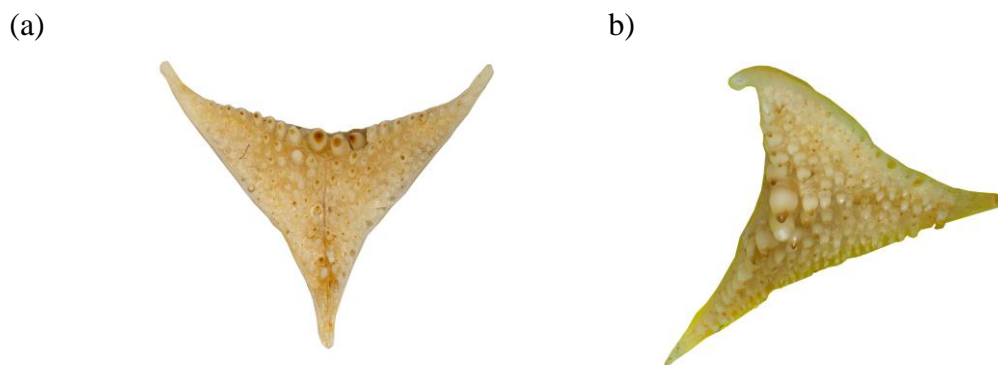


Fig. 9 Mandíbula faringeal inferior de *Crenicichla scottii* (a) e a detalhe da dentição da mesma (b).

Crenicichla punctata

Um total de 27 estômagos foram analisados para a espécie, desses, seis encontravam-se vazios. O item mais consumido por *Crenicichla punctata* foi insetos autóctones (IAU), encontrados em 18 estômagos, totalizando 44% do volume total dos estômagos analisados. Ninfas de Odonata foram bem representativas para a categoria IAU, assim como Trichoptera. Todos os estômagos do ponto de coleta RD continham esse item (Tab. 1). O consumo de *Aegla* sp. foi representado, com 22% do volume do total. As categorias peixe (PEX) e insetos alóctones (IAL) representaram 10% e 11% do volume dos estômagos analisados, respectivamente. As categorias OIA, VEG e MOR também foram encontradas nas análises, embora em uma porcentagem menor.

Para a espécie *C. punctata*, a PCA demonstrou um agrupamento de cinco espécimes no quadrante negativo da PC1 (Fig. 10). Esses espécimes do mesmo local de coleta, o Rio dos Caixões (Tab. 1). A PC1 representa 75% das alterações na forma das LPJs, apresentando-se mais delgada e côncava no processo posterior. Observando o espaço cartesiano, é possível verificar que a LPJ dessa espécie apresenta-se mais robusta ao longo do quadrante positivo da PC1. A PC2 representa 12,6% das alterações ocorridas nas LPJs de *C. punctata*, ao longo do eixo y as placas variam na estrutura como um todo as estruturas ficam mais estreitas ao longo do eixo no sentido do score negativo. Os espécimes provenientes do Rio dos Caixões, apresentam uma LPJ mais delgada, menos robusta no processo posterior e mais côncava que os demais indivíduos dessa espécie.

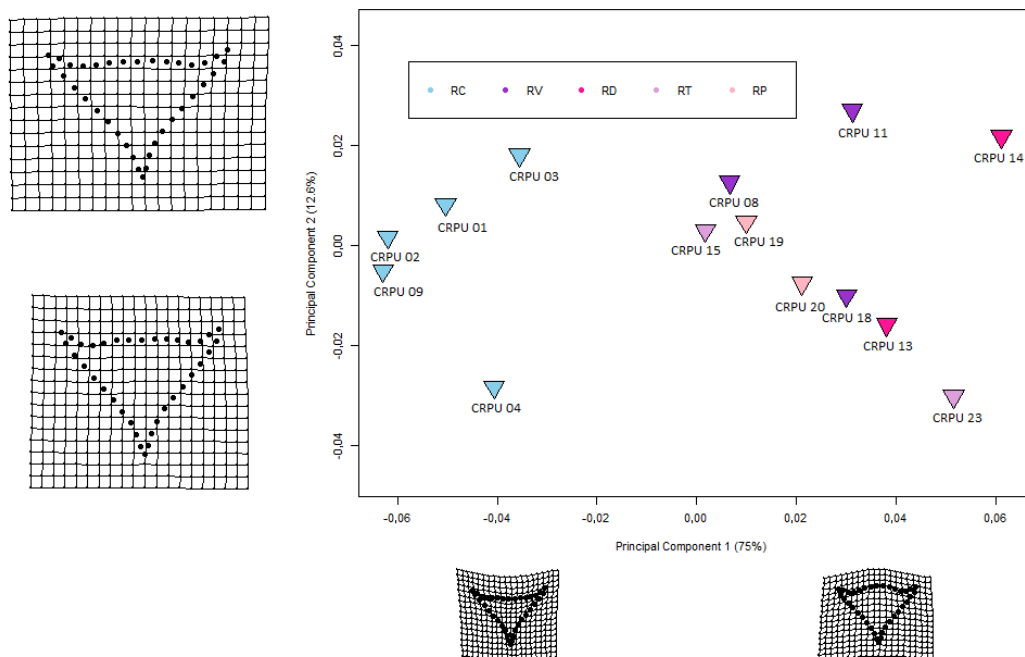


Fig. 10 gráfico da PCA com os pontos de coleta de *C. punctata*, onde pode ser observado o agrupamento dos espécimes do Rio dos Caixões (Tab. 1), representados pelos triângulos azuis. Ao longo dos eixos PC1 e PC2 é possível observar as grades de transformação das LPJs de *C. punctata*, onde é possível notar a diferença entre os espécimes no local RC.

Para testar o agrupamento observado nos gráficos da PCA, a PERMANOVA utilizando os pontos de coleta como covariável foi aplicada, demonstrando um resultado significativo ($F = 5,73$; $P = 0,010$). Os locais foram analisados com o emparelhamento das amostras, demonstrando que a principal diferença ocorre entre os locais de coleta (Tab. 1) do Rio dos Caixões (RC) e o riacho Divinéia (RD) ($P = 0,001$). Os espécimes do Rio dos Caixões (RC) também demonstraram diferenças significativas com os espécimes do ponto do rio Turvo (RT) ($P = 0,010$) e os espécimes do riacho Valoroso (RV) ($P = 0,010$). A diferença da forma da LPJ pode ser observada na Fig. 11, ao longo da PC1, onde é possível verificar a diferença da forma dessa estrutura em seus extremos. O indivíduo de *C. punctata* com o formato de placa correspondente ao extremo mínimo do score da PC1 (Fig. 11a – pontos cinzas) é representado pelo código CRPU09 no gráfico da PCA e pertence ao local de coleta RC. Já o indivíduo que representa o extremo positivo no eixo da PC1 (Fig. 11a – pontos pretos) é o indivíduo de código CRPU14, proveniente do local de coleta RD. As médias mínimas e máximas da forma da LPJ de *C. punctata* para o eixo y (PC2) da PCA, estão representadas na Fig. 11b.

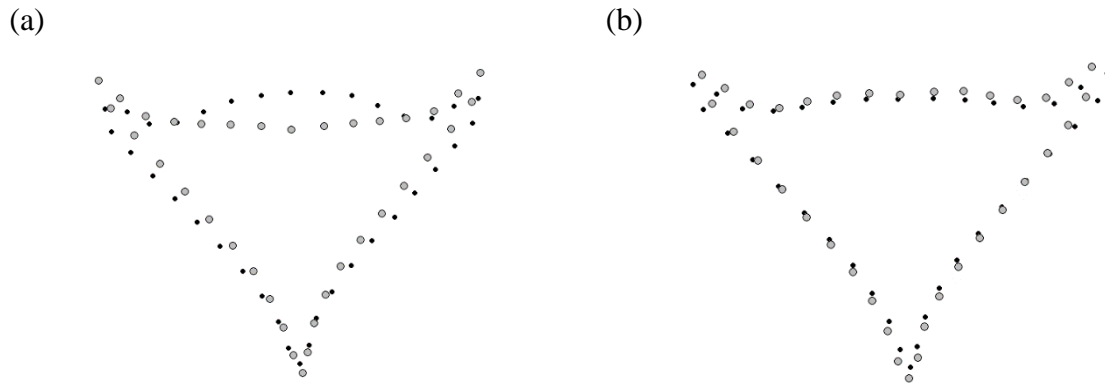


Fig. 11 Na figura (a), é possível observar a forma da PC1 máxima em preto e a forma da PC1 mínima em cinza. Na figura (b), alterações da PC2, forma máxima em preto e a forma mínima em cinza.

A PERMANOVA também foi aplicada utilizando como covariável as classes de Sturges (Tab. 6). Essa análise não apresentou resultados significativos, permitindo-nos descartar a ontogenia como variável de separação das espécies, reforçando que as diferenças intraespecíficas encontradas para *C. punctata*, estão associadas aos locais onde foram coletadas.

Tab. 6 Classes de comprimento padrão para a espécie *C. punctata*, utilizando a fórmula de Sturges para classificação, sendo N o número de indivíduos por classe.

Intervalos (mm)	N	Classe
57,21 - 88,07	10	1
88,08 - 118,95	6	2
118,96 - 149,82	0	3
149,83 - 180,70	0	4
180,71 - 216,78	2	5

A fórmula de Sturges classificou os intervalos das medidas de comprimento corporal padrão de *C. punctata* em cinco classes, sendo que as classes que não foram representadas por nenhum indivíduo, foram reunidas para as análises, permanecendo apenas as três classes.

Constatada a diferença entre indivíduos provenientes de diferentes locais de coleta nas análises de PCA e PERMANOVA, a Análise de Variância Canônica (CVA) foi aplicada aos dados de forma, utilizando os locais de coleta como covariável. Observou-se no gráfico da CVA, o agrupamento dos espécimes do Rio dos Caixões (RC) (Tab. 1) e também do rio valeroso (RV), embora a maior variância entre os locais de coleta tenha sido em relação aos espécimes do riacho Divinéia (RD). Uma elipse de confiança (80%) foi traçada para melhor visualização dos agrupamentos (Fig. 12).

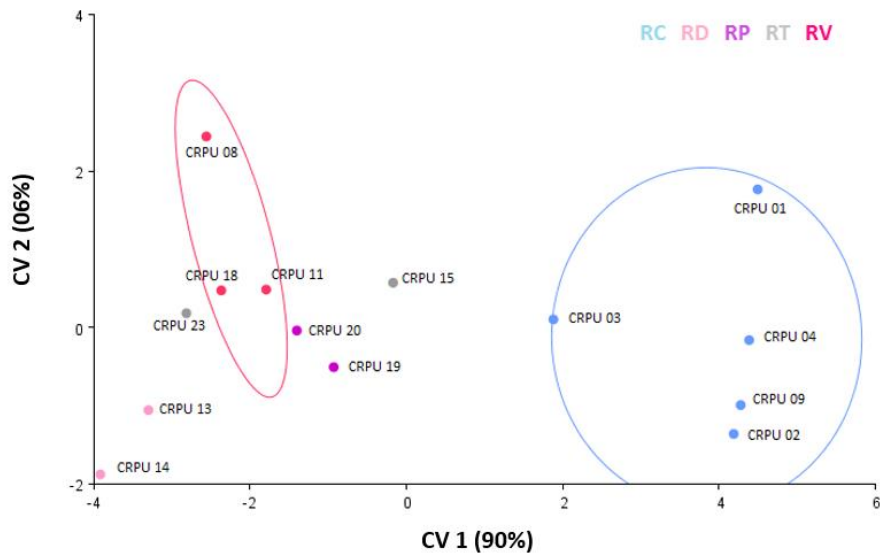


Fig. 12 A análise canônica de variância (CVA) dos pontos de coleta, demonstram através da CV1 que 90% das alterações no formato das mandíbulas faringais inferiores e a CV2 explica 6% das alterações ocorridas ao longo da CV2. Uma elipse de confiança de 80% foi traçada para melhor visualização dos agrupamentos dos espécimes para os diferentes locais de coleta. Sendo RC (Rio dos Caixões), RD (riacho Divinéia), RP (riacho da Paz), RT (riacho Turvo) e RV (riacho Valoroso).

Os dentes de *C. punctata* têm um formato molariforme, algumas LPJ apresentam dentes molariformes e unicúspides, outras apresentam dentes crenulado bicúspides, a grande maioria dos espécimes têm dentes unicúspides recurvados nas laterais e região anterior da LPJ (Fig. 13b). Os espécimes do ponto RC têm dentes papiliformes e na região posterior e central observam-se dentes crenulados bicúspides, enquanto que nas laterais e parte inferior da LPJ podem ser observados dentes unicúspides recurvados (Tab. 1; Fig. 13d). A média de dentes para a espécie *C. punctata* foi 71, variando entre 30 e 154.

(a)



(c)





Fig. 13 Mandíbula faringeal inferior de *Crenicichla punctata*, sendo a imagem (a) representante do morfotipo molariforme e a imagem (b) a visão lateral dessa. Na imagem (c) espécime representante do morfotipo papiliforme, proveniente do local de coleta RC e suas respectivas dentições (d).

5. DISCUSSÃO

Os resultados da análise de PCA interespecífica mostraram que as três espécies analisadas apresentam diferentes formas nas suas mandíbulas faringeais inferiores (LPJs). Segundo Liem (1973), a mandíbula faringeal é plástica e fortemente relacionada com a dieta, uma vez que sua morfologia reflete o seu uso funcional. As espécies que se alimentam de itens duros como conchas e macrocrustáceos, tendem a ter uma mandíbula faringeal mais robusta, com dentes molariformes, o que facilita a trituração e processamento dos itens. As espécies que se alimentam de itens moles, como peixes e insetos, apresentam a estrutura da LPJ delgada, fina e alongada. Já as LPJs com desenvolvimento ósseo intermediário, comparados aos morfotipos supracitados, são característicos de espécies generalistas, que se alimenta de itens alimentares variados. As alterações estruturais de forma, profundidade e robustez estão relacionadas ao processo muscular da mandíbula inferior (Liem, 1973). Assim, espécies que consomem alimentos que exigem uma força maior de processamento dos itens, apresentam o aparato faringeal diferente das espécies que se alimentam de itens que não exigem força no processamento, cada qual adaptado para o tipo de presa consumida.

A espécie *Crenicichla lepidota*, nesse estudo, apresentou uma LPJ delgada quando comparada as outras duas espécies, com processos laterais longos, extremidades do processo posterior mais próximas e mais curvadas, característicos de ciclídeos que se alimentam de peixes, mas não são piscívoros obrigatórios (Burress et al., 2013b). Os tipos de presas que não requerem força para serem consumidas, como peixes, são frequentemente associados a LPJs delgadas com dentes unicúspides recurvados, adequados para agarrar e manipular presas que são consumidas inteiras (Hellig et al., 2010; Burress et al., 2013b). Verificamos que os espécimes de *Crenicichla lepidota* apresentaram esse mesmo morfotipo e a sua dieta corroborou com o encontrado por Hartz (1997), Gibrán et al., (2001) e Burress et al., (2015). *Crenicichla*

lepidota foi considerada nesse estudo piscívora facultativa, consumindo primeiramente peixes, mas também quantias consideráveis de insetos autóctones. Os processos laterais relativamente mais alongados dessa espécie são diferentes do morfotipo apresentado pelas espécies *Crenicichla scottii* e *Crenicichla punctata*. A variação da forma ao longo da PC1, que representou significativos 83,3% das variações das LPJs em nossos resultados, representa graficamente a diferença entre as espécies analisadas.

Crenicichla scottii, por sua vez, apresenta uma LPJ mais robusta e com dentes papiliformes de aspecto mais largo que os de *C. lepidota*, embora a dieta de *C. scottii* tenha sido composta basicamente de peixes. Espécies com LPJ mais profundas, como a de *C. scottii*, tendem a ser menos piscívoras, pois a profundidade também está associada a capacidade de abertura das mandíbulas faríngeas. Assim, LPJs mais robustas dificultam o processo de engolir presas maiores, como peixes (Wainwright, 1987; Husley, 2006; Burress et al., 2015). O morfotipo da LPJ encontrado em *C. scottii* é geralmente associado a indivíduos que se especializam em comer invertebrados e moluscos moles (Hulsey et al., 2006). O maior consumo de peixes na dieta de *C. scottii* pode estar associado a um aumento na riqueza das espécies predadas no ambiente, os espécimes analisados foram coletados em um afluente do Rio Uruguai (Tab. 1) durante as estações chuvosas do bioma Pampa (Lobón-Cerviá et al., 2013; Burress et al., 2013b, Burress et al., 2015). Winemiller (1990) constatou que as relações de consumo e presas são frequentemente temporais e espacialmente dinâmicas em resposta a condições ambientais. A disponibilidade dos alimentos também pode ser um fator para o aumento no consumo de itens diferentes dos conhecidos na literatura.

No estudo de Burress et al. (2015), na mesma bacia hidrográfica, os espécimes de *C. scottii* consumiram primeiramente macrocrustáceos. Greenwood (1965) estudou a espécie africana *Astatoreochromis alluaudi*, que embora seja considerada uma espécie de hábito alimentar generalista, tem a morfologia da sua LPJ semelhante as espécies que consomem moluscos duros. Essa espécie também apresenta uma LPJ similar à de *C. scottii* e, em alguns sistemas, *A. alluaudi* consome quase exclusivamente itens alimentares macios, como insetos e peixes, corroborando os resultados encontrados para *C. scottii* (Binning, Chapman, 2010). Sabe-se que a morfologia da mandíbula faríngeal é uma característica altamente plástica (Greenwood, 1965), assim, podemos associar a piscivoria de *C. scottii* a possíveis interações que ocorrem em resposta a uma ampla variedade de desafios ecológicos (Binning Chapman, 2010).

Diferindo de *C. scottii*, o morfotipo da LPJ encontrado para *C. punctata* é associado a dietas com itens alimentares mais duros. A LPJ de *C. punctata* é mais robusta, com o processo posterior bem desenvolvido, dentes molariformes e curvatura mais convexa. Na nossa análise, sua dieta foi composta de insetos autóctones, mas também foi bem representada por crustáceos *Aegla* sp. A forma da LPJ de *C. punctata* está de acordo com as descritas para espécies com os mesmos hábitos alimentares (Hulsey et al., 2008; Burress et al., 2013b; Young 2013; Schneider et al., 2014, Burress et al., 2015). Na filogenia de Piálek et al. (2012), *C. punctata* é grupo irmão de *C. scottii*, essa última representando sua própria linhagem. Essa relação pode ser observada na distribuição dos espécimes dessas duas espécies nos gráficos das análises interespecíficas de PCA e CVA, onde *C. scottii* mostra-se morfologicamente mais próxima de *C. punctata*.

Segundo Burress et al. (2015), as LPJs de *Crenicichla scottii* e *Crenicichla punctata* exibem morfologias semelhantes, possuem processos laterais espaçados, comprimento intermediário e profundidade intermediária, sendo *C. punctata* um pouco mais robusta do que *C. scottii*. A morfologia descrita para as espécies em nosso estudo corrobora com Burress et al. (2015), embora a LPJ de *C. punctata* no ponto do Rio dos Caixões tenha apresentado uma semelhança muito maior com *C. scottii* e um morfotipo diferente dos espécimes coletados nos outros pontos. Sabe-se que a capacidade adaptativa da LPJ tenha provavelmente facilitado à diversificação evolutiva entre os ciclídeos, não só aumentando a capacidade funcional, mas também a eficiência e a versatilidade (Liem, 1973; Burress et al., 2015). A capacidade de um organismo variar seu fenótipo em resposta ao meio ambiente em que ele se encontra pode desempenhar um papel importante na geração de diversidade ecológica e na radiação adaptativa, facilitando a adaptação e as condições ecológicas heterogêneas, particularmente quando associada a polimorfismos tróficos (Wimberger, 1992; Abelha et al., 2001; Burress et al., 2015). A plasticidade em resposta à estimulação mecânica durante a alimentação permite que a LPJ e a sua dentição se adaptem à utilização de recursos específicos (Muschick et al., 2011), resultando em fenótipos especializados que aumentam a capacidade e eficiência de forrageamento em associação com esses recursos (Liem, 1973; Wainwright et al., 2012; Burress, 2015). O processamento de diferentes tipos de alimentos resulta em mudanças de tensão e pressão sobre o osso, levando ao remodelamento e conseqüente alteração da forma (Abelha et al., 2001). O remodelamento ósseo, os processos básicos moleculares e as expressões gênicas envolvidos na plasticidade fenotípica das mandíbulas faríngeas dos ciclídeos, dentro de um contexto de desenvolvimento, podem representar uma rede subjacente à plasticidade adaptativa. Essa rede

é fortemente responsiva ao meio ambiente, sendo relacionada por Schneider et al. (2014) com a expressão de genes de plasticidade existente no grupo.

O aparato faringeal dos espécimes de *Crenicichla punctata* por nós analisados, apresentou diferenças intraespecíficas, ocorrendo dois morfotipos distintos de LPJ. Husley et al. (2005) encontrou resultados semelhantes para a espécie *Herichthys minckleyi* (Kornfield & Taylor 1983) sendo dois morfotipos distintos para a mesma espécie. Um, sugestivo de hábito alimentar moluscívoro característico de indivíduos especializados em macerar presas duras e o outro morfotipo mais delgado e papiliforme. O grau em que a mandíbula faringeal é reforçada, o tamanho e tipo de dentição dessa mandíbula, variam muito de acordo com o grau em que uma espécie explora presas duras e, portanto, o grau de estresse incorrido durante a mastigação (Hulsey, 2006; Burress et al. 2015). Assim, os grandes crustáceos, como *Aeglas* sp., provavelmente exigem mais força para o processamento das presas, devido ao tamanho e ao exoesqueleto relativamente mais robustos, do que larvas de insetos, que têm corpos moles (Burress 2015).

Gunter et al. (2013) também abordam em sua pesquisa com *Astatoreochromis alluaudi*, dois morfotipos distintos para a mesma espécie. Um morfotipo molariforme com LPJs hipertrofiadas e dentes molariformes adaptados para macerar alimentos duros e um morfotipo papiliforme com a LPJ mais delgada, adaptada para alimentos moles, como insetos (Meyer, 1989; Huysseune, 1995; Gunter et al., 2013; Schneider et al., 2014). Em nossas análises *C. punctata* apresentou dois morfotipos distintos de LPJ em ambiente natural, onde as espécies com LPJ caracterizadas como papiliformes se alimentaram de insetos autóctones e alóctones, enquanto os demais espécimes analisados apresentaram uma LPJ robusta com dentes molariformes, e se alimentaram principalmente de insetos autóctones, mas também de macrocrustáceos (e.g. *Aegla* sp.). Mayer (1987) investigou a dieta associada a plasticidade fenotípica em laboratório, utilizando *Cichlasoma panamense* enquanto Wimberger (1992) utilizou *Geophagus brasiliensis* e *G. steindachneri*. Ambos autores concordam que a dieta pode induz a plasticidade fenotípica da LPJ. Gunter et al. (2013) propôs que genes pleiotróficos, que são genes que afetam muitos aspectos do fenótipo (ou “genes da plasticidade” segundo Gunter, Mayer, 2014) podem orientar o desenvolvimento de dentes e mandíbulas (Snustad, Simmons, 2001; Gunter et al., 2013; Gunter, Mayer, 2014).

Esses estudos expandem nossa compreensão da interação entre processos genéticos e ecológicos e como eles se relacionam com os processos de especiação, por adaptações morfológicas, facilitando a radiação adaptativa (Muschick, et al., 2011; Burress et al., 2015). Ava-

liar se uma chave de inovação complexa como a LPJ dos ciclídeos é responsável por uma divergência trófica é difícil (Husley, 2006), a especiação simpátrica e a formação de espécies na ausência de barreiras geográficas continua a ser um dos conceitos mais controversos em biologia evolutiva (Barluenga et al., 2006). Análises moleculares de expressão gênica poderiam evidenciar ainda mais as variações das LPJs, não apenas no aspecto morfológico, mas também na resposta química e moleculares que estão envolvidas nessas adaptações. Os hábitos alimentares de *C. lepidota*, associados a forma da sua LPJ estão de acordo com a literatura e corroboraram os dados encontrados nesse estudo. O morfotipo da LPJ de *C. scottii* geralmente estar associado com o consumo de presas mais duras, a variação na dieta dessas espécies parece ser comum. Os dois morfotipos distintos encontrados em *C. punctata* e a associação com a dieta desses espécimes demonstraram que LPJs com formas intermediárias e dentição papiliforme estão associadas a uma dieta composta de itens “moles”, enquanto as LPJs com forma mais robusta e dentes molariformes estão associadas a uma dieta de itens alimentares mais duros. Os resultados por nós encontrados estão de acordo com os apresentados por outros autores, para os espécimes de *C. punctata*, a variação intraespecífica pode ser relacionada ao processo de plasticidade fenotípica e com a adaptação adaptativa característica das espécies da família Cichlidae. Esses, demonstram o quão fascinante são os processos genéticos e ecológicos e como eles facilitam a radiação adaptativa e a especiação desse grupo entre os vertebrados.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abelha, M. C. F., A. A. Agostinho & E. Goulart. 2001. Plasticidade trófica em peixes de água doce. *Acta Scientiarum*, 23: 425-434.
- Albertson, R. C., & Kocher, T. D. 2006. Genetic and developmental basis of cichlid trophic diversity. *Heredity*, 97(3), 211.
- Barluenga, M., Stölting, K. N., Salzburger, W., Muschick, M., & Meyer, A. 2006. Sympatric speciation in Nicaraguan crater lake cichlid fish. *Nature*, 439(7077), 719.
- Binning, S. A & L. J. Chapman. 2010. Is intraspecific variation in diet and morphology related to environmental gradients? Exploring Liem's paradox in a cichlid fish. *Integrative Zoology*, 5: 241-255.
- Bonato, K. O., & Fialho, C. B. 2011. Fishes of Alto Jacuí sub-basin: a poorly studied sub-basin of northwestern Rio Grande do Sul, Brazil. *Check List*, 12(2), 1867.
- Bookstein, F. L. 1991. Thin-plate splines and the atlas problem for biomedical images. In *Biennial International Conference on Information Processing in Medical Imaging* (pp. 326-342). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Bookstein, F. L. 1996. Combining the tools of geometric morphometrics. In *Advances in morphometrics* (pp. 131-151). Springer US.
- Boulenger, G. A. 1898. An account of the reptiles and batrachians collected by Mr. WFH Rosenberg in western Ecuador. *Journal of Zoology*, 66(1), 107-128.
- Burress, E. D. 2016. Ecological diversification associated with the pharyngeal jaw diversity of Neotropical cichlid fishes. *Journal of Animal Ecology*, 85(1), 302-313.
- Burress, E. D., A. Duarte, W. S. Serra & M. Loureiro. 2015. Rates of piscivory predict pharyngeal jaw morphology in a piscivorous lineage of cichlid fishes. *Ecology of Freshwater Fish*,
- Burress, E. D., A. Duarte, W. S. Serra, M. Loureiro, M. M. Gangloff & L. Siefferman. 2013a. Functional diversification within a predatory species flock. *PloS One* 8: e80929.
- Burress, E. D., A. Duarte, W. S. Serra, M. M. Gangloff & L. Siefferman. 2013b. Species-specific ontogenetic diet shifts among Neotropical *Crenicichla*: using stable isotopes and tissue stoichiometry. *Journal of Fish Biology*, 82: 1904-1915.

Casciotta, J. R. 1987. *Crenicichla celidochilus* n. sp. from Uruguay and a multivariate analysis of the lacustris group (Perciformes, Cichlidae). *Copeia*, 883-891.

Casciotta, J. R., & Arratia, G. 1993. Jaws and teeth of American cichlids (Pisces: Labroidae). *Journal of Morphology*, 217(1), 1-36.

Claes, G., & De Vree, F. 1991. Kinematics of the pharyngeal jaws during feeding in *Oreochromis niloticus* (Pisces, Perciformes). *Journal of Morphology*, 208(2), 227-245.

Dala-Corte, R. B., Giam, X., Olden, J. D., Becker, F. G., Guimarães, T. D. F., & Melo, A. S. 2016. Revealing the pathways by which agricultural land-use affects stream fish communities in South Brazilian grasslands. *Freshwater Biology*, 61(11), 1921-1934.

Elmer, K. R., Kusche, H., Lehtonen, T. K., & Meyer, A. 2010. Local variation and parallel evolution: morphological and genetic diversity across a species complex of neotropical crater lake cichlid fishes. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 365(1547), 1763-1782.

Eschmeyer, W. N. and R. Fricke, and R. van der Laan (eds). 2017. CATALOG OF FISHES: GENERA, SPECIES, REFERENCES. Electronic version accessed 20 abr 2017.

(<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>).

FEPAM – Fundação Estadual de Proteção Ambiental Henrique Luiz Roessler – RS. Secretária do Ambiente e Desenvolvimento Sustentável. http://www.fepam.rs.gov.br/qualidade/qualidade_jacui/jacui.asp. Acessado em: 02 Ago., 2017.

Gibran, F. Z., K. M. Ferreira, & R. M. C. Castro. 2001. Diet of *Crenicichla labritskii* (Perciformes: Cichlidae) in a stream of rio Aguapeí Basin, upper rio Paraná system, southeastern Brazil. *Biota Neotropica*, 1: 1-5.

Greenwood, P. H. 1965. Environmental effects on the pharyngeal mill of a cichlid fish, *Astatoreochromis alluaudi*, and their taxonomic implications. In *Proceedings of the Linnean Society of London* (Vol. 176, No. 1, pp. 1-10). Blackwell Publishing Ltd.

Gunter, H. M., & Meyer, A. 2014. Molecular investigation of mechanical strain-induced phenotypic plasticity in the ecologically important pharyngeal jaws of cichlid fish. *Journal of Applied Ichthyology*, 30(4), 630-635.

- Gunter, H. M., Fan, S., Xiong, F., Franchini, P., Fruciano, C., & Meyer, A. 2013. Shaping development through mechanical strain: the transcriptional basis of diet-induced phenotypic plasticity in a cichlid fish. *Molecular ecology*, 22(17), 4516-4531.
- Hartz, S. M. 1997. Alimentação e estrutura da comunidade de peixes da lagoa Caconde, litoral norte do Rio Grande do Sul, Brasil. *Unpublished Ph. D. Dissertation. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. 282p.*
- Hellawell, J. M. & R. Abel. 1971. A rapid volumetric method for the analysis of the food of fishes. *Journal of Fish Biology*, 3: 29-37.
- Hellig, C. J., Kerschbaumer, M., Sefc, K. M., & Koblmüller, S. 2010. Allometric shape change of the lower pharyngeal jaw correlates with a dietary shift to piscivory in a cichlid fish. *Naturwissenschaften*, 97(7), 663-672.
- Hulsey, C. D. & F. J. Gracia de León. 2005. Cichlid jaw mechanics: linking morphology to feeding specialization. *Functional Ecology*, 19: 487-494.
- Hulsey, C. D. 2006. Function of a key morphological innovation: fusion of the cichlid pharyngeal jaw. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 273(1587), 669-675.
- Hulsey, D. C., Roberts, R. J., Lin, A. S., Guldberg, R., & Streelman, T. J. 2008. Convergence in a mechanically complex phenotype: detecting structural adaptations for crushing in cichlid fish. *Evolution*, 62(7), 1587-1599.
- Huysseune, A. 1995. Phenotypic plasticity in the lower pharyngeal jaw dentition of *Astatoreochromis alluaudi* (Teleostei: Cichlidae). *Archives of Oral Biology*, 40(11), 1005-1014.
- Hyslop, E. J. 1980. Stomach contents analysis - a review of methods and their application. *Journal of Fish Biology*, 17: 411-429.
- Kerschbaumer, M., & Sturmbauer, C. 2011. The utility of geometric morphometrics to elucidate pathways of cichlid fish evolution. *International journal of evolutionary biology*, 2011.
- Klingenberg, C. P. (2016). Size, shape, and form: concepts of allometry in geometric morphometrics. *Development genes and evolution*, 226(3), 113-137.
- Klingenberg, C. P. 2010. Evolution and development of shape: integrating quantitative approaches. *Nature reviews. Genetics*, 11(9), 623.

- Kullander, S. O. (2003). Family cichlidae. *Check list of the freshwater fishes of South and Central America*, 605-654.
- Kullander, S. O. 1998. A phylogeny and classification of the South American Cichlidae (Teleostei: Perciformes). *Phylogeny and classification of Neotropical fishes*, 461-498.
- Liem, K. F. 1973. Evolutionary strategies and morphological innovations: cichlid pharyngeal jaws. *Systematic zoology*, 22(4), 425-441.
- Lobón-Cerviá, J., Utrilla, C. G., Querol, E., & Puig, M. A. 1993. Population ecology of pike-cichlid, *Crenicichla lepidota*, in two streams of the Brazilian Pampa subject to a severe drought. *Journal of fish biology*, 43(4), 537-557.
- López-Fernández, H., Arbour, J., Willis, S., Watkins, C., Honeycutt, R. L., & Winemiller, K. O. 2014. Morphology and efficiency of a specialized foraging behavior, sediment sifting, in neotropical cichlid fishes. *PloS one*, 9(3), e89832.
- Lopez-Fernández, H., Honeycutt, R. L., & Winemiller, K. O. 2005. Molecular phylogeny and evidence for an adaptive radiation of geophagine cichlids from South America (Perciformes: Labroidei). *Molecular phylogenetics and evolution*, 34(1), 227-244.
- López-Fernández, H., Winemiller, K. O., Montaña, C., & Honeycutt, R. L. 2012. Diet-morphology correlations in the radiation of South American geophagine cichlids (Perciformes: Cichlidae: Cichlinae). *PLoS One*, 7(4), e33997.
- Lucena, C. A., & Kullander, S. O. 1992. The *Crenicichla* (Teleostei: Cichlidae) species of the Uruguai River drainage in Brazil. *Ichthyol Explor Fres*, 3, 97-192.
- Lucena, C.A.S., B.B. Calegari, E.H.L. Pereira and E. Dallegrave. 2013a. O uso de óleo de cravo na eutanásia de peixes. *Boletim Sociedade Brasileira de Ictiologia* 105: 20–24.
- Malabarba, M. C., Malabarba, L. R., & López-Fernández, H. 2014. On the Eocene cichlids from the lumbrera formation: additions and implications for the Neotropical ichthyofauna. *Journal of Vertebrate Paleontology*, 34(1), 49-58.
- Merritt, R. W., & Cummins, K. W. (Eds.). 1996. *An introduction to the aquatic insects of North America*. Kendall Hunt.
- Meyer, A. 1987. Phenotypic plasticity and heterochrony in *Cichlasoma managuense* (Pisces, Cichlidae) and their implications for speciation in cichlid fishes. *Evolution*, 41(6), 1357-1369.

- Meyer, A. 1989. Cost of morphological specialization: feeding performance of the two morphs in the tropically polymorphic cichlid fish, *Cichlasoma citrinellum*. *Oecologia*, 80(3), 431-436.
- Mugnai, R., Nessimian, J. L., & Baptista, D. F. 2010. Manual de identificação de macroinvertebrados aquáticos do Estado do Rio de Janeiro: para atividades técnicas, de ensino e treinamento em programas de avaliação da qualidade ecológica dos ecossistemas lóticos. Technical Books Editora.
- Muschick, M., Barluenga, M., Salzburger, W., & Meyer, A. 2011. Adaptive phenotypic plasticity in the Midas cichlid fish pharyngeal jaw and its relevance in adaptive radiation. *BMC Evolutionary Biology*, 11(1), 116.
- Nelson, J. S. 2006. Fishes of the world, 600 pp.
- Piálek, L., Říčan, O., Casciotta, J., Almirón, A., & Zrzavý, J. (2012). Multilocus phylogeny of *Crenicichla* (Teleostei: Cichlidae), with biogeography of the *C. lacustris* group: species flocks as a model for sympatric speciation in rivers. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 62(1), 46-61.
- R Core Team (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rohlf, F. J. 1990. Morphometrics. *Annual Review of ecology and Systematics*, 21(1), 299-316.
- Rohlf, F. J. 1998. On applications of geometric morphometrics to studies of ontogeny and phylogeny. *Systematic Biology*, 47(1), 147-158.
- Rohlf, F. J. 2007. tpsRelw version 1.45. *Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook*.
- Rohlf, F. J. 2015. The tps series of software. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*, 26(1), 9-12.
- Rohlf, F. J., & Slice, D. 1990. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic Biology*, 39(1), 40-59.
- Schneider, R. F., Li, Y., Meyer, A., & Gunter, H. M. 2014. Regulatory gene networks that shape the development of adaptive phenotypic plasticity in a cichlid fish. *Molecular ecology*, 23(18), 4511-4526.

- Smith, L., Chakrabarty, P., & Sparks, J. S. 2008. Phylogeny, taxonomy, and evolution of Neotropical cichlids (Teleostei: Cichlidae: Cichlinae). *Cladistics*, 24(5), 625-641.
- Sparks, J. S., & Smith, W. 2004. Phylogeny and biogeography of cichlid fishes (Teleostei: Perciformes: Cichlidae). *Cladistics*, 20(6), 501-517.
- Wainwright, P. C. 1987. Biomechanical limits to ecological performance: Mollusc-crushing by the Caribbean hogfish, *Lachnolaimus maximus* (Labridae). *Journal of Zoology*, 213(2), 283-297.
- Wainwright, P. C. 2005. Functional morphology of the pharyngeal jaw apparatus. *Fish Physiology*, 23, 77-101.
- Wainwright, P. C., Osenberg, C. W., & Mittelbach, G. G. 1991. Trophic polymorphism in the pumpkinseed sunfish (*Lepomis gibbosus* Linnaeus): effects of environment on ontogeny. *Functional Ecology*, 40-55.
- Windell, J. T., & Bowen, S. H. 1978. Methods for study of fish diets based on analysis of stomach contents. *IBP Handbook (IBP)*. no. 3.
- Winemiller, K. O., Kelso-Winemiller, L. C., & Brenkert, A. L. 1995. Ecomorphological diversification and convergence in fluvial cichlid fishes. In *Ecomorphology of fishes* (pp. 235-261). Springer Netherlands.
- Young, R. L. 2013. Linking conceptual mechanisms and transcriptomic evidence of plasticity-driven diversification. *Molecular ecology*, 22(17), 4363-4365.
- Zelditch, M. L., Swiderski, D. L., & Sheets, H. D. 2012. *Geometric morphometrics for biologists: a primer*. Academic Press.
- Zuluaga Zuluaga-Gómez, M. A., Fitzgerald, D. B., Giarrizzo, T., & Winemiller, K. O. 2016. Morphologic and trophic diversity of fish assemblages in rapids of the Xingu River, a major Amazon tributary and region of endemism. *Environmental Biology of Fishes*, 99(8-9), 647-658. Gó