

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA COMPARADA

Sistemática molecular multilocus de *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Decapoda,
Caridea, Palaemonidae)

Jaqueline Roberta Pereira da Costa

Dissertação apresentada à Faculdade de
Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto
da Universidade de São Paulo, como parte das
exigências para a obtenção do título de Mestre
em Ciências, obtido no Programa de Pós-
Graduação em Biologia Comparada.

Ribeirão Preto – SP

(2024)

RESUMO

COSTA, J. R. P. **Sistemática molecular multilocus de *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Decapoda, Caridea, Palaemonidae)**. 2024. 51 p. Dissertação (Mestrado em Ciências: Biologia Comparada) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2024.

O “camarão-da-amazônia” *Macrobrachium amazonicum* distribui-se na América do Sul, compreendendo populações costeiras e continentais. É uma importante espécie dulcícola da região Neotropical devido à sua abundância e papel ecológico, imenso potencial para cultivo e exploração comercial, e enigmática plasticidade fenotípica, ecológica e reprodutiva. Tal variação tem sido alvo de investigações sobre o *status* taxonômico da espécie, levando a questionamentos sobre a ocorrência de uma nova espécie entre as populações, *M. pantanalense*. Os estudos moleculares realizados com *M. amazonicum* até o momento limitaram-se ao uso de marcadores mitocondriais, com altas taxas de mutação, e que podem se mostrar saturados para relações mais antigas ou quando se comparam níveis taxonômicos superiores. Considerando a problemática descrita, o objetivo deste projeto foi investigar o *status* taxonômico de *M. amazonicum* por meio da análise filogenética molecular baseada em multigenes. Foram utilizados quatro marcadores moleculares, sendo dois mitocondriais (16S e COI) e dois nucleares (H3 e 18S) de exemplares de diferentes regiões do Brasil, incluindo as localidades tipo de *M. amazonicum* e *M. pantanalense*. Dezenove lotes foram analisados, aos quais foram submetidos a extração – em uma porção de tecido muscular do abdômen ou do tecido muscular dos pereiópodes, reações de PCR, purificação e sequenciamento. As sequências foram editadas no software *Geneious Prime* e alinhadas para análise filogenética de Máxima Verossimilhança. Os resultados das análises com os genes mitocondriais (16S e COI) indicaram alta proximidade filogenética entre as populações em estudos. Os genes nucleares (18S e H3) indicaram resultados similares aos genes mitocondriais, exceto para H3. As populações de Corumbá-MS, Colíder-MT, Avaré-SP e Bodoquena-MG indicam semelhanças morfológicas com as populações de Aquidauana-MS e Miranda-MS relatadas como *M. pantanalense*. Entretanto, os valores de suporte da análise de Verossimilhança não foram significativos para a árvore concatenada dos quatro genes. Apesar das evidências apontarem para que *M. amazonicum lato sensu* represente um possível complexo de espécies, os valores de suporte das diferentes análises aqui conduzidas não permitem afirmar se *M. pantanalense* corresponde a uma espécie válida, ou se as variações biológicas observadas nesse grupo são variações intraespecíficas.

Palavras-chave: DNA mitocondrial; DNA nuclear; distância genética.

ABSTRACT

COSTA, J. R. P. **Multilocus molecular systematics of *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Decapoda, Caridea, Palaemonidae)**. 2024. 51 p. Thesis (Master Science) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2024.

The "Amazon River prawn" *Macrobrachium amazonicum* is distributed throughout South America, comprising both coastal and continental populations. It is an important freshwater species in the Neotropical region due to its abundance and ecological role, immense potential for cultivation and commercial exploitation, and enigmatic phenotypic, ecological and reproductive plasticity. This variation has been the subject of investigations into the taxonomic status of the species, leading to questions about the occurrence of a new species among the populations, *M. pantanalense*. The molecular studies carried out on *M. amazonicum* to date have been limited to the use of mitochondrial markers, which have high mutation rates and may prove to be saturated for older relationships or when comparing higher taxonomic levels. Considering the problems described above, the aim of this project was to investigate the taxonomic status of *M. amazonicum* by means of molecular phylogenetic analysis based on multigenes. Four molecular markers were used, two mitochondrial (16S and COI) and two nuclear (H3 and 18S) from specimens from different regions of Brazil, including the type localities of *M. amazonicum* and *M. pantanalense*. Nineteen batches were analyzed, which were subjected to extraction - in a portion of muscle tissue from the abdomen or muscle tissue from the pereopods, PCR reactions, purification and sequencing. The sequences were edited using *Geneious Prime* software and aligned for Maximum Likelihood phylogenetic analysis. The results of the analyses of the mitochondrial genes (16S and COI) indicated high phylogenetic proximity between the populations under study. The nuclear genes (18S and H3) showed similar results to the mitochondrial genes, except for H3. The populations of Corumbá-MS, Colíder-MT, Avaré-SP and Bodoquena-MG indicate morphological similarities with the populations of Aquidauana-MS and Miranda-MS reported as *M. pantanalense*. However, the support values from the likelihood analysis were not significant for the concatenated tree of the four genes. Although the evidence points to *M. amazonicum* lato sensu representing a possible species complex, the support values of the different analyses conducted here do not allow us to state whether *M. pantanalense* corresponds to a valid species, or whether the biological variations observed in this group are intraspecific variations.

Keywords: mitochondrial DNA; nuclear DNA; genetic distance.

INTRODUÇÃO

Decapoda (Latreille, 1802) é representada por espécies que habitam ecossistemas marinhos, dulcícolas e de transição (De Grave *et al.*, 2008; Anger *et al.*, 2009; Hobbs & Lodge, 2010), sendo a ordem com maior diversificação de táxons dentro da classe Malacostraca, representada por camarões, siris, lagostas, caranguejos, entre outros. Com aproximadamente 149 gêneros, a família Palaemonidae Rafinesque, 1815 é a mais representativa em termos de diversidade de espécies (Fransen & De Grave, 2009; De Grave & Fransen, 2011; De Grave *et al.*, 2015; DecaNet - WoRMS, 2024). Os representantes da Família Palaemonidae Rafinesque, 1815 são numericamente dominados por camarões do gênero *Macrobrachium* Spence Bate, 1868, com mais de 240 espécies, distribuídas majoritariamente nas regiões tropicais e subtropicais do globo terrestre (Murphy & Austin, 2005; De Grave *et al.*, 2009; Wowor *et al.*, 2009; De Grave & Fransen, 2011; Anger, 2013), sendo que muitas delas apresentam enorme interesse comercial (García-Guerrero *et al.*, 2013; Chong-Carrillo *et al.*, 2016).

Conhecido popularmente como “camarão-da-amazônia”, *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) é uma das espécies com ampla distribuição na América do Sul, ocorrendo desde a Venezuela, em águas costeiras e continentais, até a Argentina (Holthuis, 1966; Pileggi *et al.*, 2013; Paschoal *et al.*, 2020). No Brasil, ocorre em ecossistemas estuarinos ou dulcícolas do estado do Acre ao Paraná, entretanto, sua distribuição nativa abrange as áreas das bacias do Orinoco, Amazonas, Paraguai e baixo rio Paraná (Vergamini *et al.*, 2011; Pileggi *et al.*, 2013; Paschoal *et al.*, 2020). A espécie é caracterizada pela presença em ambientes lacustres, de planície de inundação e ambientes lóticos em planícies tropicais (Maciel & Valenti, 2009). Entre as espécies nativas, *M. amazonicum* possui grande potencial para cultivo devido às características biológicas (Kutty *et al.*, 2000), como desenvolvimento rápido, resistência a doenças e predadores, além de fácil manutenção em cativeiro (Sampaio *et al.*, 2007; Lobão & Rojas, 1991). Devido a este potencial, a espécie

tem recebido especial atenção da comunidade científica desde a década de 1980 (Moraes-Valenti & Valenti, 2007; Maciel & Valenti, 2009), demonstrando uma enorme ampliação da distribuição, muito em parte causada por ação antrópica voltada a cultivos em diferentes escalas.

As populações de *M. amazonicum* podem ser classificadas em dois grupos: populações costeiras, que vivem próximas às regiões estuarinas; e populações continentais, encontradas no interior da América do Sul (Moraes-Valenti & Valenti, 2007; Vergamini *et al.*, 2011; Pantaleão *et al.*, 2018). Variações populacionais em *M. amazonicum* foram descritas em várias localidades, com foco nas estratégias reprodutivas de populações costeiras e continentais, diferença de tamanho de ovos, tamanho dos adultos e fecundidade (Odinetz-Collart, 1987; Odinetz-Collart & Magalhães, 1994; Odinetz-Collart & Rabelo, 1996; Pantaleão *et al.*, 2012; Meireles *et al.*, 2013; Hayd & Anger, 2013; Pantaleão *et al.*, 2014; Pantaleão *et al.*, 2018; Paschoal *et al.*, 2019; Paschoal *et al.*, 2020; Silva *et al.* 2020).

Dentro da distribuição de *M. amazonicum*, foi descrita uma nova espécie identificada como *Macrobrachium pantanalense* por Dos Santos *et al.* 2013. A sua distribuição ocorre na América do Sul, especificamente na região do Pantanal, e leva o nome da área na qual foi vista pela primeira vez. *M. pantanalense* é comumente encontrado em ambientes lânticos aderidos a um rio principal, como em margens de rios, onde há poucas correntes de água, grande quantidade de vegetação e plantas aquáticas que podem proporcionar abrigo e alimento para esses indivíduos. Ao comparar a morfologia de uma população específica do Pantanal (Lagoa da Baiazinha, lago conectado ao Rio Miranda, no Mato Grosso do Sul) com a morfologia de *M. amazonicum*, Dos Santos *et al.* (2013) identificaram diferenças no segundo pereiópode, no télson, no escafoerito, na margem ventral do rostro e em padrões de cores de machos e fêmeas, levando a validação de uma espécie distinta. A descrição da nova espécie baseou-se em características reprodutivas, larvais, fisiológicas e em alguns caracteres

morfológicos (Anger & Hayd, 2010; Charmantier & Anger, 2011; Dos Santos *et al.*, 2013; Hayd & Anger, 2013).

Segundo Anger *et al.* (2009), variações intraespecíficas podem surgir devido ao isolamento genético entre diferentes populações. Esse isolamento, ao longo do tempo, pode resultar em um processo inicial de formação de novas espécies. Por outro lado, existem casos em que espécies compartilham características morfológicas semelhantes, sendo denominadas de "crípticas", ou seja, essas espécies são praticamente indistinguíveis quando analisadas a partir da morfologia, mas apresentam diferenças biológicas e barreiras reprodutivas que as separam. Essas semelhanças morfológicas podem dificultar a identificação das espécies, resultando na perda de informações sobre a diversidade biológica (Pfenninger *et al.*, 2007) e aspectos populacionais.

Ferramentas moleculares têm desempenhado um papel crucial na identificação e compreensão do *status* taxonômico de diversas espécies de decápodes (Negri *et al.*, 2012; Mantelatto *et al.*, 2022), principalmente em casos de semelhanças interespecíficas e variações morfológicas intraespecíficas, um cenário frequentemente encontrado em espécies como *M. amazonicum*. Dentre as abordagens utilizadas para análises da variabilidade intraespecífica, destacam-se os marcadores moleculares, incluindo genes mitocondriais e nucleares.

O DNA mitocondrial (mtDNA), em particular, tem sido uma escolha comum para estudos populacionais e filogenéticos devido à sua abundância, facilidade de isolamento e alta taxa de mutação. Estudos sobre as relações filogenéticas de diferentes grupos de crustáceos decápodes têm demonstrado a utilidade do mtDNA (Schubart *et al.*, 2000; 2002; Daniels *et al.*, 2002; Austin *et al.*, 2003; Schubart *et al.*, 2009). Todavia, genes mitocondriais são haploides e geralmente não sofrem recombinação na maioria dos táxons (Leese & Held, 2011). Devido à sua alta sensibilidade à deriva genética, análises baseadas em mtDNA podem indicar a classificação de linhagem completa e monofilia, mesmo na ausência de fluxo gênico, e pode

permanecer semelhante em diferentes populações ou espécies (Shaw, 2002). Além disso, a evolução do mtDNA é única, tornando-o limitante e não representativo em comparação com outras regiões genômicas (Rokas *et al.*, 2003; Ballard & Whitlock, 2004).

Embora o mtDNA seja uma ferramenta valiosa, é importante complementar as análises com outros marcadores moleculares para uma compreensão mais abrangente da diversidade e evolução das espécies de decápodes. Uma estratégia mitigatória para lidar com as possíveis inconsistências na utilização isolada do mtDNA é complementar as informações moleculares com o DNA nuclear, o qual é extremamente conservado e pode apresentar uma história evolutiva mais informativa (Neigel & Avise, 1986), além de ser um marcador mais apropriado para análises de níveis taxonômicos maiores, como gêneros, famílias (Timm & Bracken-Grisson, 2015). Ao considerar essas especificidades, a análise conjunta de genes mitocondriais e nucleares pode resultar em reconstruções filogenéticas mais completas sobre a estrutura genética populacional das espécies (Wanna & Phongdara, 2011).

Em um estudo sobre aspectos genéticos de *M. amazonicum*, com a utilização de dois marcadores moleculares mitocondriais (16S e COI mtDNA), Vergamini *et al.* (2011) compararam 13 populações (incluindo costeiras e continentais) para descrever a variabilidade genética do táxon. Os autores interpretaram os resultados como divergência genética em nível intraespecífico nessas populações, já que os valores obtidos ficaram abaixo das distâncias interespecíficas previamente reportadas para o gênero (Liu *et al.*, 2007; Pileggi & Mantelatto, 2010).

Nesse contexto, após a descrição da nova espécie *M. pantanalense*, Weiss *et al.* (2015) compararam duas populações (interior do Pantanal e estuarina do nordeste brasileiro) e inferiram sobre a ocorrência de isolamento geográfico e possível ausência de fluxo gênico entre essas populações. Os resultados foram interpretados como suporte para sustentar a existência das duas espécies como entidades taxonômicas válidas. Esses mesmos autores

sugeriram a presença de espécies crípticas em outras populações investigadas por Vergamini *et al.* (2011). Baseando-se em um único gene (COI mtDNA), Calixto-Cunha *et al.* (2021) também relataram a presença de *M. pantanalense* no Rio Araguari, na Bacia Hidrográfica Paraná, sudeste do Brasil.

Utilizando outra abordagem, Nogueira *et al.* (2020) testaram o potencial de cruzamento entre espécimes de *M. amazonicum* e da localidade tipo de *M. pantanalense*. Os resultados sugeriram a inviabilidade reprodutiva entre as populações e corroboram a proposta de especiação recente. Em trabalhos mais recentes, os mesmos autores (Nogueira *et al.*, 2023) identificaram diferenças na morfologia larval, além de distinção de tamanho e tempo de desenvolvimento, considerando-os como entidades distintas.

Os estudos sobre a sistemática molecular de *M. amazonicum* até o momento revelaram uma abordagem limitada quanto aos marcadores moleculares, geralmente utilizando apenas um ou dois marcadores de forma independente. O uso em conjunto de dois marcadores mitocondriais e sua combinação com marcadores nucleares (mais conservados) pode representar uma estratégia coerente e mais eficaz para o entendimento das relações filogenéticas (Schubart, 2009; Timm & Bracken-Grissom, 2015).

Considerando a problemática sobre o *status* taxonômico de *M. amazonicum* e *M. pantanalense*, é imprescindível a realização de análises moleculares que permitam elucidar, com maior grau de informação, as relações existentes entre estas duas entidades. Soma-se a este contexto a necessidade de investigar a existência de possíveis espécies crípticas, principalmente oriundas da Bacia Amazônica. Esse foco tem papel crucial, pois *M. amazonicum* tem enorme apelo comercial e, portanto, conhecer o *status* taxonômico é premissa relevante.

CONCLUSÃO

Macrobrachium amazonicum apresentou variações moleculares e morfológicas, podendo ser explicado pelo isolamento geográfico entre as populações. Os resultados encontrados nas análises moleculares baseadas em quatro marcadores moleculares sustentam a hipótese de sinonímia das espécies *Macrobrachium amazonicum* e *Macrobrachium pantanalense*. Ao analisar a morfologia, é notável a semelhança dos caracteres morfológicos das populações do Pantanal, assim como o agrupamento nas análises filogenéticas. Entretanto, mesmo com semelhanças morfológicas externas, não há suporte filogenético para separar essas populações em duas espécies.

Nas análises filogenéticas, se considerar *M. pantanalense* como uma nova espécie, dentro da linhagem de *M. amazonicum* há indícios de um terceiro subgrupo, considerando-os três grupos com histórias de vida distintas e que podem divergir ao longo do tempo, se mantiver isolamento geográfico.

Por fim, ressalta-se a necessidade de investigações detalhadas sobre a morfologia com a diagnose integrada à genética para a compreensão da linhagem *M. amazonicum*, uma vez que podem trazer informações mais amplas até mesmo sobre comportamento, ecologia, desenvolvimento e distribuição desses grupos.

REFERÊNCIAS

- Anger, K. *et al.* 2009. Patterns of larval growth and chemical composition in the Amazon River prawn *Macrobrachium amazonicum*. *Aquaculture*, 287: 341-348.
- Anger, K.; Hayd, L. 2010. Feeding and growth in early larval shrimp, *Macrobrachium amazonicum*, from the Pantanal, southwestern Brazil. *Aquatic Biology*, 9: 251-261.
- Anger K. 2013. Neotropical *Macrobrachium* (Caridea: Palaemonidae): On the biology, origin, and radiation of freshwater invading shrimp. *Journal of Crustacean Biology*, 33: 151-183.
- Austin, C.M. *et al.* 2003. The taxonomy and evolution of the *Cherax destructor* complex (Decapoda: Parastacidae) re-examined using mitochondrial 16S sequences. *Australian Journal of Zoology*, 51: 1-12.
- Ballard, J.W.; Whitlock, M.C. 2004. The incomplete natural history of mitochondria. *Molecular Ecology*, 13: 729-744.
- Calixto-Cunha, M. *et al.* 2021. Genetic and phenotypic variability in populations of the *Macrobrachium amazonicum* complex: New findings to the upper Paraná Hydrographic Basin. *Zoologischer Anzeiger*, 293: 26-36.
- Charmantier, G.; Anger, K. 2011. Ontogeny of osmoregulatory patterns in the South American shrimp *Macrobrachium amazonicum*: loss of hypo-regulation in a land-locked population indicates phylogenetic separation from estuarine ancestors. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 396: 89-98.
- Chong-Carrillo, O. *et al.* 2016. The prawns of the genus *Macrobrachium* (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) with commercial importance: a patentometric view. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 44(3): 602-609.
- Colgan, D.J.; McLauchlan, A.; Wilson, G.D.F.; Livingston, S.P.; Edgecombe, G.D.; Macaranas, J.; Cassis, G.; Gray, M.R. 1998. Histone H3 and U2 snRNA DNA sequences and arthropod molecular evolution. *Australian Journal of Zoology*, 46: 419-437.
- Daniels, S. *et al.* 2002. Phylogentic relationships of the southern African freshwater crab fauna (Decapoda: Potamonautidae: *Potamonautes*) derived from multiple data sets reveal biogeographic patterning. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 25: 511-523.
- De Grave, S.; Cai, Y.; Anker, A. 2008. Global diversity of shrimps (Crustacea: Decapoda: Caridea) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595: 287-293.
- De Grave, S. *et al.* 2009. A Classification of Living and Fossil Genera of Decapod Crustaceans. *Raffles Bulletin of Zoology*. 21 Supplement: 1-109.

- De Grave, S.; Fransen, C.H.J.M. 2011. Carideorum catalogus: The Recent Species of the Dendrobranchiate, Stenopodidean, Procarididean and Caridean Shrimps (Crustacea: Decapoda). *Zoologische Mededelingen*, 85(9): 195-589.
- De Grave, S. *et al.* 2015. Dead Shrimp Blues: A Global Assessment of Extinction Risk in Freshwater Shrimps (Crustacea: Decapoda: Caridea). *PLoS ONE*, 10(3): e0120198.
- De Queiroz, K. 2007. Species Concepts and Species Delimitation. *Systematic Biology*, 56(6): 879-886.
- Dos Santos, A.; Hayd, L.; Anger, K. 2013. A new species of *Macrobrachium* Spence Bate, 1868 (Decapoda: Palaemonidae), *Macrobrachium pantanalense*, from the Pantanal, Brazil. *Zootaxa*, 3700: 534-546.
- Fransen, C.H.J.M.; De Grave, S. 2009. Evolution and radiation of shrimp-like decapods: An overview. In: Martin, J.W.; Crandall, K.A.; Felder, D.L. *Decapod Crustacean Phylogenetics*. Taylor and Francis/CRC Press, Boca Raton, Crustacean, 18: 245-260.
- Futuyma, D.J. 1992. *Biologia evolutiva*. 2ª edição. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética/CNPq, 646.
- García-Guerrero, M.U. *et al.* 2013. Los lagostinos del género *Macrobrachium* con importancia económica y pesquera em América Latina: conocimiento actual, rol ecológico y conservación. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 41(4): 651-675.
- Gomes-Corrêa, M.M. 1977. *Palaemonídeos do Brasil (Crustacea-Decapoda-Natantia)*. MSc Thesis, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brazil.
- Hayd, L.; Anger, K. 2013. Reproductive and morphometric traits of *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda: Palaemonidae) from the Pantanal, Brazil, suggests initial speciation. *Revista de Biologia Tropical*, 61: 39-57.
- Heller, C. 1862. Beiträge zur näheren Kenntniss der Macrouren. *Sitzungsberichte der Akademie der Wissenschaften in Wien*, 45: 389-425.
- Hobbs, H.H.; Lodge, D.M. 2010. *Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates – Chapter 22 – Decapoda*. Third Edition. Academic Press, 901-967.
- Holthuis, L.B. 1952. A general revision of the Palaemonidae (Crustacea, Decapoda, Natantia) of the Americas. II. The Subfamily Palaemonidae. *Occasional Papers of the Allan Hancock Foundation*, 12: 1-396.
- Holthuis, L.B. 1966. A collection of freshwater prawns (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) from Amazônia, Brazil, collected by Dr. G. Marlier. *Bulletin de l'Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique*, 42(10): 1-11.

- Katoh, K.; Standley, D.M. 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*, 30: 772-780.
- Kearse, M. *et al.* 2012. Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28(12): 1647-1649.
- Kutty, M.N.; Herman, F.; Menn, H.L. 2000. Culture of the prawn species. *Freshwater Prawn Culture: The Farming of *Macrobrachium rosenbergii**. Blackwell Science Ltd, Oxford, 393-410.
- Leese, F.; Held, C. 2011. Analyzing intraspecific genetic variation: a practical guide using mitochondrial DNA and microsatellites. *Phylogeography and Population Genetics in Crustacea*, 1: 3-30.
- Liu, M.Y., Cai, Y.X., Tzeng, C.S. 2007. Molecular systematics of the freshwater prawn genus *Macrobrachium* Bate, 1868 (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) inferred from mtDNA sequences, with emphasis on East Asian species. *Zoological Studies*, 46: 272-289.
- Lobão, V.L.; Rojas, N.E.T. 1991. Camarões de água doce, da coleta ao cultivo, à comercialização. São Paulo, 112.
- Luo, R. *et al.* 2012. SOAPdenovo2: an empirically improved memory-efficient short-read de novo assembler. *GigaScience*, 1(1):18.
- Maciel, C.R.; Valenti, W.C. 2009. Biology, Fisheries, and Aquaculture of the Amazon River Prawn *Macrobrachium amazonicum*: A Review. *Nauplius*, 17(2): 61-9.
- Magalhães, C.; Bueno, S.L.S.; Bond-Buckup, G.; Valenti, W.C.; Silva, H.L.M.; Kiyohara, F.; Mossolin, E.C. & Rocha, S.S. 2005. Exotic species of freshwater decapod crustaceans in the state of São Paulo, Brazil: records and possible causes of their introduction. *Biodiversity and Conservation*, 14(8): 1929-1945.
- Mantelatto, F.L.; Robles, R.; Felder, D.L. 2007. Molecular phylogeny and taxonomic approach of the crab genus *Portunus* (Crustacea, Portunidae) from Western Atlantic. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 150: 211-220.
- Mantelatto, F.L. *et al.* 2018. DNA sequence database as a tool to identify decapod crustaceans on the São Paulo coastline, Mitochondrial DNA Part A, 29(5): 805-815. DOI: 10.1080/24701394.2017.1365848.
- Mantelatto, F.L. *et al.* 2021. Multigene phylogeny and taxonomic revision of American shrimps of the genus *Cryphiops* Dana, 1852 (Decapoda, Palaemonidae) implies a proposal for

- reverse of precedence with *Macrobrachium* Spence Bate, 1868. *ZooKeys*, 1047(3): 155-198.
- Mantelatto, F.L. *et al.* 2022. Combined multigene and morphological analysis reveals lineage-specific diversification of the neotropical freshwater crabs of the genus *Fredius* Pretzmann, 1967 (Brachyura, Pseudothelphusidae). *Systematics and Biodiversity*, 20(1): 1-15.
- Meireles, A.L.; Valenti, W.C.; Mantelatto, F.L. 2013. Reproductive variability of the Amazon River prawn, *Macrobrachium amazonicum* (Caridea, Palaemonidae): influence of life cycle on egg production. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 41(4): 718-731.
- Melo, G.A.S. 2003. Manual de Identificação dos Crustacea Decapoda de Água Doce do Brasil. São Paulo: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo; Loyola.
- Miller, M.A.; Pfeiffer, W.; Schwartz, T. 2011. The CIPRES science gateway: a community resource for phylogenetic analyses. *Association for Computing Machinery*, 41: 1-8.
- Moraes-Valenti, P.M.C.; Valenti, W.C. 2007. Effect of the intensification on grow out of the Amazon River prawn *Macrobrachium amazonicum*. *Jornal of the World Aquaculture Society*, 38(4): 516-526.
- Murphy, N.P.; Austin, C.M. 2002. A preliminary study of 16S rRNA sequence variation in Australian *Macrobrachium* shrimps (Palaemonidae: Decapoda) reveals inconsistencies in their current classification. *Invertebrate Systematics*, 16(5): 697-701.
- Murphy, N.P.; Austin, C.M. 2003. Molecular taxonomy and phylogenetics of some species of Australian palaemonid shrimps. *Journal of Crustacean Biology*, 23(1): 169-177.
- Murphy, N.P.; Austin, C.M. 2005. Phylogenetic relationships of the globally distributed freshwater prawn genus *Macrobrachium* (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae): biogeography, taxonomy and the convergent evolution of abbreviated larval development. *Zoologica Scripta*, 34(2): 187-197.
- Negri, M.; Pileggi, L.G.; Mantelatto, F.L. 2012. Molecular barcode and morphological analyses reveal the taxonomic and biogeographic status of the striped-legged hermit crab species *Clibanarius sclopetarius* (Herbst, 1796) and *Clibanarius vittatus* (Bosc, 1802) (Decapoda: Diogenidae). *Invertebrates Systematics*, 26: 561-571.
- Neigel, J.E.; 1986. Phylogenetic relationships of the mitochondrial DNA under various demographic models of speciation. In: Karlin, S. & Nevo, E. *Evolutionary processes and theory*. Academic Press, New York, 515-534.

- Nguyen, L.T. *et al.* 2015. IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 32(1): 268-274.
- Nogueira, C.S.; Pantaleão, J.A.F.; Costa, R.C. 2020. Hybridisation experiments between freshwater prawns *Macrobrachium amazonicum* and *M. pantanalense* (Decapoda: Palaemonidae), and the effects of geographical isolation. *Marine and Freshwater Research*, 72: 520-525.
- Nogueira, C.S.; Camargo, N.F.; Pantaleão, J.A.F.; Costa, R.C. 2023. Elucidating taxonomic problems of two closely related freshwater prawn lineages of the genus *Macrobrachium* (Caridea: Palaemonidae): A geometric morphometrics approach. *Zoologischer Anzeiger*, 304: 73-83. <https://doi.org/10.1016/j.jcz.2023.03.003>
- Nogueira, C.S.; Costa, R.C.; J.A.F., Pantaleão. 2023. Variation in larval traits between closely related species of freshwater prawns (*Macrobrachium amazonicum* and *M. pantanalense*). *Acta Zoologica*, 00: 1-15. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/azo.12489>
- Odinetz-Collart, O. 1987. La pêche crevettière de *Macrobrachium amazonicum* (Palaemonidae) dans le Bas Tocantins, après la fermeture du barrage de Tucuruí (Brésil). *Revue d'Hydrobiologie Tropicale*, 20: 131-144.
- Odinetz-Collart, O.; Magalhães, C. 1994. Ecological constraints and life history strategies of palaemonid prawns in Amazonia. *Verhandlungen der Internationalen Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie*, 25: 2460-2467.
- Odinetz-Collart, O.; Rabelo, H. 1996. Variation in egg size of the fresh-water prawn *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda: Palaemonidae). *Journal of Crustacean Biology*, 16: 684-688.
- Palumbi, S.R.; Benzie, J. 1991. Large mitochondrial DNA differences between morphologically similar penaeid shrimp. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 1 (1): 27-34.
- Pantaleão, J.A.F.; Hirose, G.L.; Costa, R.C. 2012. Relative growth, morphological sexual maturity, and size of *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) in a population with an entirely freshwater life cycle. *Invertebrate Reproduction & Development*, 56: 180-190.
- Pantaleão, J.A.F.; Hirose, G.L.; Costa, R.C. 2014. Occurrence of male morphotypes of *Macrobrachium amazonicum* (Caridea, Palaemonidae) in a population with an entirely freshwater life cycle. *Brazilian Journal of Biology*, 74: 223-232.

- Pantaleão, J.A.F. *et al.* 2018. The influence of environmental variables in the reproductive performance of *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Caridea: Palaemonidae) females in a continental population. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 90(2): 1445-1458.
- Paschoal, L.R.P. *et al.* 2019. Reproductive biology of *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) populations with distinct phenotypes in Neotropical reservoirs during the “El Niño” event. *Marine and Freshwater Research*, 70: 1465-1479.
- Paschoal, L.R.P.; Zara, F.J. 2020. Size at onset of sexual maturity in *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) phenotypes: an integrative approach. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 92: e20180560.
- Pfenninger, M.; Schwenk, K. 2007. Cryptic animal species are homogeneously distributed among taxa and biogeographical regions. *BMC Evolutionary Biology*, 7: 121.
- Pileggi, L.G.; Mantelatto, F.L. 2010. Molecular phylogeny of the freshwater prawn genus *Macrobrachium* (Decapoda, Palaemonidae), with emphasis on the relationships among selected American species. *Invertebrate Systematics*, 24(2): 194-208.
- Pileggi, L.G.; Mantelatto, F.L. 2012. Taxonomic revision of doubtful Brazilian freshwater shrimp species of genus *Macrobrachium* (Decapoda, Palaemonidae). *Iheringia, Zoologia*, 102(4): 426-437.
- Pileggi, L.G. *et al.* 2013. New records and extension of the know distribution of some freshwater shrimps in Brazil. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 84: 563-574.
- Pileggi, L.G.; Rossi, N.; Wehrtmann, I.S.; Mantelatto, F.L. 2014. Molecular perspective on the American transisthmian species of *Macrobrachium* (Caridea, Palaemonidae). *ZooKeys*, 457: 109–131. doi: 10.3897/zookeys.457.6818
- Rokas, A.; Ladoukakis, E.; Zouros, E. 2003. Animal mitochondrial DNA recombination revisited. *Trends Ecology Evolution*, 18: 411-417.
- Ronquist, F. *et al.* 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61: 539-542.
- Sampaio, C.M.S. *et al.* 2007. Reproductive cycle of the *Macrobrachium amazonicum* females (Crustacea, Palaemonidae). *Brazilian Journal of Biology*, 67(3): 551-559.
- Schubart, C.D.; Neigal, J.E.; Felder, D.L. 2000. Use of the mitochondrial 16S rRNA gene for phylogenetic and population studies of Crustacea. *Crustacean Issues* 12. The Biodiversity Crisis and Crustacea. Rotterdam: A. A. Balkema.

- Schubart, C.D.; Cuesta, J.A.; Felder, D.L. 2002. Glyptograpsidae, a new brachyuran family from Central America: Larval and adult morphology, and a molecular phylogeny of the Grapsoidea. *Journal of Crustacean Biology*, 22: 28-44.
- Schubart, C.D. 2009. Mitochondrial DNA and Decapod Phylogenies: The Importance of Pseudogenes and Primer Optimization. In: Martin, J.W.; Crandall, K.A.; Felder, D.L. *Crustacean Issues: Decapod Crustacean Phylogenetics*. CRC Press, Boca Raton, 41-65.
- Shaw, K.L. 2002. Conflict between nuclear and mitochondrial DNA phylogenies of a recent species radiation: what mtDNA reveals and conceals about modes of speciation in Hawaiian crickets. *Proceedings of the National Academy of Sciences, United States*, 99: 16122-16127.
- Silva, G.M.F. *et al.* 2020. Has a river dam affected the life-history traits of a freshwater prawn? *Ecology and Evolution*, 10: 6536-6548.
- Timm, L.; Bracken-Grissom, H.D. 2015. The forest for the trees: evaluating molecular phylogenies with an emphasis on higher-level Decapoda. *Journal of Crustacean Biology*, 5: 577-592.
- Vergamini, F.G.; Pileggi, L.G.; Mantelatto, F.L. 2011. Genetic variability of the Amazon River prawn *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda, Caridea, Palaemonidae). *Contributions to Zoology*, 80(1): 6-83.
- Wanna, W.; Phongdara, A. 2011. Genetic variation and differentiation of *Fenneropenaeus merguensis* in the Thai Peninsula. *Phylogeography and Population Genetics in Crustacea*, 175-189.
- Weiss, R. *et al.* 2015. Interpreting genetic distances for species recognition: the case of *Macrobrachium amazonicum* Heller, 1862 and the recently described *M. pantanalense* Dos Santos, Hayd & Anger, 2013 (Decapoda, Palaemonidae) from Brazilian fresh waters. *Crustaceana*, 88(10-11): 1111-1126.
- WoRMS. 2024. Palaemonidae Rafinesque, 1815. <https://marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=106788> [Accessed on 2024-02-28].
- Wowor, D.; Ng, P.K.L. 2007. The giant freshwater prawns of the *Macrobrachium rosenbergii* species group (Crustacea: Decapoda: Caridea: Palaemonidae). *Raffles Bulletin of Zoology*, 55: 321-336.

Wowor, D. *et al.* 2009. Evolution of life history traits in Asian freshwater prawns of the genus *Macrobrachium* (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) based on multilocus molecular phylogenetic analysis. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 52: 340-350.