

MUSEU DE ZOOLOGIA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SISTEMÁTICA, TAXONOMIA E
BIODIVERSIDADE

**Especiação e biogeografia nos gêneros *Glandulocauda*
Eigenmann e *Mimagoniates* Regan (Characidae:
Stevardiinae: Glandulocaudini)**

Priscila Camelier de Assis Cardoso

Orientador:

Prof. Dr. Naércio Aquino Menezes

Tese de Doutorado – Programa de Pós
Graduação em Sistemática, Taxonomia
Animal e Biodiversidade do Museu de
Zoologia da Universidade de São Paulo.

São Paulo
2016

Advertência

Não autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico.

Notice

I do not authorize the reproduction and dissemination of this work in part or entirely by any means electronic or conventional.

Cardoso, Priscila Camelier de Assis

Especiação e biogeografia nos gêneros *Glandulocauda* Eigenmann e *Mimagoniates* Regan (Characidae: Stevardiinae: Glandulocaudini) / Priscila Camelier de Assis Cardoso; orientador Naércio Aquino Menezes. – São Paulo, SP: 2016.

244 p.

Tese (doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Sistemática, Taxonomia e Biodiversidade, Museu de Zoologia da USP, 2016.

1. Characidae – Filogeografia – Mata Atlântica. 2. Characidae - Especiação. I. Menezes, Naércio, orient. II. Título.

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Para a melhor mãe do mundo,
com todo o meu Amor e minha saúda, que serão eternos.

Resumo

A tribo Glandulocaudini inclui os gêneros *Lophiobrycon*, *Glandulocauda* e *Mimagoniates* e dez espécies, distribuídas em ambientes de água doce do leste e sul do Brasil, no Paraguai e nordeste do Uruguai. São peixes neotropicais de pequeno porte, cujo grau de especialização morfológica e comportamental, bem como os padrões de distribuição das espécies, constituem interessante modelo para estudos evolutivos e para o entendimento de padrões biogeográficos de peixes de água doce na América do Sul. Embora os trabalhos sobre sistemática e biogeografia realizados recentemente representem avanço considerável no conhecimento de Glandulocaudini, nenhum foi embasado fundamentalmente em evidências moleculares. Além disso, amostragens recentes revelaram aspectos inéditos relativos à distribuição de populações alopátricas das espécies *Glandulocauda melanopleura* e *Mimagoniates microlepis* e estes novos dados indicaram a necessidade de estudos mais aprofundados em nível populacional, envolvendo a análise combinada de dados moleculares e morfológicos. A presente tese aborda estas questões, e para isto está dividida em três capítulos. No primeiro capítulo foi realizada uma análise filogenética com base em sequências gênicas do mtDNA e nuDNA para a tribo Glandulocaudini, que representa a primeira hipótese de relações proposta com base em dados moleculares para o grupo. No segundo e o terceiro capítulos foram realizadas análises filogenéticas, filogeográficas, de demografia histórica, e análises morfológicas das populações alopátricas de *Mimagoniates microlepis* e *Glandulocauda melanopleura*, respectivamente.

Abstract

Speciation and biogeography in the genera *Glandulocauda* Eigenmann and *Mimagoniates* Regan (Characidae: Stevardiinae: Glandulocaudini). The tribe Glandulocaudini comprises three genera, *Lophiobrycon*, *Glandulocauda* and *Mimagoniates*, and ten species, distributed in freshwater environments of eastern and southern Brazil, Paraguay, and northeastern Uruguay. Its members include small Neotropical fishes, whose degree of morphological and behavioral specialization, as well as the distributional patterns of the species are of great value for evolutionary studies and understanding of biogeographical patterns of South American freshwater fishes. Although studies on systematics and biogeography carried out recently represent considerable progress on the knowledge of Glandulocaudini, none was grounded in molecular evidence. Furthermore, recent samples revealed unknown aspects concerning the allopatric distributions of populations of *Glandulocauda melanopleura* and *Mimagoniates microlepis*, and this new data indicates the need of more deep studies at population levels, combining both molecular and morphological analysis. This thesis addresses such issues and for this purpose it is divided in three chapters. In the first chapter, a phylogenetic analysis of the tribe Glandulocaudini, based on mtDNA and nuDNA data was performed, representing the first hypothesis of relationship for the group based on molecular data. In the second and third chapters, analysis of phylogeny, phylogeography and historical demography were performed, as well as morphological studies on allopatric population of *Mimagoniates microlepis* and *Glandulocauda melanopleura*, respectively.

SUMÁRIO

Capítulo 1 – Relações filogenéticas e história biogeográfica da tribo Glandulocaudini (Characiformes: Characidae: Stevardiinae) baseadas em dados moleculares.....	1
Resumo	2
1. Introdução	3
2. Material & Métodos.....	9
2.1. Amostragem taxonômica	9
2.2. Considerações sobre os genes utilizados	10
2.3. Extração de DNA genômico, amplificação e sequenciamento	11
2.4. Obtenção das sequências consenso, alinhamentos e matriz de dados	13
2.5. Análise de dados	14
2.5.1. Análise filogenética.....	14
2.5.2. Tempos de divergência.....	15
3. Resultados	16
3.1. Características das sequências e das matrizes de dados	16
3.2. Análises filogenéticas: hipóteses baseadas na matriz de dados concatenados	17
3.3. Tempos de divergência	20
4. Discussão	21
4.1. Filogenia molecular	21
4.1.1 Hipóteses filogenéticas baseadas em dados concatenados.....	21
4.1.2. Glandulocaudini Eigenmann <i>sensu</i> Menezes & Weitzman (2009) e Thomaz <i>et al.</i> (2015) como um grupo monofilético: análises diferentes, resultados semelhantes.....	22
4.1.3. Posição de Glandulocaudini em Stevardiinae <i>sensu</i> Thomaz <i>et al.</i> (2015).....	24
4.1.4. Relações entre os gêneros de Glandulocaudini: incongruências entre as hipóteses morfológicas e moleculares.....	25
4.1.5. O caso do gênero <i>Glandulocauda</i> : duas espécies não relacionadas.....	26
4.1.6. O gênero <i>Mimagoniates</i> e as relações de parentesco entre suas espécies.....	29
4.2. Biogeografia de Glandulocaudini: padrão de distribuição e tempos de divergência	31
5. Conclusões	36
6. Referências Bibliográficas	38
7. Apêndice.....	46

Capítulo 2 – Filogeografia e história demográfica de <i>Mimagoniates microlepis</i> (Steindachner) (Characidae: Stevardiinae: Glandulocaudini), peixe de água doce endêmico e amplamente distribuído em rios e riachos da Mata Atlântica, com comentários sobre a taxonomia e conservação da espécie.....	47
Resumo	48

1. Introdução.....	49
2. Material & Métodos	53
2.1. Análises moleculares	53
2.1.1. Amostragem taxonômica.....	53
2.1.2. Considerações sobre os genes utilizados.....	54
2.1.3. Extração de DNA genômico, amplificação e sequenciamento.....	55
2.1.4. Obtenção das sequências consenso, alinhamentos e matriz de dados.....	55
2.1.5. Análises filogenéticas	55
2.1.6. Árvore de espécies (<i>Species Tree</i>).....	57

2.1.7.	Análise de <i>Generalized Mixed Yule Coalescent</i> (GMYC)	58
2.1.8.	Análise de <i>DNA Barcoding</i>	59
2.1.9.	Análises filogeográficas.....	60
2.1.9.1.	Estimativas de estrutura filogeográfica.....	60
2.1.9.2.	Estatísticas sumárias e análises de demografia histórica	61
2.2.	Análises morfológicas	6
3.	Resultados	63
3.1.	Análises moleculares	63
3.1.1.	Características das sequências e das matrizes de dados.....	63
3.1.2.	Análise filogenética: hipóteses baseadas nos genes mitocondriais	64
3.1.3.	Análise filogenética: hipóteses baseadas no gene nuclear	67
3.1.4.	Árvore de espécies (<i>Species Tree</i>).....	69
3.1.5.	Análise de <i>Generalized Mixed Yule Coalescent</i> (GMYC)	71
3.1.6.	Análise de <i>DNA Barcoding</i>	73
3.1.7.	Análises filogeográficas.....	74
3.1.7.1.	Estrutura filogeográfica.....	74
3.1.7.2.	História demográfica	76
HAPLOGRUPO 1	76
HAPLOGRUPO 2	81
HAPLOGRUPO 3	87
HAPLOGRUPO 4	92
4.	Análises morfológicas	99
5.	Discussão	104
5.1.	Análises filogenéticas.....	104
5.1.1.	Árvores de genes: divergências entre marcadores mitocondrial e nuclear ..	104
5.1.2.	Árvore de espécies (<i>Species Tree</i>): combinação entre marcadores mitocondrial e nuclear.....	111
5.2.	Análises de GMYC e DNA barcoding: implicações na taxonomia e conservação de <i>Mimagoniates microlepis</i> filogenéticas	112
5.3.	Estrutura filogeográfica e demografia histórica de <i>Mimagoniates microlepis</i>	118
5.3.1.	Haplogrupo 1: considerações sobre distribuição, estrutura filogeográfica e história demográfica	126
5.3.2.	Haplogrupo 2: considerações sobre distribuição, estrutura filogeográfica e história demográfica	128
5.3.3.	Haplogrupo 3 considerações sobre distribuição, estrutura filogeográfica e história demográfica	132
5.3.4.	Haplogrupo 4: considerações sobre distribuição, estrutura filogeográfica e história demográfica	135
5.4.	Comparação entre os resultados do presente estudo e análise filogeográfica prévia realizada com <i>Mimagoniates microlepis</i>	139
5.5.	Análises morfológicas	141
6.	Conclusões	142
7.	Referências Bibliográficas	144
8.	Apêndice A	166
9.	Apêndice B	176

Resumo	179
1. Introdução	180
2. Material & Métodos	182
2.1. Análises moleculares	182
2.1.1. Amostragem taxonômica	182
2.1.2. Extração de DNA genômico, amplificação e sequenciamento.....	182
2.1.3. Obtenção das sequências consenso	183
2.1.4. Análises filogenéticas	183
2.1.5. Análise de <i>Generalized Mixed Yule Coalescent</i> (GMYC) e <i>DNA Barcoding</i>	184
2.1.6. Tempo de divergências	184
2.1.7. Análises filogeográficas	185
2.1.7.1. Estimativas de estrutura filogeográfica.....	185
2.1.7.2. Estatísticas sumárias e análises de demografia histórica	185
2.2. Análises morfológicas.....	186
3. Resultados	186
3.1. Análises moleculares.	186
3.1.1. Características das sequências e das matrizes de dados.....	186
3.1.2. Análise filogenética e tempo de divergência.....	187
3.1.3. Análises filogeográficas	193
3.1.3.1. Estrutura filogeográfica e história demográfica	193
4. Análises morfológicas.....	196
5. Discussão.....	201
5.1. Variação morfológica em <i>Glandulocauda melanopleura</i>	212
6. Conclusões	217
7. Referências Bibliográficas	218
8. Apêndice.....	226
9. Anexos.....	227

CAPÍTULO 1



**Relações filogenéticas e história biogeográfica da tribo Glandulocaudini
(Characiformes: Characidae: Stevardiinae) baseada em dados moleculares**

Resumo

A tribo Glandulocaudini inclui três gêneros, *Lophiobrycon*, *Glandulocauda* e *Mimagoniates* e dez espécies distribuídas principalmente, em ambientes de água doce do leste e sul do Brasil, mas também no Paraguai e nordeste do Uruguai. Embora os trabalhos sobre sistemática e biogeografia realizados recentemente representem avanço considerável no conhecimento dos Glandulocaudini, nenhum foi embasado em evidências moleculares. Assim, no presente estudo, é apresentada a primeira hipótese filogenética proposta com base em dados de sequências gênicas para a tribo Glandulocaudini especificamente. Tal hipótese foi obtida através das análises de Inferência Bayesiana e Máxima Verossimilhança de uma matriz de dados concatenados (1829 pb, mitocondrial, 16S rRNA e COI, e nuclear RAG2), contendo sequências de oito das dez espécies de Glandulocaudini, além do grupo externo. Sequências gênicas das espécies *Glandulocauda caerulea* e *Mimagoniates sylvicola* foram analisadas pela primeira vez. Os resultados obtidos indicaram que a tribo Glandulocaudini constitui um grupo monofilético, incluindo sua atual composição, conforme já proposto por análises prévias, realizadas com base em dados morfológicos e moleculares. Por outro lado, as relações entre as espécies da tribo não foram completamente concordantes com aquelas propostas através das análises morfológicas. O gênero *Glandulocauda* não é corroborado como monofilético, já que *G. melanopleura* é considerada grupo irmão de *L. weitzmani*, enquanto sua única congênere, *G. caerulea*, está mais relacionada às espécies de *Mimagoniates* analisadas. Estas, por sua vez formaram um clado, mas o monofiletismo de *Mimagoniates* não pôde ser testado, já que não foram analisadas sequências de *M. barberi*, espécie tipo do gênero. Em virtude de algumas incongruências entre as hipóteses morfológica e molecular, sugere-se aqui a realização de uma análise de evidência total, para uma melhor e mais completa compreensão da história evolutiva do grupo. No presente estudo, também foi realizada uma análise de relógio molecular e datações foram propostas pela primeira vez para os eventos cladogenéticos que influenciaram a configuração filogenética da tribo. Os resultados destas datações, aliados às informações geomorfológicas disponíveis, indicaram que a origem e diversificação de Glandulocaudini tiveram início em áreas altas do escudo cristalino brasileiro, provavelmente em uma paleodrenagem associada à atual bacia do rio Paraná, durante o Neógeno. A maioria das cladogêneses ocorreu neste período. A ocupação das áreas de planície teria se dado posteriormente, provavelmente como consequência dos eventos de capturas de cabeceiras ocorridos na região após processos sucessivos de reativações tectônicas do Terciário. Flutuações

do nível do mar, ocorridas no Pleistoceno, também tiveram papel no estabelecimento do atual padrão de distribuição das espécies do grupo, principalmente em nível populacional.

1. Introdução

O nome Glandulocaudinae foi proposto originalmente por Eigenmann (1914: 34) como uma subfamília dentro de Characidae para incluir onze gêneros com dimorfismo sexual bem acentuado. O histórico da composição e classificação hierárquica do grupo é extremamente complexo e confuso e, além de subfamília, Glandulocaudinae já foi considerada como família (Glandulocaudidae, *e.g.*, Fernandez-Yepez & Anton, 1966) e também como tribo (Glandulocaudini, *e.g.*, Myers & Böhlke, 1956). Menezes & Weitzman (2009) revisaram a sistemática de Glandulocaudinae e reconheceram o grupo como uma subfamília de Characidae relacionada a Stevardiinae. Neste trabalho, os autores apresentaram e discutiram de maneira pormenorizada o histórico taxonômico e as questões nomenclaturais envolvendo o grupo até aquele momento (ver Menezes & Weitzman, 2009: 302-304). Mais recentemente, Thomaz *et al.* (2015) fizeram uma análise de filogenia molecular de Stevardiinae e propuseram Glandulocaudinae *sensu* Menezes & Weitzman (2009) como uma tribo desta subfamília e, assim, o nome Glandulocaudini é o mais atual. Aqui é válido mencionar que, apesar de representarem categorias hierárquicas distintas, Glandulocaudinae *sensu* Menezes & Weitzman (2009) e Glandulocaudini *sensu* Thomaz *et al.* (2015) são equivalentes e correspondem a um grupo de pequenos peixes de água doce neotropicais que inclui os gêneros *Glandulocauda* Eigenmann, *Lophiobrycon* Castro, Ribeiro, Benine e Melo e *Mimagoniates* Regan, distribuídos em ambientes de água doce do leste e sul do Brasil, no Paraguai e nordeste do Uruguai (Menezes & Weitzman, 2009). Representa uma característica marcante dos glandulocaudíneos, a presença do que é considerada uma glândula produtora de feromônio na base da nadadeira caudal dos machos; a hipótese é que este feromônio seja liberado durante a época da reprodução para estimular a fêmea a se tornar receptiva à atividade de cortejamento do macho (Weitzman & Fink, 1985; Weitzman *et al.*, 1988; Menezes & Weitzman, 2009). Além disto, os representantes desta tribo são relativamente pequenos (tamanho entre 25-60 mm de comprimento padrão quando adultos), atrativamente coloridos (Fig. 1), aparentemente adaptados a habitats restritos e têm sua distribuição limitada em função da sua ecologia (Weitzman *et al.*, 1988; Menezes & Weitzman, 2009).

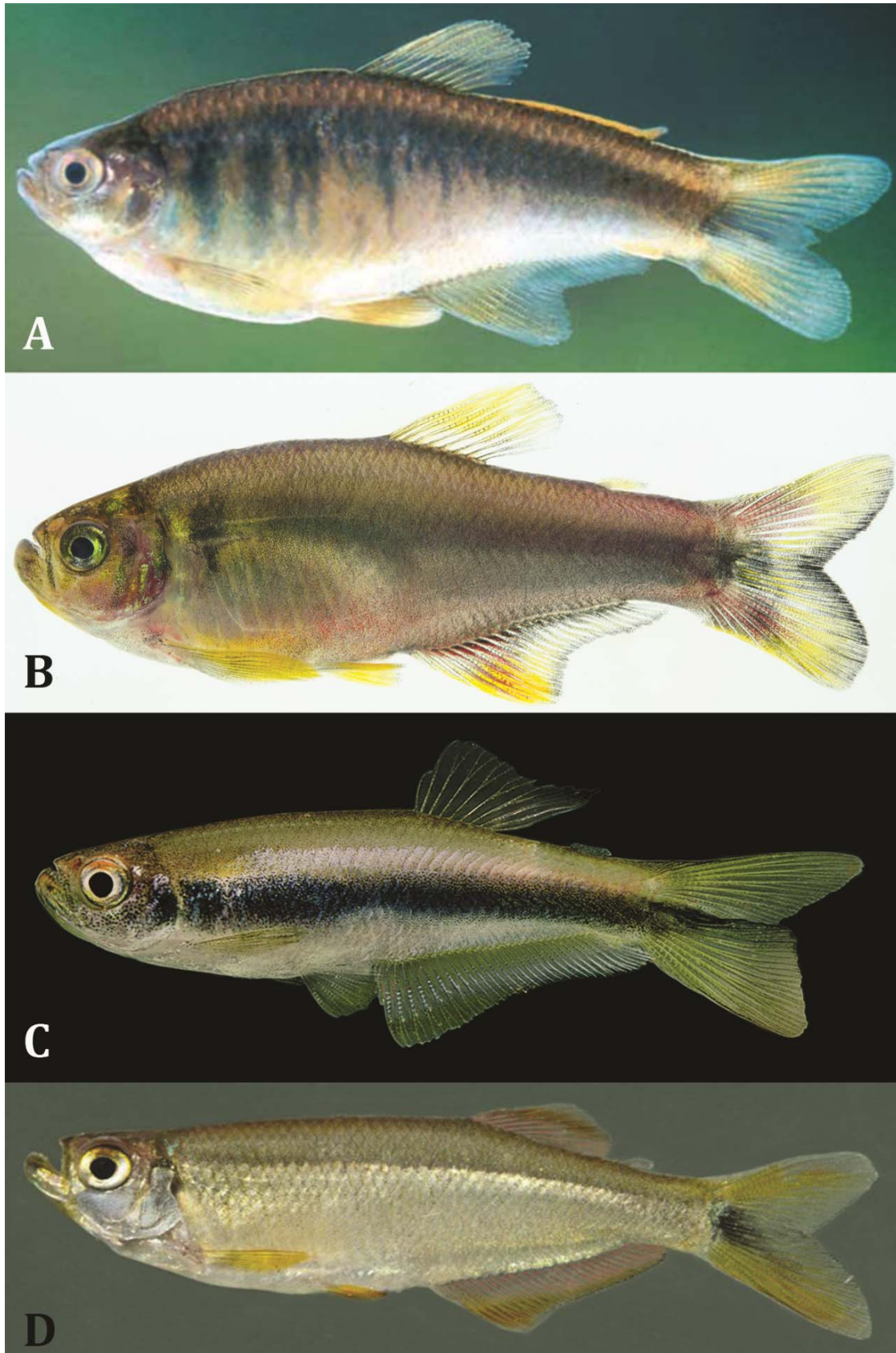


Figura 1. Colorido em vida de alguns representantes de Glandulocaudini. (A) *Lophibrycon weitzmani*, LIRP 4338, parátipo, macho, 31,1 mm CP. Fonte: Castro *et al.* (2003); (B) *Glandulocauda melanopleura*, MZUSP 115244, macho, 40 mm CP. Foto: F. P. Dagosta; (C) *Mimagoniates microlepis*, MZUSP 112829, macho, 27,3 mm CP. Foto: O. T. Oyakawa; e (D) *Mimagoniates sylvicola*, MZUSP 112691, macho, 34 mm CP. Foto: O. T. Oyakawa.

O gênero *Lophiobrycon*, que compreende uma única espécie, *L. weitzmani* Castro, Ribeiro, Benine e Melo, foi descrito de riachos de cabeceira da bacia do rio Grande, sistema do alto rio Paraná, e está restrito à porção sudeste do escudo cristalino brasileiro. No gênero *Glandulocauda*, são incluídas duas espécies válidas: *G. caerulea* Menezes & Weitzman e *G. melanopleura* (Ellis). *Glandulocauda caerulea* foi descrita do alto rio Iguaçu (principal afluente da bacia do rio Paraná) e, até então, também é considerada endêmica da parte sudeste do escudo cristalino brasileiro, com distribuição restrita às regiões de elevadas altitudes do rio Iguaçu, nos Estados do Paraná e Santa Catarina (Ribeiro, 2006; Menezes *et al.*, 2008; Menezes & Weitzman, 2009). *Glandulocauda melanopleura* foi descrita com base em material coletado nas cabeceiras do rio Tietê (bacia do Paraná), em São Paulo, e tem distribuição registrada para áreas adjacentes à localidade tipo, em tributários do alto Tietê, e nas porções altas dos rios costeiros Guaratuba, Itatinga e Ribeira do Iguape (Ribeiro *et al.*, 2006; Menezes *et al.*, 2007; Serra *et al.*, 2007; Menezes *et al.*, 2008; Menezes & Weitzman, 2009). *Mimagoniates* é o gênero de Glandulocaudinae que tem o maior número de representantes: *M. barberi* Regan, *M. inequalis* (Eigenmann), *M. lateralis* (Nichols), *M. microlepis* (Steindachner), *M. pulcher* Menezes & Weitzman, *M. rheocharis* Menezes & Weitzman e *M. sylvicola* Menezes & Weitzman. Com exceção de *M. barberi* e *M. pulcher*, as demais espécies do gênero ocorrem em pequenos riachos que drenam, principalmente, a planície litorânea do leste do Brasil, desde a Bahia até o Rio Grande do Sul (Menezes & Weitzman, 2009). *Mimagoniates barberi*, espécie tipo do gênero, é conhecida de pequenos tributários do rio Paraguai e Paraná, próximo à Foz do Iguaçu, no Paraguai. *Mimagoniates pulcher* foi a espécie do gênero descrita mais recentemente (Menezes & Weitzman, 2009) e, até o momento, só é conhecida da localidade tipo, no alto rio Paraguai, Estado do Mato Grosso. Assim como *Glandulocauda* e *Lophiobrycon*, a grande maioria das espécies de *Mimagoniates* tem distribuição relativamente restrita, com alto grau de endemismo reconhecido. O padrão de distribuição das espécies da tribo é apresentado na Fig. 2, abaixo, tendo como base as informações disponíveis até a realização do presente estudo.

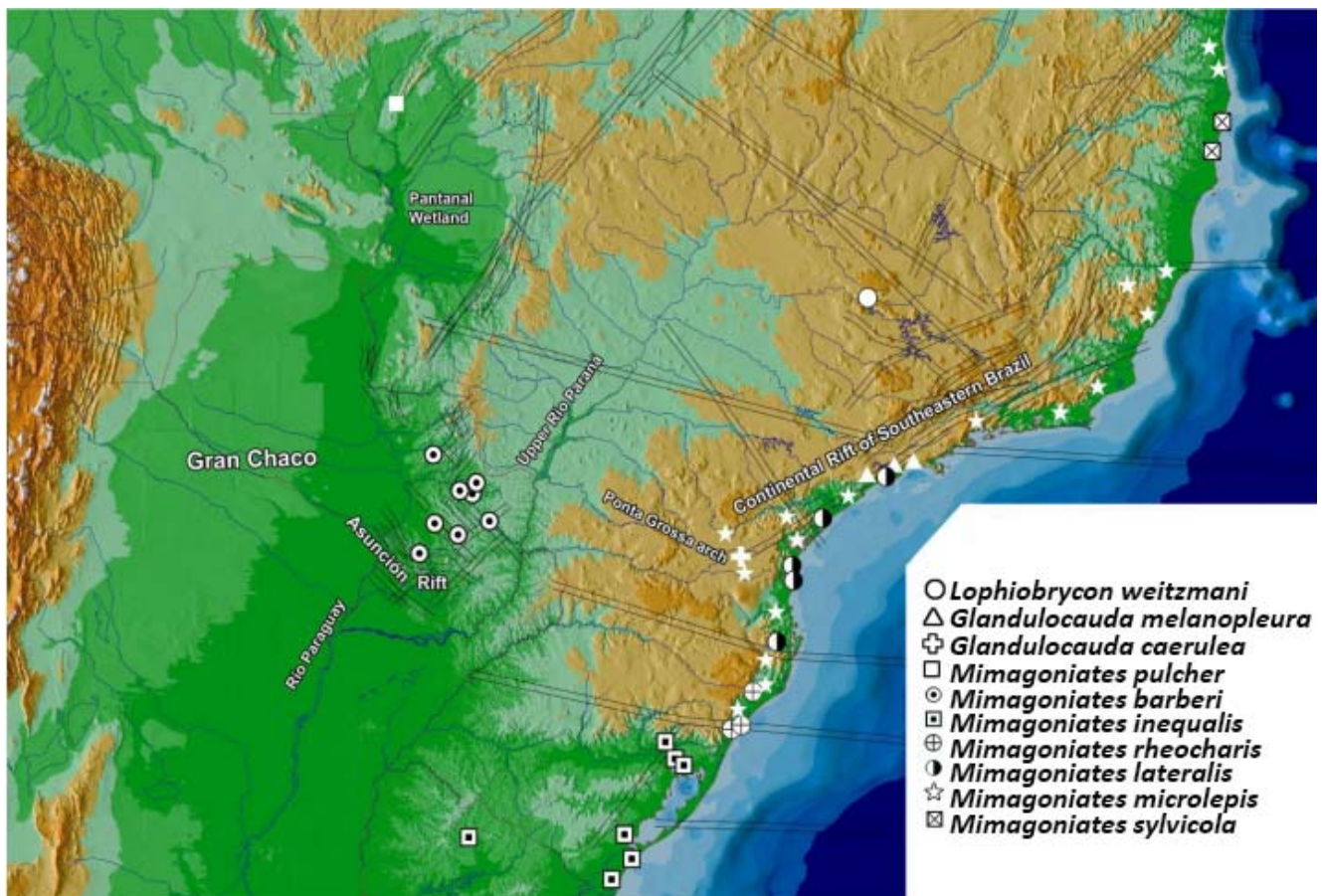


Figura 2. Distribuição das espécies de Glandulocaudini no Sudeste da América do Sul; áreas mais baixas, em região de planície, são representadas em verde e a área representada em marrom corresponde ao escudo cristalino brasileiro, de altitude mais elevada. Figura modificada de Menezes *et al.* (2008: Fig. 3, página 39).

Conforme já mencionado anteriormente, a sistemática de Glandulocaudini era historicamente confusa e, apenas após a restrição do grupo às espécies de *Glandulocauda*, *Lophiobrycon* e *Mimagoniates*, foi possível discutir de forma mais clara as relações de parentesco entre as espécies (Menezes & Weitzman, 2009). O trabalho destes autores, que representa a hipótese filogenética mais recente proposta de Glandulocaudini, tal como reconhecida atualmente, incluiu todas as espécies do grupo e teve como base, principalmente, a análise de caracteres sexuais primários e secundários de machos adultos. De acordo com a hipótese de Menezes & Weitzman (2009), *Lophiobrycon* é grupo irmão de um clado mais derivado, formado por *Glandulocauda* e *Mimagoniates*, mas as relações entre as espécies deste último gênero não foram satisfatoriamente esclarecidas (Fig. 3).

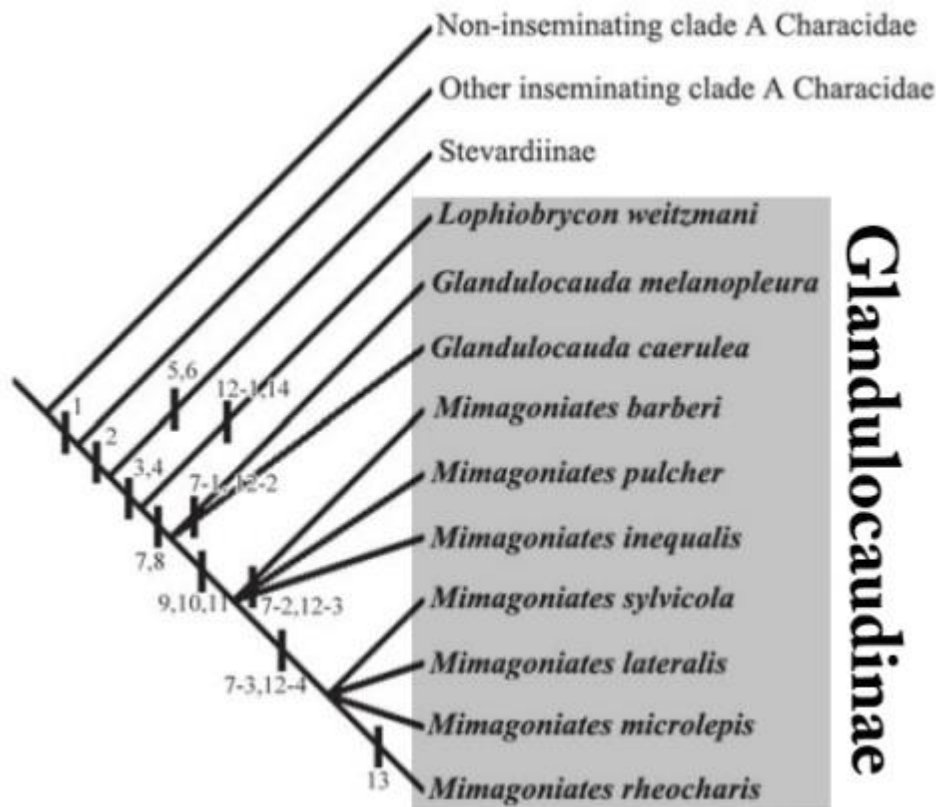


Figura 3. Hipótese de relações entre os gêneros e espécies de Glandulocaudini (na época, Glandulocaudinae), em destaque, proposta com base em dados morfológicos por Menezes & Weitzman (2009: Fig. 2, página 299).

Representantes de Glandulocaudini já foram incluídos em inúmeras análises filogenéticas baseadas em dados moleculares (*e.g.*, Calcagnotto *et al.*, 2005; Javonillo *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2011; Thomaz *et al.*, 2015), mas nenhuma delas teve como foco a tribo em si. Apenas nos trabalhos de Oliveira *et al.* (2011), relativo à família Characidae, e de Thomaz *et al.* (2015), abordando a subfamília Stevardiinae, foram incluídas sequências gênicas dos três gêneros da tribo (Fig. 4a e Fig. 4b, respectivamente), mas, em ambos, não mais do que 50% das espécies foi analisado. As hipóteses propostas por estes autores corroboram o monofiletismo de Glandulocaudini, proposto por Menezes & Weitzman (2009), mas discordam da hipótese deles em relação ao clado (*Glandulocauda*, *Mimagoniates*), visto que, em ambas as análises, o gênero *Glandulocauda* é proposto como grupo irmão de *Lophiobrycon*.

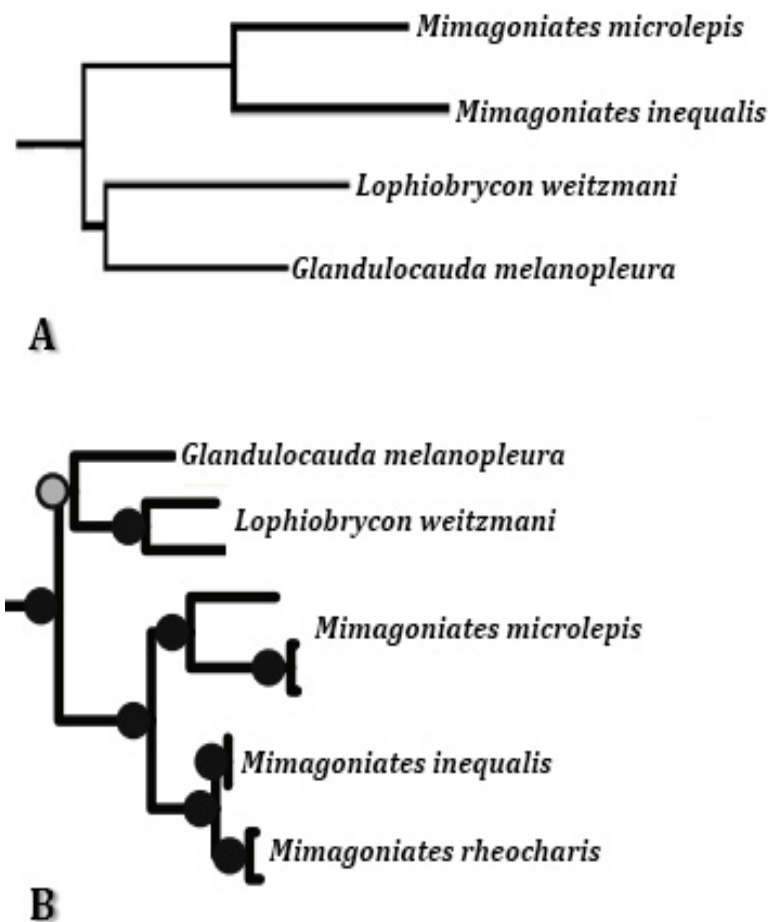


Figura 4. Hipóteses entre os gêneros e espécies de Glandulocaudini propostas com base em dados moleculares nos trabalhos de (A) Oliveira *et al.* (2011) relativo à família Characidae e (B) Thomaz *et al.* (2015), abordando a subfamília Stevardiinae. Modificado de Oliveira *et al.* (2011: Fig. 12, página 16) e Thomaz *et al.* (2015: Fig. 5, página 10).

De acordo com Ribeiro *et al.* (2016), Glandulocaudini talvez seja o grupo de peixes de água doce melhor estudado do ponto de vista biogeográfico. O último trabalho versando diretamente sobre a biogeografia do grupo foi o de Menezes *et al.* (2008). Neste artigo, entretanto, os autores salientaram a necessidade de estudos mais aprofundados, especialmente, com o uso de ferramentas moleculares, para uma melhor compreensão da origem e diversificação das espécies de Glandulocaudini, cujo padrão biogeográfico parece mais complexo do que se tinha conhecimento até aquele momento. Apesar de passados quase dez anos da publicação deste artigo e do padrão de distribuição do grupo ou de alguma das suas espécies ter sido discutido ou utilizado como exemplo em inúmeros estudos biogeográficos posteriores (*e.g.*, Buckup, 2011; Lima & Ribeiro, 2011; Camelier & Zanata, 2014; Ribeiro *et al.*, 2016), uma análise utilizando a abordagem sugerida por Menezes *et al.* (2008) ainda não foi realizada. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo principal realizar uma análise filogenética de Glandulocaudini, tendo como base dados moleculares e com a inclusão de todos os gêneros e maioria das espécies da tribo. Além disso, foi realizada uma análise de relógio

molecular para estimar tempos de divergências dentro do grupo que, aliados às informações sobre a distribuição das espécies e dados geomorfológicos disponíveis, possibilitaram uma discussão mais refinada sobre a biogeografia e história evolutiva da maioria das espécies de *Glandulocaudini*.

5. Conclusões

No presente estudo foi realizada uma análise de filogenia molecular de *Glandulocaudini*, uma tribo de peixes de água doce da subfamília *Stevardiinae* (*Characidae*), que está distribuída, principalmente, em partes do leste e sul do Brasil, mas também no Paraguai e nordeste do Uruguai. As topologias resultantes das análises de Inferência Bayesiana e Máxima Verossimilhança, obtidas através de uma matriz de dados concatenados (genes mitocondriais, 16S rRNA e COI, e gene nuclear RAG2), foram concordantes a respeito do monofiletismo da tribo, indicando que os gêneros *Glandulocauda*, *Lophiobrycon* e *Mimagoniates* estão proximamente relacionados e formam um clado muito bem suportado. Este resultado é congruente com hipóteses filogenéticas propostas previamente para o grupo, tanto com base em dados morfológicos quanto com base em evidências moleculares. Aqui, é importante mencionar que, nestas últimas, o foco dos estudos não era *Glandulocaudini*, de maneira que o presente trabalho representa a primeira análise de filogenia molecular que tem como foco as relações internas da tribo. Os *glandulocaudíneos* incluem dez espécies e, no presente estudo, foram analisadas sequências gênicas de oito delas, sendo este o estudo baseado em dados moleculares que incluiu o maior número de representantes do grupo até o momento. Ainda sobre amostragem, é válido também mencionar que sequências das espécies *Glandulocauda caerulea* e *Mimagoniates sylvicola* foram analisadas pela primeira vez. Diferentemente do proposto por meio da análise baseada em dados morfológicos, os resultados do presente estudo indicaram que o gênero *Glandulocauda* não é monofilético, visto que *G. melanopleura* foi considerada grupo irmão de *L. weitzmani* enquanto a sua única congênere, *G. caerulea*, formou um clado com as espécies de *Mimagoniates* analisadas. Em virtude das incongruências entre os resultados obtidos a partir das evidências morfológicas e moleculares, não foi proposta nenhuma modificação nomenclatural ou taxonômica em *Glandulocauda*, até que análises adicionais sejam realizadas. Aqui, é proposta uma análise de evidência total, na tentativa de esclarecer as incongruências de resultados a respeito de *Glandulocauda* e também para que se tenha um entendimento mais completo da história evolutiva e das relações de parentesco da tribo como um todo. Foram obtidas sequências de cinco das sete espécies de

Mimagoniates, que formaram um grupo monofilético, conforme já indicado através das análises baseadas em dados morfológicos. Os resultados obtidos no presente estudo, entretanto, não são suficientes para corroborar a hipótese de monofiletismo do gênero, visto que amostras de *M. barberi*, espécie tipo do gênero, não foram incluídas nas análises. A hipótese morfológica filogenética atual de Glandulocaudini não esclareceu de maneira satisfatória as relações entre as espécies de *Mimagoniates*. No presente estudo, não foi encontrada nenhuma politomia e a relação proposta para as espécies do gênero é ((*M. microlepis*, *M. sylvicola*) (*M. lateralis* (*M. inequalis*, *M. rheocharis*))). Mais uma vez, sugere-se uma análise combinada de dados morfológicos e moleculares para melhor compreensão das relações dentro do gênero. Neste caso, mesmo que não seja possível obter sequências gênicas das espécies de *Mimagoniates* faltantes, em especial *M. pulcher* (pelas razões mencionadas na discussão), estas espécies poderão ser analisadas do ponto de vista morfológico. As datações propostas através da análise de relógio molecular indicaram que a diversificação de Glandulocaudini teve início no Neógeno e que os primeiros eventos cladogenéticos na tribo resultaram nas espécies que, atualmente, têm distribuição restrita a riachos que drenam as partes altas do escudo cristalino brasileiro. Estes riachos ou são tributários do alto curso da bacia do rio Paraná ou das cabeceiras de drenagens costeiras próximas, indicando que, muito provavelmente, a origem e diversificação do grupo tiveram início nesta região, com ocupação das áreas de planície posteriormente, conforme já proposto por alguns autores. Eventos de capturas de cabeceiras teriam sido responsáveis pela ocorrência das espécies de Glandulocaudini nas drenagens costeiras do leste do Brasil. As flutuações do nível do mar, ocorridas mais recentemente também influenciaram o atual padrão de distribuição das espécies do grupo, mas, aparentemente, tiveram maior significância em nível populacional.

6. Referências Bibliográficas

- Avise, J. C. 2004. **Molecular markers, Natural history, and Evolution**. Massachusetts, Sinauer Associates Inc. 684p.
- Batalha-Filho, H. & C. Y. Miyaki. 2016. Late Pleistocene divergence and postglacial expansion in the Brazilian Atlantic Forest: multilocus phylogeography of *Rhopias gularis* (Aves: Passeriformes). **Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research**, doi: 10.1111/jzs.12118.

- Batalha-Filho, H., M. Irestedt, J. Fjeldsa, P. G. P. Ericson, L. F. Silveira & C. Y. Myiaki. 2013. Molecular systematics and evolution of the *Synallaxis ruficapilla* complex (Aves: Furnariidae) in the Atlantic Forest. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 67: 86-94.
- Batalha-Filho, H., R. O. Pessoa, P-H. Fabre, J. Fjeldsa, M. Irestedt, P. G. P. Ericson, L. F. Silveira & C. Y. Miyaki. 2014. Phylogeny and historical biogeography of gnateaters (Passeriformes, Conopophagidae) in the South America forest. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2014.06.025>.
- Buckup, P. A. 2011. The Eastern Brazilian Shield. In: Albert, J. S. & R. E. Reis (Eds.). **Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes**. Berkeley, University of California Press, cap. 12, p. 203-210
- Burger, R., A. M. Zanata & P. Camelier. 2011. Estudo taxonômico da ictiofauna de água doce da bacia do Recôncavo Sul, Bahia, Brasil. **Biota Neotropica**, 11(4): 273-290.
- Brunes, T. O., F. Sequeira, C. F. B. Haddad, J. Alexandrino. 2010. Gene and species trees of a Neotropical group of treefrogs: Genetic diversification in the Brazilian Atlantic Forest and the origin of a polyploid species. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 57: 1120-1133.
- Brunes, T. O., J. Alexandrino, D. Baêta, J. Zina, C. F. B. Haddad & F. Sequeira. 2014. Species limits, phylogeographic and hybridization patterns in Neotropical leaf frogs (Phyllomedusinae), **Zoologica Scripta**, doi:10.1111/zsc.12079.
- Bührnheim, C. M., T. P. Carvallho, L. R. Malabarba & S. H. Weitzman. 2008. A new genus and species of characid fish from the Amazon basin - the recognition of a relictual lineage of characid fishes (Ostariophysi: Cheirodontinae: Cheirodontini). **Neotropical Ichthyology**, 6: 663-678.
- Cabanne, G. S, F. M. d'Horta, E. H. R. Sari, F. R. Santos & C. Y Myiaki. 2008. Nuclear and mitochondrial phylogeography of the Atlantic forest endemic *Xiphorhynchus fuscus* (Aves: Dendrocolaptidae): Biogeography and systematics implications. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 49: 760-773.
- Calcagnotto, D., S. A. Schaefer & R. DeSalle. 2005. Relationships among characiform fishes inferred from analysis of nuclear and mitochondrial gene sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 36:135-153.
- Camelier, P. 2010. **Aspectos taxonômicos e biogeográficos da ictiofauna de água doce de drenagens costeiras do Estado da Bahia, Brasil, com a descrição de seis espécies novas**. 223 f. Dissertação (Mestrado em Diversidade Animal: Zoologia) – Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

- Camelier, P. & A. M. Zanata. 2014. Biogeography of freshwater fishes from the Northeastern Mata Atlântica freshwater ecoregion: distribution, endemism, and area relationships. **Neotropical Ichthyology**, 12(4): 683–698.
- Castro, R. M. C., A. C. Ribeiro, R. C. Benine & A. L. A. Melo. 2003. *Lophiobrycon weitzmani*, a new genus and species of glandulocaudine fish (Characiformes: Characidae) from the rio Grande drainage, upper rio Paraná system, southeastern Brazil. **Neotropical Ichthyology**, 1(1): 11-9.
- Che, Y. D. Wang, Y. Shi, D. Xiaohong, Z. Yongquan, N. Lo & W. Zongqing. A global molecular phylogeny and timescale of evolution for *Cryptocercus* woodroaches. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 98: 201-209.
- Dávalos, L. M., A. L. Cirranello, J. H. Geisler & N. B. Simmons, 2012. Understanding phylogenetic incongruence: lessons from phyllostomid bats. **Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society**, 87: 991-1024.
- Degnan, J. H. & N. A. Rosenberg. 2006. Discordance of Species Trees with Their Most Likely Gene Trees. **PLoS Genetics**, 5(2): 762-768.
- Drummond, A. J., M. A. Suchar, D. Xie & A. Rambaut. 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. **Molecular Biology and Evolution**, 29: 1969-1973.
- Edgar, R. C. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. **Nucleic Acids Research**, 32: 1792-1797.
- Edwards, S. V., L. Liu & D. K. Pearl. 2007. High-resolution species trees without concatenation. **PNAS**, 104(14): 5936–5941.
- Eigenmann, C. H. 1911. III. New characins in the collections of the Carnegie Museum. **Annals of the Carnegie Museum**, 8(1): 164-181.
- Eigenmann, C. H. 1914. Some results from studies of South American fishes, II. The Glandulocaudinae (a new subfamily of characid fishes with innate potentialities for sexual dimorphism). **Indiana University Studies**, 20: 32-35.
- Farias, I. P., G. Ortí & A. Meyer. 2000. Total Evidence: Molecules, Morphology, and the Phylogenetics of Cichlid Fishes. **Journal of Experimental Zoology (Molecular and Developmental Evolution)**, 288: 76-92.
- Fernández-Yépez, A. & J. R. Antón. 1966. Estudio (análisis) ictiológico "Las Majaguas". Dirección de Obras Hidráulicas, Ministerio de Obras Públicas. República de Venezuela. 107p.
- Forest, F. 2009. Calibrating the Tree of Life: fossils, molecules and evolutionary timescales. **Annals of Botany**, 104: 789-794.

- Gadagkar, S. R., A. S. Rosenberg & S. Kumar. 2005. Inferring Species Phylogenies From Multiple Genes: Concatenated Sequence Tree Versus Consensus Gene Tree. **Journal of Experimental Zoology (Molecular and Developmental Evolution)**, 304B: 64-74.
- Gelman, A. & B. R. Donald. 1992. Inference from iterative simulation using multiple sequences. **Statistical Science**, 457-472.
- Groth, J.G. & G. F. Barrowclough. 1999. Basal divergences of birds and the phylogenetic utility of nuclear RAG-1 gene. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 10: 377-390.
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT., **Nucleic Acids Symposium Series**, 41: 95-98.
- Hebert, P. D. N, A. Cywinska, S. L. Ball, J. R. Waard. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society**, 270: 313-322.
- Hilles, D. M. 1987. Molecular versus morphological approaches to Systematics. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 18: 23-42.
- Hirschmann, A., Malabarba, L. R., Thomaz, A. T. & Fagundes, N. J. R. 2015. Riverine habitat specificity constrains dispersion in a Neotropical fish (Characidae) along Southern Brazilian drainages. **Zoologica Scripta**, 44(4): 374-382.
- Javonillo, R., L. R. Malabarba, S. H. Weitzman & J. R. Burns. 2010. Relationships among major lineages of characid fishes (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes), based on molecular sequence data. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 54:498-511.
- Kubatko, L. S. & J. H. Degnan. 2007. Inconsistency of Phylogenetic Estimates from Concatenated Data under Coalescence. **Systematic Biology**, 56(1): 17-24.
- Lanfear, R., B. Calcott, S.Y. W. Ho & S. Guindon. 2012. PartitionFinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. **Molecular Biology and Evolution**, 29: 1695-1701.
- Lavinia, P. D., P. Escalante, N. C. García, A. S. Barreira, N. Trujillo-Arias, P. L. Tubaro, K. Naoki, C. Y. Miyaki, F. R. Santos & D. A. Lijtmaer. 2015. Continental-scale analysis reveals deep diversification within the polytypic Red-crowned ant tanager (*Habia rubica*, cardinalidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 89: 182-193.
- Lima, F. C. T. & A. C. Ribeiro. 2011. Continental-Scale Tectonic Controls of Biogeography and Ecology. *In*: Albert, J. S. & R. E. Reis (Eds.). **Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes**. Berkeley, University of California Press, cap. 9, p. 145-184.
- Lovejoy, N. R. & B. B. Collette. 2001. Phylogenetic relationships of New World needlefishes (Teleostei: Belonidae) and the biogeography of transitions between marine and freshwater habitats. **Copeia**, 2001: 324-338.

- Lovejoy, N. R., K. Lester, W. G. R. Crampton, F. P. L. Marques & J. S. Albert. 2010. Phylogeny, biogeography, and electric signal evolution of Neotropical knifefishes of the genus *Gymnotus* (Osteichthyes: Gymnotidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 54: 278-290.
- Malabarba, M. C. 1998. Phylogeny of fossil Characiformes and paleobiogeography of the Tremembé Formation, São Paulo, Brazil. *In*: Malabarba, L. R., R. E. Reis, R. P. Vari, Z. S. Lucena & C. S. Lucena (Eds.). **Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes**. Porto Alegre, Edipucrs, p. 69-84.
- Mayden, R. L. 1988. Vicariance Biogeography, Parsimony, and Evolution in North American Freshwater Fishes. **Systematic Zoology**, 37(4): 329-355.
- Menezes, N. A. & S. H. Weitzman. 2009. Systematics of the Neotropical fish subfamily Glandulocaudinae (Teleostei: Characiformes: Characidae). **Neotropical Ichthyology**, 7(3): 295-370.
- Menezes, N. A. & S. H. Weitzman. 1990. Two new species of *Mimagoniates* (Teleostei: Characidae: Glandulocaudinae), their phylogeny and biogeography and a key to the glandulocaudin fishes of Brazil and Paraguay. **Proceedings of the Biological Society of Washington**, 103(2): 380-426.
- Menezes, N. A., S. H. Weitzman, O. T. Oyakawa, F. C. T. de Lima, R. M. C. Castro & M. J. Weitzman. 2007. **Peixes de água doce da Mata Atlântica: lista preliminar de espécies e comentários sobre conservação de peixes de água doce neotropicais**. São Paulo, Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, 408p.
- Menezes, N. A., A. C. Ribeiro, S. H. Weitzman & R. A. Torres. 2008. Biogeography of the Glandulocaudinae (Teleostei: Characiformes: Characidae) revisited: phylogenetic patterns, historical geology and genetic connectivity. **Zootaxa**, 1726: 33-48.
- Menezes, R. S. T., S. G. Brady, A. F. Carvalho, M. A. Del Lama & M. A. Costa. Molecular Phylogeny and Historical Biogeography of the Neotropical Swarm-Founding Social Wasp Genus *Synoeca* (Hymenoptera: Vespidae). **PLoS ONE** 10(3): e0119151. doi:10.1371/journal.pone.0119151.
- Miller, M. A., W. Pfeiffer & T. Schwartz. 2010. Creating the CIPRES science gateway for inference of large phylogenetic trees. *In*: **Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)**, 14 Nov. 2010, New Orleans, 1-8.
- Mirande, J. M. 2010. Phylogeny of the family Characidae (Teleostei: Characiformes) from characters to taxonomy. **Neotropical Ichthyology**, 8(3): 385-568.

- Myers, G. S. & Böhlke, J. E. 1956. The Xenurobryconini, a group of minute South American characid fishes with teeth outside the mouth. **Stanford Ichthyological Bulletin**, 7(2): 6-12.
- Oliveira, C., G. S. Avelino, K. T. Abe, T. C. Mariguela, R. C. Benine, G. Ortí, R. P. Vari & R. M. Corrêa e Castro. 2011. Phylogenetic relationships within the speciose family Characidae (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes) based on multilocus analysis and extensive ingroup sampling. **BMC Evolutionary Biology**, 2011: 1-25.
- Palumbi, S. R. 1996. Nucleic acids II: the polymerase chain reaction. *In*: Hillis D, C. Moritz & B, Mable (Eds.). **Molecular Systematics**. Massachusetts, Sinauer Associates Inc., cap.7, 205-247.
- Pavan, A. C., F. M. Martins & J. S. Morgante. 2013. Evolutionary history of bulldog bats (genus *Noctilio*): recent diversification and the role of the Caribbean in Neotropical biogeography. **Biological Journal of the Linnean Society**, 108: 210-224.
- Rambaut, A. 2009. **FigTree, version 1.3.1**. Disponível em: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>. Acesso em 10 dez. 2015.
- Rambaut, A. & A. J. Drummond. 2009. **Tracer, version 1.5**. Disponível em: http://beast.bio.ed.ac.uk/Main_Page. Acesso em 16 dez. 2015.
- Ribeiro, A. C. 2006. Tectonic history and the biogeography of the freshwater fishes from the coastal drainages of eastern Brazil: an example of faunal evolution associated with a divergent continental margin. **Neotropical Ichthyology**, 4(2): 225-246.
- Ribeiro, A. C., F. C. T. Lima & N. A. Menezes. 2016. Biogeografia dos Peixes de Água Doce da América do Sul. *In*: Carvalho, C. J. B. & E. A. B. Almeida (Eds.). **Biogeografia da América do Sul: análise de tempo, espaço e forma**. Rio de Janeiro, Roca, cap. 17, p. 245-258.
- Ribeiro, A. C., F. C. T. Lima, C. Ricomini & N. A. Menezes. 2006. Fishes of the Atlantic Rainforest of Boracéia: testimony of the Quaternary fault reactivation within a Neoproterozoic tectonic province in Southeastern Brazil. **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, 17(2): 625-630.
- Rokas, A., B. L. Williamns, N. King & S. B. Carroll. 2003. Genome-scale approaches to resolving incongruence in molecular phylogenies. **Nature**, 425: 798-80.
- Ronquist, F., M. Teslenko, P. van der Mark, D. L. Ayres, A. Darling, S. Höhna, B. Larget, L. Liu, M. A. Suchard & J. P. Hueslsbeck. 2012. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space. **Systematic Biology**, 61: 539-542.
- Roxo, F. F., J. S. Albert, G. S. C. Silva, C. H. Zawadzki, F. Foresti & C. Oliveira. 2014. Molecular Phylogeny and Biogeographic History of the Armored Neotropical Catfish Subfamilies

- Hypoptopomatinae, Neoplecostominae and Otothyrinae (Siluriformes: Loricariidae). **PLoS One**, 9(8): e105564. doi:10.1371/journal.pone.0105564.
- Roxo, F. F., C. H. Zawadzki, M. A. Alexandrou, G. J. Costa Silva, M. C. Chiachio & C. Oliveira. 2012. Evolutionary and biogeographic history of the subfamily Neoplecostominae (Siluriformes: Loricariidae). **Ecology and Evolution**, 2(10): 2438–2449.
- Serra, J. P., F. R. Carvalho & F. Langeani. 2007. Ichthyofauna of the rio Itatinga in the Parque das Neblinas, Bertioga, São Paulo State: composition and biogeography. **Biota Neotropica**, 7(1): 81-86.
- Slowinski, J. B. & R. D. M. Page. 1999. How should species phylogenies be inferred from sequence data? **Systematic Biology**, 48(4): 814-825.
- Sotiaux, A., J. Enroth, S. Olsson, D. Quandt & A. Vanderpoorten. 2009. When morphology and molecules tell us different stories: a case-in-point with *Leptodon corsicus*, a new and unique endemic moss species from Corsica. **Journal of Bryology**, 31: 186–196
- Stamatakis, A. 2014. RAxML Version 8: A tool for Phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. **Bioinformatics**, doi:10.1093/bioinformatics/btu033.
- Sullivan, J. P., J. G. Lundberg & M. Hardman. 2006. A phylogenetic analysis of the major groups of catfishes (Teleostei: Siluriformes) using RAG-1 and RAG-2 nuclear sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 41: 636-662.
- Tagliacollo, V. A., M. J. Bernt, J. M. Craig, C. Oliveira & J. S. Albert. 2016. Model-based total evidence phylogeny of Neotropical electric knifefishes (Teleostei, Gymnotiformes). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 23-59.
- Tagliacollo, V. A., R. Souza-Lima, R. C. Benine & C. Oliveira. 2012. Molecular phylogeny of Aphyocharacinae (Characiformes, Characidae) with morphological diagnoses for the subfamily and recognized genera. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 64(2): 297-307.
- Tamura, K., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei & S. Kumar. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. **Molecular Biology and Evolution**, 28(10): 2731-2739.
- Thomaz, A. T., D. Arcila, G. Ortí & L. R. Malabarba. 2015. Molecular phylogeny of the subfamily Stevardiinae Gill, 1858 (Characiformes: Characidae): classification and the evolution of reproductive traits. **BMC Evolutionary Biology**, 15: 1-25.
- Thomé, M. T., Zamudio, K. R., Giovanelli, J. G. R., Haddad, C. F. B., Baldissera, F. A. & Alexandrino, J. 2010. Phylogeography of endemic toads and post-Pliocene persistence of the Brazilian Atlantic Forest. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 55: 1018-1031.

- Thompson, A.W., R. Betancur-R., H. López-Fernández, H., G. Ortí. 2014. A time-calibrated, multi-locus phylogeny of piranhas and pacus (Characiformes: Serrasalminidae) and a comparison of species tree methods, **Molecular Phylogenetics and Evolution**, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2014.06.018>.
- Tonini, J., A. Moore, D. Stern, M. Shcheglovitova & G. Ortí. 2015. Concatenation and Species Tree Methods Exhibit Statistically Indistinguishable Accuracy under a Range of Simulated Conditions. **PLOS Currents Tree of Life**, doi: [10.1371/currents.tol.34260cc27551a527b124ec5f6334b6be](https://doi.org/10.1371/currents.tol.34260cc27551a527b124ec5f6334b6be).
- Tornow, M. A. & R. R. Skelton. 2012. A priori assumptions about characters as a cause of incongruence between molecular and morphological hypotheses of primate interrelationships. **Primates**, 53: 83-96.
- Xia, X. 2013. DAMBE5: A comprehensive software package for data analysis in molecular biology and evolution. **Molecular Biology and Evolution**, 30: 1720-1728.
- Xia, X. & P. Lemey. 2009. Assessing substitution saturation with DAMBE. *In*: Lemey, P., M. Salemi, Vandamme, A. M. **The Phylogenetic Handbook: A Practical Approach to DNA and Protein Phylogeny**. Cambridge, University Press, p.615-630.
- Xia, X., Z. Xie, M. Salemi, L. Chen & Y. Wang. 2003. An index of substitution saturation and its application. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 26: 1-7.
- Ward, R. D., T. S. Zemlak, B. H. Innes, P. R. Last & P. D. N. Hebert. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, 360: 1847-1857.
- Waters, J. M., R. M. Allibone & G. P. Wallis. Geological subsidence, river capture, and cladogenesis of galaxiid fish lineages in central New Zealand. **Biological Journal of the Linnean Society**, 88, 367-376.
- Weitzman, S. H. & S. V. Fink. 1985. Xenurobryconin phylogeny and putative pheromone pumps in glanduloaudine fishes (Teleostei: Characidae). **Smithsonian Contributions to Zoology**, 421: 1-121.
- Weitzman, S. H. & N. A. Menezes. 1998. Relationships of the tribes and genera of the Glanduloaudinae (Ostariophysi: Characiformes: Characidae) with a description of a new genus, *Chrysobrycon*. *In*: Malabarba, L. R., R. E. Reis, R. P. Vari, Z. M. S. Lucena & C. A. S. Lucena (Eds.). **Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes**. Porto Alegre, Edipucrs, p. 171-192.
- Weitzman, S. H., N. A. Menezes & M. J. Weitzman. 1988. Phylogenetic biogeography of the Glanduloaudini (Teleostei: Characiformes, Characidae) with comments on the

- distributions of other freshwater fishes in eastern and southeastern Brazil. *In*: Vanzolini, P. E. & W. R. Heyer (Eds.). **Proceedings of a workshop on Neotropical distribution patterns**. Rio de Janeiro, Academia Brasileira de Ciências, p. 379-427.
- Weitzman, S. H., N. A. Menezes, J. R. Burns & H-Georg Evers. 2005. Putative relationships among inseminating and externally fertilizing characids, with a description of a new genus and species of Brazilian inseminating fish bearing an anal-fin gland in males (Characiformes: Characidae). **Neotropical Ichthyology**, 3(3): 329-360.
- Willet, C. E., J. J. Cherry & L. A. Steiner. 1997. Characterization and expression of the recombination activating genes (rag1 and rag2) of zebrafish. **Immunogenetics**, 45: 394-404.
- Weitzman, S. H. & M. J. Weitzman. 1982. Biogeography and evolutionary diversification in Neotropical freshwater fishes, with comments on the refuge theory. *In*: Prance, G. T. (Ed.). **Biological diversification in the Tropics**. New York, Columbia University Press, p. 403-422.

CAPÍTULO 2

=====

**Filogeografia e história demográfica de *Mimagoniates microlepis* (Steindachner)
(Characidae: Stevardiinae: Glandulocaudini), peixe de água doce endêmico e
amplamente distribuído em rios e riachos da Mata Atlântica, com comentários
sobre a taxonomia e conservação da espécie**

Resumo

Mimagoniates é o gênero mais representativo de Glandulocaudini e, assim como *Lophiobrycon* e *Glandulocauda*, tem, predominantemente, distribuição restrita, com elevado grau de endemismo reconhecido. No entanto, difere destes, típicos de regiões altas do escudo cristalino brasileiro, por ocorrer em áreas de planície, especialmente na região costeira do leste do Brasil. A grande exceção é *M. microlepis* que, ao contrário de todos os Glandulocaudini, está amplamente distribuída em rios e riachos da vertente leste da Serra do Mar, desde a Bahia até o Rio Grande do Sul, e, diferente das congêneres, também ocorre em bacias que drenam terras altas do escudo brasileiro. A distribuição ampla e disjunta de *M. microlepis*, aliada à reconhecida variação clinal de caracteres morfológicos para algumas das suas populações, impulsionaram este trabalho, que teve como objetivo realizar estudos mais aprofundados em nível populacional para melhor compreensão da história evolutiva da espécie. No presente estudo, foram, portanto, utilizadas fontes de dados e abordagens metodológicas distintas, incluindo análises filogenéticas, filogeográficas e de história demográfica baseadas em dados moleculares, além de um estudo morfológico comparativo de *M. microlepis*. Para tanto, foram obtidas e analisadas sequências de dois genes mitocondriais (16S rRNA e COI) de espécimes de *M. microlepis* de toda a distribuição conhecida da espécie, incluindo localidade tipo, além do grupo externo. Também foram obtidas sequências do gene nuclear RAG2, que, apesar de um número menor de amostras, incluiu material dos principais pontos de distribuição da espécie. Análises moleculares baseadas no mtDNA (filogenéticas e filogeográficas) indicam uma forte estruturação ao longo da distribuição de *M. microlepis*, com distinção clara de quatro haplogrupos, que também foram recuperados como linhagens independentes pelas análises realizadas. Estes haplogrupos foram definidos no sentido norte-sul como (1) Haplogrupo 1, ocorrente em drenagens costeiras da Bahia e Espírito Santo; (2) Haplogrupo 2, em bacias costeiras do Rio de Janeiro, incluindo localidade tipo, e São Paulo; (3) Haplogrupo 3, nas bacias dos rios Tietê (afluente do rio Paraná) e Ribeira de Iguape, além de drenagens costeiras do Paraná; e (4) Haplogrupo 4, ocorrente em bacias costeiras de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, além das bacias dos rios Iguaçu e Tibagi (afluentes do Paraná). As análises de demografia histórica fornecem indícios de que as populações mais antigas de *M. microlepis* tenham se estabelecido em drenagens mais ao sul, indicando que a origem da diversificação da espécie tenha se dado nestas drenagens, com posterior expansão populacional no sentido norte. O não compartilhamento de haplótipos entre os haplogrupos de *M. microlepis* apontam para três quebras filogeográficas na Mata Atlântica, que concordam, em parte, com

algumas já propostas para a biota terrestre. As análises baseadas no mtDNA (1059 pb) também indicaram que a espécie *M. microlepis* não é monofilética, em virtude da relação mais estreita do HAP4 com *M. lateralis*. Por outro lado, as análises baseadas no gene nuclear RAG2 (770 pb) e na árvore de espécies indicaram o contrário e recuperam *M. microlepis* como um clado, de maneira que o parafiletismo do mtDNA sugere a ocorrência de introgressão mitocondrial entre esta população específica e *M. lateralis*. Com os resultados obtidos a partir das análises morfológicas também não foi possível separar os haplogrupos propostos pelo mtDNA em espécies distintas e o nome *M. microlepis* foi mantido para as diferentes populações alopátricas. No entanto, apesar de não ter sido proposta nenhuma alteração na taxonomia de *M. microlepis*, em função das divergências genéticas acentuadas, sugere-se que, para fins de conservação, as linhagens evolutivas distintas sejam levadas em consideração.

1. Introdução

A filogeografia é uma ciência relativamente recente que tem suas raízes nos campos da biogeografia histórica e genética de populações (Bermingham & Moritz, 1998), tendo como foco o estudo dos princípios e processos, históricos e contemporâneos, que influenciaram a distribuição geográfica das linhagens genealógicas, em especial dentro e/ou entre espécies proximamente relacionadas (Avice *et al.*, 1987; Avice, 2000, 2009). O aprimoramento e ampla utilização das técnicas de genética molecular modificaram a forma como algumas questões eram abordadas nos estudos de biogeografia, de maneira que a filogeografia passou a ser vista como uma ferramenta capaz de lidar, de maneira eficiente, com questões anteriormente intratáveis (Riddle *et al.*, 2008). As forças evolutivas (*e.g.*, mutação, deriva genética, fluxo gênico) e os eventos demográficos (*e.g.*, expansão ou declínio populacional, extinção, migração) deixam marcas na história genealógica das populações e a filogeografia possibilita decifrar estas marcas e entender como estes fatores moldaram a distribuição atual da variabilidade genética em uma espécie (Cunha & Solé-Cava, 2012). Assim, este tipo de abordagem tem sido amplamente utilizado para descrever eventos históricos, tais como a fragmentação de habitats ou expansão da área de distribuição de espécies e populações, eventos de migração, vicariância ou extinção de linhagens gênicas, assim como outros processos que afetam a estrutura das populações ao longo do tempo (Hardy *et al.*, 2002; Martins & Domingues, 2011). Aqui, é importante ressaltar que, apesar da filogeografia ser comumente utilizada como ferramenta para esclarecer padrões históricos e evolutivos entre populações, estudos filogeográficos têm sido cada vez mais utilizados para auxiliar o reconhecimento e estabelecimento de limites de

espécies e também a definição de unidades de conservação e manejo (Vázquez-Domínguez, 2007; Domínguez-Domínguez & Vázquez-Domínguez, 2009), de maneira que sua influência nas áreas da taxonomia e biologia da conservação tem ganhado muito destaque nos últimos anos (e.g., Thomé *et al.*, 2010; Brunet *et al.*, 2014; Lima *et al.*, 2016).

A grande maioria das espécies de peixes de água doce, especialmente aquelas da divisão primária, é incapaz de transpor porções de terra ou tolerar níveis de salinidade como da água do mar. Sendo assim, o oceano e as barreiras terrestres são capazes de isolar populações de peixes dentro de uma determinada bacia hidrográfica após sua formação (Vari, 1988). Justamente por estarem restritos a corpos d'água limitados por estas barreiras, os peixes de água doce constituem um grupo interessante para a investigação de eventos biogeográficos (Weitzman & Weitzman, 1982; Vari, 1988). Em virtude desta desconexão atual entre as bacias hidrográficas, é esperado também que populações de espécies de peixes de corpos d'água distintos e independentes sejam geneticamente estruturadas (Avice, 2000; Waters *et al.*, 2007). Já que há dependência direta de conexões entre as bacias hidrográficas para que os peixes de água doce aumentem sua dispersão, é esperada uma forte relação entre a história das bacias e sua ictiofauna (Hischmann *et al.*, 2015). Assim, para os peixes de água doce, a filogeografia é integralmente relacionada à paisagem e a história da paisagem (Avice, 2009), o que torna o grupo um excelente modelo para este tipo de estudo. No entanto, apesar de os peixes de água doce oferecerem uma excelente oportunidade para a proposição de hipóteses biogeográficas e, mais especificamente, de estudos filogeográficos, a biogeografia e, em especial, a filogeografia da ictiofauna de água doce Neotropical é ainda pouco conhecida. Em relação às análises filogeográficas propriamente ditas, a grande maioria dos estudos é realizada em regiões temperadas, no Hemisfério Norte, principalmente nos Estados Unidos e Europa (Beheregary, 2008; Hickerson *et al.*, 2010). Este cenário, entretanto, vem mudando paulatinamente e a publicação de trabalhos de filogeografia que utilizam peixes de água doce neotropicais como modelo de estudo tem se tornado cada vez mais comum (e.g., Sivasundar *et al.*, 2001; Turner *et al.*, 2004; Renno *et al.*, 2006; Hubert *et al.*, 2007; Vergara *et al.*, 2008; Santos *et al.*, 2009; Piggot *et al.*, 2011; Borba *et al.*, 2013; Ribeiro *et al.*, 2013). No que diz respeito à ictiofauna de água doce da Mata Atlântica (MA), segunda maior formação florestal da Região Neotropical, no entanto, o cenário não tem mudado muito nos últimos anos e pouquíssimos estudos filogeográficos foram realizados.

A MA estendia-se, originalmente, ao longo da região costeira do Brasil, desde o Estado do Rio Grande do Norte até o Rio Grande do Sul, na fronteira com a Argentina e o Paraguai (Oliveira-Filho & Fontes, 2000). Atualmente, este domínio detém menos de 10% da sua

cobertura florestal primária e estima-se que apenas 2 a 5% das terras originalmente localizadas na MA permanecem inalteradas (Menezes *et al.*, 2007; Ribeiro *et al.*, 2009; Lima *et al.*, 2015). No entanto, mesmo após perder mais de 90% da sua área original, a MA ainda está entre os cinco principais *hotspots* de biodiversidade do mundo, sendo reconhecida pela sua megadiversidade e pelos altos índices de endemismo (Myers *et al.*, 2000; Lima *et al.*, 2015). Apesar de intrigar, há tempos, os biólogos interessados em evolução, os processos relacionados à formação da megadiversidade da MA ainda são controversos e pouco estudados, principalmente quando comparados com outras áreas, como a região Amazônica, por exemplo (Turchetto-Zolet *et al.*, 2013). Segundo Batalha-Filho & Miyaki (2011), o entendimento da história evolutiva da MA não é uma tarefa simples e, talvez, apenas com a realização e compilação de estudos filogeográficos de táxons distintos, será possível entender a dinâmica de diversificação que gerou a megadiversidade neste domínio.

A ictiofauna dos rios e riachos que drenam a MA é reconhecida pelo alto grau de endemismo e o padrão de distribuição das espécies é o resultado de milhões de anos de evolução da paisagem (Menezes *et al.*, 2007). As bacias que drenam este domínio ocupam a parte leste do escudo cristalino brasileiro, uma área de topografia complexa, que foi moldada pela atividade tectônica ocorrida no Terciário e mudanças no nível do mar no Quaternário (Ribeiro, 2006). Assim, os eventos que provavelmente são responsáveis pelos atuais padrões de distribuição de peixes na MA, devem ser atribuídos tanto a um passado remoto, talvez de idade cretácea, quanto a eventos mais recentes, datados do Terciário e Quaternário, com destaque para atividades neotectônicas nas áreas de planalto e expansões/retrações das planícies costeiras, decorrentes das flutuações do nível do mar (Ribeiro, 2006; Menezes *et al.*, 2007). A respeito dos estudos filogeográficos já realizados com táxons da MA, é importante salientar que a esmagadora maioria destes teve como foco plantas (*e.g.*, Pinheiro *et al.*, 2011) ou animais terrestres, tais como insetos (*e.g.*, Cardoso *et al.*, 2015), anfíbios adultos (*e.g.*, Tonini *et al.*, 2013), répteis (*e.g.*, Graziotin *et al.*, 2006), aves (*e.g.*, Cabanne *et al.*, 2013) e mamíferos (*e.g.*, Martins *et al.*, 2011), de maneira que, como já mencionado, os trabalhos envolvendo a biota aquática, ocorrente nos rios que drenam a MA, são escassos ou ausentes com relação a alguns táxons. Turchetto-Zolet *et al.* (2013), por exemplo, fizeram uma revisão dos trabalhos de filogeografia realizados com táxons ocorrentes na América do Sul até aquele momento e todos os estudos que incluíram peixes de água doce (citados pelos autores) envolveram apenas a fauna amazônica. No que diz respeito aos táxons endêmicos de rios (ou de trechos deles) que drenam a MA, o número de trabalhos desenvolvidos é ainda menor e a maioria destes estudos

foi feita com grupos de distribuição restrita, especialmente às drenagens da região Sul e Sudeste do Brasil (*e.g.*, Hirschmann *et al.*, 2015; Thomaz *et al.*, 2015a; Lima *et al.*, 2016).

Mimagoniates Regan é um gênero que inclui espécies de peixes de água doce da família Characidae, tribo Glandulocaudini *sensu* Thomaz *et al.* (2015b), com sete espécies reconhecidas: *M. barberi* Regan, *M. inequalis* (Eigenmann), *M. lateralis* (Nichols), *M. microlepis* (Steindachner), *M. pulcher* Menezes & Weitzman, *M. rheocharis* Menezes & Weitzman e *M. sylvicola* Menezes & Weitzman. Assim como no caso de *Lophiobrycon* Castro, Ribeiro, Benine & Melo e *Glandulocauda* Eigenmann, outros dois gêneros de Glandulocaudini, as espécies de *Mimagoniates* têm distribuição predominantemente restrita, com um alto grau de endemismo reconhecido (Menezes & Weitzman, 2009). No entanto, contrariamente aos demais, típicos de regiões de elevadas altitudes do escudo cristalino brasileiro, o gênero *Mimagoniates* ocorre, no geral, em áreas baixas de planície litorânea, em drenagens costeiras desde o sul da Bahia até o Rio Grande do Sul (Weitzman *et al.*, 1988), no domínio MA. Neste contexto, *M. microlepis* pode ser considerada “uma grande exceção”, por peculiaridades que a difere tanto dos demais glandulocaudíneos quanto das suas congêneres. A espécie, que foi descrita da bacia do rio Macacu, drenagem costeira do Rio de Janeiro, representa uma exceção em Glandulocaudini, visto que, diferentemente de todos os outros membros desta tribo, não apresenta distribuição restrita, ocorrendo ao longo de quase toda extensão da MA, em rios e riachos desde o Estado da Bahia até o Rio Grande do Sul; e representa também uma exceção dentro do gênero, pois não tem distribuição restrita às áreas de planície litorânea, ocorrendo também em regiões mais altas, em áreas adjacentes de planalto, no escudo cristalino brasileiro, drenadas pela bacia do alto Paraná (Menezes *et al.*, 2008; Menezes & Weitzman, 2009).

Ao compararem amostras de *M. microlepis* de algumas localidades ao longo de sua distribuição em bacias costeiras e também de tributários do rio Iguaçu (bacia do alto Paraná), Menezes & Weitzman (2009) detectaram variação clinal de alguns caracteres morfológicos na espécie (*e.g.*, número de raios ramificados na anal, número de escamas perfuradas na linha lateral). Naquela ocasião, os autores concluíram que todas as amostras pertenceriam a *M. microlepis*, uma espécie que seria, portanto, amplamente distribuída e representada por populações alopátricas, mas salientaram a necessidade de estudos mais detalhados, principalmente em nível populacional e com a utilização de ferramentas moleculares, para refutar ou corroborar tal hipótese, bem como para melhor entender a história evolutiva da espécie. Esta abordagem já havia sido utilizada anteriormente por Menezes *et al.* (2008) para discutir, neste caso, o padrão de distribuição da espécie em drenagens costeiras dos estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e também no Iguaçu. No entanto, como salientado pelos

próprios autores na ocasião, apenas uma parte da distribuição de *M. microlepis* foi contemplada e análises adicionais ainda se faziam necessárias. Posteriormente, Torres & Ribeiro (2009) também utilizaram ferramentas moleculares para discutir a distribuição alopátrica de *M. microlepis*, mas com as mesmas amostras utilizadas por Menezes *et al.* (2008). Assim, o problema de amostragem não foi resolvido e questões envolvendo a história evolutiva da espécie se mantiveram em aberto, especialmente porque o estudo dos dois últimos autores não incluiu amostras da localidade tipo, de localidades ao norte de São Paulo ou ao sul de Santa Catarina, nem do rio Tibagi, outro afluente da bacia do rio Paraná, no escudo cristalino brasileiro, de onde a espécie também foi registrada anos antes por Sant'Anna *et al.* (2006).

Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo principal realizar uma análise filogeográfica ampla de *Mimagoniates microlepis* a partir de amostras de toda a sua distribuição, incluindo a localidade tipo, para verificar se existe divergência nas linhagens gênicas das populações, bem como inferir sobre os fatores históricos/contemporâneos que puderam ou podem influenciar a distribuição destas linhagens. Buscou-se também associar dados moleculares e morfológicos para testar a hipótese de Menezes & Weitzman (2009) de que, apesar de variação clinal detectada com relação a alguns caracteres, *M. microlepis* representa uma única espécie. Além disso, por se tratar de uma espécie endêmica da Mata Atlântica, onde está amplamente distribuída, os resultados obtidos no presente estudo poderão também auxiliar o entendimento mais completo da história deste domínio, cuja paisagem inclui tanto a floresta quanto as bacias hidrográficas.

6. Conclusões

No presente estudo, foram utilizadas fontes de dados e abordagens metodológicas variadas para a melhor compreensão da história evolutiva de *Mimagoniates microlepis*, uma espécie de peixe de água doce endêmica de rios e riachos da Mata Atlântica. Análises de identificação molecular de espécies (GMYC e *DNA barcoding*), baseadas no gene mitocondrial COI, indicaram a existência de, no mínimo, quatro linhagens dentro de *M. microlepis*, com divergência suficiente para separação em espécies distintas. As análises morfológicas realizadas, no entanto, não corroboraram estes resultados e o nome *M. microlepis* foi mantido para as diferentes populações alopátricas, distribuídas no leste do Brasil, desde a bacia do rio Pardo, na Bahia, até a bacia do rio Tramandaí, no Rio Grande do Sul. Baseado na incongruência entre dados morfológicos e moleculares, *M. microlepis*, tal como conceituada atualmente, é representada por um conjunto de populações (= haplogrupos), que poderiam ser

caracterizadas como espécies crípticas. Em função das divergências genéticas acentuadas, sugere-se, no entanto, que, para fins de conservação, as linhagens evolutivas distintas sejam levadas em consideração.

As análises filogenéticas baseadas no mtDNA (COI e 16S) indicaram que a espécie *M. microlepis* não é monofilética, em virtude da relação mais estreita de um dos seus haplogrupos com *M. lateralis*. Como as análises baseadas no gene nuclear RAG2 e a árvore de espécies indicam o contrário e recuperam *M. microlepis* como um clado, o parafiletismo do mtDNA sugere a ocorrência de introgessão mitocondrial entre esta população específica e *M. lateralis*. Análises moleculares baseadas no mtDNA (filogenéticas e filogeográficas) também indicam uma forte estruturação ao longo da distribuição de *M. microlepis*, com distinção clara de quatro haplogrupos. Esta estruturação não foi recuperada através dos resultados obtidos com a análise do nDNA, sugerindo a necessidade de um marcador nuclear de evolução mais rápida que o RAG2 para análise intraespecífica/populacional.

Os quatro haplogrupos supracitados foram definidos no sentido norte-sul como (1) Haplogrupo 1, ocorrente em drenagens costeiras da Bahia e Espírito Santo; (2) Haplogrupo 2, em bacias costeiras do Rio de Janeiro, incluindo localidade tipo, e São Paulo; (3) Haplogrupo 3, nas bacias dos rios Tietê (afluente do rio Paraná) e Ribeira de Iguape, além de drenagens costeiras do Paraná; e (4) Haplogrupo 4, ocorrente em bacias costeiras de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, além das bacias dos rios Iguazu e Tibagi (afluentes do Paraná). O não compartilhamento de haplótipos entre estes agrupamentos apontam para três quebras filogeográficas na Mata Atlântica, associadas a algumas bacias hidrográficas que drenam este domínio: (1) ao norte do rio Doce, no Espírito Santo; (2) à altura da bacia do rio Peruíbe, litoral sul de São Paulo; (3) ao sul da Baía de Paranaguá, no Paraná. Parte destas quebras é congruente com aquelas verificadas em outras espécies de peixes de água doce e também em grupos da biota terrestre. Para o estabelecimento de um padrão geral, no entanto, estudos adicionais se fazem necessários, especialmente envolvendo a fauna aquática.

Mesmo havendo uma estruturação e padrão geral, as análises internas de cada haplogrupo indicam nuances e quebras filogeográficas ainda mais específicas, que são indicativas da complexidade da história evolutiva de *M. microlepis*. As divergências entre os quatro grandes haplogrupos datam do Neógeno (antigo Terciário), enquanto as divergências internas, entre populações distintas de cada um deles, são mais recentes, datando do Pleistoceno (Quaternário). Estas datações, aliadas às informações geomorfológicas disponíveis às áreas onde a espécie ocorre, bem como à hipótese da existência de paleodrenagens associadas ao Último Máximo Glacial proposta para a região, indicam que o atual padrão de

distribuição de *M. microlepis* foi, provavelmente, moldado tanto por eventos mais antigos de capturas de cabeceiras, por exemplo, quanto por eventos mais recentes diretamente associados às flutuações do nível do mar, ocorridas no Pleistoceno. As análises de demografia histórica fornecem indícios de que as populações mais antigas de *M. microlepis* tenham se estabelecido em drenagens mais ao sul, indicando que a origem da diversificação da espécie tenha se dado nestas drenagens, com posterior expansão populacional no sentido norte. Este resultado é congruente com hipóteses prévias de origem e diversificação de Glandulocaudini como um todo, mas discordante do que foi proposto especificamente em relação a *M. microlepis*, tendo como base um estudo filogeográfico já desenvolvido anteriormente com a mesma espécie, porém realizado com um número consideravelmente menor de amostras e localidades, utilizando um protocolo de amplificação e abordagens analíticas diferentes daqueles utilizados no presente trabalho, o que pode ter gerado a incongruência observada.

Assim, em função de tudo o que foi apresentado, discutido e mencionado anteriormente, os resultados do presente estudo corroboram a ideia de que, dada a complexidade associada ao surgimento e delimitação de espécies, quanto mais informações e fontes de dados distintas forem utilizadas, melhor e mais completo será o conhecimento da sua história evolutiva. Este conhecimento, por sua vez, é crucial para a elaboração de políticas de conservação responsáveis e eficientes, extremamente importantes para a manutenção da biodiversidade, objetivo maior de quaisquer estudos na área de ciências biológicas.

7. Referências Bibliográficas

- Abrahão, V. P., A. Claro-García, L. Souza-Shibatta & O. A. Shibatta. 2015. Rapid survey of ichthyofauna from rivers and streams of coastal hydrographic regions of Santa Catarina state, Brazil. **Check List**, 11(5): 1-13.
- Ahmadzadeh, F., M. Flecks, M. A. Carretero, O. Mozaffari, W. Böhme, D. J. Harris, S. Freitas & D. Rödder. 2013. Cryptic Speciation Patterns in Iranian Rock Lizards Uncovered by Integrative Taxonomy. **PLoS ONE**, 8(12): e80563. doi:10.1371/journal.pone.0080563
- Aires, J. R., A. Motoki, K. F., Motoki, A. F. Motoki & J. G. Ribeiro. 2012. Análises Geomorfológicas do Platô de Teresópolis e da Serra do Mar, RJ, com o Auxílio de Seppômen e ASTER GDEM e sua Relação aos Tectonismos Cenozoicos. **Anuário do Instituto de Geociências – UFRJ**, 35(2): 105-123.
- Akihito, F. A., Y. Ikeda, M. Aizawa, S. Nakagawa, Y. Umehara, T. Yonezawa, S. Mano, M. Hasegawa, T. Nakabo, T. Gojobori. 2016. Speciation of two gobioid species, *Pterogobius*

- elapoides* and *Pterogobius zonoleucus* revealed by multi-locus nuclear and mitochondrial DNA analyses. **Gene**, 576: 593-602.
- Aleixo, A. 2009. Conceitos de espécie e suas implicações para conservação. **Megadiversidade**, 5(1-2): 87-95.
- Álvarez-Presas, M., A. Sánchez-Gracia, F. Carbayo, J. Rozas & M. Riutort. 2014. Insights into the origin and distribution of biodiversity in the Brazilian Atlantic forest hot spot: a statistical phylogeographic study using a low-dispersal organism. **Heredity**, 112: 656-665.
- Amaral, C. R. L., P. M. Brito, D. A. Silva & E. F. Carvalho. 2013. A new cryptic species of South American freshwater pufferfish of the genus *Colomesus* (Tetraodontidae), based on both morphology and DNA data. **PLoS One**, 8: e74397.
- Amaral, F. R., P. K. Albers, S. V. Edwards & C. Y. Miyaki. 2013. Multilocus tests of Pleistocene refugia and ancient divergence in a pair of Atlantic Forest antbirds (*Myrmeciza*). **Molecular Ecology**, 22(15): 3996-4013.
- April, J., R. L. Mayden, R. H. Hanner, L. Bernatchez. 2011. Genetic calibration of species diversity among North America's freshwater fishes. **PNAS**, 108(26): 10602-10607.
- Avise, J. C. 2000. **Phylogeography: the history and formation of species**. Cambridge, Harvard University Press, 464p.
- Avise, J. C. 2004. **Molecular markers, Natural history, and Evolution**. Massachusetts, Sinauer Associates Inc. 684p.
- Avise, J. C. 2009. Phylogeography: retrospect and prospect. **Journal of Biogeography**, 36: 3-15.
- Avise, J. C., Arnold, J., Ball, R. M., Jr, Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J. E., Reeb, C. A. & Saunders, N. C. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 18: 489-522.
- Azevedo, M. A., C. B. Fialho & L. R. Malabarba. 2016. Reproductive strategies in two inseminating species of Glandulocaudini, *Mimagoniates microlepis* and *Mimagoniates rheocharis* (Characiformes: Characidae: Stevardiinae). **Journal of Fish Biology**, 1-14.
- Bachtrog, D., K. Thornton, A. Clarck & P. Andolfato. 2006. Extensive introgression of mitochondrial dna relative to nuclear genes in the *Drosophila yakuba* species group. **Evolution**, 60(2): 292-302.
- Ballard, J. W. & M. Whitlock. 2004. The incomplete natural history of mitochondria. **Molecular Ecology**, 13: 729-744.
- Bandelt, H. J., P. Forster & A. Röhl. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. **Molecular Biology and Evolution**, 16(1): 37-48.

- Barman, H. K., A. Barat, B. M. Yadav, S. Banerjee, P. K., Meher, P. V. G. K. Reddy & R. K. Jana. 2003. Genetic variation between four species of Indian major carps as revealed by random amplified polymorphic DNA assay. **Aquaculture**, 217: 115-123.
- Barrella, W. & M. Petrere. 2003. Fish community alterations due to pollution and damming in Tietê and Paranapanema rivers, Brazil. **River Research and Applications**, 19: 59-76.
- Batalha-Filho, H. & C. Y. Miyaki. 2011. Filogeografia da Mata Atlântica. **Revista da Biologia**, volume especial Biogeografia: 31-34.
- Batalha-Filho, H., Waldschmidt, A. M, Campos, L. A. O., Tavares, M. G. e Fernandes-Salomão, T. M. 2010. Phylogeography and historical demography of the Neotropical stingless bee *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera, Apidae): incongruence between morphology and mitochondrial DNA. **Apidologie**: 534-547.
- Batalha-Filho, H. & C. Y. Miyaki. 2016. Late Pleistocene divergence and postglacial expansion in the Brazilian Atlantic Forest: multilocus phylogeography of *Rhopias gularis* (Aves: Passeriformes). **Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research**, doi: 10.1111/jzs.12118.
- Bauer, A.M., Parham, J.F., Brown, R.M., Stuart, B.L., Grismer, L., Papenfuss, T.J., Böhme, W., Savage, J.M., Carranza, S., Grismer, J.L., Wagner, P., Schmitz, A., Ananjeva, N.B., Robert, F., 2011. Availability of new Bayesian-delimited gecko names and the importance of character-based species descriptions. **Proceedings of the Royal Society of London B**, 278: 490-492.
- Bickford, D., D. J. Lohman, N. S. Sodhi, P. K. L. Ng, R. Meier, K. Winkler, K. K., Ingram & I. Das. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. **Trends in Ecology & Evolution**, 22, 148-155.
- Bishop, P. 1995. Drainage rearrangement by river capture, beheading and diversion. **Progress in Physical Geography**, 19: 449-473.
- Bock, W. 1986. Species concepts, speciation, and macroevolution. *In*: Iwantsuki, K., P. Raven & W. Bock (Eds.). **Modern Aspects of Species**. Tokyo, University of Tokyo Press, p. 31-57.
- Borba, R. S., C. H. Zawadzki, C. Oliveira, A. Perdices, P. P. Parise-Maltempi & A. L. Alves. 2013. Phylogeography of *Hypostomus strigaticeps* (Siluriformes: Loricariidae) inferred by mitochondrial DNA reveals its distribution in the upper Paraná River basin. **Neotropical Ichthyology**, 11(1): 111–116.
- Bouckaert, R. R. & J. Heled. 2014. **DensiTree 2: seeing trees through the forest**. bioRxiv, <http://dx.doi.org/10.1101/012401>.
- Beheregary, L. B. 2008. Twenty years of phylogeography: the state of the field and the challenges for the Southern Hemisphere. **Molecular Ecology**, 17: 3754–3774.

- Benine, R. C., T. C. Mariguela, C. Oliveira. 2009. New species of *Moenkhausia* Eigenmann, 1903 (Characiformes: Characidae) with comments on the *Moenkhausia oligolepis* species complex. **Neotropical Ichthyology**, 7: 161-168.
- Bermingham, E. & Moritz, C. 1998. Comparative Phylogeography: concepts and applications. **Molecular Ecology**, 7: 367-369.
- Bizerril, C. R. S. F. 1994. Análise taxonômica e biogeográfica da ictiofauna de água doce do leste brasileiro. **Acta Biologica Leopoldensia**, 16: 51-80.
- Braga, M. R., J. R. S. Vitulen & J. M. R. Aranha. 2007. Estrutura populacional de *Mimagoniates microlepis* (Steindachner 1876) (Characidae, Glandulocaudinae) em um riacho de Floresta Atlântica, Paraná (Brasil). **Acta Biologica Paranaense**, 36: 67-81.
- Brunes, T. O., F. Sequeira, C. F. B. Haddad, J. Alexandrino. 2010. Gene and species trees of a Neotropical group of treefrogs: Genetic diversification in the Brazilian Atlantic Forest and the origin of a polyploid species. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 57: 1120-1133.
- Brunes, T. O., J. Alexandrino, D. Baêta, J. Zina, J., C. F. B. Haddad. & F. Sequeira. 2014. Species limits, phylogeographic and hybridization patterns in Neotropical leaf frogs (Phyllomedusinae). **Zoologica Scripta**, 43(6): 586-604.
- Brunes, T. O., M. T. Thomé, J. Alexandrino, C. F. B. Haddada & F. Sequeira. 2015. Ancient divergence and recent population expansion in a leaf frog endemic to the southern Brazilian Atlantic forest. **Organisms Diversity & Evolution**, 15(4): 695-710.
- Buckup, P. A. 1996. Biodiversidade dos Peixes da Mata Atlântica. *In*: **Workshop Padrões de Distribuição da Diversidade da Mata Atlântica do Sul e Sudeste Brasileiro**.
- Buckup, P. A. 2011. The Eastern Brazilian Shield. *In*: Albert, J. S. & R. E. Reis (Eds.). **Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes**. Berkeley, University of California Press, cap. 12, p. 203-210
- Burns, J. R., S. H. Weitzman, H. J. Grier, H. J. & N. A. Menezes. 1995. Internal fertilization, testis and sperm morphology in glandulocaudine fishes (Teleostei: Characidae: Glandulocaudinae). **Journal of Morphology**, 210: 45-53.
- Cabanne, G. S., E. H. Sari, D. Meyer, F. R. Santos & C. Y. Miyaki. 2013. Matrilineal evidence for demographic expansion, low diversity and lack of phylogeographic structure in the Atlantic forest endemic Greenish *Schiffornis Schiffornis virescens* (Aves: Tityridae). **Journal of Ornithology**, 154: 371-384.
- Cabanne, G. S, F. M. d'Horta, E. H. R. Sari, F. R. Santos & C. Y. Myiaki. 2008. Nuclear and mitochondrial phylogeography of the Atlantic forest endemic *Xiphorhynchus fuscus* (Aves:

- Dendrocolaptidae): Biogeography and systematics implications. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 49: 760-773.
- Calcagnotto, D. 2012. Taxas de evolução e relógios moleculares. *In*: Matioli, S. R. & Fernandes, F. M. C. (Eds.). **Biologia molecular e Evolução**. Ribeirão Preto, Holos/Sociedade Brasileira de Genética, cap. 7, p. 61-74.
- Calcagnotto, D., S. A. Schaefer & R. DeSalle. 2005. Relationships among characiform fishes inferred from analysis of nuclear and mitochondrial gene sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 36:135-153.
- Camelier, P. & A. M. Zanata. 2014. Biogeography of freshwater fishes from the Northeastern Mata Atlântica freshwater ecoregion: distribution, endemism, and area relationships. **Neotropical Ichthyology**, 12(4): 683–698.
- Campanha, G. A. C., H. H. Ens & W. L. Poçano. 1994. Análise morfotectônica do planalto do Juqueriquerê, São Sebastião. **Revista Brasileira de Geociências**, 24(1): 32-42.
- Campos-Soto, R., F. Torres-Pérez & A. Solari. 2015. Phylogenetic incongruence inferred with two mitochondrial genes in *Mepraia* spp. and *Triatoma eratyrsiformis* (Hemiptera, Reduviidae). **Genetics and Molecular Biology**, 38(3): 390-395.
- Cardoso, D. C., M. P. Cristiano, M. G. Tavares, C. D. Schubart & J. Heinze. 2015. Phylogeography of the sand dune ant *Mycetophylax simplex* along the Brazilian Atlantic Forest coast: remarkably low mtDNA diversity and shallow population structure. **BMC Evolutionary Biology**, 15: 1-13.
- Carnaval, A. C., M. J. Hickerson, C. F. B. Haddad, M. T. Rodrigues & C. Moritz. 2009. Stability predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic forest hotspot. **Science**, 323: 785-789.
- Carvalho, T. P. 2007. Distributional patterns of freshwater fishes in coastal Atlantic drainages of eastern Brazil: A preliminary study applying parsimony analysis of endemism. **Darwiniana**, 45: 65-67.
- Carvalho, D., D. A. A. Oliveira, P. S. Pompeu, C. G. Leal, C. Oliveira & R. Hanner. 2011. Deep barcode divergence in Brazilian freshwater fishes: the case of the São Francisco River basin. **Mitochondrial DNA**, 22(S1): 80–86.
- Castella, V., M. Ruedi & L. Excoffier. 2001. Contrasted patterns of mitochondrial and nuclear structure among nursery colonies of the bat *Myotis myotis*. **Journal of Evolutionary Biology**, 14: 708-20.
- Chaves, J. A. & T. B. Smith. 2011. Evolutionary patterns of diversification in the Andean hummingbird genus *Adelomyia*. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 60: 207-218.

- Colombi, V. H., S. R. Lopes & V. Fagundes. 2011. Testing the Rio Doce as a riverine barrier in shaping the Atlantic rainforest population divergence in the rodent *Akodon cursor*. **Genetics and Molecular Biology**, 33(4): 785-789.
- Conti, L. A. 2009. Evidências da evolução dos sistemas de paleodrenagens na plataforma continental da região de São Sebastião (Litoral Norte do Estado de São Paulo). **Revista Brasileira de Geomorfologia**, 10(2): 45-55.
- Conti, L. A. & V. V. Furtado. 2006. Geomorfologia da Plataforma Continental do Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Geociências**, 32: 12-31.
- Costa, W. J. E. M. 2002. **Peixes anuais brasileiros: diversidade e conservação**. Curitiba, Editora UFPR, 238p.
- Costa, W.J. E. M., P. F. Amorim & J. L. O. Mattos. 2012. Species delimitation in annual killifishes from the Brazilian Caatinga, the *Hypsolebias flavicaudatus* complex (Cyprinodontiformes: Rivulidae): implications for taxonomy and conservation. **Systematics and Biodiversity**, 10(1): 71-91.
- Costa-Silva, G. J., M. S. Rodriguez, F. F. Roxo, F. Foresti & C. Oliveira. 2015. Using Different Methods to Access the Difficult Task of Delimiting Species in a Complex Neotropical Hyperdiverse Group. **PLoS ONE**, 10(9): e0135075. doi:10.1371/journal.pone.0135075.
- Cox, A. J. & P. D. N. Hebert. 2001 Colonization, extinction and phylogeographic patterning in a freshwater crustacean. **Molecular Ecology**, 10: 371-386.
- Coyne, J. A., H. A. Orr & D. J. Futuyma. 1988. Do We Need a New Species Concept? **Systematic Zoology**, 37(2): 190-200.
- Cracraft, J. 1983. Species concepts and speciation analysis. **Current Ornithology**, 1: 159-187.
- Cracraft, J. 2002. The seven great questions of systematic biology: an essential foundation for conservation and the sustainable use of biodiversity. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, 89: 121-144.
- Crandall, K. A., O. R. P. Bininda-Emonds, G. M. Mace & R. K. Wayne. 2000. Considering evolutionary processes in conservation biology. **Trends in Ecology and Evolution**, 15: 290-295.
- Cunha, H. A. C. & Solé-Cava, A. M. 2012. Análise Filogeográfica. *In*: Matioli, S. R. & Fernandes, F. M. C. (Eds). **Biologia Molecular e Evolução**. Ribeirão Preto, Holos Editora/Sociedade Brasileira de Genética. cap. 21, p. 197-215.
- Dagosta, F. C. P., M. M. F. Marinho & P. Camelier. 2014. A new species of Hyphessobrycon Durbin (Characiformes: Characidae) from the middle rio São Francisco and upper and

middle rio Tocantins basins, with comments on its biogeographic history. **Neotropical Ichthyology**, 12: 365-373.

- Davidson, R., P. Vachaspat, S. Mirarab & T. Warnow. 2015. Phylogenomic species tree estimation in the presence of incomplete lineage sorting and horizontal gene transfer. **BMC Genomics**, doi: 10.1186/1471-2164-16-S10-S1.
- D'Amato, M. E., M. M. Esterhuysen, B. C. W. van der Waal, D. Brink & F. A. M. Volckaert. 2007. Hybridization and phylogeography of the Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* in southern Africa evidenced by mitochondrial and microsatellite DNA genotyping. **Conservation Genetics**, 8: 475-488.
- D'Horta, F. M., G. S. Cabanne, D. Meyer & C. M. Miyaki. 2011. The genetic effects of Late Quaternary climatic changes over a tropical latitudinal gradient: diversification of an Atlantic Forest passerine. **Molecular Ecology**, 20: 1923-1935.
- de Queiroz, K. 1998. The general lineage concept of species, species criteria, and the process of speciation: A conceptual unification and terminological recommendations. *In*: Howard D. J. & S. H. Berlocher (Eds.). **Endless forms: Species and speciation**. New York, Oxford University Press, cap. 5, p. 57-75.
- de Queiroz, K. 2007. Species Concepts and Species Delimitation. **Systematics Biology**, 56(6): 879-886.
- Degnan, J. H. & N. A. Rosenberg. 2006. Discordance of Species Trees with Their Most Likely Gene Trees. **PLoS Genetics**, 5(2): 762-768.
- Degnan, J. H. & N. A. Rosenberg. 2009. Gene tree discordance, phylogenetic inference and the multispecies coalescent. **Trends in Ecology & Evolution**, 24: 332-340.
- Domínguez-Domínguez, O. & Vázquez-Domínguez, E. 2009. Filogeografía: aplicaciones en taxonomía y conservación. **Animal Biodiversity and Conservation**, 32(1): 59-70.
- Drummond, A. J. & A. Rambaut. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. **BMC Evolutionary Biology**, 7: 214.
- Drummond, A. J., A. Rambaut, B. Shapiro & O. Pybus. 2005. Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences. **Molecular Biology and Evolution**, 22: 1185-1192.
- Drummond, A. J., M. A. Suchar, D. Xie & A. Rambaut. 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. **Molecular Biology and Evolution**, 29: 1969-1973.
- Edwards, S. V., L. Liu & D. K. Pearl. 2007. High-resolution species trees without concatenation. **PNAS**, 104(14): 5936-5941.

- Edwards, S. V. & P. Beerli. 2000. Perspective: Gene Divergence, Population Divergence, and the Variance in Coalescence Time in Phylogeographic Studies. **Evolution**, 54(6): 1839-1854.
- Egger, B., S. Koblmüller, C. Sturmbauer & K. M. Sefc. 2007. Nuclear and mitochondrial data reveal different evolutionary processes in the Lake Tanganyika cichlid genus *Tropheus*. **BMC Evolutionary Biology**, 137: 1-14.
- Eizirik, E. 1996. Ecologia molecular, genética da conservação e o conceito de unidades evolutivamente significativas. **Revista Brasileira de Genética**, 19(4): 23-29.
- Excoffier, L., P. & H. E. Lischer. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources**, 10(3): 564-567.
- Excoffier, L., P. E. Smouse & J. M. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, 131: 479-491.
- Fink, W. L. & S. H. Weitzman. 1974. The so-called cheirodontin fishes of Central America with description of two new species (Pisces, Characidae). **Smithsonian Contributions to Zoology**, 172: 1-46.
- Fontaneto, D., E. Herniou, C. Boschetti, M. Caprioli, G. Melone, C. Ricci & T. G. Barraclough. 2007. Independently evolving species in asexual bdelloid rotifers. **PLoS Biology**, 5:e87. PMID: 17373857.
- Fouquet, A., A. Gilles, A. Vences, C. Marty, M. Blanc & N. J. Gemmel. Underestimation of Species Richness in Neotropical Frogs Revealed by mtDNA Analyses. **PLoS ONE**, 2(10): e1109. doi:10.1371/journal.pone.0001109.
- Franco-Magalhães, A. O. B., P. C. Hackspacher & A. R. Saad. 2010. Exumação tectônica e reativação de paleolineamentos no Arco de Ponta Grossa: termocronologia por traços de fissão em apatitas. **Revista Brasileira de Geociências**, 40(2): 184-195.
- Fricke, R. & Eschmeyer, W. N. 2016. **Guide to fish collections**. Disponível em <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/collections.asp>. Acesso em 02 abr. 2016.
- Fu, Y. X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. **Genetics**, 147: 915-925.
- Fujisawa, T. & T. G. Barraclough. 2013. Delimiting Species Using Single-Locus Data and the Generalized Mixed Yule Coalescent Approach: A Revised Method and Evaluation on Simulated Data Sets. **Systematic Biology**, 62(5): 707-724.

- Funk, D. L. & K. E. Omland. 2003. Species level paraphyly and polyphyly: Frequency, Causes, and Consequences, with Insights from Animal Mitochondrial DNA. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, 34: 397-423.
- Forest, F. 2009. Calibrating the Tree of Life: fossils, molecules and evolutionary timescales. **Annals of Botany**, 104: 789-794.
- Gadagkar, S. R., A. S. Rosenberg & S. Kumar. 2005. Inferring Species Phylogenies From Multiple Genes: Concatenated Sequence Tree Versus Consensus Gene Tree. **Journal of Experimental Zoology (Molecular and Developmental Evolution)**, 304B: 64-74.
- Grant, W. S. & B. W. Bowen. 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. **Journal of Heredity**, 89: 415-426.
- Grazziotin, F. G., M. Monzel, S. Echeverrigaray & S. L. Bonatto. 2006. Phylogeography of the *Bothrops jararaca* complex (Serpentes: Viperidae): past fragmentation and island colonization in the Brazilian Atlantic Forest. **Molecular Ecology**, 15: 3969-3982.
- Godinho, R., B. Mendonça, E. G. Crespo & N. Ferrand. 2006. Genealogy of the nuclear b-fibrinogen locus in a highly structured lizard species: comparison with mtDNA and evidence for intragenic recombination in the hybrid zone. **Heredity**, 96: 454-63.
- Haffer, J. 1969. Speciation in Amazonian forest birds. **Science**, 165: 131-137.
- Hardy, M. E., Grady, J. M. & Routman, E. J. 2002. Intraspecific phylogeography of the slender madtom: the complex evolutionary history of the Central Highlands of United States. **Molecular Ecology**, 11: 2393-2403.
- Hausdorf, B., H. Wilkens & U. Stecker. 2011. Population genetic patterns revealed by microsatellite data challenge the mitochondrial DNA based taxonomy of *Astyanax* in Mexico (Characidae, Teleostei). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 60: 89-97.
- Hebert, P. D. N., A. Cywinska, S. L. Ball, J. R. Waard. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society**, 270: 313-322.
- Heled, J. & A. J. Drummond. 2010. Bayesian Inference of Species Trees from Multilocus Data. **Molecular Biology and Evolution**, 27(3): 570-580.
- Heller, R., L. Chikhi, H. R. Siegmund. 2013. The Confounding Effect of Population Structure on Bayesian Skyline Plot Inferences of Demographic History. **PLoS ONE**, 8(5): e62992. doi:10.1371/journal.pone.0062992.
- Hey, J. & C. A. Machado. 2003. The study of structured populations — new hope for a difficult and divided science. **Nature Reviews Genetics**, 4(7): 535-543.

- Hickerson, M. J., B. C. Carstens, J. Cavender-Bares, K. A. Crandall, C. H. Graham, J. B. Johnson, L. Rissler, P. F. Victoriano & A. D. Yoder. 2010. Phylogeography's past, present, and future: 10 years after. **Molecular Phylogeny and Evolution**, 54: 291-301.
- Hirschmann, A., L. R. Malabarba, A. T. Thomaz & N. J. R. Fagundes. 2015. Riverine habitat specificity constrains dispersion in a Neotropical fish (Characidae) along Southern Brazilian drainages. **Zoologica Scripta**, 44(4): 374-382.
- Ho, S. Y. W. & B. Shapiro. 2011. Skyline-plot methods for estimating demographic history from nucleotide sequences. **Molecular Ecology Resources**, 11: 423-434.
- Hubert, N., F. Duponchelle, J. N. C. Garcia-Davila, D. Paugy & J. F. Renno. 2007. Phylogeography of the piranha genera *Serrasalmus* and *Pygocentrus*: implications for the diversification of the Neotropical ichthyofauna. **Molecular Ecology**, 16: 2115-2136.
- Hubert, N., R. Hanner, E. Holm, N. E. Mandrak, E. Taylor, M. Burrridge, D. Watkinson, P. A. Dumont, A. Curry, P. Bentzen, J. Zhang, J. April, L. Bernatchez. 2008. Identifying Canadian freshwater fishes through DNA barcodes. **PLoS ONE**, 3: e2490.
- Huxley, J. S. 1938. Clines: an auxiliary taxonomic principle. **Nature**, 142*(3857): 219-220.
- Ingenito, L. F. S., L. F. Duboc, V. Abilhoa. 2004. Contribuição ao conhecimento da ictiofauna da bacia do alto rio Iguaçu, Paraná, Brasil. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, 7(1): 23-36.
- Leite, Y. L. R., L. P. Costa, A. C. Loss, R. G. Rocha, H. Batalha-Filho, A. C. Bastos, V. S. Quaresma, V. Fagundes, R. Paresque, M. Passamani & R. Pardini. 2016. Neotropical forest expansion during the last glacial period challenges refuge hypothesis. **PNAS**, 113(4):1008-1013.
- Javonillo, R., L. R. Malabarba, S. H. Weitzman & J. R. Burns. 2010. Relationships among major lineages of characid fishes (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes), based on molecular sequence data. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 54:498-511.
- Kekkonen, M. & P. D. N. Hebert. 2014. DNA barcode-based delineation of putative species: efficient start for taxonomic workflows. **Molecular ecology resources**, 14: 706-15.
- Koblmüller, S., B. Egger, C. Sturmbauer & K. M. Sefc. 2010. Rapid radiation, ancient incomplete lineage sorting and ancient hybridization in the endemic Lake Tanganyika cichlid tribe Tropheini. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 55: 318-334.
- Kubatko, L. S. & J. H. Degnan. 2007. Inconsistency of Phylogenetic Estimates from Concatenated Data under Coalescence. **Systematic Biology**, 56(1): 17-24.

- Langeani, F., R. M. C. Castro, O. T. Oyakawa, O. A. Shibatta, C. S. Pavanelli & L. Cassati. 2007. Diversidade da ictiofauna do Alto rio Paraná: composição atual e perspectivas futuras. **Biota Neotropica**, 7(3): 181-197.
- Lavinia, P. D., P. Escalante, N. C. García, A. S. Barreira, N. Trujillo-Arias, P. L. Tubaro, K. Naoki, C. Y. Miyaki, F. R. Santos & D. A. Lijtmaer. 2015. Continental-scale analysis reveals deep diversification within the polytypic Red-crowned ant tanager (*Habia rubica*, cardinalidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 89: 182-193.
- Lewis-Oritt, N., C. A. Porter & R. J. Baker. 2001. Molecular systematics of the family Moormopidae (Chiroptera) based on Cytochrome b and Recombination activator gene 2 sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 20: 426-36.
- Librado, P. & J. Rozas. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. **Bioinformatics**, 25: 145-1452.
- Lima, F. C. T. & A. C. Ribeiro. 2011. Continental-Scale Tectonic Controls of Biogeography and Ecology. *In*: Albert, J. S. & R. E. Reis (Eds.). **Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes**. Berkeley, University of California Press, cap. 9, p. 145-184.
- Lima, S. M. Q., A. V. Vasconcellos, W. M. Berbel-Filho, C. Lazoski, C. A. M. Russo, I. Sazima & A. M. Solé-Cava. 2016. Effects of Pleistocene climatic and geomorphological changes on the population structure of the restricted-range catfish *Trichogenes longipinnis* (Siluriformes: Trichomycteridae). **Systematics and Biodiversity**, 14(2): 1-16.
- Lima, R. A. F., D. P. Mori, G. Pitta, M. O. Melito, C. Bello, L. F. Magnago, V. P. Zwiener, D. D. Saraiva, M. C. M. Marques, A. A. de Oliveira & P. I. Prado. 2015. How much do we know about the endangered Atlantic Forest? Reviewing nearly 70 years of information on tree community surveys. **Biodiversity and Conservation**, 24: 2135-2148.
- Lupchinski-Jr, E., L. Vargas, R. P. Ribeiro, H., L. M. Moreira, M. Valemtime & J. A. Povh. 2006. A importância da utilização da técnica RAPD para a identificação de dactilogirídeos em tilápias do nilo (*Oreochromis niloticus*). **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, 9(1): 49-57.
- Mace, G. M. 2004. The role of taxonomy in species conservation. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London B**, 359: 711-719.
- Malabarba, L. R., P. C. Neto, V. A. Bertaco, T. P. Carvalho, J. F. dos Santos & L. G. S. Artioli. 2013. **Guia de identificação dos peixes da bacia do rio Tramandaí**. Porto Alegre, Ed. Via Sapiens, 143p.

- Malabarba, L. R. & E. A. Isaia. 1992. The fresh water fish fauna of the rio Tramandaí drainage, Rio Grande do Sul, Brazil, with a discussion of its historical origin. **Comunicações do Museu de Ciências da PUCRS. Série Zoologia**, 5(12): 197-223.
- Maldonado-Coelho, M. 2012. Climatic oscillations shape the phylogeographical structure of Atlantic Forest fire-eye antbirds (Aves: Thamnophilidae). **Biological Journal of the Linnean Society**, 105: 900-924.
- Mallet, J. 2007. Species, concepts of. *In*: Levin, S. et al. (Eds.) **Encyclopedia of Biodiversity**. Massachusetts, Academic Press, pp. 427-440.
- Marceniuk, A. P., A. W. S. Hilsdorf & F. Langeani. 2011. A ictiofauna de cabeceiras do rio Tietê, São Paulo, Brasil. **Biota Neotropica**, 11(3): 217-236.
- Marques, D., F. Santos & S. Silva S. 2013. Cytogenetic and DNA barcoding reveals high divergence within the trahira, *Hoplias malabaricus* (Characiformes: Erythrinidae) from the lower Amazon River. **Neotropical Ichthyology**, 11: 459-466.
- Martins, F. M. & Domingues, M. V. 2011. Filogeografia. *In*: Carvalho, C. J. B. & E. A. B. Almeida. **Biogeografia da América do Sul: padrões e processos**. São Paulo, Roca, cap. 8, p. 137-150.
- Martins, F. M., A. R. Templeton, A. C. O. Pavan, B. C. Kohlbach & J. S. Morgante. 2009. Phylogeography of the common vampire bat (*Desmodus rotundus*): marked population structure, Neotropical Pleistocene vicariance and incongruence between nuclear and mtDNA markers. **BMC Evolutionary Biology**, 9: 294. doi:10.1186/1471-2148-9-294.
- Martins, F. M., C. Gifalli-Iughetti, C. P. Koiffman & E. E. Harris. 2011. Coalescent analysis of mtDNA indicates Pleistocene divergence among three species of howler monkey (*Alouatta* spp.) and population subdivision within the Atlantic Coastal Forest species, *A. guariba*. **Primates**, 52: 77-87.
- Mayden, R. L. 1997. A hierarchy of species concepts: the denouement in the saga of the species problem. *In*: Claridge, M. F., H. A. Dawah & M. R. Wilson (Eds.). **Species: the units of Biodiversity**. London, Chapman & Hall, cap. 19, p. 381-424.
- Mayr, E. 1957. Species concepts and definitions. *In*: Mayr, E. (Ed.). **The Species problem**. Washington, American Association for the Advancement Science, p. 1-22.
- Mazeti, C. M., T. C. Maniglia, S. M. A. P. Prioli & A. J. Prioli. 2012. Molecular variants in populations of *Bryconamericus* aff. *iheringii* (Characiformes, Characidae) in the upper Paraná river basin. **Acta Scientiarum**, 35(2): 241-248.

- McCormack, J. E., J. Heled, K. S. Delaney, A. T. Peterson & L. Knowles. 2010. Calibrating divergence times on species trees versus gene trees: implications for speciation history of *Aphelocoma* Jays. **Evolution**, 65: 184-202.
- McCormack, J. E., B. C. Faircloth, N. G. Crawford, P. A. Gowaty, R. T. Brumfield & T. C. Glenn. 2012. Ultraconserved elements are novel phylogenomic markers that resolve placental mammal phylogeny when combined with species-tree analysis. **Genome Research**, 22: 746-754.
- McKay, B. D. & R. M. Zink. 2010. The causes of mitochondrial DNA gene tree paraphyly in birds. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 54: 647-650.
- Melo, B. F., L. E. Ochoa, R. P. Vari & C. Oliveira. 2016. Cryptic species in the Neotropical fish genus *Curimatopsis* (Teleostei, Characiformes). **Zoologica Scripta**, doi:10.1111/zsc.12178.
- Melo, B. F., R. C. Benine, T. C. Mariguela & C. Oliveira. 2011. A new species of *Tetragonopterus* Cuvier, 1816 (Characiformes: Characidae: Tetragonopterinae) from the rio Jari, Amapá, northern Brazil. **Neotropical Ichthyology**, 9: 49-56.
- Melo, M. S. 2002. Canyon do Guartelá, PR: profunda garganta fluvial com notáveis exposições de arenitos devonianos. In: Schobbenhaus, C., D. A. Campos, E. T. Queiroz, M. Winge & M. L. C. Berbert-Born (Eds.). **Sítios Geológicos e Paleontológicos do Brasil**. Brasília. Departamento Nacional de Produção Mineral (DNPM), pp. 279-288.
- Menezes, N. A. 1972. Distribuição e origem da fauna de peixes de água doce das grandes bacias fluviais do Brasil. In: **Poluição e Piscicultura**. São Paulo, Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo e Instituto de Pesca, pp. 73-108.
- Menezes, N. A. 1988. Implications of the distribution patterns of the species of *Oligosarcus* (Teleostei, Characidae) from central and southern South America. In: Vanzolini, P. E. & Heyer, W. R. (Eds.). **Proceedings of a workshop on Neotropical distribution patterns**. Rio de Janeiro, Academia Brasileira de Ciências.
- Menezes, N. A. & S. H. Weitzman. 1990. Two new species of *Mimagoniates* (Teleostei: Characidae: Glandulocaudinae), their phylogeny and biogeography and a key to the glandulocaudin fishes of Brazil and Paraguay. **Proceedings of the Biological Society of Washington**, 103(2): 380-426.
- Menezes, N. A. & S. H. Weitzman. 2009. Systematics of the Neotropical fish subfamily Glandulocaudinae (Teleostei: Characiformes: Characidae). **Neotropical Ichthyology**, 7(3): 295-370.

- Menezes, N. A., A. C. Ribeiro, S. H. Weitzman & R. A. Torres. 2008. Biogeography of the Glandulocaudinae (Teleostei: Characiformes: Characidae) revisited: phylogenetic patterns, historical geology and genetic connectivity. *Zootaxa*, 1726: 33-48.
- Menezes, N. A., S. H. Weitzman, O. T. Oyakawa, F. C. T. de Lima, R. M. C. Castro & M. J. Weitzman. 2007. **Peixes de água doce da Mata Atlântica: lista preliminar de espécies e comentários sobre conservação de peixes de água doce neotropicais**. São Paulo, Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, 408p.
- Miller, M. A., W. Pfeiffer & T. Schwartz. 2010. Creating the CIPRES science gateway for inference of large phylogenetic trees. *In: Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*, 14 Nov. 2010, New Orleans, 1-8.
- Mirande, J. M. 2010. Phylogeny of the family Characidae (Teleostei: Characiformes) from characters to taxonomy. *Neotropical Ichthyology*, 8(3): 385-568.
- Moran, P. & I. Kornfield. 1993. Retention of an Ancestral Polymorphism in the Mbuna Species Flock (Teleostei: Cichlidae) of Lake Malawi. *Molecular Biology and Evolution*, 10(5): 1015-1029.
- Morando, M., L. J. Avila, J. Baker & J. W. S. Jr. 2004. Phylogeny and phylogeography of the *Liolaemus darwinii* complex (Squamata: Liolaemidae): evidence for introgression and incomplete lineage sorting. *Evolution*, 58(4): 842-861.
- Moore, W. S. 1995. Inferring Phylogenies from mtDNA Variation: Mitochondrial-Gene Trees Versus Nuclear-Gene Trees. *Evolution*, 49(4): 718-726.
- Myers N., R. A. Mittermeier, C. G. Mittermeier, G. A. B. Fonseca & J. Kent. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403: 853-858.
- Naidoo, T., M. C. Schoeman, S. M. Goodman, P. J. Taylor & J. M. Lamb. 2015. Discordance between mitochondrial and nuclear genetic structure in the bat *Chaerephon pumilus* (Chiroptera: Molossidae) from southern Africa. *Mammalian Biology*, 81: 115-122.
- Neigel, J. E. & J. C. Avise. 1986. Phylogenetic relationship of mitochondrial DNA under various demographic models of speciation. *In: Nevo, E. & Karlins, S. (Eds). Evolutionary processes and theory*. New York, Academic Press, pp. 515-534.
- Nelson, K. 1964a. Behavior and morphology in the Glandulocaudine fishes (Ostariophysi, Characidae). *University of California Publications in Zoology*, 75(2): 59-152.
- Nelson, K. 1964b. The temporal patterning of courtship behavior in the Glandulocaudine fishes (Ostariophysi, Characidae). *Behavior*, 14(1-2): 90-146.

- Nevado, B., S. Koblmüller, C. Sturmbauer, J. Snoeks, J. Usano-Alemy & E. Verheyen. 2009. Complete mitochondrial DNA replacement in a Lake Tanganyika cichlid fish. **Molecular Ecology**, 18: 4240-4255.
- Nevo, E., 2001. Evolution of genome–phenome diversity under environmental stress. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 98: 6233-6240.
- Nylander, J. A. A. 2004. **MrModeltest v2**. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University.
- Nyingi, D. W. & J. F. Agnèse. 2007. Recent introgressive hybridization revealed by exclusive mtDNA transfer from *Oreochromis leucostictus* (Trewavas, 1933) to *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) in Lake Baringo, Kenya. **Journal of Fish Biology**, 70: 148-154.
- Oliveira-Filho, A. T. & M. A. L. Fontes. 2000. Patterns of floristic differentiation among Atlantic Forests in southeastern Brazil and the influence of climate. **Biotropica**, 32: 793-810.
- Oliveira, C., G. S. Avelino, K. T. Abe, T. C. Mariguela, R. C. Benine, G. Ortí, R. P. Vari & R. M. Corrêa e Castro. 2011. Phylogenetic relationships within the speciose family Characidae (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes) based on multilocus analysis and extensive ingroup sampling. **BMC Evolutionary Biology**, 2011: 1-25.
- Oliver O. M., M. Adams, M. S. Y. Lee, M. N. Hutchinson & P. Doughty. 2009. Cryptic diversity in vertebrates: molecular data double estimates of species diversity in a radiation of Australian lizards (*Diplodactylus*, Gekkota). **Proceedings of the Royal Society of London B**, 276: 2001-2007.
- Oyakawa, O. T. & G. M. T. Mattox, 2009. Revision of the Neotropical trahiras of the *Hoplias lacerdae* species-group (Ostariophysi: Characiformes: Erythrinidae) with descriptions of two new species. **Neotropical Ichthyology**, 7(2):117-140.
- Pabijan, M., A. Crottini, D. Reckwell, I. Irisarri, J. S. Hauswaldt & M. Vences. 2012. A multigene species tree for Western Mediterranean painted frogs (*Discoglossus*). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 64: 690-696.
- Palumbi, S. R. 1996. Nucleic acids II: the polymerase chain reaction. *In*: Hillis D, C. Moritz & B, Mable (Eds.). **Molecular Systematics**. Massachusetts, Sinauer Associates Inc., cap.7, 205-247.
- Pellegrino, K. C. M., M. T. Rodrigues, A. N. Waite, M. Morando, Y. Y. Yassuda & J. W. S. Jr. 2005. Phylogeography and species limits in the *Gymnodactylus darwinii* complex (Gekkonidae, Squamata): genetic structure coincides with river systems in the Brazilian Atlantic Forest. **Biological Journal of the Linnean Society**, 85: 13–26.

- Pereira, L. H. G., R. Hanner, F. Foresti & C. Oliveira. 2013. Can DNA barcoding accurately discriminate megadiverse Neotropical freshwater fish fauna? **BMC Genetic**, 14: 20.
- Pereira, L. H. G., G. M. G. Maia, R. Hanner, F. Foresti & C. Oliveira. 2011. DNA barcodes discriminate freshwater fishes from the Paraíba do Sul River Basin, São Paulo, Brazil. **Mitochondrial DNA**, 22(S1): 71–79.
- Pereira, T. L., U. Santos, C. E. Schaefer, G. O. Souza, S. R. Paiva, L. R. Malabarba, E. E. Schmidt & J. A. Dergam. 2012. Dispersal and vicariance of *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) (Teleostei, Erythrinidae) populations of the Brazilian continental margin. **Journal of Biogeography**, 1-10.
- Peters, J. L., Y. Zhuravlev, I. Fefelov, A. Logie & K. E. Omland. 2007. Nuclear loci and coalescent methods support ancient hybridization as cause of mitochondrial paraphyly between gadwall and falcated duck (*Anas* spp.). **Evolution**, 161: 1992-2006.
- Piggott, M. P., N. L. Chao & L. B. Beheregaray. 2011. Three fishes in one: cryptic species in an Amazonian floodplain forest specialist. **Biological Journal of the Linnean Society**, 102: 391-403.
- Pinheiro, F., F. de Barros, C. Palma-Silva, M. F. Fay, C. Lexer & S. Cozzolino. 2011. Phylogeography and genetic differentiation along the distributional range of the orchid *Epidendrum fulgens*: a Neotropical coastal species not restricted to glacial refugia. **Journal of Biogeography**, 38: 1923-1935.
- Pinho, C., D. J. Harris & N. Ferrand. 2008. Non-equilibrium estimates of gene flow inferred from nuclear genealogies suggest that Iberian and North African wall lizards (*Podarcis* spp.) are an assemblage of incipient species. **BMC Evolutionary Biology**, 8: 63 doi:10.1186/1471-2148-8-63.
- Pons, J., T. G. Barraclough, J. Gomez-Zurita, A. Cardoso, D. P. Duran, S. Hazell, S. Kamoun, W. D. Sumlin & A. P. Vogler. 2006. Sequence-Based Species Delimitation for the DNA Taxonomy of Undescribed Insects. **Systematic Biology**, 55(4): 595-609.
- R Development Core Team. 2009. **Writing R Extensions**. Manual included with R version 2.10.0.
- R Development Core Team. 2013. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**.
- Ramos-Onsins, S. E. & J. Rosas. 2002. Statistical Properties of New Neutrality Tests Against Population Growth. **Molecular Biology and Evolution**, 19: 2092-2100.
- Rambaut, A. 2009. **FigTree, version 1.3.1**. Disponível em: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>. Acesso em 10 dez. 2015.

- Rambaut, A. & A. J. Drummond. 2009. **Tracer, version 1.5**. Disponível em: http://beast.bio.ed.ac.uk/Main_Page. Acesso em 16 dez. 2015.
- Rato, C., D. J. Harris, S. Carranza, L. Machado & A. Perera. 2015. The taxonomy of the *Tarentola mauritanica* species complex (Gekkota: Phyllodactylidae): Bayesian species delimitation supports six candidate species. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 94: 271-278.
- Reid, N. M. & B. C. Carstens. 2012. Phylogenetic estimation error can decrease the accuracy of species delimitation: a Bayesian implementation of the general mixed Yule-coalescent model. **BMC Evolutionary Biology**, 196: 1-11.
- Renno, J. F., N. Hubert, J. P. Torrico, F. Duponchelle, J. Nunez Rodriguez, C. Garcia Davila, S. C. Willis & E. Desmarais. 2006. Phylogeography of *Cichla* (Cichlidae) in the upper Madera basin (Bolivian Amazon). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 41: 503-510.
- Ribeiro, A. C. 2006. Tectonic history and the biogeography of the freshwater fishes from the coastal drainages of eastern Brazil: an example of faunal evolution associated with a divergent continental margin. **Neotropical Ichthyology**, 4(2): 225-246.
- Ribeiro, M. C., J. P. Metzger, A. C. Martensen, F. J. Ponzoni & M. M. Hirota. 2009. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, 142: 1141-1153.
- Ribeiro, A. C., R. M. Jacob, R. S. R. Silva, F. C. T. Lima, D. C. Ferreira, K. M. Ferreira, T. C. Mariguela, L. H. G. Pereira & C. Oliveira. 2013. Distributions and phylogeographic data of rheophilic freshwater fishes provide evidences on the geographic extension of a central-Brazilian Amazonian palaeoplateau in the area of the present day Pantanal Wetland. **Neotropical Ichthyology**, 11: 319-326.
- Ribeiro, R. A., J. P. Lemos-Filho, A. C. S. Ramos & M. B. Lovato. 2011. Phylogeography of the endangered rosewood *Dalbergia nigra* (Fabaceae): insights into the evolutionary history and conservation of the Brazilian Atlantic Forest. **Heredity**, 106: 46-57.
- Riddle, B. R., Dawson, M. N., Hadly, M. N. E., Hafner, D. J., Hickerson, M. J., Mantooth, S. J. & Yoder, A. D. 2008. The role of molecular genetics in sculpting the future of integrative biogeography. **Progress in Physical Geography**, 32: 173-202.
- Rokas, A., B. L. Williams, N. King & S. B. Carroll. 2003. Genome-scale approaches to resolving incongruence in molecular phylogenies. **Nature**, 425: 798-80.
- Ross, J. L. S. 2002. A Morfogênese da bacia do Ribeira de Iguape e os sistemas ambientais. **GEOUSP – Espaço e Tempo**, 12: 1-16.

- Roxo, F. F., L. E. Ochoa, G. J. Costa-Silva & C. Oliveira. 2015. Species delimitation in *Neoplecostomus* (Siluriformes: Loricariidae) using morphologic and genetic approaches. **DNA Barcodes**, 3: 110-117.
- Ryder, O. A. 1986. Species conservation and systematics: the dilemma of subspecies. **Trends in Ecology & Evolution**, 1: 9–10.
- Saadi, A., M. N. Machette, K. M. Haller, R. L. Dart, L. Brandley & A. M. P. D. Souza. 2002. Map and Database of Quaternary Faults and Lineaments in Brazil. A project of the International Lithosphere Program Task Group II-2, Major Active Faults of the World. Disponível em <http://pubs.usgs.gov/of/2002/ofr-02-230/>. Acesso em 30 mar. 2016.
- Sant'Anna, J. F., M.C. de Almeida, M. R. Vicari, O. A. Schibatta & R. F. Artoni. 2006. Levantamento rápido de peixes em uma lagoa marginal do rio Imbituva na bacia do alto rio Tibagi, Paraná, Brasil. **Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde**, 12(1): 39-46.
- Santos, U., C. M. Völcker, F. A. Belei, M. B. Cioffi, L. A. C. Bertollo, S. R. Paiva & J. A. Dergam. 2009. Molecular and karyotypic phylogeography in the Neotropical *Hoplias malabaricus* (Erythrinidae) fish in eastern Brazil. **Journal of Fish Biology**, 75: 2326-2343.
- Sarmiento-Soares, L. & R. Martins-Pinheiro. 2010. A fauna de peixes da bacia do Reis Magos e microbacias de Serra, Espírito Santo, Brasil. **Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão**, 28: 205-141.
- Sarmiento-Soares, L. & R. Martins-Pinheiro. 2014. A fauna de peixes nas bacias do sul do Espírito Santo, Brasil. **Sitientibus série Ciências Biológicas**, 13: 13-37.
- 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. **PNAS**, 99(5): 16122-16125.
- Silva, G. S. C., B. F. Melo, C. Oliveira & R. C. Benine. 2013. Morphological and molecular evidence for two new species of *Tetragonopterus* (Characiformes: Characidae) from central Brazil. **Journal of Fish Biology**, 82: 1613-1631.
- Sivasundar, A., E Bermingham & G. Ortí. 2001. Population structure and biogeography of migratory freshwater fishes (*Prochilodus*: Characiformes) in major South American rivers. **Molecular Ecology**, 10: 407-417.
- Sites, J. W. & J. C. Marshall. 2003. Delimiting species: a Renaissance issue in systematic biology. **Trends in Ecology and Evolution**, 18(9): 462-470.
- Sota, T. & A. P. Vogler. 2001. Incongruence of Mitochondrial and Nuclear Gene Trees in the Carabid Beetles *Ohomopterus*. **Sistematic Biology**, 50(1): 39-59.

- Spellman, G. M. & J. Klicka. 2006. Testing hypotheses of Pleistocene population history using coalescent simulations: phylogeography of the pygmy nuthatch (*Sitta pygmaea*). **Proceedings of the Royal Society of London B**, 273: 3057-3063.
- Stamatakis, A. 2014. RAxML Version 8: A tool for Phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. **Bioinformatics**, doi:10.1093/bioinformatics/btu033.
- Stephens, M., N. Smith & P. Donnelly. 2001. A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. **American Journal of Human Genetics**, 68: 978-989.
- Strecker, U., L. Bernachez & H. Wilkens. 2003. Genetic divergence between cave and surface populations of *Astyanax* in Mexico (Characidae, Teleostei). **Molecular Ecology**, 12: 699-710.
- Strecker, U., V. H. Faúndez & H. Wilkens. 2004. Phylogeography of surface and cave *Astyanax* (Teleostei) from Central and North America based on cytochrome b sequence data. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 33: 469-481.
- Sullivan, J. P., J. G. Lundberg & M. Hardman. 2006. A phylogenetic analysis of the major groups of catfishes (Teleostei: Siluriformes) using RAG-1 and RAG-2 nuclear sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 41: 636-662.
- Tagliacollo, V. A., M. J. Bernt, J. M. Craig, C. Oliveira & J. S. Albert. 2016. Model-based total evidence phylogeny of Neotropical electric knifefishes (Teleostei, Gymnotiformes). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 23-59.
- Tajima, F. 1983. Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. **Genetics**, 123: 437-460.
- Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. **Genetics**, 123: 585-595.
- Takahashi, K., Y. Terai, M. Nishida & N. Okada. 2001. Phylogenetic Relationships and Ancient Incomplete Lineage Sorting Among Cichlid Fishes in Lake Tanganyika as Revealed by Analysis of the Insertion of Retroposons. **Molecular Biology and Evolution**, 18(11): 2057-2066.
- Talavera, G., V. Dincă & R. Vila. 2013. Factors affecting species delimitations with the GMYC model: insights from a butterfly survey. **Methods in Ecology and Evolution**, 4: 1101-1110.
- Tamura, K., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei & S. Kumar. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. **Molecular Biology and Evolution**, 28(10): 2731-2739.
- Taylor, W. R. & G. C. Van Dyke. 1985. Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. **Cybium**, 9: 107-109.

- Thomaz, A. T., L. R. Malabarba, S. L. Bonatto & L. L. Knowles. 2015a. Testing the effect of palaeodrainages versus habitat stability on genetic divergence in riverine systems: study of a Neotropical fish of the Brazilian coastal Atlantic Forest. **Journal of Biogeography**, 1-13.
- Thomaz, A. T., D. Arcila, G. Ortí & L. R. Malabarba. 2015b. Molecular phylogeny of the subfamily Stevardiinae Gill, 1858 (Characiformes: Characidae): classification and the evolution of reproductive traits. **BMC Evolutionary Biology**, 15: 1-25.
- Thomé, M. T., Zamudio, K. R., Giovanelli, J. G. R., Haddad, C. F. B., Baldissera, F. A. & Alexandrino, J. 2010. Phylogeography of endemic toads and post-Pliocene persistence of the Brazilian Atlantic Forest. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 55: 1018-1031
- Thomé, M. T., Zamudio, K. R., Haddad, C. F. B & Alexandrino, J. 2014. Barriers, rather than refugia, underlie the origin of diversity in toads endemic to the Brazilian Atlantic Forest. **Molecular Ecology**, 23(24): 6152-6164..
- Ting, N., A. J. Tosi, Y. Li, Y-P. Zhang & T. R. Disotell. 2008. Phylogenetic incongruence between nuclear and mitochondrial markers in the Asian colobines and the evolution of the langurs and leaf monkeys. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 46: 466-474.
- Toews, D. P. L & A. Brelsford. 2012. The biogeography of mitochondrial and nuclear discordance in animals. **Molecular Ecology**, 21: 3907-3930.
- Toffoli, D., T. Hrbek, M. L. G. de Araújo, M. P. de Almeida, P. Charvet-Almeida & I. P. Farias. A test of the utility of DNA barcoding in the radiation of the freshwater stingray genus *Potamotrygon* (Potamotrygonidae, Myliobatiformes). **Genetics and Molecular Biology**, 31: 324-336.
- Tonini, J. F. R., L. P. Costa & A. C. Carnaval. 2013. Phylogeographic structure is strong in the Atlantic Forest; predictive power of correlative paleodistribution models, not always. **Journal Zoological Systematics and Evolutionary Research**, 51: 114-121.
- Torres, R. & J. Ribeiro. 2009. The remarkable species complex *Mimagoniates microlepis* (Characiformes: Glandulocaudinae) from the Southern Atlantic Rain forest (Brazil) as revealed by molecular systematic and population genetic analyses. **Hydrobiologia**, 617: 157-170.
- Turchetto-Zolet, A. C., F. Pinheiro, F. Salgueiro & C. Palma-Silva. 2013. Phylogeographical patterns shed light on evolutionary process in South America. **Molecular Ecology**, 22: 1193-1213.
- Turner, T. F., M. V. Mcphee, P. Campbell & K. O. Winemiller. 2004. Phylogeography and intraspecific genetic variation of prochilodontid fishes endemic to rivers of northern South America. **Journal of Fish Biology**, 64: 186-201.

- Valdez-Moreno M., N. V. Ivanova, M. Elías-Gutiérrez, S. Contreras-Balderas, P. D. N. Hebert. 2009. Probing diversity in freshwater fishes from Mexico and Guatemala with DNA barcodes. **Journal of Fish Biology**, 74: 377-402.
- Vanzolini P. E. & E. E. Williams. 1981. The vanishing refuge: a mechanism for ecogeographic speciation. **Papéis Avulsos de Zoologia**, 34: 251-255.
- Vari, R. P. 1988. The Curimatidae, a Lowland Neotropical fish family (Pisces: Characiformes): distribution, endemism, and phylogenetic biogeography. *In*: Vanzolini, P. E. & Heyer, W. R. (Eds.). **Proceedings of a workshop on Neotropical distribution patterns**. Rio de Janeiro, Academia Brasileira de Ciências, 343-377.
- Vázquez-Domínguez, E. 2007. Filogeografía y vertebrados. *In*: Eguiarte, L., Souza, V. & Aguirre, X. (Eds.). **La ecología molecular de plantas y animales**. México, INE. cap. 14, p. 441-466.
- Vergara, J., M. M. Azpelicueta & G. Garcia. 2008. Phylogeography of the Neotropical catfish *Pimelodus albicans* (Siluriformes: Pimelodidae) from río de la Plata basin, South America, and conservation remarks. **Neotropical Ichthyology**, 6(1): 75-85.
- Ward, R. D., T. S. Zemlak, B. H. Innes, P. R. Last & P. D. N. Hebert. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, 360: 1847-1857.
- Ward, R. D., R. Hanner & P. D. N. Hebert. 2009. The campaign to DNA barcode all fishes, FISH-BOL. **Journal of Fish Biology**, 74, 329-356.
- Wares, J. P. & C. W. Cunningham. 2001 Phylogeography and historical ecology of the North Atlantic intertidal. **Evolution**, 12: 2455-2469.
- Waters, J. M., Rowe, D. L., Apte, S., King, T. M., Wallis, G. P., Anderson, L., Norris, R. J., Craw, D. & Burrige, C. P. 2007. Geological dates and molecular rates: rapid divergence of rivers and their biotas. **Systematic Biology**, 56: 271-28.
- Weitzman, S. H. & M. J. Weitzman. 1982. Biogeography and evolutionary diversification in Neotropical freshwater fishes, with comments on the refuge theory. *In*: Prance, G. T. (Ed.). **Biological diversification in the Tropics**. New York, Columbia University Press, p. 403-422.
- Weitzman, S. H., N. A. Menezes & M. J. Weitzman. 1988. Phylogenetic biogeography of the Glandulocaudini (Teleostei: Characiformes, Characidae) with comments on the distributions of other freshwater fishes in eastern and southeastern Brazil. *In*: Vanzolini, P. E. & W. R. Heyer (Eds.). **Proceedings of a workshop on Neotropical distribution patterns**. Rio de Janeiro, Academia Brasileira de Ciências, p. 379-427.

- Wilkinson, M. J., L. G. Marshall & J. G. Lundberg. 2006. River behavior on megafans and potential influences on diversification and distribution of aquatic organisms. **Journal of South American Earth Sciences**, 21: 151-172.
- Xia, X. & P. Lemey. 2009. Assessing substitution saturation with DAMBE. *In*: Lemey, P., M. Salemi, Vandamme, A. M. **The Phylogenetic Handbook: A Practical Approach to DNA and Protein Phylogeny**. Cambridge, University Press, p.615-630.
- Xia, X., Z. Xie, M. Salemi, L. Chen & Y. Wang. 2003. An index of substitution saturation and its application. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 26: 1-7.
- Zink, R. M. & G. F. Barrowclough. 2008. Mitochondrial DNA under siege in avian phylogeography. **Molecular Ecology**, 17: 2107-2121.

CAPÍTULO 3

=====

Filogeografia, história demográfica e variação morfológica de *Glandulocauda melanopleura* (Ellis) (Characidae: Stevardiinae: Glandulocaudini), espécie endêmica de riachos que drenam a vertente atlântica da Serra do Mar, São Paulo

Resumo

O gênero *Glandulocauda* inclui as espécies *G. caerulea* e *G. melanopleura*, diagnosticadas, principalmente, por apresentar os raios principais 11 e 12 da nadadeira caudal ligeiramente curvado ventralmente, que representa o estágio inicial de formação de uma glândula produtora de feromônio. As espécies do gênero têm distribuição restrita e são típicas de riachos que drenam áreas de elevada altitude da região de planalto do escudo cristalino brasileiro, em importantes afluentes da bacia do rio Paraná. *Glandulocauda caerulea* é considerada endêmica do alto curso da bacia do rio Iguaçu, nos estados do Paraná e Santa Catarina, enquanto *G. melanopleura* era considerada endêmica das cabeceiras do rio Alto Tietê, no Estado de São Paulo. Recentemente, entretanto, exemplares desta espécie foram coletados no alto curso de bacias costeiras (e.g., rios Itanhaém, Guaratuba), que drenam a vertente atlântica da Serra do Mar. A análise deste material indicou variação morfológica diferente daquela encontrada nos espécimes da localidade tipo, inclusive com sobreposição de alguns caracteres entre estes indivíduos e *G. caerulea*. Entender a variação morfológica detectada nas diferentes populações de *G. melanopleura* e a sua distribuição alopátrica é o principal objetivo do presente trabalho, no qual foi realizado um estudo populacional amplo da espécie, incluindo análises moleculares e morfológicas. Para tanto, foram obtidas e analisadas sequências de dois genes mitocondriais, 16S rRNA e COI, de amostras de *G. melanopleura* de quase toda a distribuição da espécie, incluindo localidade tipo, além de amostras de *G. caerulea* e de outras espécies de Characidae (glandulocaudíneos e não glandulocaudíneos), utilizados como grupo externo. Para as análises morfológicas, foi analisado material de toda a distribuição conhecida de *G. melanopleura*. As análises filogenéticas de Inferência Bayesiana e Máxima Verossimilhança da matriz mitocondrial concatenada (1059 pb) corroboraram o monofiletismo de *G. melanopleura* e indicaram forte estruturação dentro da espécie, com separação entre as populações do rio Guaratuba daquelas do rio Alto Tietê e Itanhaém, cujos indivíduos foram considerados proximamente relacionados. As análises de identificação molecular de espécies (GMYC e DNA barcoding), baseadas no gene mitocondrial COI (522 pb), indicaram a existência de duas linhagens distintas, uma incluindo indivíduos do (Alto Tietê, Itanhaém) e outra representada pela população de Guaratuba. No entanto, as análises morfológicas realizadas não corroboraram estes resultados, com sobreposição de valores que não justificaria a separação das linhagens em espécies distintas. Por outro lado, estas análises indicaram aumento considerável da amplitude de variação de alguns caracteres merísticos de *G. melanopleura*, que é apresentado e discutido. Os dados de distribuição da espécie, aliados ao tempo de divergência

estimado através da análise relógio molecular entre as diferentes populações analisadas e às informações geomorfológicas disponíveis, indicam que o atual padrão de distribuição da espécie é reflexo de eventos de capturas fluviais relativamente recentes. A ocorrência destes fenômenos entre a bacia do rio Tietê e as bacias costeiras de Guaratuba e Itanhaém é também discutida com base em informações disponíveis na literatura e nos dados obtidos no presente estudo.

1. Introdução

O gênero *Glandulocauda* Eigenmann foi criado por Eigenmann (1911) para incluir *G. inequalis* Eigenmann, *G. melanogenys* Eigenmann e *G. melanopleura* Eigenmann, definidas por uma combinação de caracteres morfológicos: dentes do pré-maxilar distribuídos em duas séries distintas, com quatro, raramente cinco, na série interna; nadadeira caudal sem escamas, mas com algumas cobrindo a base dos raios do lobo superior; origem da nadadeira dorsal mais próxima da transversal que passa pela base da nadadeira caudal (extremidade posterior da placa hipural) do que do focinho; segundo “preorbital” (i.e., infraorbital) cobrindo quase toda a região infraorbital (Eigenmann, 1911: 168-170). Anos mais tarde, *G. inequalis* foi alocada no gênero *Mimagoniates* Regan (Géry, 1964; Weitzman & Fink, 1985) e, mais recentemente, Menezes & Weitzman (2009) concluíram que *G. melanogenys* é sinônimo júnior de *Hyphessobrycon melanopleurus* Ellis (1911: 157-158) e propuseram a substituição do nome *melanogenys* Eigenmann por *melanopleura* Ellis. No entanto, esta mudança taxonômica fez da espécie *G. melanopleura* proposta por Eigenmann (1911) homônimo júnior secundário de *G. melanopleura* de Ellis (1911), já que ambas as espécies foram mantidas no mesmo gênero, *Glandulocauda* (Menezes & Weitzman, 2009). Assim, para resolver este impasse, os autores propuseram um novo nome em substituição, *G. caerulea* Menezes & Weitzman para *G. melanopleura* Eigenmann. Assim, atualmente, estão incluídas em *Glandulocauda* duas espécies, *G. caerulea* Menezes & Weitzman e *G. melanopleura* (Ellis) (Menezes & Weitzman, 2009). Ainda segundo estes autores, o gênero é diagnosticado principalmente por apresentar os raios principais 11 e 12 da nadadeira caudal ligeiramente curvado ventralmente, o que foi proposto por eles como sendo o estágio inicial de formação de uma glândula em táxons mais derivados relacionados.

Glandulocauda melanopleura foi descrita com base em material coletado nas cabeceiras do rio Tietê (bacia do Paraná), em São Paulo, e foi, durante muito tempo, considerada endêmica desta bacia, ocorrendo na localidade tipo e em áreas adjacentes (e.g., Weitzman,

2003). Anos mais tarde, entretanto, material adicional da espécie foi coletado nas cabeceiras dos rios costeiros de Guaratuba, Itatinga e Ribeira do Iguape (Ribeiro *et al.*, 2006; Menezes *et al.*, 2007, 2008; Serra *et al.*, 2007; Menezes & Weitzman, 2009). Em relação à ocorrência de *G. melanopleura* nestas bacias, Menezes & Weitzman (2009) salientam que: (1) os três exemplares coletados em um afluente do rio Ribeira representam o primeiro registro da espécie fora do trecho superior da drenagem do Tietê; (2) os espécimes da bacia do rio Guaratuba apresentam alguns caracteres merísticos com valores um pouco diferenciados daqueles encontrados nos exemplares da localidade tipo e adjacências, mas como há sobreposição e os caracteres morfométricos são muito similares, os autores optaram por considerar as amostras como coespecíficas até que novos exemplares do rio Guaratuba fossem coletados e analisados; e (3) os dois exemplares da bacia do rio Itatinga foram registrados por Serra *et al.* (2007), mas não analisados pelos autores no trabalho em questão. Recentemente, outras populações de *G. melanopleura*, com variações no número de raios da nadadeira anal e em outros caracteres merísticos, foram também encontradas em drenagens não pertencentes à bacia do rio Paraná, onde, até então, não se tinha registro da espécie.

Assim, ao analisarem material de *G. melanopleura* destas “novas localidades”, Menezes & Weitzman (2009) detectaram variação morfológica diferente da encontrada nos espécimes do Alto Tietê e pontuaram, inclusive, a sobreposição de alguns caracteres merísticos entre indivíduos destas populações e *G. caerulea*. Naquela ocasião, no entanto, como os autores não tinham muito material destas localidades em mãos e havia certa sobreposição de caracteres com *G. melanopleura sensu stricto* (holótipo e topótipos), eles optaram por deixar todas as populações sob o nome *G. melanopleura* até que material adicional fosse analisado. Menezes & Weitzman (2009) salientam, portanto, a necessidade de estudos mais detalhados, principalmente em nível populacional para melhor entender a espécie e também a sua história evolutiva, conforme já pontuado por Menezes *et al.* (2008). Assim, a variação morfológica detectada nas diferentes populações de *G. melanopleura*, aliada à distribuição alopátrica da espécie motivaram a realização do presente estudo, que teve como objetivo principal uma análise populacional ampla da espécie, incluindo análises moleculares e morfológicas. O padrão de distribuição de *G. melanopleura* e os possíveis eventos responsáveis pelo estabelecimento deste padrão também são apresentados e discutidos.

6. Conclusões

No presente estudo, foram utilizadas fontes de dados e abordagens metodológicas variadas para a melhor compreensão da variação populacional e história evolutiva de *Glandulocauda melanopleura*, uma espécie de peixe de água doce endêmica de riachos que drenam áreas de elevada altitude no escudo cristalino brasileiro, na vertente leste da Serra do Mar, em São Paulo. As análises filogenéticas (IB e MV) baseadas no mtDNA corroboraram o monofiletismo de *G. melanopleura*. Já as análises de identificação molecular de espécies (GMYC e DNA barcoding), baseadas no gene mitocondrial COI, indicaram a existência de duas linhagens distintas, uma incluindo indivíduos do (Alto Tietê, Itanhaém) e outra representada pela população de Guaratuba. No entanto, as análises morfológicas realizadas, que incluíram espécimes destas linhagens e das demais populações conhecidas de *G. melanopleura*, não corroboraram estes resultados, com sobreposição de valores que não justificaria a separação das linhagens em espécies distintas. Assim, todas as populações analisadas foram mantidas sob o nome *G. melanopleura*, que passou a ser uma espécie com maior amplitude de variação de alguns caracteres merísticos (e.g., número e escamas perfuradas na linha lateral, na série longitudinal, ao redor do pedúnculo caudal, número de raios ramificados da nadadeira anal) e também com distribuição geográfica mais ampla do que proposto anteriormente, incluindo a bacia do Alto Tietê, e parte das cabeceiras das drenagens costeiras de Itanhaém, Itapanhaú, Guaratuba e Ribeira de Iguape, em São Paulo. Em função das divergências genéticas encontradas nas populações analisadas, sugere-se, no entanto, que a conservação da espécie seja pensada em nível regional, visando a manutenção de toda a variabilidade genética encontrada. As redes de haplótipo indicaram estruturação ainda maior dentro da espécie, já que nenhuma das populações analisadas compartilha haplótipo entre si, o que pode estar associado ao completo isolamento destas. As informações de demografia histórica indicam que, muito provavelmente, a bacia do Alto Tietê é o local de origem de *G. melanopleura*, conforme já sugerido na literatura por outros autores. Os dados de distribuição de *G. melanopleura* aliados ao tempo de divergência estimado com relação às diferentes populações analisadas e às informações geomorfológicas disponíveis, indicam que o atual padrão de distribuição da espécie é reflexo de eventos de capturas fluviais relativamente recentes, associados principalmente ao começo do Quaternário e às reativações tectônicas do Rift Continental do Sudeste do Brasil.

7. Referências Bibliográficas

- Ab'Saber, A. N. 1957. O problema das conexões antigas e da separação da drenagem do Paraíba e Tietê. **Boletim Paulista de Geografia**, 26: 38-49.
- Ab'saber, A. N. 2007. **Geomorfologia do sítio urbano de São Paulo**. São Paulo, Ateliê Editorial, 349p.
- April, J., R. L. Mayden, R. H. Hanner, L. Bernatchez. 2011. Genetic calibration of species diversity among North America's freshwater fishes. **PNAS**, 108(26): 10602-10607.
- Avice, J. C. 2000. **Phylogeography: the history and formation of species**. Cambridge, Harvard University Press, 464p.
- Avice, J. C., Arnold, J., Ball, R. M., Jr, Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J. E., Reeb, C. A. & Saunders, N. C. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 18: 489-522.
- Bandelt, H. J., P. Forster & A. Röhl. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. **Molecular Biology and Evolution**, 16(1): 37-48.
- Barracough, T. G., M. Hughes, N. Ashford-Hodges & T. Fujisawa. 2009. Inferring evolutionarily significant units of bacterial diversity from broad environmental surveys of single-locus data. **Biology Letters**, 5: 425-428.
- Bickford, D., D. J. Lohman, N. S. Sodhi, P. K. L. Ng, R. Meier, K. Winkler, K. K., Ingram & I. Das. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. **Trends in Ecology & Evolution**, 22, 148-155.
- Buckup, P. A. 2011. The Eastern Brazilian Shield. *In*: Albert, J. S. & R. E. Reis (Eds.). **Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes**. Berkeley, University of California Press, cap. 12, p. 203-210
- Correa, M. S. 2006. **Parque das Neblinas: Mesmos Caminhos, Novos Rumos**. São Paulo, Ecofuturo, 148p.
- Costa, W. J. E. M. 2001. The neotropical annual fish genus *Cynolebias* (Cyprinodontiformes: Rivulidae): phylogenetic relationships, taxonomic revision and biogeography. **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, 12(4): 333-383.
- Costa-Silva, G. J., M. S. Rodriguez, F. F. Roxo, F. Foresti & C. Oliveira. 2015. Using Different Methods to Access the Difficult Task of Delimiting Species in a Complex Neotropical Hyperdiverse Group. **PLoS ONE**, 10(9): e0135075. doi:10.1371/journal.pone.0135075.

- Eigenmann, C. H. 1911. III. New characins in the collections of the Carnegie Museum. **Annals of the Carnegie Museum**, 8(1): 164-181.
- Ellis, M. D. 1911. On the species of *Hasemanina*, *Hyphessobrycon*, and *Hemigrammus* collected by J. D. Haseman for the Carnegie Museum. **Annals of the Carnegie Museum**, 8(1): 148-163.
- Excoffier, L., P. E. Smouse & J. M. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, 131: 479-491.
- Ferreira, C. P. 2007. **Ictiofauna de riachos na planície costeira da bacia do rio Itanhaém, litoral sul de São Paulo**. 142 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas: Zoologia) – Instituto de Biocências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.
- Fink, W. L. & S. H. Weitzman. 1974. The so-called cheirodontin fishes of Central America with description of two new species (Pisces, Characidae). **Smithsonian Contributions to Zoology**, 172: 1-46.
- Fontaneto, D., E. Herniou, C. Boschetti, M. Caprioli, G. Melone, C. Ricci & T. G. Barraclough. 2007. Independently evolving species in asexual bdelloid rotifers. **PLoS Biology**, 5:e87. PMID: 17373857.
- Forest, F. 2009. Calibrating the Tree of Life: fossils, molecules and evolutionary timescales. **Annals of Botany**, 104: 789-794.
- Frankham, R., J. D. Ballou & D. A. Briscoe. 2002. **Introduction to Conservation Genetics**. Cambridge, Cambridge University Press, 607p.
- Fricke, R. & Eschmeyer, W. N. 2016. **Guide to fish collections**. Disponível em <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/collections.asp>. Acesso em 02 abr. 2016.
- Fu, Y. X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. **Genetics**, 147: 915-925.
- Fujisawa, T. & T. G. Barraclough. 2013. Delimiting Species Using Single-Locus Data and the Generalized Mixed Yule Coalescent Approach: A Revised Method and Evaluation on Simulated Data Sets. **Systematic Biology**, 62(5): 707-724.
- Géry, J. 1964. *Glandulocauda terofali* sp. nov., un nouveau Poisson characoïde de la République Argentine, avec une note sur la “glande” caudale des Stevardiidi. **Opuscula Zoologica**, 78: 1-12.

- Grant, W. S. & B. W. Bowen. 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. **Journal of Heredity**, 89: 415-426.
- Hebert, P. D. N., A. Cywinska, S. L. Ball, J. R. Waard. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society**, 270: 313-322.
- Hirschmann, A., L. R. Malabarba, A. T. Thomaz & N. J. R. Fagundes. 2015. Riverine habitat specificity constrains dispersion in a Neotropical fish (Characidae) along Southern Brazilian drainages. **Zoologica Scripta**, 44(4): 374-382.
- Jacinto, L. R. de C. 2003. **Geoprocessamento e sensoriamento remoto como ferramentas na gestão ambiental de Unidades de Conservação: o caso da Área de Proteção Ambiental (APA) do Capivari-Monos, São Paulo – SP**. 121f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Kekkonen, M. & P. D. N. Hebert. 2014. DNA barcode-based delineation of putative species: efficient start for taxonomic workflows. **Molecular ecology resources**, 14: 706-15.
- Librado, P. & J. Rozas. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. **Bioinformatics**, 25: 145-1452.
- Lima, F. C. T. & A. C. Ribeiro. 2011. Continental-Scale Tectonic Controls of Biogeography and Ecology. *In*: Albert, J. S. & R. E. Reis (Eds.). **Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes**. Berkeley, University of California Press, cap. 9, p. 145-184.
- Mabragaña, E., J. M. Díaz de Astarloa, R. Hanner, J. Zhang & M. González Castro. 2011. DNA Barcoding Identifies Argentine Fishes from Marine and Brackish Waters. **PLoS ONE**, 6(12): e28655. doi:10.1371/journal.pone.0028655.
- Malabarba, M. C. 1998. Phylogeny of fossil Characiformes and paleobiogeography of the Tremembé Formation, São Paulo, Brazil. *In*: Malabarba, L. R., R. E. Reis, R. P. Vari, Z. S. Lucena & C. S. Lucena (Eds.). **Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes**. Porto Alegre, Edipucrs, p. 69-84.
- Marinho, M. M. F., F. C. P. Dagosta & J. L. O Birindelli. 2014. *Hemigrammus ataktos*: a new species from the rio Tocantins basin, central Brazil (Characiformes: Characidae). **Neotropical Ichthyology**, 12(2): 257-26.
- Martins, F. M. & Domingues, M. V. 2011. Filogeografia. *In*: Carvalho, C. J. B. & E. A. B. Almeida. **Biogeografia da América do Sul: padrões e processos**. São Paulo, Roca, cap. 8, p. 137-150.

- Menezes, N. A. 2007. Família Characidae: Glandulocaudinae. *In*: Buckup, P. A., N. A. Menezes & M. S. Ghazzi (Eds.) **Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil**. Rio De Janeiro, Museu Nacional, p. 38-39.
- Menezes, N. A. & F. C. T. Lima. 2008. *Glandulocauda melanogenys* Eigenmann, 1911. *In*: Machado, A. B. M., G. M. Drumond & A. P. Paglia (Eds.). **Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção**. Brasília, MMA; Belo Horizonte, Fundação Biodiversitas, p. 62-63.
- Menezes, N. A. & S. H. Weitzman. 1990. Two new species of *Mimagoniates* (Teleostei: Characidae: Glandulocaudinae), their phylogeny and biogeography and a key to the glandulocaudin fishes of Brazil and Paraguay. **Proceedings of the Biological Society of Washington**, 103(2): 380-426.
- Menezes, N. A. & S. H. Weitzman. 2009. Systematics of the Neotropical fish subfamily Glandulocaudinae (Teleostei: Characiformes: Characidae). **Neotropical Ichthyology**, 7(3): 295-370.
- Menezes, N. A., S. H. Weitzman, O. T. Oyakawa, F. C. T. de Lima, R. M. C. Castro & M. J. Weitzman. 2007. **Peixes de água doce da Mata Atlântica: lista preliminar de espécies e comentários sobre conservação de peixes de água doce neotropicais**. São Paulo, Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, 408p.
- Menezes, N. A., A. C. Ribeiro, S. H. Weitzman & R. A. Torres. 2008. Biogeography of the Glandulocaudinae (Teleostei: Characiformes: Characidae) revisited: phylogenetic patterns, historical geology and genetic connectivity. **Zootaxa**, 1726: 33-48.
- Moore, W. S. 1995. Inferring Phylogenies from mtDNA Variation: Mitochondrial-Gene Trees Versus Nuclear-Gene Trees. **Evolution**, 49(4): 718-726.
- Nogueira, S. M. B. 2001. **Análise da suscetibilidade ambiental e diretrizes para o zoneamento do Núcleo Curucutu do Parque Estadual da Serra do Mar (SP)**. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Geociências e Ciências Exatas de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.
- Nylander, J. A. A. 2004. **MrModeltest v2**. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University.
- Oliveira, D. de. 2003. **A captura do Alto Rio Guaratuba: uma proposta metodológica para o estudo da evolução do relevo na Serra do Mar, Boracéia-SP**. 105f. Tese (Doutorado) – Departamento de Geografia-FFLCH-USP, São Paulo.
- Oliveira, D. de. 2010. Capturas fluviais como evidências da evolução do relevo: uma revisão bibliográfica. **Revista do Departamento de Geografia**, 20: 37-50.

- Oliveira, D. de & J. P. Q. Neto. 2007. Estudo da evolução do relevo na Serra do Mar no Estado de São Paulo a partir de um caso de captura fluvial. **Geosp**, 22: 73-88.
- Oliveira, C., G. S. Avelino, K. T. Abe, T. C. Mariguela, R. C. Benine, G. Ortí, R. P. Vari & R. M. Corrêa e Castro. 2011. Phylogenetic relationships within the speciose family Characidae (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes) based on multilocus analysis and extensive ingroup sampling. **BMC Evolutionary Biology**, 2011: 1-25.
- Pereira, L. H. G., R. Hanner, F. Foresti & C. Oliveira. 2013. Can DNA barcoding accurately discriminate megadiverse Neotropical freshwater fish fauna? **BMC Genetic**, 14: 20.
- Pons, J., T. G. Barraclough, J. Gomez-Zurita, A. Cardoso, D. P. Duran, S. Hazell, S. Kamoun, W. D. Sumlin & A. P. Vogler. 2006. Sequence-Based Species Delimitation for the DNA Taxonomy of Undescribed Insects. **Systematic Biology**, 55(4): 595-609.
- R Development Core Team. 2009. **Writing R Extensions**. Manual included with R version 2.10.0.
- Rambaut, A. 2009. **FigTree, version 1.3.1**. Disponível em: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>. Acesso em 10 dez. 2015.
- Rambaut, A. & A. J. Drummond. 2009. **Tracer, version 1.5**. Disponível em: http://beast.bio.ed.ac.uk/Main_Page. Acesso em 16 dez. 2015.
- Ramos-Onsins, S. E. & J. Rosas. 2002. Statistical Properties of New Neutrality Tests Against Population Growth. **Molecular Biology and Evolution**, 19: 2092-2100.
- Reid, N. M. & B. C. Carstens. 2012. Phylogenetic estimation error can decrease the accuracy of species delimitation: a Bayesian implementation of the general mixed Yule-coalescent model. **BMC Evolutionary Biology**, 196: 1-11.
- Ribeiro, A. C. 2006. Tectonic history and the biogeography of the freshwater fishes from the coastal drainages of eastern Brazil: an example of faunal evolution associated with a divergent continental margin. **Neotropical Ichthyology**, 4(2): 225-246.
- Ribeiro, A. C., F. C. T. Lima, C. Ricomini & N. A. Menezes. 2006. Fishes of the Atlantic Rainforest of Boracéia: testimony of the Quaternary fault reactivation within a Neoproterozoic tectonic province in Southeastern Brazil. **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, 17(2): 625-630.
- Ricomini, C., L. G. Sant'Anna & A. L. Ferrari. 2004. Evolução geológica do Rift Continental do Sudeste do Brasil. *In*: V. Mantesso-Neto, A. Bartorelli, C. D. R. Carneiro & B. B. Brito-Neves (Eds.). **Geologia do continente Sul-Americano: evolução da obra de Fernando Flávio Marques de Almeida**. São Paulo, Editora Beca, p. 383-405.

- Rosa, R. S. & F. C. T. Lima. 2008. Os peixes brasileiros ameaçados de extinção. *In*: Machado, A. B. M., G. M. Drummond & A. P. Paglia (Eds.). **Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção**, Brasília, Ministério do Meio Ambiente, p. 9-275.
- Roxo, F. F., L. E. Ochoa, G. J. Costa-Silva & C. Oliveira. 2015. Species delimitation in *Neoplecostomus* (Siluriformes: Loricariidae) using morphologic and genetic approaches. **DNA Barcodes**, 3: 110-117.
- Saadi, A. 1998. A geomorfologia da Serra do Espinhaço em Minas Gerais e de suas margens. **Geonomos**, 3(1): 41-63.
- Serra, J. P., F. R. Carvalho & F. Langeani. 2007. Ichthyofauna of the rio Itatinga in the Parque das Neblinas, Bertioga, São Paulo State: composition and biogeography. **Biota Neotropica**, 7(1): 81-86.
- Silva, R. M. L. da. 2005. **Estudo comparativo da distribuição de ninfas de Ephemeroptera (Insecta) em diferentes mesohabitats e análise do conteúdo estomacal em Leptophlebiidae**. 60f. Dissertação (Mestrado em Ciências: Biologia Comparada) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
- Small, R. J. 1977. **The Study of Landforms: a Textbook of Geomorphology**. Cambridge, Cambridge University Press, 486p.
- Souza, C. R. de G. 2015. The Bertioga Coastal Plain: An Example of Morphometric Evolution. *In*: Vieira, B. C., A. A. R. Salgado & L. J. C. Santos (Eds.). **Landscapes and Landforms of Brazil**. New York, Springer Verlag, cap. 11, p. 115-134.
- Spellman, G. M. & J. Klicka. 2006. Testing hypotheses of Pleistocene population history using coalescent simulations: phylogeography of the pygmy nuthatch (*Sitta pygmaea*). **Proceedings of the Royal Society of London B**, 273: 3057-3063.
- Tajima, F. 1983. Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. **Genetics**, 123: 437-460.
- Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. **Genetics**, 123: 585-595.
- Talavera, G., V. Dincă & R. Vila. 2013. Factors affecting species delimitations with the GMYC model: insights from a butterfly survey. **Methods in Ecology and Evolution**, 4: 1101-1110.
- Tamura, K., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei & S. Kumar. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. **Molecular Biology and Evolution**, 28(10): 2731-2739.

- Thomaz, A. T., D. Arcila, G. Ortí & L. R. Malabarba. 2015a. Molecular phylogeny of the subfamily Stevardiinae Gill, 1858 (Characiformes: Characidae): classification and the evolution of reproductive traits. **BMC Evolutionary Biology**, 15: 1-25.
- Thomaz, A. T., L. R. Malabarba, S. L. Bonatto & L. L. Knowles. 2015b. Testing the effect of palaeodrainages versus habitat stability on genetic divergence in riverine systems: study of a Neotropical fish of the Brazilian coastal Atlantic Forest. **Journal of Biogeography**, 1-13.
- Valdez-Moreno M., N. V. Ivanova, M. Elías-Gutiérrez, S. Contreras-Balderas, P. D. N. Hebert. 2009. Probing diversity in freshwater fishes from Mexico and Guatemala with DNA barcodes. **Journal of Fish Biology**, 74: 377-402.
- Vari, R. P. 1988. The Curimatidae, a Lowland Neotropical fish family (Pisces: Characiformes): distribution, endemism, and phylogenetic biogeography. *In*: Vanzolini, P. E. & Heyer, W. R. (Eds.). **Proceedings of a workshop on Neotropical distribution patterns**. Rio de Janeiro, Academia Brasileira de Ciências, 343-377.
- Xia, X. & P. Lemey. 2009. Assessing substitution saturation with DAMBE. *In*: Lemey, P., M. Salemi, Vandamme, A. M. **The Phylogenetic Handbook: A Practical Approach to DNA and Protein Phylogeny**. Cambridge, University Press, p.615-630.
- Xia, X., Z. Xie, M. Salemi, L. Chen & Y. Wang. 2003. An index of substitution saturation and its application. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 26: 1-7.
- Ward, R. D., T. S. Zemplak, B. H. Innes, P. R. Last & P. D. N. Hebert. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, 360: 1847-1857.
- Ward, R. D., R. Hanner & P. D. N. Hebert. 2009. The campaign to DNA barcode all fishes, FISH-BOL. **Journal of Fish Biology**, 74, 329–356.
- Weitzman, S. H. 2003. Subfamily Glandulocaudinae (Characins, tetras). *In*: Reis, R. E., S. O. Kullander & C. J. Ferraris Jr. (Eds.). **Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America**. Porto Alegre, Edipucrs, p. 222-230.
- Weitzman, S. H. & S. V. Fink. 1985. Xenurobryconin phylogeny and putative pheromone pumps in glandulocaudine fishes (Teleostei: Characidae). **Smithsonian Contributions to Zoology**, 421: 1-121.
- Weitzman, S. H., N. A. Menezes & M. J. Weitzman. 1988. Phylogenetic biogeography of the Glandulocaudini (Teleostei: Characiformes, Characidae) with comments on the distributions of other freshwater fishes in eastern and southeastern Brazil. *In*: Vanzolini, P. E. & W. R. Heyer (Eds.). **Proceedings of a workshop on Neotropical distribution patterns**. Rio de Janeiro, Academia Brasileira de Ciências, p. 379-427.