

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA EVOLUTIVA E BIOLOGIA
MOLECULAR

JORGE LUIS RAMIREZ MALAVER

FILOGENIA MOLECULAR DOS ANOSTOMIDAE E FILOGEOGRAFIA
DAS ESPÉCIES COM CROMOSSOMOS SEXUAIS ZZ/ZW DO
GÊNERO *LEPORINUS*

São Carlos

2015

**FILOGENIA MOLECULAR DOS ANOSTOMIDAE E FILOGEOGRAFIA
DAS ESPÉCIES COM CROMOSSOMOS SEXUAIS ZZ/ZW DO
GÊNERO *LEPORINUS***

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA EVOLUTIVA E BIOLOGIA
MOLECULAR

JORGE LUIS RAMIREZ MALAVER

FILOGENIA MOLECULAR DOS ANOSTOMIDAE E FILOGEOGRAFIA
DAS ESPÉCIES COM CROMOSSOMOS SEXUAIS ZZ/ZW DO
GÊNERO *LEPORINUS*

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular e Genética Evolutiva da Universidade Federal de São Carlos como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciências, Área de Concentração: Genética e Evolução

Orientador: Prof. Dr. Pedro M. Galetti Jr.

São Carlos

2015

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

M239fm Malaver, Jorge Luis Ramirez.
Filogenia molecular dos anostomidae e filogeografia das
espécies com cromossomos sexuais zz/zw do gênero
Leporinus / Jorge Luis Ramirez Malaver. -- São Carlos :
UFSCar, 2015.
134 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos,
2015.

1. Filogenia. 2. Anostomidae. 3. Leporinus. 4. DNA
barcode. 5. Filogeografia. I. Título.

CDD: 575.0012 (20^a)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Genética Evolutiva e Biologia
Molecular

Folha de Aprovação

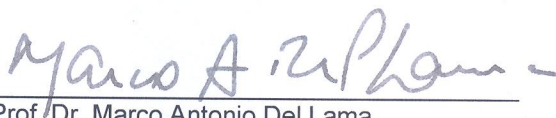
Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Tese de Doutorado do candidato Jorge Luis Ramirez Malaver, realizada em 30/04/2015:



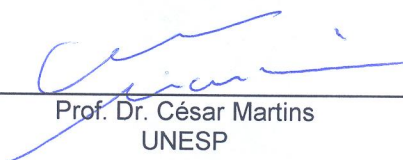
Prof. Dr. Pedro Manoel Galetti Junior
UFSCar



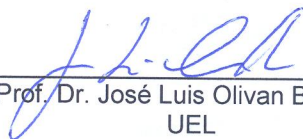
Prof. Dr. Luiz Antonio Carlos Bertollo
UFSCar



Prof. Dr. Marco Antonio Del Lama
UFSCar



Prof. Dr. César Martins
UNESP



Prof. Dr. José Luis Olivan Birindelli
UEL

A mis padres
mi más grande ejemplo a seguir,
por todos los sacrificios, por todas las enseñanzas.

“To succeed, planning alone is insufficient. One must improvise as well”

Salvor Hardin

Foundation – Issac Asimov

Agradecimentos

Ao Professor Dr. Pedro M. Galetti Jr. pela orientação, o apoio, e a oportunidade de desenvolver esse trabalho, sei o quanto significa o grupo dos Anostomidae para você, pela confiança, obrigado.

À Professora Dra. Patricia Domingues de Freitas pela ajuda brindada e por todas as suas sugestões.

À Universidade Federal de São Carlos e ao Departamento de Genética e Evolução por abrigar meu sonho de fazer um doutorado e por todos os serviços prestados.

À CAPES pelo apoio mediante a bolsa de doutorado no primeiro ano de curso. Ao CNPq pelo financiamento do projeto mediante o edital Universal. E a FAPESP pela bolsa nos anos subsequentes. Sem esses apoios esse trabalho não poderia ter sido realizado.

Aos meus colegas e amigos do Laboratório de Biodiversidade Molecular e Conservação: Aline, Alline, Andiará, André, Andreia, Antônio, Bruno, Camila, Carla, Carmen, Carolina, Danielly, Fernando, Gisele, Josiane, Juan, Karen, Karla, Leo, Lucas, Luísa, Mariana, Marcos, Paola, Paulo, Priscila, Raphael, Regina, Rosane e Ueslei, obrigado pessoal por todos os bons momentos, só espero não ter esquecido ninguém... somos tantos!

A A. Braga, A. Carmassi, A. Takako, A. Galindo, C. Cramer, C. Doria, C. Lucena, D. Carvalho, H. Batista, H. Ortega, J. Pansonato, J. Rodriguez, L. Caldano, L. F. Carvalho, M. Carrilo, N. Llerena, P. Gallo, P. Affonso, P. Venere, R. Oliveira, U. Lopez e W. Troy, ao MZUSP e à coleção da UFRO pela ajuda na obtenção das amostras.

A Carlos, Nereida e Paola pela ajuda para aprender Python e nas diversas etapas da programação do código para análises *barcode*.

A Nereida, por la compañía en las traspasadas, por hacer geles, por ir a pescar, por esas tablas, por las pequeñas cosas del día a día de nuestro pequeño mundo. Gracias.

A mis padres y hermanas por su apoyo incondicional en esta etapa de mi vida, sé que fue difícil tanto para ustedes como para mí. Gracias por todo.

RESUMO

A família Anostomidae possui aproximadamente 150 espécies, distribuídas em 14 gêneros. Diversas tentativas de delimitar as subfamílias não têm tido muito sucesso. Na família o gênero *Leporinus* é o mais especioso (aprox. 90 espécies válidas). Um sistema de cromossomos sexuais ZZ/ZW foi descrito para sete espécies de *Leporinus*, que formariam um grupo monofilético. Outro sistema de cromossomos sexuais ZW foi descrito unicamente para *Leporinus geminis*. As espécies de *Leporinus* com cromossomos ZW apresentam uma interessante distribuição, estando distribuídas praticamente em todas as grandes bacias hidrográficas sul-americanas. O intuito do estudo é reconstruir as relações filogenéticas da família Anostomidae e das distintas espécies do gênero *Leporinus*. Avaliar a monofilia do grupo de espécies com cromossomos sexuais ZZ/ZW, assim como a origem de novo dos cromossomos sexuais descritos para *Leporinus geminis*. Será avaliada também a funcionalidade dos códigos de barras de DNA para as espécies da família Anostomidae. Outro objetivo será avaliar o padrão de distribuição filogeográfica das espécies do gênero *Leporinus* que possuem sistemas de cromossomos sexuais ZZ/ZW. Para o *barcode* foi analisado o Citocromo oxidase I de 430 indivíduos (122 linhagens). Foram realizadas análises de distância, usando o modelo K2p. Para a filogenia molecular foram amplificados dois genes mitocondriais (Citocromo B e Citocromo oxidase I) e três nucleares (o gene de ativação da recombinação 1 e 2 e a cadeia pesada 6 da miosina, isoforma alfa do músculo cardíaco) para 104 linhagens (69 espécies nominais). Foram construídas árvores filogenéticas usando os métodos de máxima parcimônia, máxima verossimilhança e *bayesian species tree*. Para a análise filogeográfica, construiu-se uma árvore calibrada, incluídos as 15 linhagens recuperadas para o grupo ZW. O evento de calibração foi o surgimento da Cordilheira Oriental há 12 Milhões de anos. O DNA barcode é uma ferramenta eficiente para a identificação das linhagens da família Anostomidae. A média da distância intraespecífica foi de 0,106%. O menor valor de distância interespecífica foi de 0,479%. As distâncias genéticas encontradas mostram que o limiar para separar linhagens é mais baixo que os sugeridos para peixes (1% ou 2%). A família Anostomidae é monofilética, sendo encontrados vinte e dois clados dentro dela. As subfamílias Anostominae sensu Winterbottom (1980) e Leporellinae foram recuperadas como

válidas, enquanto que um mais abrangente Leporininae precisa ser redescrito. O gênero *Leporinus* foi recuperado como parafilético, sendo necessárias várias mudanças taxonômicas. As espécies de *Leporinus* com cromossomos sexuais ZZ/ZW foram recuperadas dentro de um grupo monofilético. Os cromossomos sexuais de *Leporinus geminis* foram confirmados como uma convergência evolutiva. A história evolutiva das espécies de *Leporinus* com cromossomos sexuais ZZ/ZW mostrou-se complexa. Sendo que a especiação na linhagem do proto-Amazonas-Orinoco foi dada por processos paleogeográficos, enquanto que o processo de diversificação na linhagem do leste do Escudo Brasileiro foi predominantemente hidrogeológico e por dispersão por meio de paleo-bacias no período de baixo nível do mar.

Palavras-Chave: Filogenia molecular; Anostomidae; *Leporinus*, DNA Barcode, Filogeografia.

ABSTRACT

The family Anostomidae has approximately 150 species, belonging to 14 genera. Several attempts to define the subfamilies were unsuccessful. Within the family, the *Leporinus* genus is the most specious (approx. 90 valid species). A ZZ/ZW sex chromosomes system has been described for seven species of *Leporinus*, which would constitute a monophyletic group. Another ZW sex chromosomes system has been described only for *Leporinus geminis*. The ZW *Leporinus* species presents an interesting distribution, being distributed in almost every major South American basins. The aim of this study was to reconstruct the phylogenetic relationships of family Anostomidae and several species of *Leporinus* genus. Also, evaluate the monophyly of species with ZZ/ZW sex chromosomes, as well as *de novo* origin of the sex chromosomes described for *Leporinus geminis*. Additionally, It will be evaluated the functionality of the DNA barcodes for the family Anostomidae. Another aim was to evaluate the phylogeographic distribution pattern of ZZ/ZW *Leporinus* species. For the barcode was analyzed the Cytochrome Oxidase subunit I of 430 individuals (122 lineages). Distance analyzes were performed using the K2P model. For the molecular phylogeny were amplified two mitochondrial genes (Cytochrome B and Cytochrome Oxidase I) and three nuclear markers (recombination activating gene 1 and 2, and Myosin, heavy chain 6, cardiac muscle, alpha gene) from 104 lineages (69 nominal species). Phylogenetic trees were constructed using methods of maximum parsimony, maximum likelihood and Bayesian species tree. For the phylogeographic analysis, was constructed a calibrated tree, including the 15 recovered lineages for the ZW group. The dataset was calibrated using the rise of the Eastern Cordillera, about 12 million years ago. The DNA barcode is a powerful tool for the lineage identification of the family Anostomidae. The average intraspecific distance was 0.106%. The lowest interspecific distance was 0.479%. The genetic distances founded show that the threshold to separate lineages is lower than traditionally suggested for fishes (1% and 2%). The family Anostomidae is monophyletic, being found twenty-two clades within it. The subfamilies Anostominae *sensu* Winterbottom (1980) and Leporellinae were recovered as valid, while a more inclusive Leporininae has to be redescribed. The *Leporinus* genus was recovered as paraphyletic, requiring several taxonomic changes. The ZZ/ZW *Leporinus* species were recovered as a

monophyletic group. Sex chromosomes of *Leporinus geminis* were confirmed as an evolutionary convergence. The evolutionary history of ZZ/ZW *Leporinus* species proved to be complex. The lineage speciation of the proto-Amazon-Orinoco was given by paleogeographic processes, while the lineage diversification in the Eastern Brazilian Shield was predominantly hydrogeological and by dispersion through paleo-basins in low sea level period.

Keywords: Molecular phylogeny; Anostomidae; *Leporinus*, DNA Barcode, Phylogeography.

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1- Distribuição conhecida (atualizado a partir de Garavello e Britski (2003)) e amostragem utilizada no trabalho para as 122 linhagens analisadas. Para as espécies nominais, é fornecida também a localidade tipo..... | 13 |
| Tabela 2 - Valores de distância mínima, média, máxima e o desvio padrão, considerando vários níveis de agrupamento | 22 |
| Tabela 3 - Distância máxima intraespecífica, média intraespecífica, mínima interespecífica e a linhagem mais próxima de cada linhagem avaliada.. | 24 |
| Tabela 4 - Distância máxima intraespecífica, média intraespecífica, mínima interespecífica e a linhagem mais próxima. Análise realizada considerando as espécies validas (sem dividir em linhagens) com maiores valores de máxima intraespecífica.... | 31 |
| Tabela 5 - Caracteres diagnósticos para as linhagens de <i>Leporinus affinis</i> | 32 |
| Tabela 6 - Caracteres diagnósticos para as linhagens de <i>Leporinus</i> cf. <i>friderici</i> e <i>L. agassizi</i> | 32 |
| Tabela 7 - Teste de KH e SH para a monofilia do gênero <i>Leporinus</i> | 34 |
| Tabela 8 - Teste de KH e SH para a monofilia dos <i>Leporinus</i> cromossomos sexuais ZZ/ZW. | 34 |
| Tabela 9 - Teste de KH e SH para a monofilia dos <i>Leporinus</i> cromossomos sexuais ZZ/ZW junto ao Clado <i>Geminis</i> | 34 |
| Tabela 10 - Teste de KH e SH para a monofilia do Clado <i>Desmotes</i> junto ao Clado <i>Fasciatus</i> | 34 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Mapa dos pontos de coleta das amostras utilizadas no estudo. | 12 |
| Figura 2 - A) Gráfica de distribuição das frequências das distâncias intraespecíficas (Vermelho) e Intra-clado. B) Detalhe da faixa de sobreposição entre as duas distâncias. | 23 |
| Figura 3 - Gráfico de dispersão da distância mínima interespecífica versus máxima intraespecífica.. | 24 |
| Figura 4 - Gráfico de dispersão da distância mínima interespecífica versus máxima intraespecífica | 29 |
| Figura 5 - Gráfico de dispersão da distância mínima interespecífica versus máxima intraespecífica | 30 |
| Figura 6 - Árvore de Máxima Parcimônia baseada em 4923 pb. | 35 |
| Figura 7 - Árvore de Máxima Parcimônia baseada em 4923 pb.. | 38 |
| Figura 8 - Árvore multiloco bayesiana <i>species tree</i> baseada em 4923 pb. | 41 |
| Figura 9 - Cronograma baseado em 9423 nucleotídeos, obtida pelo programa BEAST. | 47 |
| Figura 10 - Reconstrução ancestral da distribuição das linhagens mediante uma análise estatística de dispersão-vicariância (S-DIVA). | 48 |
| Figura 11 - Indivíduos de Anostominae usados no estudo | 52 |
| Figura 12 - Indivíduos de <i>Leporellus</i> usados no estudo..... | 53 |
| Figura 13 - Indivíduos analisados de: A: <i>Leporinus</i> sp. 5 L058, B: <i>L.</i> sp. 18 L092. | 54 |
| Figura 14- <i>Leporinus brunneus</i> L492..... | 55 |

| | |
|---|----|
| Figura 15 – Fotos de: A: <i>Leporinus</i> cf. <i>striatus</i> L050, B: <i>L. striatus</i> . 18 L251, C: <i>Abramites hypselonotus</i> L643, D: <i>Leporinus muyscorum</i> L915. E: <i>L. cf. muyscorum</i> L907, F: <i>L. trifasciatus</i> L618, G: <i>L. cf. trifasciatus</i> L180, H: <i>L. garmani</i> L293..... | 56 |
| Figura 16 - Indivíduos de Clado <i>Geminis</i> usados no estudo | 61 |
| Figura 17 - Fotografias das espécies de <i>Laemolyta</i> analisadas.. | 64 |
| Figura 18 - Fotografias das espécies de <i>Rhytidodus</i> analisadas | 66 |
| Figura 19 - Fotografias de espécies de <i>Schizodon</i> analisadas. | 68 |
| Figura 20 - Fotografias de espécies de <i>Leporinus sensu stricto</i> | 72 |
| Figura 21 - Rede haplotípica do gene COI de <i>Leporinus</i> cf. <i>friderici</i> e <i>L. agassizi</i> | 73 |
| Figura 22 - Principais eventos históricos associados a especiação no Clado ZZ/ZW | 81 |

SUMÁRIO

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 1.1 | A família Anostomidae..... | 1 |
| 1.2 | O gênero Leporinus..... | 3 |
| 1.3 | Estudos filogenéticos e a conservação da diversidade..... | 4 |
| 1.4 | A filogeografia..... | 6 |
| 1.5 | Os códigos de barras de DNA..... | 8 |
| 1.6 | Hipótese..... | 9 |
| 2 | OBJETIVOS..... | 10 |
| 3 | MATERIAL E MÉTODOS..... | 10 |
| 3.1 | Material..... | 10 |
| 3.2 | Extração de DNA..... | 11 |
| 3.3 | Amplificação dos fragmentos..... | 11 |
| 3.4 | Sequenciamento..... | 17 |
| 3.5 | Análise dos dados..... | 17 |
| 3.5.1 | <i>DNA barcode</i> | 17 |
| 3.5.2 | <i>Análise filogenética</i> | 18 |
| 3.5.3 | <i>Filogeografia dos Leporinus com cromossomos sexuais</i> | 20 |
| 4 | RESULTADOS..... | 21 |
| 4.1 | DNA Barcode..... | 21 |
| 4.2 | Filogenia dos Anostomidae..... | 33 |
| 4.3 | Filogeografia das espécies com cromossomos sexuais ZZ/ZW..... | 44 |
| 5 | DISCUSSÃO..... | 44 |
| 5.1 | DNA barcode..... | 44 |
| 5.2 | Filogenia dos Anostomidae..... | 49 |
| 5.3 | Filogeografia das espécies com cromossomos sexuais ZZ/ZW..... | 80 |
| 6 | CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 90 |
| 7 | REFERÊNCIAS..... | 91 |

1 INTRODUÇÃO

1.1 A família Anostomidae

A família Anostomidae pertence ao grupo de Characiformes Neotropicais e forma um grupo monofilético com os Prochilodontidae, Curimatidae e Chilodontidae (OLIVEIRA et al., 2011; VARI, 1983). Até o ano 2003, os anostomídeos agrupavam 138 espécies descritas distribuídas em 12 gêneros (*Abramites*, *Anostomoides*, *Anostomus*, *Gnathodolus*, *Laemolyta*, *Leporellus*, *Leporinus*, *Pseudanos*, *Rhytiodus*, *Sartor*, *Schizodon* e *Synaptolaemus*) (GARAVELLO; BRITSKI, 2003). Nos últimos anos, várias espécies têm sido descritas, especialmente em *Leporinus*, e novas espécies são descobertas a cada ano. Um novo gênero, *Petulanos*, foi descrito por Sidlauskas e Vari (2008); e estes autores também reconheceram o gênero *Hypomasticus* (Borodin, 1929) como válido. Atualmente, a família Anostomidae possui aproximadamente 150 espécies e 14 gêneros válidos.

A família Anostomidae possui uma ampla distribuição Neotropical, desde América Central à América do Sul. Os anostomídeos ocupam as grandes bacias hidrográficas como a do Rio Magdalena e Atrato na Colômbia, o Rio Orinoco e o sistema do lago Maracaibo na Venezuela, e as bacias brasileiras desde a Amazônia até o sul (GARAVELLO; BRITSKI, 2003). Os anostomídeos são mais diversos nos rios da Amazônia, do Orinoco, do Paraguai e do Paraná, assim como nos seus tributários (GARAVELLO; BRITSKI, 2003).

Os peixes dessa família são fusiformes, variando de 10 cm (espécies pequenas presentes nos tributários dos sistemas do Rio Orinoco e a Amazônia) a 80 cm (espécies grandes dos principais tributários dos rios Paraná e do Pantanal), sendo o maior número de espécies de um tamanho de corpo intermediário. Algumas espécies dos gêneros *Leporinus* (como *L. macrocephalus* Garavello e Britski, 1988, *L. obtusidens* (Valenciennes, 1836) e *L. piavussu* Britski et al., 2012) e *Schizodon* são exploradas comercialmente como uma importante fonte de alimento (GARAVELLO; BRITSKI, 2003). Além disso, espécies coloridas, de menor porte são utilizadas nos aquários.

Houve várias tentativas de subdividir e classificar os Anostomidae. Inicialmente, Günther (1864) agrupou os gêneros *Anostomus*, *Rhytiodus* e *Leporinus* dentro de "Anostomina". Boulenger (1904) expandiu esse grupo e o chamou de Anostominae. Regan (1911) criou a família Anostomidae incluindo Anostominae (que incluía Chilodontidae), Curimatinae e Prochilodontinae. Posteriormente, foram descritas três

subfamílias: Anostominae sensu Géry (1977) e sensu Winterbottom (1980), Leporellinae (FOWLER, 1950) e Leporininae (FOWLER, 1950). Géry (1977) considerou Anostomidae como válida e incluiu duas subfamílias: Anostominae e Leporellinae. Para alguns autores, Anostominae inclui todos os gêneros com exceção de *Leporellus* (GÉRY, 1977; LÓPEZ; MIQUELARENA; MENNI, 1987). Winterbottom (1980) considera Anostominae incluindo *Anostomus* (posteriormente subdividido em *Anostomus* e *Petulanos*), *Gnathodolus*, *Pseudanos*, *Sartor* e *Synaptolaemus*. Leporellinae e Leporininae são subfamílias monogenéricas (FOWLER, 1950).

A maioria dos estudos existentes de sistemática na família é de taxonomia ao nível de espécies, assim como de distribuição geográfica dos gêneros *Leporinus* e *Schizodon* (GARAVELLO; BRITSKI, 2003). Essas revisões parciais visam descrever novas espécies, deixando muitas questões sobre a filogenia da família em aberto. Uma revisão das relações dentro dos Anostominae (*Anostomus*, *Gnathodolus*, *Sartor*, *Synaptolaemus*, e *Pseudanos*) foi conduzida por Winterbottom (1980). Sidlauskas e Vari (2008) realizaram o estudo mais completo até agora, utilizando marcadores morfológicos (osteologia) e avaliaram as relações filogenéticas dentro da família. Os autores concluíram que a família é monofilética. Sidlauskas e Vari (2008) não reconheceram nenhuma subfamília como válida. O gênero *Leporellus* seria o mais basal dentro do grupo compartilhando várias plesiomorfias com os Chilodontidae. Segundo os autores, o gênero *Leporinus* não seria monofilético. Assim, similarmente a outras famílias de Characiformes Neotropicais, são precisos mais estudos para entender as relações filogenéticas dentro da família Anostomidae (GARAVELLO; BRITSKI, 2003).

A família Anostomidae tem sido estudada geneticamente inicialmente com a utilização de técnicas citogenéticas (GALETTI JR.; LIMA; VENERE, 1995; GALETTI JR. et al., 1981; KOEHLER et al., 1997). Trabalhos avaliando a variabilidade genética dentro das espécies foram realizados usando isozimas (CHIARI; SODRÉ, 1999; RENNO et al., 1989), RFLP (RENNO et al., 1991), RAPD (CHIARI et al., 2001) e DNA mitocondrial (MARTINS et al., 2003). Esses trabalhos demonstraram uma marcada diferenciação genética entre espécies e o potencial para a realização de estudos a nível genético assim como filogeográficos.

1.2 O gênero *Leporinus*

Dentro da família Anostomidae o gênero *Leporinus* é o mais especioso (87 espécies nominais válidas), sendo considerado um dos gêneros mais diversos inclusive dentro dos Characiformes (Garavello & Britski, 2003). O gênero foi descrito por Agassiz (SPIX; AGASSIZ, 1829) e nomeado em referência aos fortes dentes incisivos que seus representantes possuem. As espécies de *Leporinus* possuem uma grande diversidade em forma, posição da boca, número de dentes e padrão de colorido. Britski e Garavello (1978) dividiu o gênero em três categorias considerando o padrão de colorido: barras transversais, manchas e linhas longitudinais.

Diversas tentativas de subdividir este gênero em gêneros adicionais ou subgêneros não têm tido sucesso (Garavello & Britski, 2003). Assim, o subgênero *Myocharax* foi descrito baseado em *Leporinus desmotes* Fowler, 1914 da Guiana (FOWLER, 1914). O subgênero *Leporinops* foi descrito usando *Leporinus moralesi* Fowler, 1942 como espécie tipo, também incluindo *L. jamesi* Garman, 1929 (GÉRY, 1960). Porém, Sidlauskas e Vari (2008) não encontraram evidências para reconhecer esses subgêneros como válidos. O subgênero *Hypomasticus* (BORODIN, 1929) foi descrito pela peculiaridade da sua boca, a qual é totalmente voltada para baixo e com dentes não serrados. *Hypomasticus mormyrops* (Steindachner, 1875) foi designado como espécie tipo, e *H. garmani* (Borodin, 1929) foi incluído nesse subgênero (BORODIN, 1929). Quando Sidlauskas e Vari (2008) elevaram *Hypomasticus* ao nível de gênero incluíram também *H. despaxi* (Puyo, 1943), *H. julii* (Santos, Jégu e Lima, 1996), *H. megalepis* (Günther, 1863), *H. pachycheilus* (Britski, 1976) e *H. thayeri* (Borodin, 1929). Recentemente, Birindelli et al. (2013) descreveram mais uma espécie, *H. lineomaculatus*. Esses autores consideraram que os limites do gênero ainda são incertos, sendo impossível alocar com certeza algumas espécies dentro de *Leporinus* ou de *Hypomasticus*.

As espécies do gênero *Leporinus* têm sido amplamente estudadas citogeneticamente. Os *Leporinus* possuem 54 cromossomos e a maioria das espécies têm só um par de cromossomos com regiões organizadoras do nucléolo. Esta fórmula cromossômica é conservada na maioria das espécies do gênero, mas existe um conspicuo sistema de cromossomos sexuais ZZ/ZW descrito para seis delas (*Leporinus conirostris* Steindachner, 1875, *L. piavussu*, *L. macrocephalus*, *L. obtusidens*, *L. reinhardti* Lütken, 1875 e *L. trifasciatus* Steindachner, 1876, diferenciando-as das outras espécies

estudadas (em torno de 40 espécies) que não têm cromossomos sexuais (GALETTI JR.; LIMA; VENERE, 1995). Esses autores propuseram que a presença do sistema ZW é uma sinapomorfia e que estas seis espécies formariam um grupo monofilético, hipótese que é reforçada por caracteres morfológicos tais como padrões de coloração, maior tamanho corporal, e o número de dentes. Venere et al. (2004) descreveram um novo sistema de cromossomos sexuais ZW para *Leporinus geminis* Garavello e Santos, 2009 (citado como *Leporinus* sp2), morfológicamente distinto dos descritos anteriormente para as seis espécies. Ao analisar o gene 5S rRNA em sete espécies do gênero *Leporinus* (quatro pertencentes ao grupo com cromossomos sexuais), Ferreira et al. (2007) constataram a natureza monofilética das espécies com sistema de cromossomos sexuais ZW diferenciando-as das demais espécies. Ferreira et al. (2007) também sugeriram que o sistema de cromossomos sexuais apresentado por *Leporinus geminis*, descrito por Venere et al. (2004) representaria uma origem de novo dos cromossomos sexuais no gênero.

As espécies de *Leporinus* com cromossomos ZW apresentam uma interessante distribuição. Este sistema de cromossomos sexuais está representado em praticamente todas as grandes bacias hidrográficas do Brasil. Na Amazônia é representada por *L. trifasciatus*, no Rio Paraguai por *L. macrocephalus*, no Alto Paraná por *L. obtusidens* e *L. piavussu*, no Rio São Francisco por *L. reinhardti* e *L. obtusidens*, e nos rios do leste por *L. conirostris* (GALETTI JR.; LIMA; VENERE, 1995). Com exceção de *L. obtusidens* que tem sido reportado para mais de uma bacia, as demais espécies parecem se substituírem nas diferentes bacias, ficando cada uma restrita a uma única bacia (GALETTI JR.; LIMA; VENERE, 1995), sendo mais provável que estas espécies compartilhem um ancestral comum que existiu antes da separação das presentes espécies nos grandes sistemas hidrográficos.

1.3 Estudos filogenéticos e a conservação da diversidade

A importância da conservação da biodiversidade foi uma das principais conclusões da Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento, ocorrida no Rio de Janeiro e assinada por 168 países, incluindo o Brasil (SECRETARIAT OF THE CONVENTION ON BIOLOGICAL DIVERSITY, 1992). As ações conservacionistas podem ser planejadas em níveis diversos: a partir dos genes, espécies ou ecossistemas. A

conservação da biodiversidade referente às espécies só será mais adequadamente planejada, quando as relações taxonômicas ficarem esclarecidas dentro de um grupo (NOSS, 2006).

Processos de vicariância ou dispersão nas bacias hidrográficas continentais, ao longo da história evolutiva, deram origem a um grande número de espécies de peixes de água doce (ALBERT; REIS, 2011). Os peixes dulcícolas Neotropicais são excepcionalmente diversos, excedendo mais de 7.000 espécies, sendo de longe a mais especiosa fauna de vertebrados continentais (ALBERT; REIS, 2011). Incertezas taxonômicas são comuns no grupo de peixes (PEREIRA et al., 2013) e as relações evolutivas entre os mesmos são ainda desconhecidas.

A filogenia molecular é reconhecida como uma poderosa ferramenta para avaliar as relações evolutivas das espécies, ajudando a descrever a diversidade da vida (EDWARDS, 2009). Os métodos moleculares disponíveis para a reconstrução das relações filogenéticas apresentam vantagens e limitações. Metodologias que usam as sequências macromoleculares como as do DNA têm sido geralmente as mais selecionadas, pois permitem inferências quantitativas a respeito das relações filogenéticas. A análise de sequências de DNA aplicada a estudos evolutivos tem ajudado a descrever a biodiversidade e tem permitido analisar as relações evolutivas detalhadas dentro de diversos grupos de organismos (STOECKLE, 2003).

Estudos filogenéticos incluem cada vez mais um número maior de marcadores, sejam mitocondriais ou nucleares, para que as topologias obtidas reflitam a história evolutiva das espécies e não a dos marcadores utilizados (AVISE, 2004). O DNA mitocondrial é limitado pelo fato de ser herdado por uma só linhagem parental, pelo que é necessário o uso de genes nucleares que representem linhagens distintas e que tenham informação filogenética suficiente para resolver as relações evolutivas entre espécies relacionadas (AVISE, 2004).

Dentre os estudos de filogenia molecular em peixes neotropicais, podemos citar aquele desenvolvido por Calcagnotto et al. (2005), o qual por meio de marcadores mitocondriais e nucleares avaliou as relações evolutivas entre os Characiformes. Outros estudos têm avaliado as relações interespecíficas em diversos níveis taxonômicos, podemos destacar no nível de família: o trabalho em Characidae (OLIVEIRA et al., 2011), Belonidae (LOVEJOY; COLETTE, 2001), Bryconidae (ABE et al., 2014) e em Serrasalminidae

(THOMPSON et al., 2014); e no nível de gênero, o realizado em *Prochilodus* (SIVASUNDAR; BERMINGHAM; ORTÍ, 2001) e em *Pseudoplatystoma* (CARVALHO-COSTA et al., 2011).

1.4 A filogeografia

Os padrões de distribuição de animais e plantas têm sido uma fonte de fascinação para os naturalistas. As razões pelas quais as espécies ocupam uma área em particular têm sido principalmente explicadas por fatores ecológicos e ambientais. No entanto, é preciso entender os eventos históricos envolvidos. Os métodos moleculares são uma grande ferramenta para o estudo dos eventos históricos que desenvolveram papéis importantes no estabelecimento dos atuais padrões de distribuição. O termo filogeografia foi inicialmente introduzido e descrito como o campo de estudo dos princípios e processos que modelaram a distribuição das linhagens genealógicas, especialmente a nível intraespecífico (AVISE et al., 1987).

Desde o início de sua aplicação as técnicas moleculares ganharam uma ampla aceitação entre os biólogos evolucionistas, pois tem possibilitado elucidar os mecanismos que são responsáveis pelo surgimento de novas espécies (BARLUENGA; MEYER, 2010). O estudo da filogeografia pode indicar se as espécies passaram por isolamento geográfico ou não, e revelar fluxo gênico histórico ou recente entre as populações ou entre as espécies incipientes (AVISE, 2000).

Apesar do incremento na quantidade de informação e estudos biogeográficos, a origem da biota sul-americana é ainda amplamente debatida. Diferentes hipóteses têm sido propostas considerando os processos ecológicos e geológicos que originaram e moldaram a diversidade Neotropical (ALBERT; REIS, 2011; HUBERT; RENNO, 2006; HUBERT et al., 2007). Os peixes de água doce oferecem uma oportunidade única para estudos biogeográficos e para testar essas hipóteses, visto que a dispersão dos peixes depende diretamente das conexões temporárias entre os rios adjacentes, que a história hidrográfica reflete a geologia subjacente e que a cronologia das conexões entre rios pode ser traçada no tempo (HUBERT et al., 2007).

A teoria do refúgio (HAFFER, 1982) sugere que a considerável diversidade de peixes neotropicais foi originada devido as flutuações climáticas no Pleistoceno (ocorridas nos últimos 2,5 milhões de anos (Ma)), as quais fragmentaram e uniram os habitats

repetidamente, levando a uma especiação alopática. No entanto, os estudos e registros fósseis sugerem que a diversificação dos diferentes grupos de espécies modernas ocorreu muito antes que o Pleistoceno (LUNDBERG, 1997; WEITZMAN; WEITZMAN, 1982). O estabelecimento final dos rios, o qual é considerado um evento marcante para a diferenciação das espécies, iniciou aproximadamente há 15 Ma e se estabeleceu há 10 Ma (LUNDBERG et al., 1998). Porém, evidências moleculares indicam que um importante período de diversificação ocorreu entre 10 e três Ma atrás (HUBERT et al., 2007; LOVEJOY; DE ARAÚJO, 2000; MONTOYA-BURGOS, 2003; SIVASUNDAR; BERMINGHAM; ORTÍ, 2001).

Atualmente, são amplamente aceitas três hipóteses baseadas nos eventos paleoecológicos que ocorreram nos últimos 10 Ma. A hipótese Paleogeográfica propõe como principal processo de diversificação a origem dos paleoarcos, devido à dinâmica da formação dos Andes nos últimos 8 Ma. A hipótese do museu dá importância às incursões marinhas no Mioceno, as quais geraram refúgios entre 5 e 4 Ma. Por último, a hipótese hidrogeológica destaca os eventos de captura de cabeceira, as quais geraram rotas de dispersão temporárias nos últimos 10 Ma (HUBERT; RENNO, 2006; LUNDBERG et al., 1998). Do mesmo modo, deve-se ter em mente que os eventos de especiação simpátrica podem ocorrer devido a fatores ecológicos, como a heterogeneidade do habitat, como proposto por Hubert et al. (2007) para algumas espécies do gênero *Serrasalmus*.

Diferentes espécies de peixes têm sido utilizadas em estudos filogeográficos testando essas hipóteses. No caso da hipótese Paleogeográfica, espera-se encontrar clados irmãos entre bacias hidrográficas separadas por paleoarcos (HUBERT; RENNO, 2006). Esse padrão foi encontrado no gênero *Prochilodus* (SIVASUNDAR; BERMINGHAM; ORTÍ, 2001), situando o Rio Magdalena numa posição basal, com a ramificação subsequente do Orinoco, Amazonas e Paraná. A elevação da Cordilheira Oriental dos Andes, na Colômbia, é considerada um dos principais eventos vicariantes para peixes neotropicais, como foi observado para a divergência entre *Pseudoplatystoma fasciatum* e *P. magdaleniatum* (CARVALHO-COSTA et al., 2011). Segundo a hipótese do Museu, espera-se encontrar que as espécies basais estejam nos Escudos Brasileiros e da Guiana, enquanto que as terras baixas teriam um maior número de espécies, com baixo endemismo e com uma diversificação nos últimos 4 Ma (HUBERT; RENNO, 2006). Essas

predições foram confirmadas nos gêneros *Serrasalmus* e *Pygocentrus* (HUBERT et al., 2007). A hipótese Hidrogeológica, por sua vez, prevê que os clados não são monofiléticos em relação às bacias hidrográficas e que linhagens relacionadas ocorrem em rios contíguos que têm um caminho de dispersão histórico ou atual (HUBERT; RENNO, 2006). Estudando o gênero *Hypostomus*, Montoya-Burgos (2003) identificou sete eventos cladogênicos, quatro dos quais foram eventos hidrogeológicos que levaram a diversificação do gênero entre 12-4 Ma atrás. Eventos hidrogeológicos também foram encontrados nos gêneros *Serrasalmus* e *Pygocentrus* (HUBERT et al., 2007) e *Astyanax* (KAVALCO et al., 2011).

Portanto, a história evolutiva dos peixes neotropicais é complexa, sendo produto de diferentes fatores geológicos e ecológicos que se sobrepõem nos últimos 10 Ma. Nossa compreensão destes processos continua incipiente e, portanto, mais estudos filogenéticos e filogeográficos são necessários para obter uma melhor compreensão sobre as principais forças que geraram a considerável diversidade encontrada na ictiofauna neotropical.

1.5 Os códigos de barras de DNA

Os códigos de barras de DNA (*DNA barcodes*) são uma metodologia para a rápida identificação de espécies usando uma sequência padrão de DNA. O gene da subunidade I da Citocromo oxidase (COI) do DNA mitocondrial é a região que está sendo utilizada atualmente para a realização dos códigos de barras. Esta abordagem foi inicialmente publicada por Hebert et al. (2003). O gene COI possui uma alta taxa de acúmulo de mutações, sendo que, se considerássemos só a terceira posição do códon obteríamos 2^{200} ou 10^{60} possíveis sequências, provando que estes perfis podem distinguir espécies que sejam muito relacionadas (HEBERT et al., 2003).

Esses códigos de barras podem ser utilizados em diversos aspectos como: reconhecer espécies utilizando pequenos fragmentos ou em diversos estágios da vida do animal, identificação de amostras que não podem ser reconhecidas pelos métodos tradicionais, como excretas ou conteúdo de estômagos, e criar uma enciclopédia on-line de códigos de barras de acesso público (STOECKLE, 2003).

A base de dados *on-line* foi construída com a colaboração de vários pesquisadores e instituições que conformam o *Consortium for the Barcode of Life* (CBOL), o qual criou

a *The Barcode of Life Data Systems* (BOLD) (<http://www.boldsystems.org>). O projeto mundial dos *barcodes* tem tido um grande crescimento sendo que atualmente existem distintos subprojetos especializados para diversos grupos de organismo como, por exemplo, o *Lepbarcoding* para os Lepidópteros, o *All-Birds Barcoding Initiative* (ABBI) para aves ou o *FISH-BOL* para peixes. Lançado em 2005, o projeto *FISH-BOL* têm avaliado com sucesso, para julho de 2010, o 25% de peixes conhecidos (aproximadamente 31000 espécies), sendo que, com ao menos uma espécie, o 89% das famílias têm sido já avaliadas (BECKER; HANNER; STEINKE, 2011). Ardura et al. (2010) e Pereira et al. (2011) publicaram os primeiros estudos com peixes do Brasil, demonstrando a eficácia desta metodologia em espécies brasileiras. Atualmente o DNA *barcode* está sendo amplamente utilizado na pesquisa da ictiofauna sul-americana. Na região neotropical, onde existe um grande número de espécies de divergência recente, com baixas distâncias interespecíficas, o DNA *barcode* consegue uma eficácia de 99.2% (PEREIRA et al., 2013).

Projetos nacionais apoiados pelos governos têm sido desenvolvidos, como é o caso da Rede de Pesquisa de Identificação Molecular da Biodiversidade Brasileira (BR-BOL), na qual esse trabalho está inserido.

1.6 Hipótese

Nossa hipótese é que a família Anostomidae constitui um grupo monofilético e não assim, o gênero *Leporinus*, como sugerido pela morfologia. Os códigos de barras de DNA serão específicos para cada espécie, existindo um gap entre as distâncias intraespecíficas e interespecíficas. Espera-se que as espécies com cromossomos sexuais do gênero *Leporinus* tenha uma origem em comum, constituindo um grupo monofilético. Espera-se que o padrão de distribuição filogeográfica seja resultante da história e cronologia das conexões entre rios adjacentes, refletindo uma origem por dispersão mediada pelas conexões temporárias entre esses rios.

2 OBJETIVOS

- Reconstruir as relações filogenéticas da família Anostomidae.
 - Reconstruir as relações evolutivas entre os distintos gêneros da família Anostomidae.
 - Recuperar as relações filogenéticas entre as distintas espécies do gênero *Leporinus*.
 - Avaliar a monofilia do grupo de espécies do gênero *Leporinus* com cromossomos sexuais ZZ/ZW e a origem *de novo* em *Leporinus geminis*.
- Avaliar a funcionalidade dos códigos de barras de DNA para as espécies da família Anostomidae.
- Avaliar o padrão de distribuição filogeográfica das espécies do gênero *Leporinus* que possuem sistemas de cromossomos sexuais ZZ/ZW.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

Foram realizadas coletas em rios de diversas bacias (Figura 1): Rio Araguaia, Caquetá, Culuene, Guaporé, Papagaio, Solimões e Ucayali (Bacia amazônica); Tietê, Grande, Paraná (Bacia do Paraná); Sepotuba, Cuiabá e Bandeirantes (Bacia Paraguai); Meta (Bacia Orinoco) e Magdalena (Bacia Magdalena). Também foram analisadas amostras enviadas por colaboradores: Tocantins, Arinos, Sumidouro (Bacia amazônica), Uruguai (Bacia do Paraná) e Pindaré (Bacia Costeira). Amostras da Bacia do Rio São Francisco, Jequitinhonha e Doce foram obtidas em colaboração com o Museu de Zoologia da PUC-Minas. Amostras da Bacia do Rio Madeira foram obtidas na coleção da Universidade Federal de Rondônia. Amostras da bacia do Rio Teles Pires e dos rios costeiros da Bahia foram obtidas na coleção do MZUSP. Amostras das bacias do Rio Uruguai e Jacuí foram obtidas na coleção do Museu de Ciências e Tecnologia PUCRS. No total, foram obtidas 430 amostras, representando 115 linhagens, das quais 70 são espécies nominais com representantes de 10 gêneros, *Abramites* (1 sp.), *Anostomus* (1 sp.), *Anostomoides* (1 sp.), *Hypomasticus* (1 sp.), *Laemolyta* (5 sp.), *Leporellus* (3 sp.), *Leporinus* (47 sp.), *Pseudanos* (2 sp.), *Rhytioidus* (3 spp.), e *Schizodon* (9 spp.) (Tabela 1 e Apêndice A). Amostras de nadadeiras ou tecido (fígado ou coração) foram conservadas em álcool

etílico 96% e mantidas em freezer -20 °C no Laboratório de Biodiversidade Molecular e Conservação, do Departamento de Genética e Evolução, da Universidade Federal de São Carlos. Para o DNA *barcode* tentou-se coletar pelo menos cinco indivíduos por espécie, bem como, abranger o máximo de sua distribuição geográfica. Os espécimes foram etiquetados e depositados como vouchers em diversas coleções (Apêndice A). Foram usados *Caenotropus labyrinthicus* (Kner, 1858) (Chilodontidae), *Curimata cyprinoides* (Linnaeus, 1766) (Curimatidae), *Prochilodus nigricans* Spix e Agassiz, 1829 (Prochilodontidae), e *Anodus orinocensis* (Steindachner, 1887) (Hemiodontidae), como grupos externos para a realização da filogenia. Espécies não identificadas foram numeradas como “sp.” segundo foram sendo descobertas no projeto, posteriormente muitas espécies foram depois identificadas ou nomeadas usando os epítetos “cf.” ou “cf.”, pelo que não seguem uma numeração completa e ordenada.

3.2 Extração de DNA

No laboratório, um pedaço do tecido foi submetido à digestão em solução de lise com proteinase K. Posteriormente, a purificação do DNA foi realizada com fenol: clorofórmio e a precipitação com etanol absoluto (SAMBROOK; FRITISH; MANIATIS, 1989). Para amostras obtidas em museus e coleções, o DNA foi extraído usando o kit *DNeasy Blood & Tissue* da Qiagen, seguindo o protocolo do fabricante.

3.3 Amplificação dos fragmentos

Para a realização da filogenia molecular da família Anostomidae foram amplificados dois genes mitocondriais e três nucleares. Os cinco genes foram amplificados para um indivíduo de cada uma das linhagens identificadas na análise do DNA *barcode*. Para os genes mitocondriais foram desenvolvidos pares de primers usando a informação disponível no *GenBank* para genomas de espécies de *Leporinus* e espécies relacionadas. Para amplificar um fragmento de aproximadamente 1110 bases do gene Citocromo B foram usados os primers AnosCytBF (5'-AAATCTCYGCATGATGAAA-3') e AnosCytBR (5'-TCTTCGGATTACAAGACCG-3'). Para o gene COI foram usados os primers AnosCOIF (5'-ACAAACCACAAAGAYATYGG-3') e AnosCOIR (5'-TCWGGGTGACCAAARAATCA-3'), que amplificam 698 nucleotídeos da região 5' do gene. Esse último marcador foi também utilizado para a realização dos

códigos de barras de DNA. A amplificação dos dois genes foi realizada numa reação com volume final de 25 μ L, usando-se 250 μ M de dNTPs, 20 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 0,4 μ M de cada primer, 2 mM de $MgCl_2$ e 1 U de *Taq* polimerase (*Life Technologies*). As reações foram realizadas seguindo os seguintes parâmetros: 35 ciclos de 92°C por 45 s, 51°C por 45 s e 72°C por 45 s.

Três marcadores nucleares, o gene de ativação da recombinação 1 e 2 (RAG1 e RAG2) e a cadeia pesada 6 da miosina, isoforma alfa do músculo cardíaco (Myh6), foram utilizados para dar maior suporte à filogenia molecular, sendo amplificados seguindo os protocolos de Oliveira et al. (2011).

Figura 1 - Mapa dos pontos de coleta das amostras utilizadas no estudo. Mapa criado usando Q-GIS (<http://www.qgis.org/>).



Tabela 1- Distribuição conhecida (atualizado a partir de Garavello e Britski (2003)) e amostragem utilizada no trabalho para as 122 linhagens analisadas. Para as espécies nominais, é fornecida também a localidade tipo. *Linhagens analisadas para o *barcode*, usando sequencias do BOLD.

| Espécie (Linhagem) | Distribuição | Localidade tipo | Amostragem |
|---|---|--------------------------|---------------------------------|
| <i>Abramites hypselonotus</i> (Günther, 1868) | Orinoco, Amazonas, Paraguai, Baixo Paraná | Xeberos (Peru) | Alto Amazonas, Madeira, Ucayali |
| <i>Anostomoides laticeps</i> (Eigenmann, 1912) | Essequibo, Orinoco, Solimões | Essequibo (Guiana) | Madeira |
| <i>Anostomus anostomus</i>* (Linnaeus, 1758) | Amazonas, Orinoco | América do Sul | |
| <i>Anostomus ternetzi</i> Fernández-Yépez, 1949 | Orinoco, Araguaia, Amazonas | Palital (Venezuela) | Tapajós |
| <i>Hypomasticus mormyrops</i>* (Steindachner, 1875) | Paraíba do Sul, Piabanha, Doce | Paraíba | Paraíba do Sul |
| <i>Hypomasticus pachycheilus</i> (Britski, 1976) | Madeira, Uatumã, Tocantins-Araguaia | Aripuanã (Madeira) | Madeira |
| <i>Laemolyta cf. fernandezi</i> Géry, 1964 | Tocantins-Araguaia | Ilha do Bananal | Tocantins-Araguaia |
| <i>Laemolyta cf. proxima</i> | Alto Amazonas | | Alto Amazonas |
| <i>Laemolyta fernandezi</i> Myers, 1950 | Orinoco e Xingu | Alto Orinoco | Xingu |
| <i>Laemolyta garmani</i> (Borodin, 1931) | Amazonas | Lago Jutai | Alto Amazonas |
| <i>Laemolyta proxima</i> (Garman, 1890) | Amazonas, Essequibo | Guaporé (Vila Bela) | Madeira |
| <i>Laemolyta taeniata</i> (Kner, 1858) (1) | Amazonas, Negro, Orinoco | Guaporé | Madeira |
| <i>Laemolyta taeniata</i> (Kner, 1858) (2) | Amazonas, Negro, Orinoco | Guaporé | Madeira |
| <i>Leporellus cf. vittatus</i> (Eigenmann, 1922) | Paraguai | Cauca, próximo a Cáceres | Paraguai |
| <i>Leporellus pictus</i> (Kner, 1858) | Paraná, São Francisco | Oriçanga | Paraná |
| <i>Leporellus sp.</i> | Madeira | | Madeira |
| <i>Leporellus vittatus</i> (Valenciennes, 1850) | Amazonas e São Francisco | Araguaia | Araguaia |
| <i>Leporinus affinis</i> Günther, 1864 | Tocantins-Araguaia | Capin | Tocantins-Araguaia |
| <i>Leporinus agassizi</i> Steindachner, 1876 (1) | Amazonas | Tabatinga e Tefé | Alto Amazonas |
| <i>Leporinus agassizi</i> Steindachner, 1876 (2) | Amazonas | Tabatinga e Tefé | Alto Amazonas |
| <i>Leporinus amae</i> Godoy, 1980 | Uruguai | Apuaê | Uruguai |
| <i>Leporinus amazonicus</i> Santos e Zuanon, 2008 | Amazonas | Lago Catalão | Madeira |
| <i>Leporinus amblyrhynchus</i> Garavello e Britski, 1987* | Alto Paraná | Tietê | Alto Paraná |
| <i>Leporinus bahiensis</i> Steindachner, 1875 Paraguaçu | Paraguaçu | Bahia | Paraguaçu |

| | | | |
|--|-------------------------------------|------------------------|-------------------------------------|
| <i>Leporinus bahiensis</i> Steindachner, 1875 Jequiriça | Jequiriça | Bahia | Jequiriça |
| <i>Leporinus bahiensis</i> Steindachner, 1875 Contas | Contas | Bahia | Contas |
| <i>Leporinus bahiensis</i> Steindachner, 1875 Almada | Almada | Bahia | Almada |
| <i>Leporinus bleheri</i> Géry, 1999 | Iténez-Guaporé | Rio Verde (Bolívia) | Guaporé (Madeira) |
| <i>Leporinus boehlkei</i> Garavello, 1988 | Meta (Orinoco) | Lago Mozambique | Meta |
| <i>Leporinus britskii</i> Feitosa, Santos e Birindelli, 2011 | Tapajós e Jari | Jamanxim | Jamanxim (Tapajós) |
| <i>Leporinus brunneus</i> Myers, 1950 Madeira | Orinoco e Negro | Negro | Madeira |
| <i>Leporinus brunneus</i> Myers, 1950 Tapajós | Orinoco e Negro | Negro | Teles Pires (Tapajós) |
| <i>Leporinus</i> cf. <i>conirostris</i> | Doce | | Doce |
| <i>Leporinus</i> cf. <i>copelandii</i> | Doce | | Doce |
| <i>Leporinus</i> cf. <i>fasciatus</i> Xingu | Alto Xingu | | Alto Xingu |
| <i>Leporinus</i> cf. <i>fasciatus</i> Tapajós | Teles Pires (Tapajós) | | Teles Pires (Tapajós) |
| <i>Leporinus</i> cf. <i>friderici</i> Amazonas | Amazonas | | Solimões e Tapajós |
| <i>Leporinus</i> cf. <i>friderici</i> Madeira | Madeira | | Madeira |
| <i>Leporinus</i> cf. <i>friderici</i> Paraguai | Paraguai | | Paraguai |
| <i>Leporinus</i> cf. <i>friderici</i> Paraná | Paraná | | Paraná |
| <i>Leporinus</i> cf. <i>friderici</i> São Francisco | São Francisco | | São Francisco |
| <i>Leporinus</i> cf. <i>friderici</i> Tapajós | Teles Pires (Tapajós) | | Teles Pires (Tapajós) |
| <i>Leporinus</i> cf. <i>friderici</i> Tocantins | Tocantins-Araguaia | | Tocantins-Araguaia |
| <i>Leporinus</i> cf. <i>geminis</i> | Alto Xingu | | Alto Xingu |
| <i>Leporinus</i> cf. <i>lacustris</i> | Paraguai | | Paraguai |
| <i>Leporinus</i> cf. <i>muyscorum</i> | Meta (Orinoco) | | Meta (Orinoco) |
| <i>Leporinus</i> cf. <i>niceforoi</i> | Alto Amazonas, Madeira | | Alto Amazonas, Madeira |
| <i>Leporinus</i> cf. <i>obtusidens</i> Paraguai | Alto Paraguai | | Alto Paraguai |
| <i>Leporinus</i> cf. <i>obtusidens</i> São Francisco | São Francisco | | São Francisco |
| <i>Leporinus</i> cf. <i>parae</i> | Alto Amazonas, Madeira e Ucayali | | Alto Amazonas, Madeira e Ucayali |
| <i>Leporinus</i> cf. <i>octomaculatus</i> Jamanxim | Jamanxim (Tapajós) | | Jamanxim (Tapajós) |
| <i>Leporinus</i> cf. <i>octomaculatus</i> Paraguai | Paraguai | | Paraguai |
| <i>Leporinus</i> cf. <i>reinhardtii</i> | Itapicuru | | Itapicuru |
| <i>Leporinus</i> cf. <i>steindachneri</i>* | Paraíba do Sul | | Paraíba do Sul |

| | | | |
|---|--|-----------------|---------------------------------|
| <i>Leporinus cf. striatus</i> Alto Madeira* | Alto Madeira | | Alto Madeira |
| <i>Leporinus cf. striatus</i> Paraguai | Paraguai | | Paraguai |
| <i>Leporinus cf. trifasciatus</i> | Tocantins-Araguaia | | Tocantins-Araguaia |
| <i>Leporinus conirostris</i> Steindachner, 1875 | Paraíba do Sul e Mucuri | Paraíba | Paraíba do Sul |
| <i>Leporinus copelandii</i> Steindachner, 1875 | Paraíba do Sul, São Matheus, Jequitinhonha, Quenda | Paraíba | Paraíba do Sul e Itapemirim |
| <i>Leporinus cylindriiformis</i> Borodin, 1829 | Amazonas | Porto de Moz | Madeira |
| <i>Leporinus desmotes</i> Fowler, 1914 Araguaia | Rupununi | Rupununi | Barra do Garças |
| <i>Leporinus desmotes</i> Fowler, 1914 Madeira | Rupununi | Rupununi | Madeira |
| <i>Leporinus desmotes</i> Fowler, 1914 Culuene | Rupununi | Rupununi | Alto Xingu |
| <i>Leporinus desmotes</i> Fowler, 1914 Jamanxim | Rupununi | Rupununi | Jamanxim (Tapajós) |
| <i>Leporinus elongatus</i> Valenciennes, 1850 | Jequitinhonha | Jequitinhonha | Jequitinhonha |
| <i>Leporinus fasciatus</i> (Bloch, 1794) | Amazonas | Suriname | Alto Amazonas, Madeira, Orinoco |
| <i>Leporinus garmani</i> Borodin, 1929 | Jequitinhonha | Arassuahy | Jequitinhonha |
| <i>Leporinus geminis</i> Garavello e Santos, 2009 | Tocantins-Araguaia | Tocantins | Araguaia |
| <i>Leporinus lacustris</i> Campos, 1945 | Paraná | Pirassununga | Paraná |
| <i>Leporinus macrocephalus</i> Garavello e Britski, 1988 | Paraguai | Cuiabá | Paraguai |
| <i>Leporinus cf. taeniatus</i> | Una | Rio Una (Bahia) | Itapicuru |
| <i>Leporinus melanopleurodes</i> Birindelli et al., 2013 | Rio das Almas, Jiquiriça | Rio das Almas | Rio das Almas |
| <i>Leporinus microphthalmus</i> Garavello, 1989* | Paranaíba | Araguari | Paraná |
| <i>Leporinus muyscorum</i> Steindachner, 1901 | Magdalena, Atrato | Lebrija | Magdalena |
| <i>Leporinus obtusidens</i> (Valenciennes, 1836) | Paraná, La Plata, Guaíba, Parnaíba | Buenos aires | Paraná, Uruguai, Jacuí |
| <i>Leporinus octofasciatus</i> Steindachner, 1915 | Cubatão, Alto Paraná | Joinville | Paraná |
| <i>Leporinus octomaculatus</i> Britski e Garavello, 1993 | Arinos (Tapajós) | Arinos | Arinos (Tapajós) |
| <i>Leporinus ortomaculatus</i> Garavello, 2000 | Negro, Orinoco | Surumu | Araguaia |
| <i>Leporinus paranensis</i> Garavello e Britski, 1987* | Alto Paraná | Marimbondo | Alto Paraná |
| <i>Leporinus pearsoni</i> Fowler, 1940 | Chimore | Chimore | Ucayali |
| <i>Leporinus piau</i> Fowler, 1941 | Salgado (Jaguaribe) | Salgado | Salgado (Jaguaribe) |
| <i>Leporinus piavussu</i> Britski et al, 2012 | Paraná | Mogi-Guaçu | Paraná |

| | | | |
|--|--------------------------------|---------------------------|----------------------------------|
| <i>Leporinus reinhardti</i> Lütken, 1875 | São Francisco | Rio das Velhas | São Francisco |
| <i>Leporinus reticulatus</i> Britski e Garavello, 1993 | Arinos (Tapajós) | Arinos | Arinos (Tapajós) |
| <i>Leporinus</i> sp. 03 | Guaporé | | Guaporé |
| <i>Leporinus</i> sp. 04 | Tocantins-Araguaia | | Tocantins-Araguaia |
| <i>Leporinus</i> sp. 05 | Papagaio (Tapajós) | | Papagaio (Tapajós) |
| <i>Leporinus</i> sp. 06 | Pindaré, Mearim e Itapecuru | | Pindaré, Mearim e Itapecuru |
| <i>Leporinus</i> sp. 10 | Madeira e Turiaçu | | Madeira e Turiaçu |
| <i>Leporinus</i> sp. 13 | Alto Xingu | | Alto Xingu |
| <i>Leporinus</i> sp. 14 | Araguaia | | Araguaia |
| <i>Leporinus</i> sp. 18 | Arinos (Tapajós) | | Arinos (Tapajós) |
| <i>Leporinus</i> sp. 19 | Teles Pires (Tapajós) | | Teles Pires (Tapajós) |
| <i>Leporinus</i> sp. 20 | Baixo Xingu | | Baixo Xingu |
| <i>Leporinus steindachneri</i> Eigenmann, 1907 | Jequitinhonha, Doce e Jucuruçú | Arassuahy (Jequitinhonha) | Jequitinhonha |
| <i>Leporinus striatus</i> Kner, 1858 | Paraná, Amazonas e Magdalena | Oriçanga | Paraná e Uruguai |
| <i>Leporinus taeniatus</i> Lütken, 1875 | São Francisco | Rio das Velhas | São Francisco e Salgado |
| <i>Leporinus tigrinus</i> Borodin, 1929 | Tocantins | Goiás | Tocantins-Araguaia |
| <i>Leporinus trifasciatus</i> Steindachner 1876 | Amazonas | Tefé (Amazonas) | Alto Amazonas, Madeira e Ucayali |
| <i>Leporinus tristriatus</i> Birindelli e Britski, 2013 | Tocantins, Xingu, Tapajós | Peixoto (Teles Pires) | Tapajós |
| <i>Leporinus unitaeniatus</i> Garavello e Santos, 2009 | Araguaia, Tocantins | Araguaia | Araguaia |
| <i>Leporinus vanzoi</i> Britski e Garavello 2005 | Tapajós | Tapajós | Teles Pires (Tapajós) |
| <i>Leporinus venerei</i> Britski e Birindelli, 2008 | Araguaia | Araguaia | Araguaia |
| <i>Pseudanos</i> cf. <i>trimaculatus</i> | Nanay (Alto Amazonas) | | Nanay (Alto Amazonas) |
| <i>Pseudanos gracilis</i> (Kner, 1858) | Guaporé, Negro, Orinoco | Guaporé (Madeira) | Madeira |
| <i>Pseudanos trimaculatus</i> (Kner, 1858) (1) | Amazonas | Vila bela (Guaporé) | Madeira |
| <i>Pseudanos trimaculatus</i> (Kner, 1858) (2) | Amazonas | Vila bela (Guaporé) | Madeira |
| <i>Rhytidus argenteofuscus</i> Kner, 1858 | Amazonas | Negro | Madeira |
| <i>Rhytidus lauzannei</i> Géry, 1987 | Tijamuchi, Mamoré | Tijamuchi | Madeira |
| <i>Rhytidus microlepis</i> Kner, 1858 | Amazonas | Manaus | Madeira e Ucayali |
| <i>Schizodon</i> cf. <i>nasutus</i> | Uruguai | | Uruguai |
| <i>Schizodon</i> cf. <i>vittatus</i> | Alto Xingu | | Alto Xingu |
| <i>Schizodon borellii</i> (Boulenger, 1900) | Paraguai | Carandasinho | Paraguai |

| | | | |
|---|--------------------------------|---------------|--|
| <i>Schizodon dissimilis</i> (Garman, 1890) (1) * | Poti | Poti | Itapecuru |
| <i>Schizodon dissimilis</i> (Garman, 1890) (2) | Poti | Poti | Pindaré, Mearim e Itapecuru |
| <i>Schizodon fasciatus</i> Spix e Agassiz, 1829 | Alto Amazonas, Guiana Francesa | Brasil | Alto Amazonas, Madeira, Orteguaza, Turiaçu e Ucayali |
| <i>Schizodon intermedius</i> Garavello e Britski, 1990 | Alto Paraná | Itaqueri | Alto Paraná |
| <i>Schizodon jacuiensis</i> Bergman, 1988 | Lagoa dos Patos | Guaíba | Jacuí (Lagoa dos Patos) |
| <i>Schizodon knerii</i> (Steindachner, 1875) | São Francisco | São Francisco | São Francisco |
| <i>Schizodon nasutus</i> Kner, 1858 | Paraná, Paraguai | Oriçanga | Paraná |
| <i>Schizodon scotorhabdotus</i> Sidlauskas, Garavello e Jellen, 2007 | Orinoco | Apure | Orinoco |
| <i>Schizodon vittatus</i> (Valenciennes, 1850) | Tocantins-Araguaia | Araguaia | Tocantins-Araguaia |

3.4 Sequenciamento

Após a amplificação, os produtos de PCR foram purificados usando Polietileno Glicol, seguindo o protocolo descrito por Sambrook, Fritish e Maniatis, (2001). Os produtos puros foram sequenciados, nos dois sentidos, usando o serviço comercial da MACROGEN, Inc. (www.macrogen.com).

3.5 Análise dos dados

As sequências obtidas foram editadas e os consensos foram construídos com a ajuda do programa BioEdit (HALL, 1999). O alinhamento das sequências foi feito pelo programa Clustal X2 (LARKIN et al., 2007). Foram usados os parâmetros padrão, e não houve dificuldades, devido a foto dos alinhamentos obtidos não possuírem *gaps*.

3.5.1 DNA barcode

Cada perfil *barcode* COI corresponde a uma única espécie, pelo qual deve cumprir diversos critérios como: baixa distância intraespecífica, uma monofilia fortemente sustentada e alta distância interespecífica. Com toda a informação obtida anteriormente se poderá determinar a especificidade e funcionalidade dos perfis COI como códigos de barra de DNA para as espécies (ou linhagens) da família Anostomidae.

Para a avaliação do DNA *barcode* foram sequenciados 382 indivíduos de 115 linhagens (70 espécies nominais). Adicionalmente, foram incluídos sequências obtidas na base de dados da BOLD, que possuam o eletroferograma, informação do lugar de coleta, voucher ou fotos e que não apresentem inconsistências na análise (Apêndice B). Quando as espécies possuíam distribuição em mais de uma bacia, e não houve compartilhamento de haplótipos entre as mesmas, as bacias foram consideradas como linhagens diferentes. Assim na análise final foram testadas 430 sequências de 122 linhagens (75 espécies nominais).

Inicialmente foi construída uma árvore de NJ, para observar o agrupamento das sequências, no programa MEGA 6 (TAMURA et al., 2013). As análises de distância foram estimadas usando-se o modelo K2P. Esse modelo foi escolhido por ser o padrão para as análises do DNA *barcode*, e assim permitir a comparação dos nossos resultados com os da literatura. Foram calculados valores máximos e mínimos, assim como médias, das distâncias intraespecíficas e interespecíficas. Foi também calculado o valor da distância intra-clado, onde foram usadas somente as espécies que pertencem ao mesmo clado (informação obtida da filogenia molecular proposta no presente trabalho). Todos os valores foram calculados mediante o desenvolvimento de um programa escrito em *Python*. Todas as sequências e informações dos indivíduos foram submetidas ao banco de dados do sistema BOLD.

Caracteres diagnósticos foram obtidos para os pares de linhagens que possuíam baixa distância interespecífica. Para isso foi usado o programa DnaSP v5.10.1 (LIBRADO; ROZAS, 2009)

3.5.2 *Análise filogenética*

Inicialmente, cada gene foi analisado separadamente por meio de árvores de distância, usando o algoritmo do *Neighbor-joining* (NJ) no *software* MEGA 6 (TAMURA et al., 2013), para verificar potenciais erros de sequenciamento, contaminação cruzada acidental, ou por tubos erroneamente etiquetados. Todas as sequências que apresentaram incongruências entre as árvores foram sequenciadas novamente (por exemplo, sequências de um clado ou gênero agrupadas com espécies de um gênero ou clado não-relacionados).

A reconstrução da filogenia foi realizada usando diversos métodos de reconstrução filogenética. Foi realizada uma análise de Máxima Parcimônia (MP) para as sequências concatenadas no programa PAUP * 4.0b10 (SWOFFORD, 2003), usando-se um algoritmo de busca heurística, a partir de uma árvore inicial obtida por *stepwise addition* e usando-se o algoritmo *Tree-Bisection-Reconnection* (TBR) para o *Branch-swapping* (SWOFFORD, 2003). O suporte dos nós foi estimado mediante 1.000 réplicas de *bootstrap*. Também foi realizada uma árvore de Máxima Verossimilhança (ML) para as sequências concatenadas no programa RAxML implementado no XSEDE (STAMATAKIS; HOOVER; ROUGEMONT, 2008; STAMATAKIS, 2006) através dos servidores web *CIPRES Science Gateway* (MILLER; PFEIFFER; SCHWARTZ, 2010), usando um modelo de partição mista, em que cada gene foi uma partição diferente. A análise foi conduzida usando o modelo de substituição nucleotídica GTR+G, o único disponível em RAxML (STAMATAKIS; HOOVER; ROUGEMONT, 2008). Todos os outros parâmetros utilizados foram os valores padrão. O suporte para os nós foi estimado através de 1.000 réplicas de *bootstrap*.

Uma árvore de espécies bayesiana multiloco (*species tree*, BST) foi estimada utilizando *BEAST (*Star-BEAST*) (HELED; DRUMMOND, 2010). Nessa análise, as árvores de genes são estimadas individualmente e são incorporados em uma única árvore de espécie, baixo um modelo coalescente, proporcionando uma estimativa mais acertada das que a obtidas usando concatenação de genes (HELED; DRUMMOND, 2010). Para otimizar a análise, os parâmetros do modelo de substituição nucleotídica foram selecionados usando-se o programa jModeltest 2 (DARRIBA et al., 2012) e seguindo o critério *Bayesian Information Criterion*, o qual é mais adequado para a inferência bayesiana. Os modelos de substituição nucleotídica selecionados foram GTR+I+G, GTR+I+G, K80+I+G, K80+I+G e K80+I+G para COI, CytB, Myh6, RAG1 e RAG2, respectivamente. Foi usado o algoritmo do *Yule*. Foram usadas 500.000.000 de gerações de cadeias de Markov Monte Carlo (MCMC), com uma amostragem de 5.000 e um *burn-in* de 5.000. As amostragens realizadas sempre foram na fase estacionária das MCMC. A convergência de análise e o tamanho da amostragem (recomenda-se valores acima de 200) foram avaliados em Tracer v.1.6 (RAMBAUT et al., 2014). Todos os outros parâmetros foram mantidos no padrão. Todas as árvores obtidas nos diversos métodos

foram enraizadas usando *Anodus orinocensis* (Hemiodontidae), cuja família é filogeneticamente próxima da superfamília Anostomoidea (OLIVEIRA et al., 2011).

Uma árvore de inferência bayesiana unicamente o conjunto de dado do *barcode* foi estimada no programa BEAST 2.1.3 (BOUCKAERT et al., 2014). Essa árvore tem o intuito de analisar a posição filogenética das linhagens que não foram incluídas na análise multiloco. Foram usadas 50.000.000 de gerações de MCMC, com uma amostragem de 5.000 e um *burn-in* de 5.000.

Para se testar a monofilia do gênero *Leporinus*, assim como a do grupo com cromossomos sexuais, foram implementados o teste de Kishino e Hasegawa, (1989) (KH) e o teste de Shimodaira e Hasegawa, (1999) (SH) no programa PAUP (SWOFFORD, 2003). Esses testes estimam a significância estatística da diferença em log-verossimilhança entre duas árvores filogenéticas com topologia distintas. Em todos os casos foram comparadas as topologias obtidas restringindo ou não a monofilia recíproca.

3.5.3 Filogeografia dos *Leporinus* com cromossomos sexuais

A análise filogeográfica foi interespecífica, com o intuito de informar os processos históricos que levaram a especiação dentro do grupo. Originalmente o sistema ZZ/ZW foi descrito para 7 espécies: *Leporinus conirostris*, *L. cf. elongatus* (sinonimizada em Britski et al. (2012), como *L. obtusidens*), *L. macrocephalus*, *L. obtusidens* (descrita em Britski et al. (2012), como *L. piavussu*), *L. elongatus* Valenciennes (1850) (da bacia do Rio São Francisco, posteriormente sinonimizada com *L. obtusidens* por Britski et al. (2012)), *L. reinhardti* e *L. trifasciatus*. Além dessas espécies foi incluída na análise: *L. cf. trifasciatus* da bacia do Rio Tocantins, *L. cf. obtusidens* Paraguai da bacia do Rio Paraguai. Também foram incluídas *L. elongatus* e *Leporinus garmani*, (ambas espécies da bacia do Rio Jequitinhonha), *L. muyscorum* Steindachner, 1901 (da bacia do Rio Magdalena), *L. cf. muyscorum* (da bacia do Rio Orinoco) e *L. cf. reinhardti* (da bacia do Rio Itapicuru). Estas espécies nunca foram estudadas citogeneticamente, mas nossa análise filogenética mostra que são parte do grupo de *Leporinus* com cromossomos sexuais (Figuras 6, 7 e 8). Foram incluídas também amostras de indivíduos de *L. conirostris* de duas bacias hidrográficas diferentes, dada a alta divergência genética das mesmas (Tabela 3), foram consideradas duas linhagens

diferentes (ver discussão 5.2). Assim, a nossa análise foi realizada com 15 linhagens no grupo.

Para a realização da filogeografia foi realizada uma filogenia molecular usando os mesmos genes empregados na análise filogenética. Como grupo externo foram usados *Leporinus striatus* Kner, 1858, *L. cf. striatus* e *Abramites hypselonotus* (Günther, 1868), seguindo a nossa filogenia molecular (Figuras 6, 7 e 8). Estimativas dos tempos de divergência foram obtidos no programa BEAST 2.1.3 (BOUCKAERT et al., 2014) utilizando o BST. As análises foram realizadas usando um relógio molecular estrito, o algoritmo do *Calibrated Yule*, 250.000.000 de gerações de cadeias (MCMC), uma amostragem de 5.000 e um *burn-in* de 5.000. A árvore foi calibrada usando o surgimento da Cordilheira Oriental, evento que isolou a bacia do Rio Magdalena. Este evento foi datado em 12 Ma por Albert, Lovejoy e Crampton (2006). Finalmente foi comparado o padrão filogenético com os padrões biogeográficos, na procura de possíveis processos históricos (formação de bacias, capturas de cabeceiras, incursões marinhas, formação de arcos, etc.) que possam explicar a especiação no grupo.

Foi realizada uma análise estatística de dispersão-vicariância (S-DIVA) (YU; HARRIS; HE, 2010) no programa de reconstrução de estados ancestrais RASP 3.02 (YU et al., 2015). A análise foi feita usando uma amostragem aleatória de 100 árvores obtidas a partir da amostragem do BST. Na distribuição das linhagens foi permitido a conexão entre os rios de acordo a paleogeografia do continente. Assim, foi colocada uma conexão entre o Magdalena e o Amazonas (proto-Amazonas-Orinoco), entre o Amazonas e os rios Tocantins, Orinoco, Paraguai e São Francisco, entre o Paraná e os rios São Francisco, Paraguai e Paraíba do Sul, entre o São Francisco e os rios Doce e Jequitinhonha, e finalmente entre os rios costeiros (Doce, Itapicuru, Paraíba do sul e Jequitinhonha).

4 RESULTADOS

4.1 DNA Barcode

Foram obtidas 430 sequências para o gene COI, distribuídas em 122 linhagens, incluindo 75 espécies válidas, que representa o 50% das espécies aproximadamente. A média de indivíduos por linhagem foi de 3,5.

A média normalizada da distância intraespecífica foi de 0,106% enquanto a média intra-clado (contando unicamente as distâncias entre espécies de um mesmo clado) foi de 5,95% (Tabela 2). Esse valor foi inferior ao obtido considerando os gêneros válidos (11,16%) (Tabela 2).

Tabela 2 - Valores de distância mínima, média, máxima e o desvio padrão, considerando vários níveis de agrupamento. Todos as médias são normalizadas.

| | Mínima (%) | Média (%) | Máxima (%) |
|-------------------------|------------|-----------|------------|
| Intraespecíficas | 0 | 0,106 | 0,64 |
| Intra-clado | 0,319 | 5,95 | 15,39 |
| Intragenérica | 0,319 | 11,16 | 22,53 |
| Intrafamiliar | 0,319 | 14,33 | 25,97 |

Na Figura 2 é mostrada a distribuição das frequências das distâncias intraespecíficas e Intra-clado, evidenciando a ausência de um *barcode gap*. No entanto, se consideramos os casos em que a distância mínima interespecífica é maior que a máxima intraespecífica (Figura 3), o DNA *barcode* mostrou-se eficiente para o grupo, conseguindo diferenciar com eficácia 96,7% das linhagens.

No Apêndice C é mostrada a árvore de distância NJ, onde pode ser observado o agrupamento dos indivíduos nas linhagens. Na tabela 3, é mostrada um resumo das distâncias por cada espécie, além da linhagem mais próxima.

Durante a análise dos resultados foi notado que o valor tradicional de limiar para separar linhagens (2%) foi muito alto, sendo que 54 das linhagens possuem mínimas interespecíficas menores a esse valor. Como alternativa, foi incluída a proposta de 10 vezes o valor da média intraespecífica (1,06%) (HEBERT et al., 2003). Contudo, 39 linhagens possuem valores de distância mínima interespecíficas inferiores a esse limiar, incluindo cinco pares de espécies taxonomicamente válidas e morfologicamente diagnosticáveis. Por último foi proposto o como limiar o menor valor entre duas espécies taxonomicamente validas. Esse último valor corresponderia a *Hypomasticus pachycheilus* e *L. britskii* Feitosa, Santos e Birindelli, 2011 (0,479%) (Tabela 3). Ainda assim, encontramos seis linhagens que possuem valores inferiores (Tabela 3 e Figura 4), e seis que possuem máxima intraespecífica maior que esse limiar (Tabela 3 e Figura 4).

Figura 2 - A) Gráfica de distribuição das frequências das distâncias intraespecíficas (Vermelho) e Intra-clado. B) Detalhe da faixa de sobreposição entre as duas distâncias. As distâncias genéticas são dadas em porcentagem.

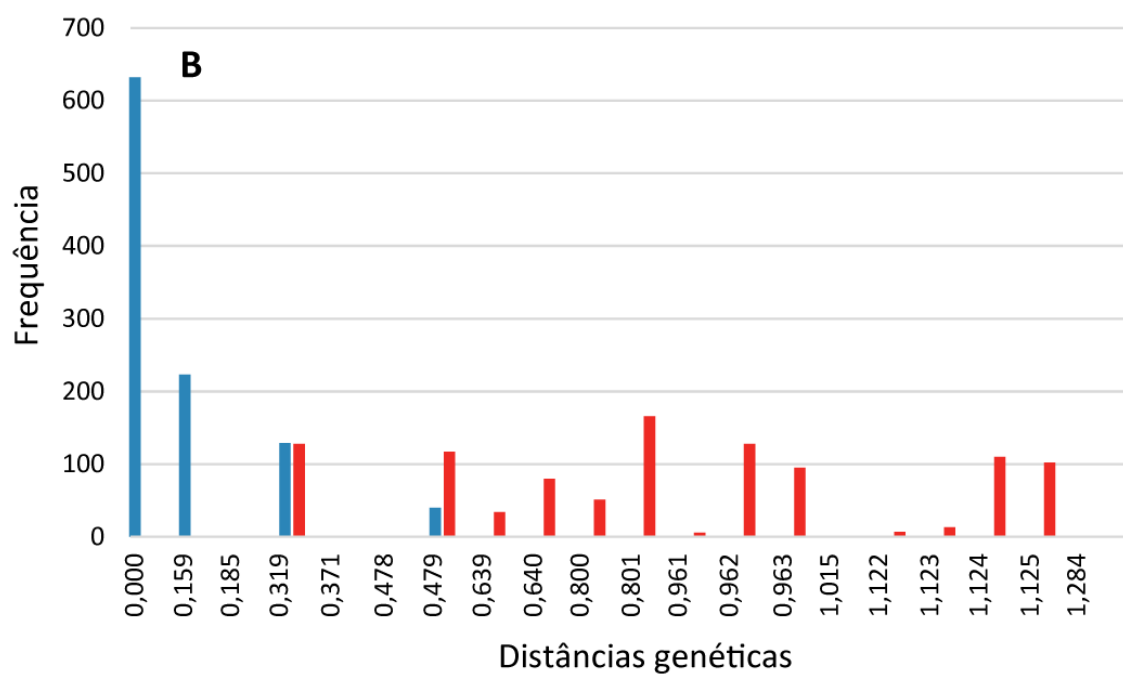
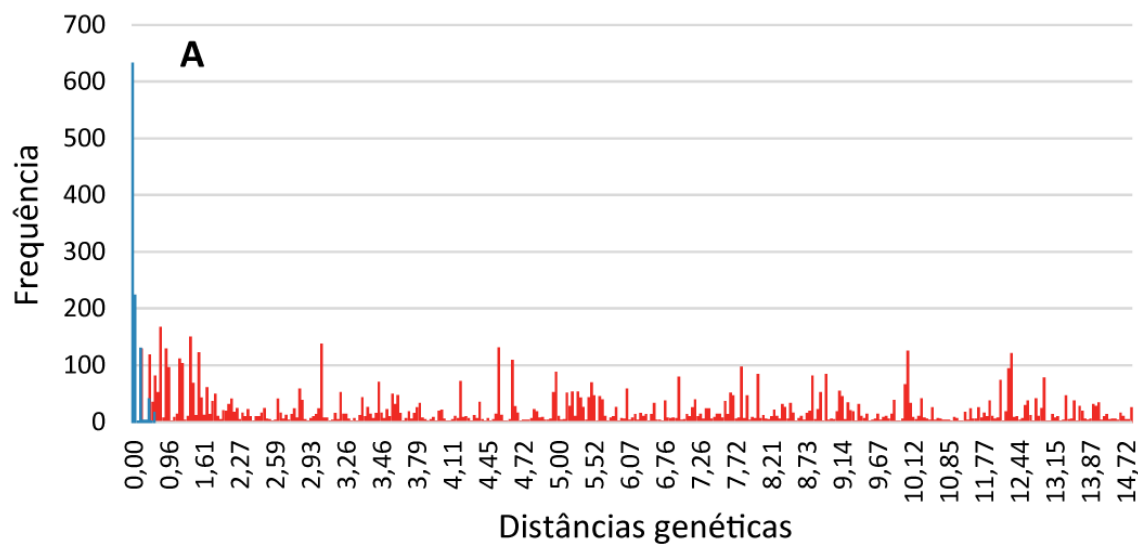


Figura 3 - Gráfico de dispersão da distância mínima interespecífica versus máxima intraespecífica. A linha vermelha indica o ponto em que ambas as distâncias possuem valores iguais. Os pontos embaixo da linha vermelha são as linhagens não identificáveis pelo critério de distância.

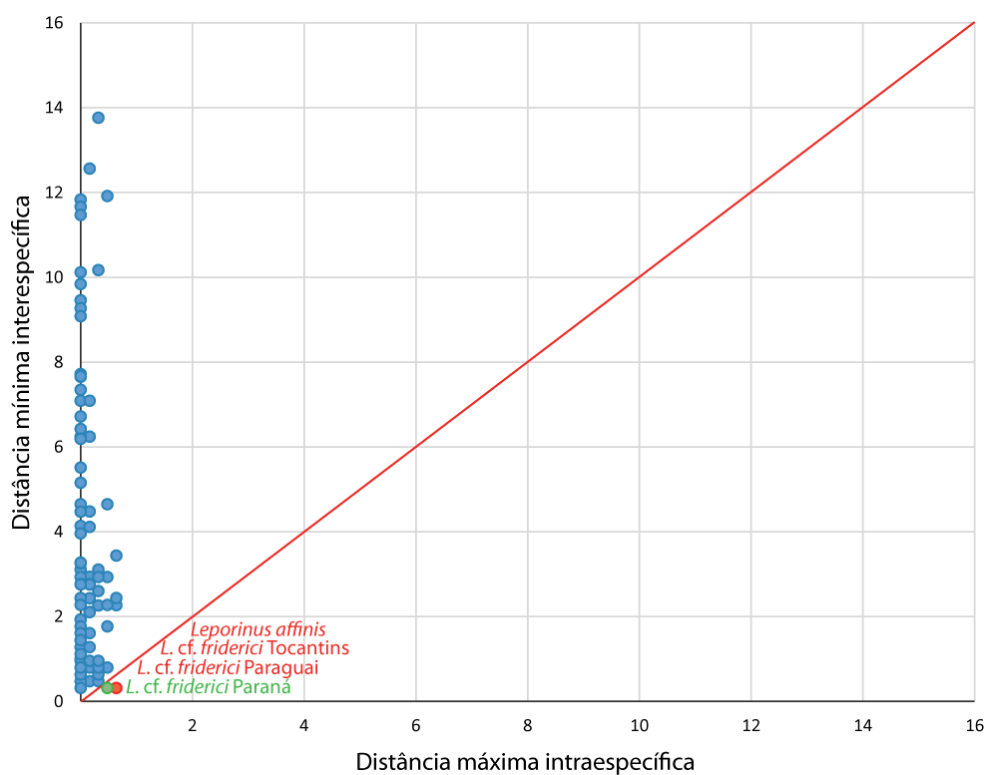


Tabela 3 - Distância máxima intraespecífica, média intraespecífica, mínima interespecífica e a linhagem mais próxima de cada linhagem avaliada. Os valores são dados em porcentagem.

| Linhagem | Máxima intraespecífica | Média intraespecífica | Mínima interespecífica | Linhagem mais próxima |
|----------------------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|----------------------------------|
| <i>Abramites hypselonotus</i> | 0,159 | 0,080 | 12,569 | <i>Leporinus melanopleurodes</i> |
| <i>Anostomoides laticeps</i> | 0,319 | 0,213 | 10,175 | <i>Leporinus britskii</i> |
| <i>Anostomus anostomus</i> | - | - | 11,839 | <i>Pseudanos gracilis</i> |
| <i>Anostomus ternetzi</i> | 0,319 | 0,319 | 13,766 | <i>Anostomus anostomus</i> |
| <i>Hypomasticus mormyrops</i> | 0,319 | 0,127 | 3,111 | <i>Leporinus cf. copelandii</i> |
| <i>Hypomasticus pachycheilus</i> | - | - | 0,479 | <i>Leporinus britskii</i> |
| <i>Laemolyta cf. fernandezi</i> | 0,159 | 0,159 | 2,111 | <i>Laemolyta proxima</i> |
| <i>Laemolyta cf. proxima</i> | 0,000 | 0,000 | 0,800 | <i>Laemolyta proxima</i> |
| <i>Laemolyta fernandezi</i> | 0,000 | 0,000 | 0,962 | <i>Laemolyta proxima</i> |
| <i>Laemolyta garmani</i> | 0,000 | 0,000 | 2,767 | <i>Laemolyta taeniata 2</i> |
| <i>Laemolyta proxima</i> | 0,479 | 0,239 | 0,800 | <i>Laemolyta sp.1</i> |
| <i>Laemolyta taeniata 1</i> | 0,000 | 0,000 | 1,611 | <i>Laemolyta taeniata 2</i> |

| | | | | |
|---|-------|-------|--------|--|
| <i>Laemolyta taeniata</i> 2 | 0,159 | 0,106 | 1,611 | <i>Laemolyta taeniata</i> 1 |
| <i>Leporellus cf. vittatus</i> | 0,000 | 0,000 | 6,248 | <i>Leporellus pictus</i> |
| <i>Leporellus pictus</i> | 0,159 | 0,095 | 6,248 | <i>Leporellus cf. vittatus</i> |
| <i>Leporellus sp.</i> | - | - | 6,428 | <i>Leporellus cf. vittatus</i> |
| <i>Leporellus vittatus</i> | - | - | 7,721 | <i>Leporellus cf. vittatus</i> |
| <i>Leporinus affinis</i> | 0,640 | 0,411 | 0,319 | <i>Leporinus cf. fasciatus</i> Tapajós |
| <i>Leporinus agassizi</i> 1 | 0,159 | 0,106 | 0,479 | <i>Leporinus agassizi</i> 2 |
| <i>Leporinus agassizi</i> 2 | 0,159 | 0,159 | 0,479 | <i>Leporinus agassizi</i> 1 |
| <i>Leporinus amae</i> | 0,000 | 0,000 | 7,092 | <i>Leporinus microphthalmus</i> |
| <i>Leporinus amazonicus</i> | - | - | 11,666 | <i>Leporinus britskii</i> |
| <i>Leporinus amblyrhynchus</i> | - | - | 7,352 | <i>Leporinus amae</i> |
| <i>Leporinus bahiensis</i> Almada | - | - | 1,937 | <i>Leporinus cf. taeniatus</i> |
| <i>Leporinus bahiensis</i> Contas | 0,479 | 0,479 | 1,775 | <i>Leporinus bahiensis</i> Jequiriça |
| <i>Leporinus bahiensis</i> Jequiriça | - | - | 1,015 | <i>Leporinus bahiensis</i> Paraguaçu |
| <i>Leporinus bahiensis</i> Paraguaçu | - | - | 1,015 | <i>Leporinus bahiensis</i> Jequiriça |
| <i>Leporinus bleheri</i> | 0,000 | 0,000 | 5,516 | <i>Leporinus cf. fasciatus</i> Xingu |
| <i>Leporinus boehlkei</i> | 0,319 | 0,319 | 2,607 | <i>Leporinus sp.</i> 03 |
| <i>Leporinus britskii</i> | - | - | 0,479 | <i>Hypomasticus pachycheilus</i> |
| <i>Leporinus brunneus</i> Madeira | 0,000 | 0,000 | 0,640 | <i>Leporinus brunneus</i> Tapajós |
| <i>Leporinus brunneus</i> Tapajós | - | - | 0,640 | <i>Leporinus brunneus</i> Madeira |
| <i>Leporinus cf. conirostris</i> | 0,000 | 0,000 | 4,141 | <i>Leporinus conirostris</i> |
| <i>Leporinus cf. copelandii</i> | 0,000 | 0,000 | 3,111 | <i>Hypomasticus mormyrops</i> |
| <i>Leporinus cf. fasciatus</i> Xingu | - | - | 2,770 | <i>Leporinus cf. fasciatus</i> Tapajós |
| <i>Leporinus cf. fasciatus</i> Tapajós | 0,000 | 0,000 | 0,319 | <i>Leporinus affinis</i> |
| <i>Leporinus cf. friderici</i> Amazonas | 0,159 | 0,159 | 0,801 | <i>Leporinus cf. friderici</i> Paraná |
| <i>Leporinus cf. friderici</i> Madeira | 0,000 | 0,000 | 0,801 | <i>Leporinus cf. friderici</i> Paraná |
| <i>Leporinus cf. friderici</i> Paraguai | 0,640 | 0,164 | 0,319 | <i>Leporinus cf. friderici</i> Paraná |
| <i>Leporinus cf. friderici</i> Paraná | 0,479 | 0,120 | 0,319 | <i>Leporinus cf. friderici</i> Paraguai |
| <i>Leporinus cf. friderici</i> São Francisco | 0,000 | 0,000 | 0,319 | <i>Leporinus cf. friderici</i> Tocantins |
| <i>Leporinus cf. friderici</i> Tapajós | - | - | 1,286 | <i>Leporinus cf. friderici</i> Amazonas |
| <i>Leporinus cf. friderici</i> Tocantins | 0,640 | 0,319 | 0,319 | <i>Leporinus cf. friderici</i> São Francisco |

| | | | | |
|--|-------|-------|--------|--|
| <i>Leporinus cf. geminis</i> | 0,319 | 0,186 | 2,267 | <i>Leporinus cf. niceforoi</i> |
| <i>Leporinus cf. lacustris</i> | 0,319 | 0,213 | 0,479 | <i>Leporinus lacustris</i> |
| <i>Leporinus cf. muyscorum</i> | - | - | 7,660 | <i>Leporinus trifasciatus</i> |
| <i>Leporinus cf. niceforoi</i> | 0,319 | 0,239 | 2,267 | <i>Leporinus sp.12</i> |
| <i>Leporinus cf. obtusidens</i> Paraguai | - | - | 2,770 | <i>Leporinus piavussu</i> |
| <i>Leporinus cf. obtusidens</i> São Francisco | 0,159 | 0,032 | 2,770 | <i>Leporinus elongatus</i> |
| <i>Leporinus cf. parae</i> | 0,000 | 0,000 | 0,800 | <i>Leporinus sp.04</i> |
| <i>Leporinus cf. octomaculatus</i> Jamanxim | - | - | 2,436 | <i>Leporinus cf. octomaculatus</i> Paraguai |
| <i>Leporinus cf. octomaculatus</i> Paraguai | 0,159 | 0,106 | 2,436 | <i>Leporinus cf. octomaculatus</i> Jamanxim |
| <i>Leporinus cf. reinhardti</i> | - | - | 0,640 | <i>Leporinus reinhardti</i> |
| <i>Leporinus cf. steindachneri</i> | - | - | 3,280 | <i>Leporinus copelandii</i> |
| <i>Leporinus cf. striatus</i> Alto Madeira | 0,000 | 0,000 | 10,124 | <i>Leporinus striatus</i> |
| <i>Leporinus cf. striatus</i> Paraguai | 0,000 | 0,000 | 4,655 | <i>Leporinus striatus</i> |
| <i>Leporinus cf. taeniatus</i> | 0,000 | 0,000 | 0,639 | <i>Leporinus taeniatus</i> |
| <i>Leporinus cf. trifasciatus</i> | 0,000 | 0,000 | 6,202 | <i>Leporinus trifasciatus</i> |
| <i>Leporinus conirostris</i> | 0,000 | 0,000 | 4,141 | <i>Leporinus cf. conirostris</i> |
| <i>Leporinus copelandii</i> | 0,159 | 0,159 | 3,100 | <i>Leporinus cf. steindachneri</i> |
| <i>Leporinus cylindriformis</i> | - | - | 3,963 | <i>Leporinus vanzoi</i> |
| <i>Leporinus desmotes</i> Araguaia | - | - | 0,319 | <i>Leporinus desmotes</i> Jamanxim |
| <i>Leporinus desmotes</i> Culuene | 0,000 | 0,000 | 3,260 | <i>Leporinus desmotes</i> Araguaia |
| <i>Leporinus desmotes</i> Jamanxim | 0,000 | 0,000 | 0,319 | <i>Leporinus desmotes</i> Araguaia |
| <i>Leporinus desmotes</i> Madeira | - | - | 0,800 | <i>Leporinus desmotes</i> Jamanxim |
| <i>Leporinus elongatus</i> | 0,159 | 0,053 | 2,770 | <i>Leporinus sp.08</i> |
| <i>Leporinus fasciatus</i> | 0,639 | 0,319 | 3,445 | <i>Leporinus affinis</i> |
| <i>Leporinus garmani</i> | 0,000 | 0,000 | 7,671 | <i>Leporinus piavussu</i> |
| <i>Leporinus geminis</i> | 0,000 | 0,000 | 5,157 | <i>Leporinus cf. niceforoi</i> |
| <i>Leporinus lacustris</i> | 0,319 | 0,160 | 0,479 | <i>Leporinus cf. lacustris</i> |
| <i>Leporinus macrocephalus</i> | 0,000 | 0,000 | 4,474 | <i>Leporinus trifasciatus</i> |
| <i>Leporinus melanopleurodes</i> | - | - | 9,465 | <i>Leporinus amae</i> |
| <i>Leporinus microphthalmus</i> | 0,159 | 0,106 | 7,092 | <i>Leporinus amae</i> |
| <i>Leporinus muyscorum</i> | 0,000 | 0,000 | 11,472 | <i>Leporinus geminis</i> |

| | | | | |
|--|-------|-------|--------|--|
| <i>Leporinus obtusidens</i> | 0,159 | 0,032 | 2,942 | <i>Leporinus</i> sp.08 |
| <i>Leporinus octofasciatus</i> | 0,479 | 0,319 | 2,938 | <i>Leporinus paranensis</i> |
| <i>Leporinus octomaculatus</i> | - | - | 2,938 | <i>Leporinus</i> cf. <i>octomaculatus</i> Paraguai |
| <i>Leporinus ortomaculatus</i> | - | - | 3,271 | <i>Leporinus</i> sp.13 |
| <i>Leporinus paranensis</i> | 0,319 | 0,127 | 2,938 | <i>Leporinus bahiensis</i> Jequiriça |
| <i>Leporinus pearsoni</i> | 0,000 | 0,000 | 9,276 | <i>Leporinus</i> sp.20 |
| <i>Leporinus piau</i> | 0,000 | 0,000 | 1,288 | <i>Leporinus</i> sp.10 |
| <i>Leporinus piavussu</i> | 0,000 | 0,000 | 2,770 | <i>Leporinus</i> cf. <i>obtusidens</i> Paraguai |
| <i>Leporinus reinhardti</i> | 0,000 | 0,000 | 0,640 | <i>Leporinus</i> cf. <i>reinhardti</i> |
| <i>Leporinus reticulatus</i> | 0,000 | 0,000 | 9,088 | <i>Leporinus tristriatus</i> |
| <i>Leporinus</i> sp. 03 | 0,640 | 0,319 | 2,273 | <i>Leporinus</i> sp.06 |
| <i>Leporinus</i> sp. 04 | 0,159 | 0,080 | 0,800 | <i>Leporinus</i> cf. <i>parae</i> |
| <i>Leporinus</i> sp. 05 | 0,159 | 0,064 | 1,286 | <i>Leporinus</i> sp.18 |
| <i>Leporinus</i> sp. 06 | 0,319 | 0,091 | 0,801 | <i>Leporinus</i> sp.10 |
| <i>Leporinus</i> sp. 10 | 0,319 | 0,319 | 0,801 | <i>Leporinus</i> sp.06 |
| <i>Leporinus</i> sp. 13 | 0,000 | 0,000 | 3,271 | <i>Leporinus ortomaculatus</i> |
| <i>Leporinus</i> sp. 14 | 0,000 | 0,000 | 1,122 | <i>Leporinus</i> sp.19 |
| <i>Leporinus</i> sp. 18 | 0,000 | 0,000 | 2,443 | <i>Leporinus tristriatus</i> |
| <i>Leporinus</i> sp. 19 | - | - | 1,122 | <i>Leporinus</i> sp.18 |
| <i>Leporinus</i> sp. 20 | - | - | 1,775 | <i>Leporinus</i> sp.04 |
| <i>Leporinus steindachneri</i> | 0,159 | 0,106 | 4,481 | <i>Hypomasticus mormyrops</i> |
| <i>Leporinus striatus</i> | 0,479 | 0,226 | 4,655 | <i>Leporinus</i> cf. <i>striatus</i> Paraguai |
| <i>Leporinus taeniatus</i> | 0,319 | 0,159 | 0,639 | <i>Leporinus</i> cf. <i>taeniatus</i> |
| <i>Leporinus tigrinus</i> | 0,000 | 0,000 | 6,194 | <i>Leporinus bleheri</i> |
| <i>Leporinus trifasciatus</i> | 0,000 | 0,000 | 4,474 | <i>Leporinus macrocephalus</i> |
| <i>Leporinus tristriatus</i> | - | - | 2,443 | <i>Leporinus</i> sp.14 |
| <i>Leporinus unitaeniatus</i> | 0,159 | 0,080 | 2,763 | <i>Leporinus vanzoi</i> |
| <i>Leporinus vanzoi</i> | - | - | 2,763 | <i>Leporinus unitaeniatus</i> |
| <i>Leporinus venerei</i> | 0,319 | 0,128 | 0,963 | <i>Leporinus</i> sp.04 |
| <i>Pseudanos</i> cf. <i>trimaculatus</i> | - | - | 1,448 | <i>Pseudanos trimaculatus</i> 2 |
| <i>Pseudanos gracilis</i> | - | - | 9,844 | <i>Pseudanos</i> cf. <i>trimaculatus</i> |
| <i>Pseudanos trimaculatus</i> 1 | - | - | 1,613 | <i>Pseudanos trimaculatus</i> 2 |
| <i>Pseudanos trimaculatus</i> 2 | - | - | 1,448 | <i>Pseudanos</i> cf. <i>trimaculatus</i> |
| <i>Rhytidodus argenteofuscus</i> | 0,479 | 0,319 | 11,919 | <i>Leporinus britskii</i> |

| | | | | |
|---------------------------------|-------|-------|-------|-------------------------------|
| <i>Rhytidus lauzannei</i> | 0,000 | 0,000 | 0,801 | <i>Rhytidus microlepis</i> |
| <i>Rhytidus microlepis</i> | 0,319 | 0,159 | 0,801 | <i>Rhytidus lauzannei</i> |
| <i>Schizodon cf. nasutus</i> | 0,319 | 0,191 | 0,963 | <i>Schizodon nasutus</i> |
| <i>Schizodon cf. vittatus</i> | - | - | 2,277 | <i>Schizodon fasciatus</i> |
| <i>Schizodon borellii</i> | 0,159 | 0,106 | 0,962 | <i>Schizodon intermedius</i> |
| <i>Schizodon dissimilis 1</i> | 0,000 | 0,000 | 0,801 | <i>Schizodon dissimilis 2</i> |
| <i>Schizodon dissimilis 2</i> | 0,319 | 0,064 | 0,801 | <i>Schizodon dissimilis 1</i> |
| <i>Schizodon fasciatus</i> | 0,479 | 0,120 | 2,277 | <i>Schizodon cf. vittatus</i> |
| <i>Schizodon intermedius</i> | 0,159 | 0,053 | 0,962 | <i>Schizodon borellii</i> |
| <i>Schizodon jacuiensis</i> | - | - | 6,722 | <i>Schizodon cf. nasutus</i> |
| <i>Schizodon knerii</i> | 0,159 | 0,064 | 2,105 | <i>Schizodon cf. nasutus</i> |
| <i>Schizodon nasutus</i> | 0,319 | 0,213 | 0,963 | <i>Schizodon cf. nasutus</i> |
| <i>Schizodon scotorhabdotus</i> | 0,159 | 0,159 | 4,117 | <i>Schizodon fasciatus</i> |
| <i>Schizodon vittatus</i> | 0,640 | 0,388 | 2,440 | <i>Schizodon cf. vittatus</i> |

A figura 4 mostra, em um gráfico de dispersão, a máxima distância intraespecífica versus a mínima distância por cada linhagem, indicamos também os três valores de limiar implementados. Na figura 5 é mostrado o mesmo gráfico mas para cada espécie válida nominal. Na tabela 4 é mostrado em maior detalhe os casos em que existe incongruência com os limiares usados, para as espécies nominais. Nas figuras 4 e 5 o valor limiar é traçado para formar quatro grandes grupos que foram definidos por Hebert et al. (2004). O limiar finalmente adoptado foi o de 0,479%, por apresentar a menor quantidade de casos problemáticos.

As tabelas 5 e 6 mostram os caracteres diagnósticos para os dois casos em que a distância intraespecífica foi superior a interespecífica.

Figura 4 - Gráfico de dispersão da distância mínima interespecífica versus máxima intraespecífica. São indicados os quatro quadrantes descrito por Hebert et al. (2004). Os valores de limiar considerados foram A) 2%, B) 1% e C) 0,48%.

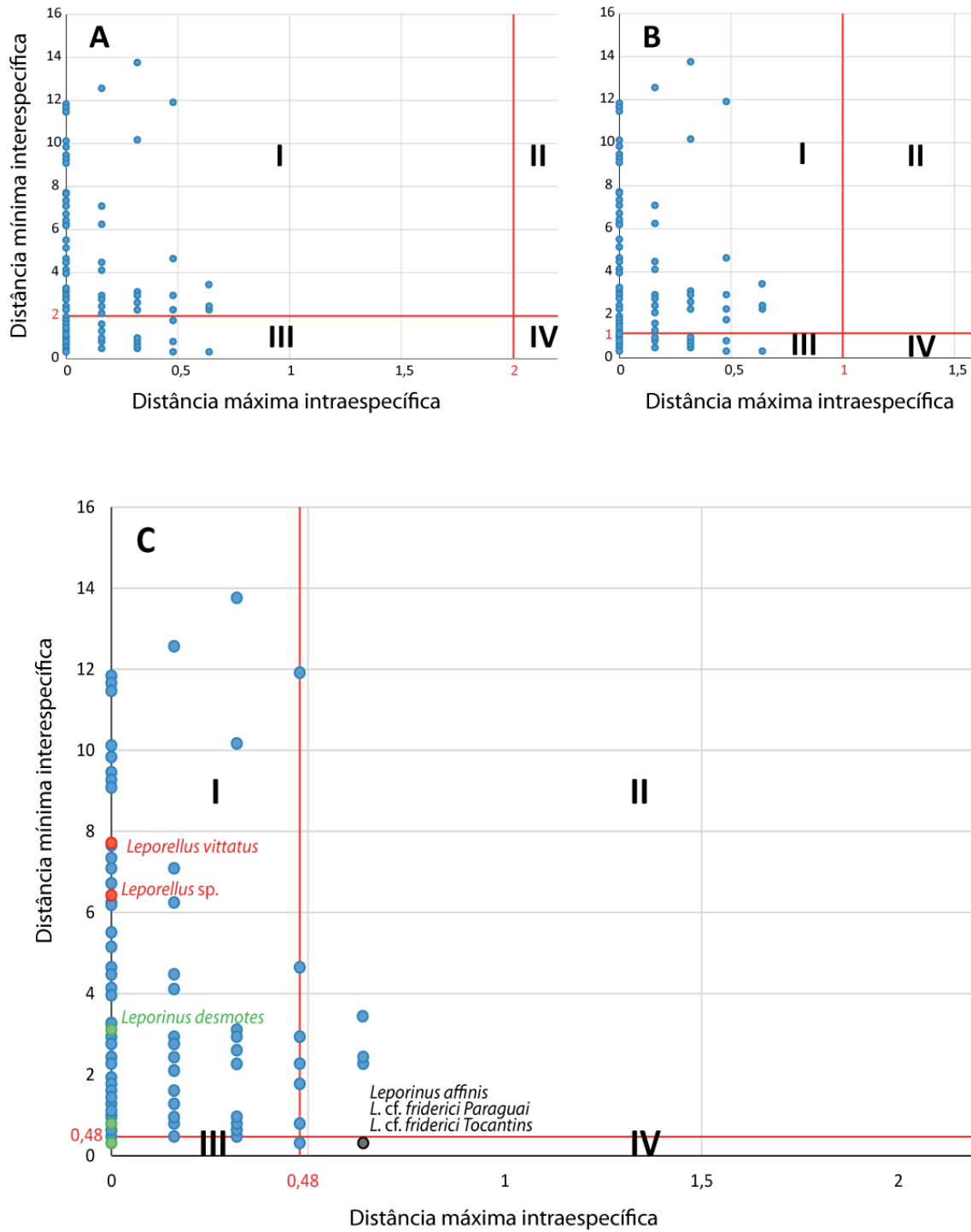


Figura 5 - Gráfico de dispersão da distância mínima interespecífica versus máxima intraespecífica. A análise foi realizada considerando as espécies nominais sem separar em linhagens. Os valores de limiar considerados foram A) 1% e 2% e B) 0,48%.

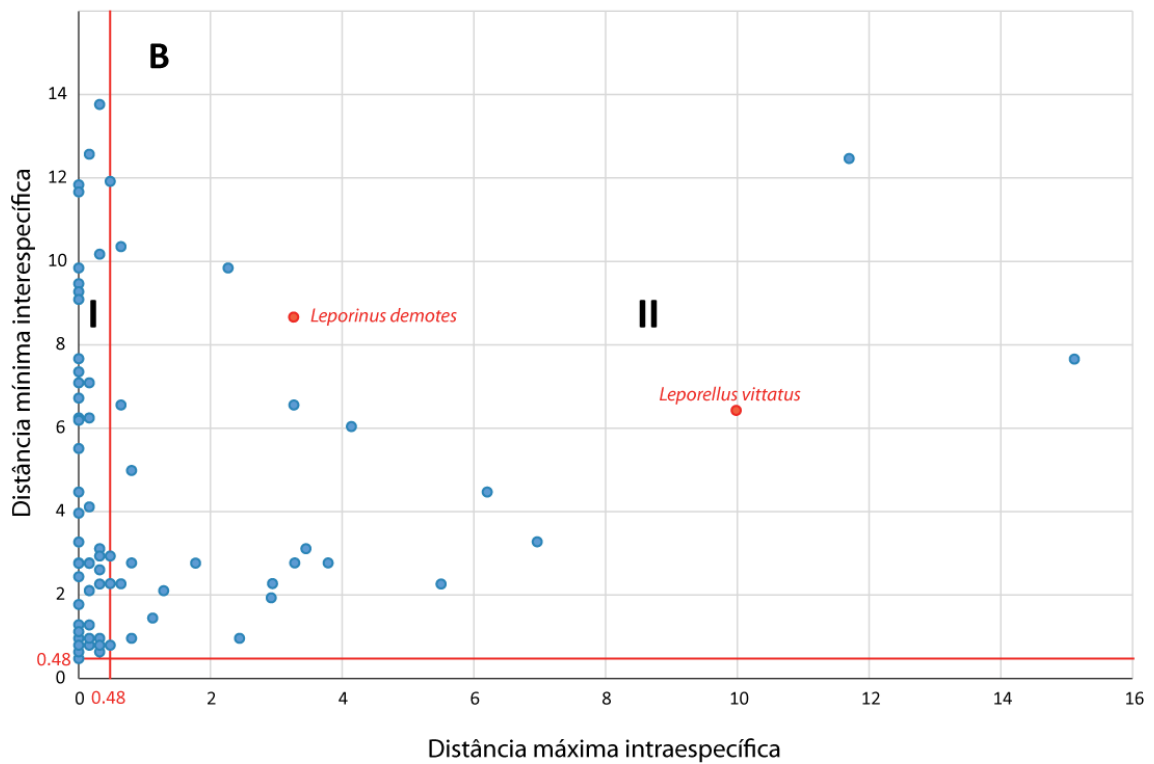
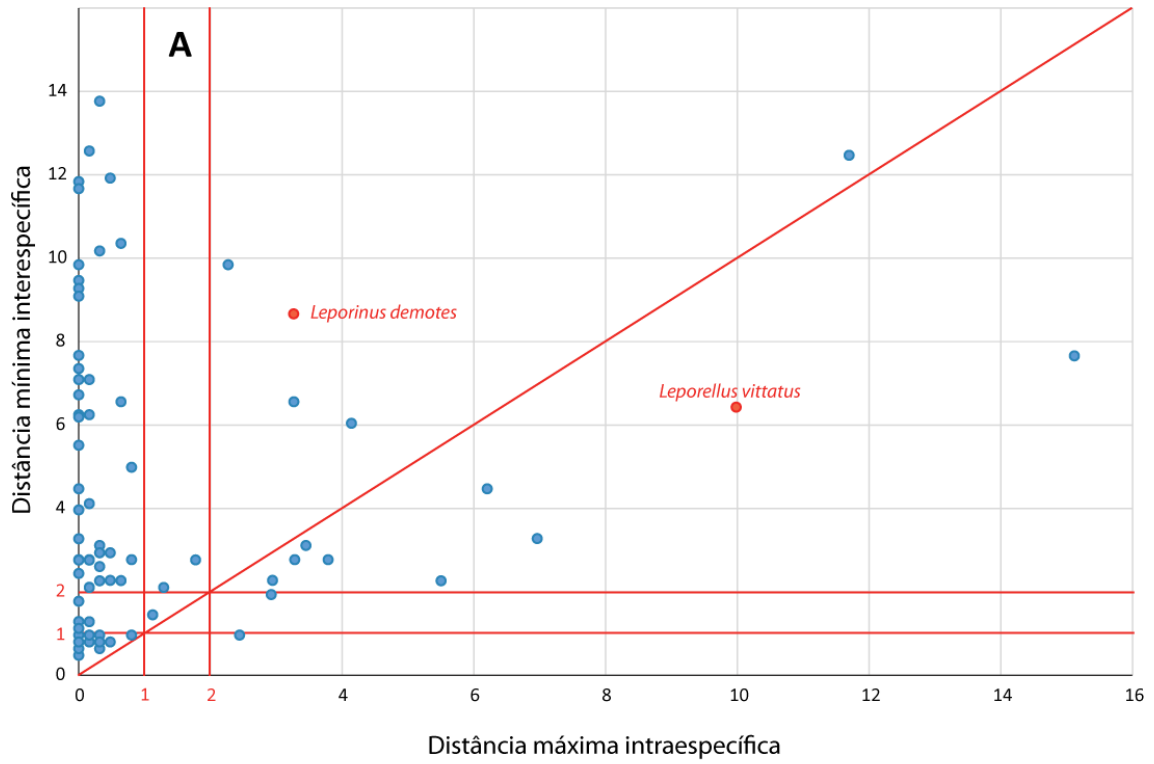


Tabela 4 - Distância máxima intraespecífica, média intraespecífica, mínima interespecífica e a linhagem mais próxima. Análise realizada considerando as espécies validas (sem dividir em linhagens) com maiores valores de máxima intraespecífica. Os valores são dados em porcentagem.

| Espécie | Máxima intraespecífica | Média intraespecífica | Mínima interespecífica | Espécie mais próxima |
|---------------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|
| <i>Leporinus muyscorum</i> | 15,115 | 7,558 | 7,660 | <i>Leporinus trifasciatus</i> |
| <i>Leporinus striatus</i> | 11,696 | 4,869 | 12,467 | <i>Leporinus</i> sp.13 |
| <i>Leporellus vittatus</i> | 9,981 | 9,981 | 6,428 | <i>Leporellus</i> cf. <i>vittatus</i> |
| <i>Leporellus steindachneri</i> | 6,961 | 3,473 | 3,111 | <i>Leporinus copelandii</i> |
| <i>Leporinus trifasciatus</i> | 6,202 | 3,544 | 4,474 | <i>Leporinus macrocephalus</i> |
| <i>Leporinus geminis</i> | 5,501 | 2,888 | 2,267 | <i>Leporinus</i> cf. <i>niceforoi</i> |
| <i>Leporinus conirostris</i> | 4,141 | 2,209 | 6,041 | <i>Leporinus obtusidens</i> |
| <i>Leporinus fasciatus</i> | 3,785 | 1,398 | 2,770 | <i>Leporinus affinis</i> |
| <i>Leporinus copelandii</i> | 3,450 | 2,267 | 3,111 | <i>Hypomasticus mormyrops</i> |
| <i>Leporinus obtusidens</i> | 3,280 | 1,581 | 2,770 | <i>Leporinus elongatus</i> |
| <i>Leporinus octomaculatus</i> | 3,267 | 2,004 | 6,560 | <i>Leporinus</i> sp.14 |
| <i>Leporinus desmotes</i> | 3,263 | 1,983 | 8,665 | <i>Leporinus bleheri</i> |
| <i>Schizodon vittatus</i> | 2,942 | 0,890 | 2,277 | <i>Schizodon fasciatus</i> |
| <i>Leporinus bahiensis</i> | 2,922 | 2,007 | 1,937 | <i>Leporinus</i> cf. <i>taeniatus</i> |
| <i>Leporinus</i> cf. <i>friderici</i> | 2,440 | 0,772 | 0,962 | <i>Leporinus agassizi</i> |
| <i>Pseudanos trimaculatus</i> | 2,267 | 1,776 | 9,844 | <i>Pseudanos gracilis</i> |
| <i>Laemolyta taeniata</i> | 1,775 | 1,064 | 2,767 | <i>Laemolyta garmani</i> |
| <i>Schizodon nasutus</i> | 1,288 | 0,712 | 2,105 | <i>Schizodon knerii</i> |
| <i>Leporinus lacustris</i> | 1,124 | 0,457 | 1,452 | <i>Leporinus</i> sp.10 |
| <i>Leporinus affinis</i> | 0,801 | 0,453 | 2,770 | <i>Leporinus fasciatus</i> |
| <i>Leporinus agassizi</i> | 0,801 | 0,448 | 0,962 | <i>Leporinus</i> cf. <i>friderici</i> |
| <i>Schizodon dissimilis</i> | 0,801 | 0,424 | 4,989 | <i>Schizodon fasciatus</i> |
| <i>Leporinus brunneus</i> | 0,640 | 0,427 | 10,354 | <i>Hypomasticus pachycheilus</i> |
| <i>Leporinus</i> sp.3 | 0,640 | 0,319 | 2,273 | <i>Leporinus</i> sp.16 |
| <i>Leporinus reinhardti</i> | 0,640 | 0,160 | 6,560 | <i>Leporinus copelandii</i> |
| <i>Leporinus octofasciatus</i> | 0,479 | 0,319 | 2,938 | <i>Leporinus paranensis</i> |
| <i>Rhytidus argenteofuscus</i> | 0,479 | 0,319 | 11,919 | <i>Leporinus britskii</i> |
| <i>Laemolyta proxima</i> | 0,479 | 0,239 | 0,800 | <i>Laemolyta</i> sp.1 |
| <i>Schizodon fasciatus</i> | 0,479 | 0,120 | 2,277 | <i>Schizodon vittatus</i> |

Tabela 5 - Caracteres diagnósticos para as linhagens de *Leporinus affinis*. Em negrito as posições exclusivas de uma linhagem.

| | Posição | |
|--|----------|----------|
| | 182 | 404 |
| <i>Leporinus affinis</i> | A | G |
| <i>Leporinus cf. fasciatus</i> Tapajós | G | A |

Tabela 6 - Caracteres diagnósticos para as linhagens de *Leporinus cf. friderici* e *L. agassizi*. Em negrito as posições exclusivas de uma linhagem.

| | Posição | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|---------|----------|---|----------|----------|----------|----------|----------|---|---|----------|----------|----------|----------|---|----------|----------|---|---|----------|----------|---|---|----------|----------|
| | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 1 | 4 | 2 | 3 | 3 | 7 | 7 | 8 | 3 | 5 | 6 | 7 | 9 | 7 | 8 | 7 | 8 | 9 | 9 | 2 | 2 | 2 | 6 | 8 | 9 |
| | | | 2 | 1 | 7 | 0 | 6 | 8 | 9 | 4 | 0 | 2 | 6 | 4 | 0 | 0 | 5 | 4 | 7 | 1 | 7 | 8 | 0 | 7 | 6 |
| <i>Leporinus agassizi</i> 1 | T | T | T | A | G | A | G | C | A | C | T | A | A | G | C | T | C | C | A | A | C | C | C | C | A |
| <i>Leporinus agassizi</i> 2 | T | T | T | A | A | A | G | C | A | C | T | G | G | G | C | T | C | C | A | A | C | C | C | C | A |
| <i>Leporinus cf. friderici</i> Amazonas | C | T | C | A | G | A | G | C | A | T | T | C | A | G | C | T | C | T | A | A | T | C | T | C | A |
| <i>Leporinus cf. friderici</i> Madeira | T | T | C | A | G | A | G | T | A | C | T | C | A | G | T | T | T | T | A | A | T | C | C | C | A |
| <i>Leporinus cf. friderici</i> Paraguai | T | T | C | A | G | A | G | C | G | C | C | C | A | G | C | C | C | T | G | A | T | C | C | C | A |
| <i>Leporinus cf. friderici</i> Paraná | T | T | C | A | G | A | G | C | G | C | T | C | A | G | C | T | C | T | G | A | T | C | C | C | A |
| <i>Leporinus cf. friderici</i> São Francisco | T | C | C | A | G | G | G | C | A | C | T | C | A | G | T | T | C | T | G | C | T | T | C | C | A |
| <i>Leporinus cf. friderici</i> Tapajós | C | T | C | G | G | G | A | C | A | T | T | C | A | A | C | T | C | T | A | A | A | C | C | T | G |
| <i>Leporinus cf. friderici</i> Tocantins | T | T | C | A | G | G | G | C | A | C | T | C | A | G | T | T | C | T | G | A | T | T | C | C | A |

4.2 Filogenia dos Anostomidae

Foram obtidas 126 sequências para os cinco genes avaliados, representando 104 linhagens (69 espécies nominais), divididas em 9 gêneros. Desse modo, a análise conta com o 46% das espécies válidas e 64,3% dos gêneros. O alinhamento gerado, para o gene COI, possui 658 sítios, sendo 394 conservados, 264 variáveis, totalizando 249 sítios parcimoniosamente informativos. Para o gene CytB, foram obtidos 1005 sítios, dos quais foram 497 conservados, 508 variáveis (450 sítios parcimoniosamente informativos). O gene RAG1 apresentou 1483 pb, sendo 1014 conservados, 469 variáveis, dos quais 322 sítios foram parcimoniosamente informativos. Para o gene RAG2, foram avaliados 1023 nucleotídeos, sendo 660 conservados, 363 variáveis (243 sítios foram parcimoniosamente informativos). Por último, foram sequenciadas 754 bases do gene Myh6, das quais 563 foram conservadas, 191 variáveis, apresentado 129 sítios informativos.

As árvores obtidas pelos distintos métodos filogenéticos resultaram em topologias similares, sendo congruentes entre si (Figuras 6, 7 e 8). Nas figuras 6, 7 e 8 são mostradas as árvores obtidas por MP, ML e BST, respectivamente. A família Anostomidae mostrou-se como um grupo monofilético, fortemente sustentados por todas as nossas análises (Figuras 6, 7 e 8). Dentro da família, 22 clados foram encontrados. Os clados foram denominados, usando o nome do gênero, se houver correspondência com um gênero monofilético, seguindo alguma característica principal ou pela primeira espécie que foi encontrada no clado.

O gênero *Leporinus* foi recuperado como parafilético nas análises (Figuras 6, 7 e 8). Além disso, a natureza monofilética do gênero foi rejeitada pelos testes KH e SH, com valores significativos (Tabela 7). A origem monofilética dos cromossomos sexuais ZZ/ZW descritos para *Leporinus* em Galetti Jr., Lima e Venere (1995) foi recuperada, nas distintas árvores filogenéticas obtidas, no Clado ZZ/ZW (Figuras 6, 7 e 8). Os testes de KH e SH não encontraram diferenças significativas entre a árvore com a monofilia forçada e a não forçada, suportando a hipótese de monofilia do clado com cromossomos sexuais (Tabela 8). Junto com essas espécies foram recuperadas seis espécies que nunca foram analisadas citogeneticamente. A origem de novo dos cromossomos sexuais em *Leporinus geminis* foi verificada nas análises, sendo essa espécie recuperada no Clado

Geminis, um clado diferente que o dos cromossomos tradicionalmente descritos no Clado ZZ/ZW. Adicionalmente a hipótese de monofilia de *L. geminis* (Clado *Geminis*) junto às outras espécies do Clado ZZ/ZW foi rejeitada com valores significativos (Tabela 9). Na Tabela 10 é mostrado os valores para os testes KH e SH para as espécies com padrão de barras transversais (excluindo *L. octofasciatus* Steindachner, 1915, veja discussão 5.2). No Apêndice D é mostrado a árvore obtida por inferência bayesiana para o conjunto de dados do COI.

Tabela 7 - Teste de KH e SH para a monofilia do gênero *Leporinus*. * P < 0,001

| Árvore | Log-verossimilhança | Diferença | P (teste KH) | P (teste SH) |
|------------------------------|---------------------|-----------|--------------|--------------|
| Monofilia forçada | 65015,34423 | 238,79162 | 0,000* | 0,000* |
| Monofilia não forçada | 64776,55261 | Melhor | | |

Tabela 8 - Teste de KH e SH para a monofilia dos *Leporinus* cromossomos sexuais ZZ/ZW. Ambos testes não foram significativos (P > 0,05).

| Árvore | Log-verossimilhança | Diferença | P (teste KH) | P (teste SH) |
|------------------------------|---------------------|-----------|--------------|--------------|
| Monofilia forçada | 64801,71057 | 25,15796 | 0,165 | 0,081 |
| Monofilia não forçada | 64776,55261 | | | |

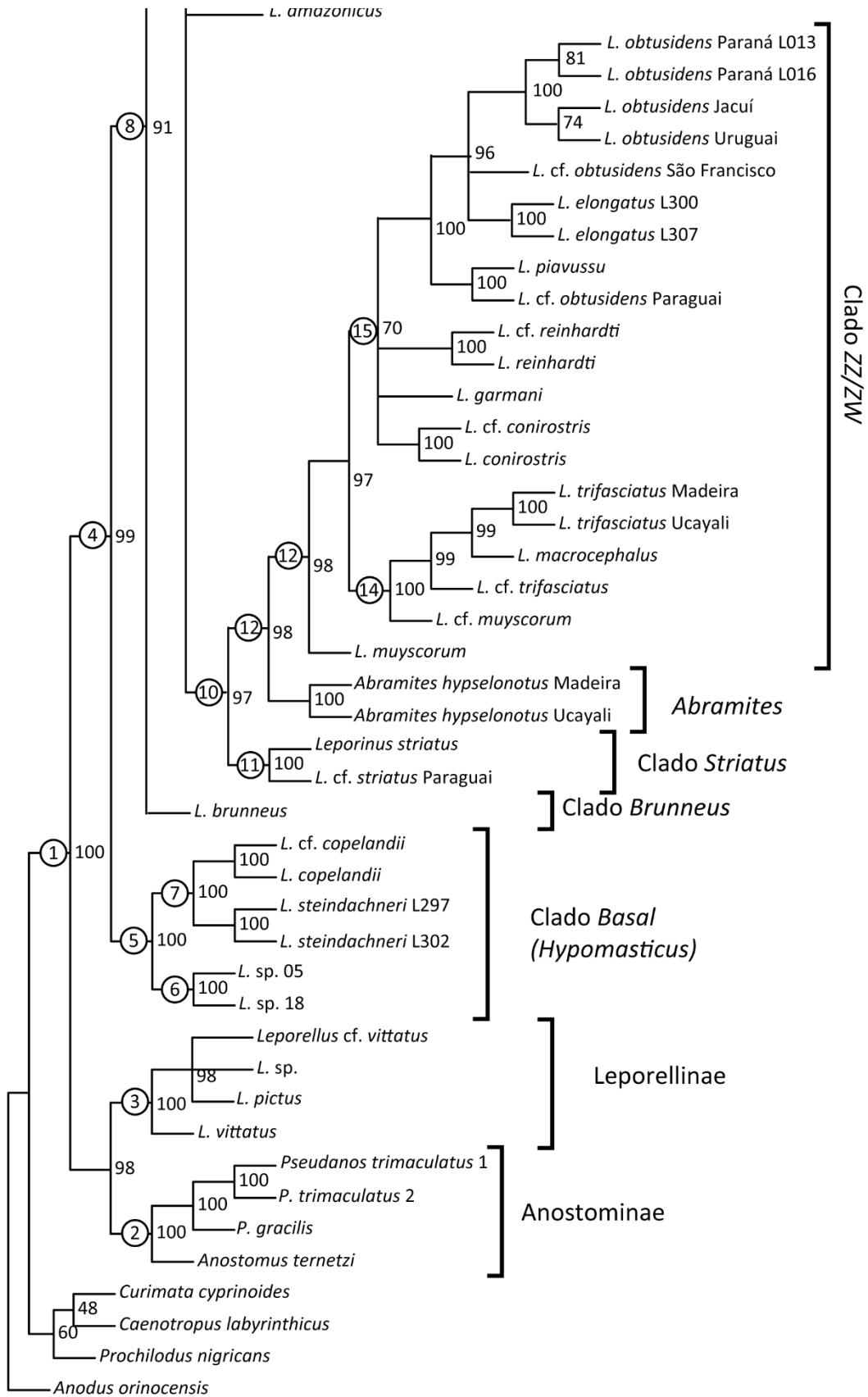
Tabela 9 - Teste de KH e SH para a monofilia dos *Leporinus* cromossomos sexuais ZZ/ZW junto ao Clado *Geminis*. * P < 0,001

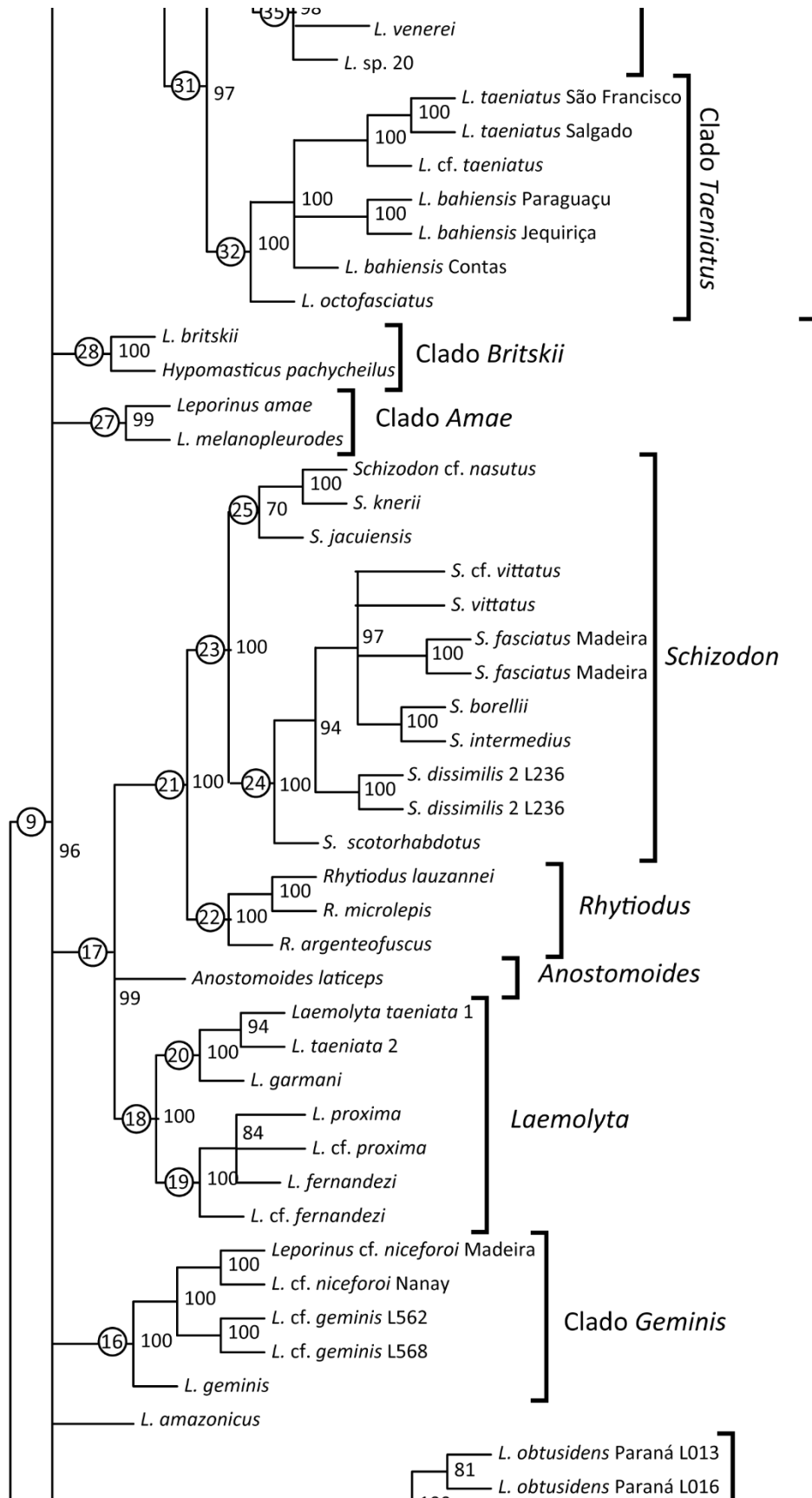
| Árvore | Log-verossimilhança | Diferença | P (teste KH) | P (teste SH) |
|------------------------------|---------------------|-----------|--------------|--------------|
| Monofilia forçada | 64947,15278 | 170,60017 | 0,000* | 0,000* |
| Monofilia não forçada | 64776,55261 | Melhor | | |

Tabela 10 - Teste de KH e SH para a monofilia do Clado *Desmotes* junto ao Clado *Fasciatus*. * P < 0,05

| Árvore | Log-verossimilhança | Diferença | P (teste KH) | P (teste SH) |
|------------------------------|---------------------|-----------|--------------|--------------|
| Monofilia forçada | 64833,64666 | 57,09405 | 0,020* | 0,012* |
| Monofilia não forçada | 64776,55261 | Melhor | | |

Figura 6 - Árvore de Máxima Parcimônia baseada em 4923 pb. Os valores de *bootstrap* são mostrados nos nós. Os nós com menos de 70% de *bootstrap* foram colapsados. Os números nos círculos correspondem aos discutidos na seção 5.2.





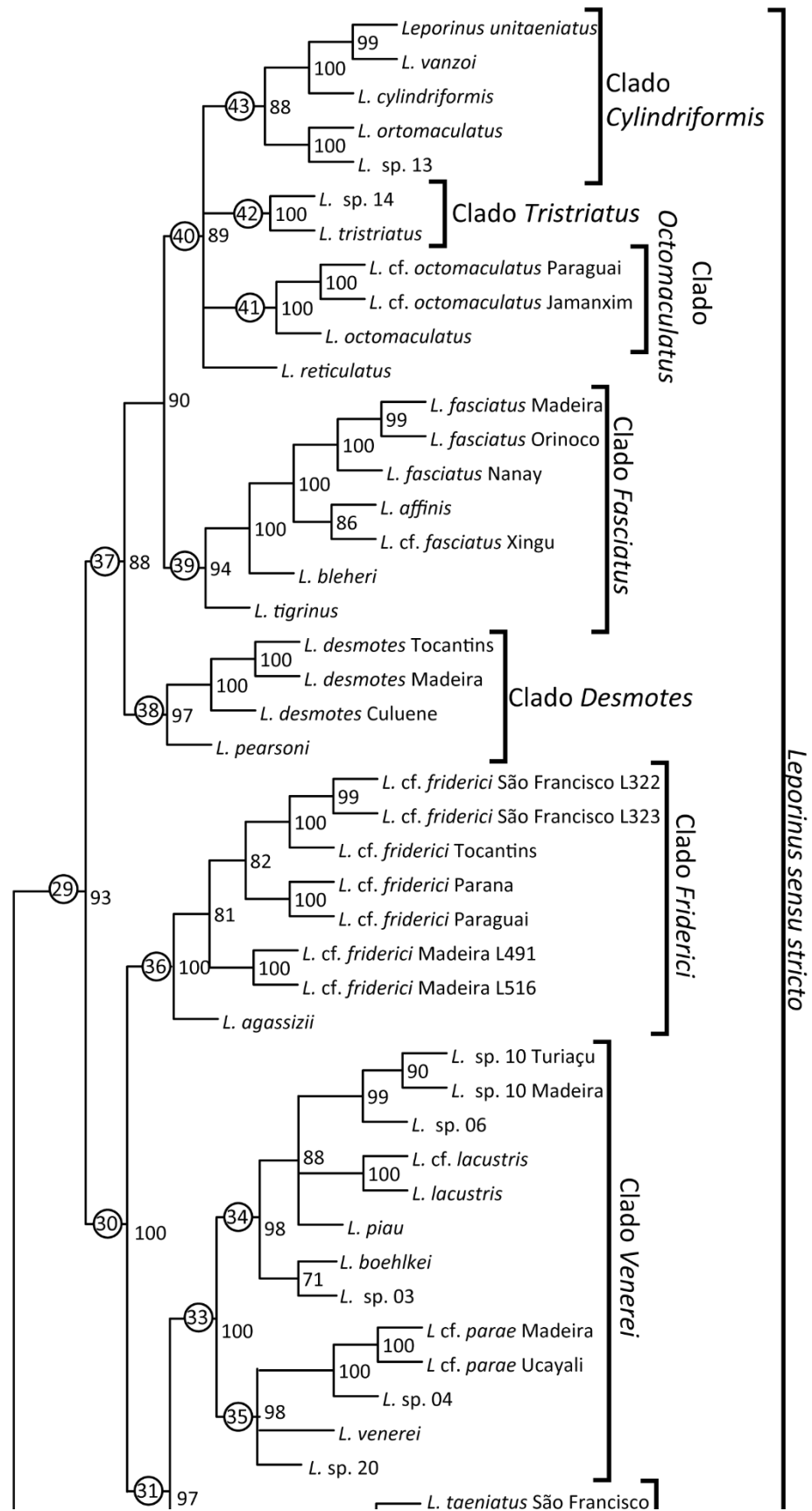
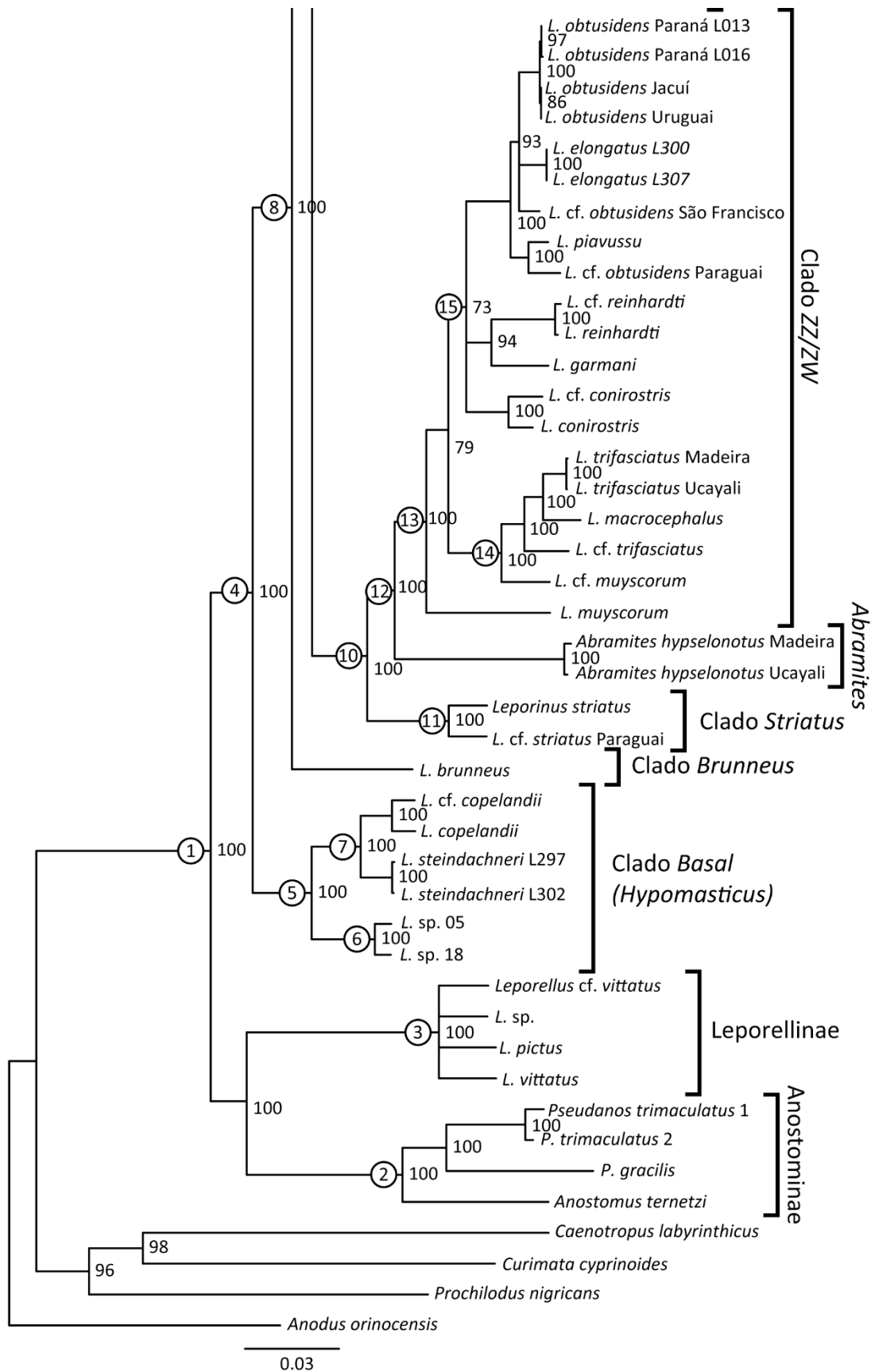
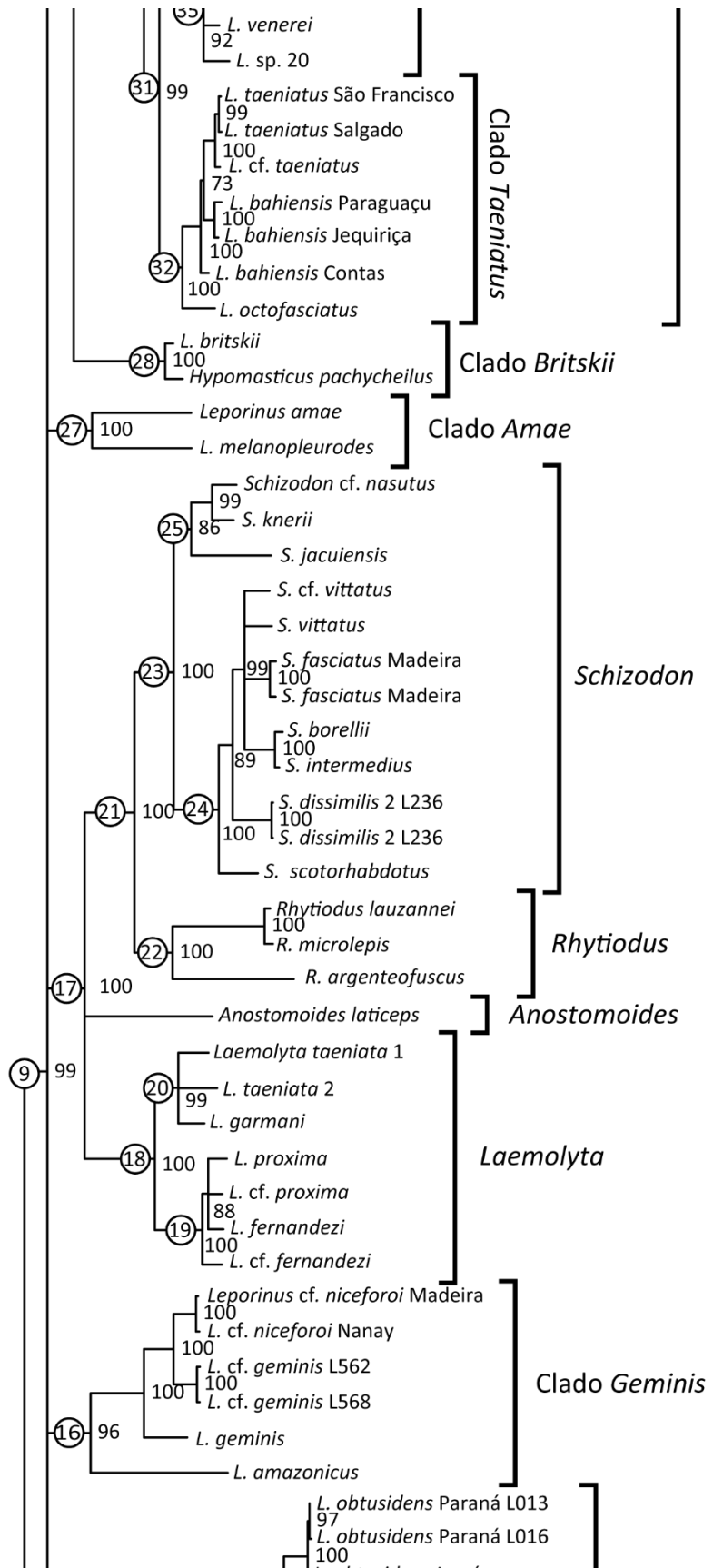


Figura 7 - Árvore de Máxima Verossimilhança baseada em 4923 pb. Os valores de *bootstrap* são mostrados nos nós. Os nós com menos de 70% de *bootstrap* foram colapsados. Os números nos círculos correspondem aos discutidos na seção 5.2.





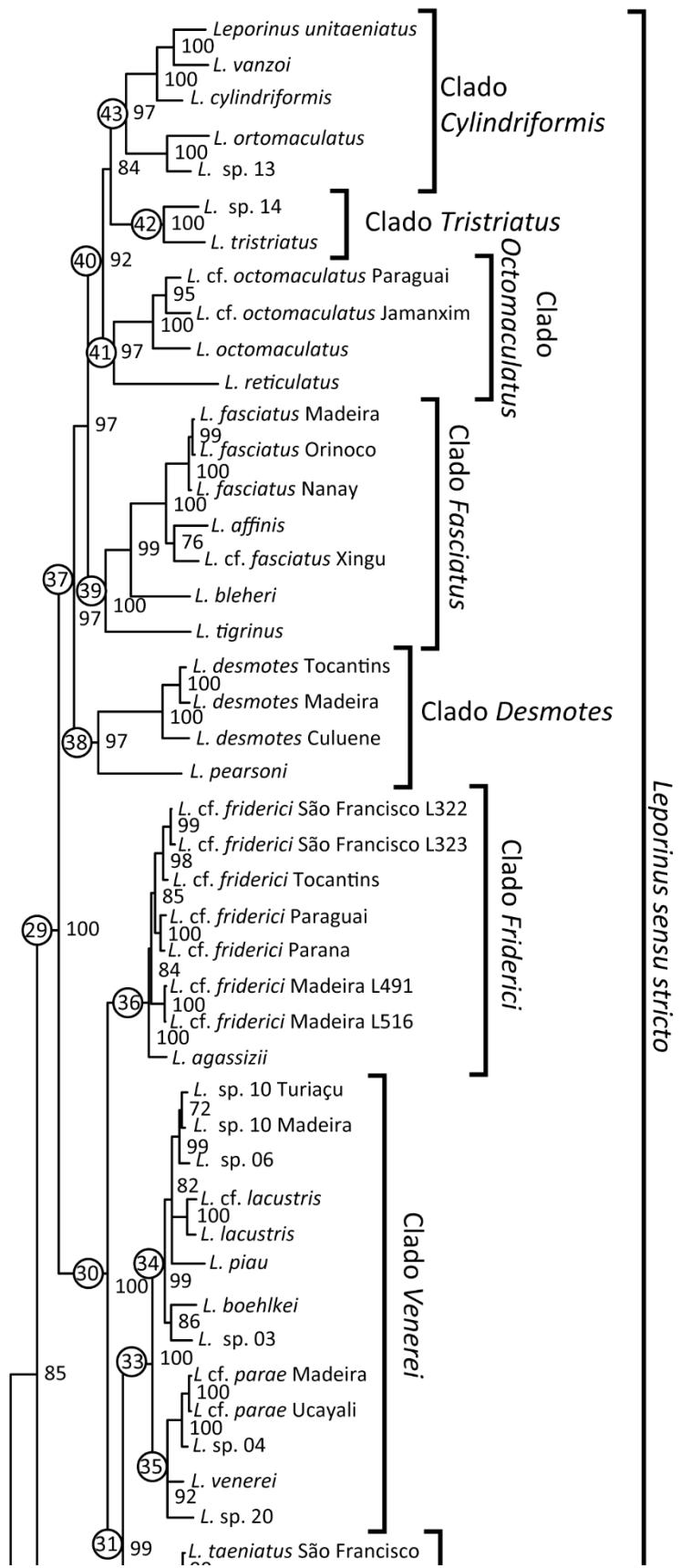
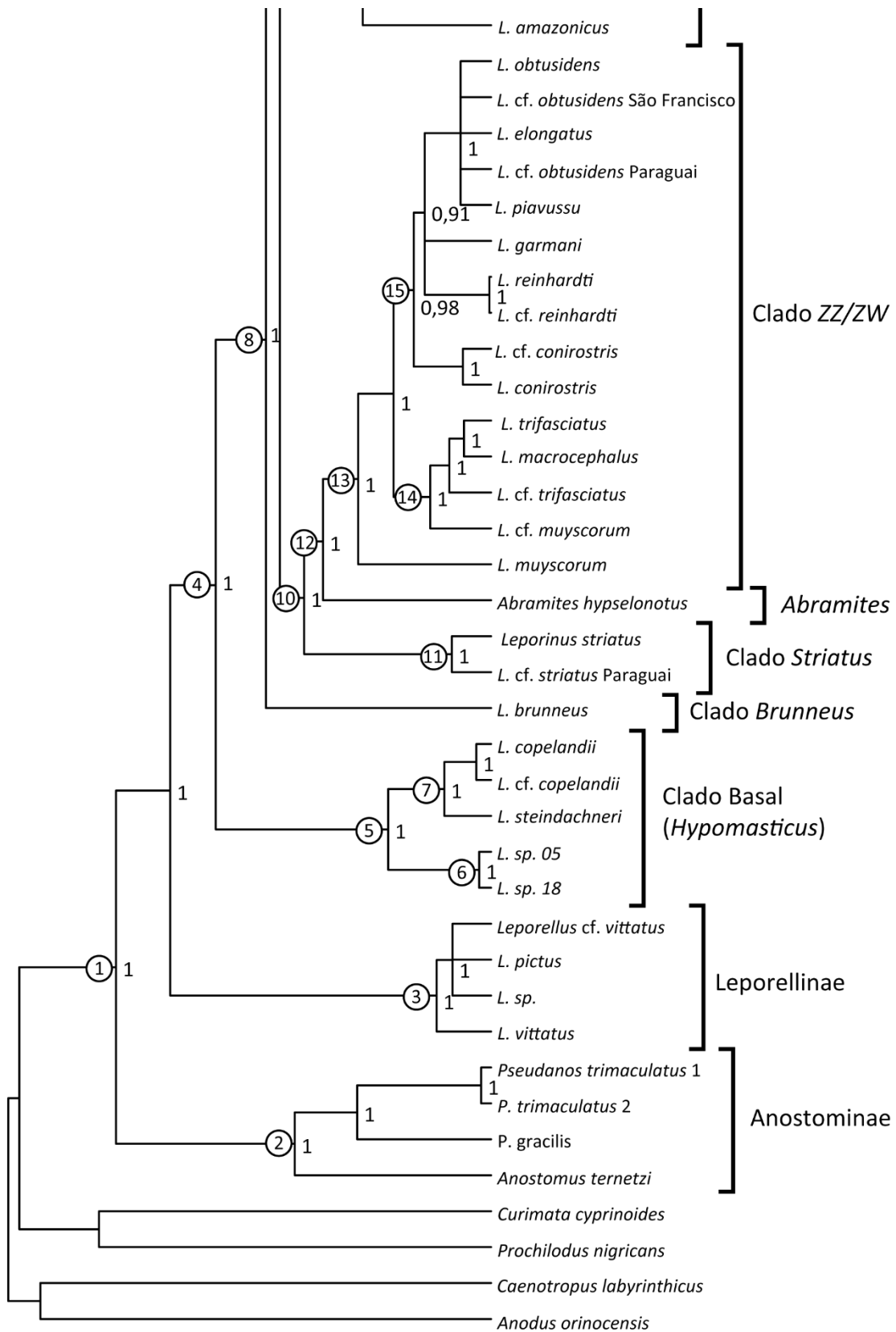
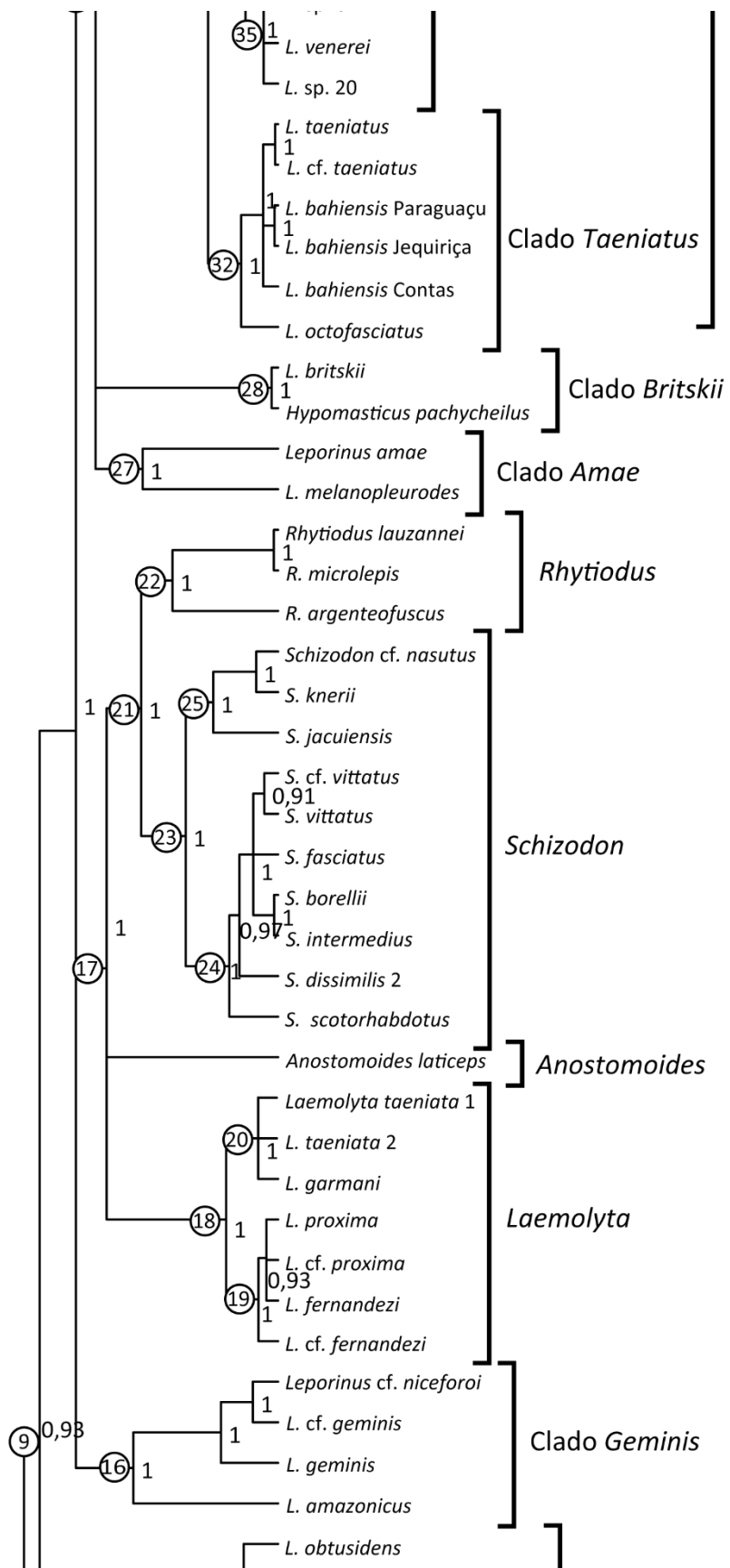
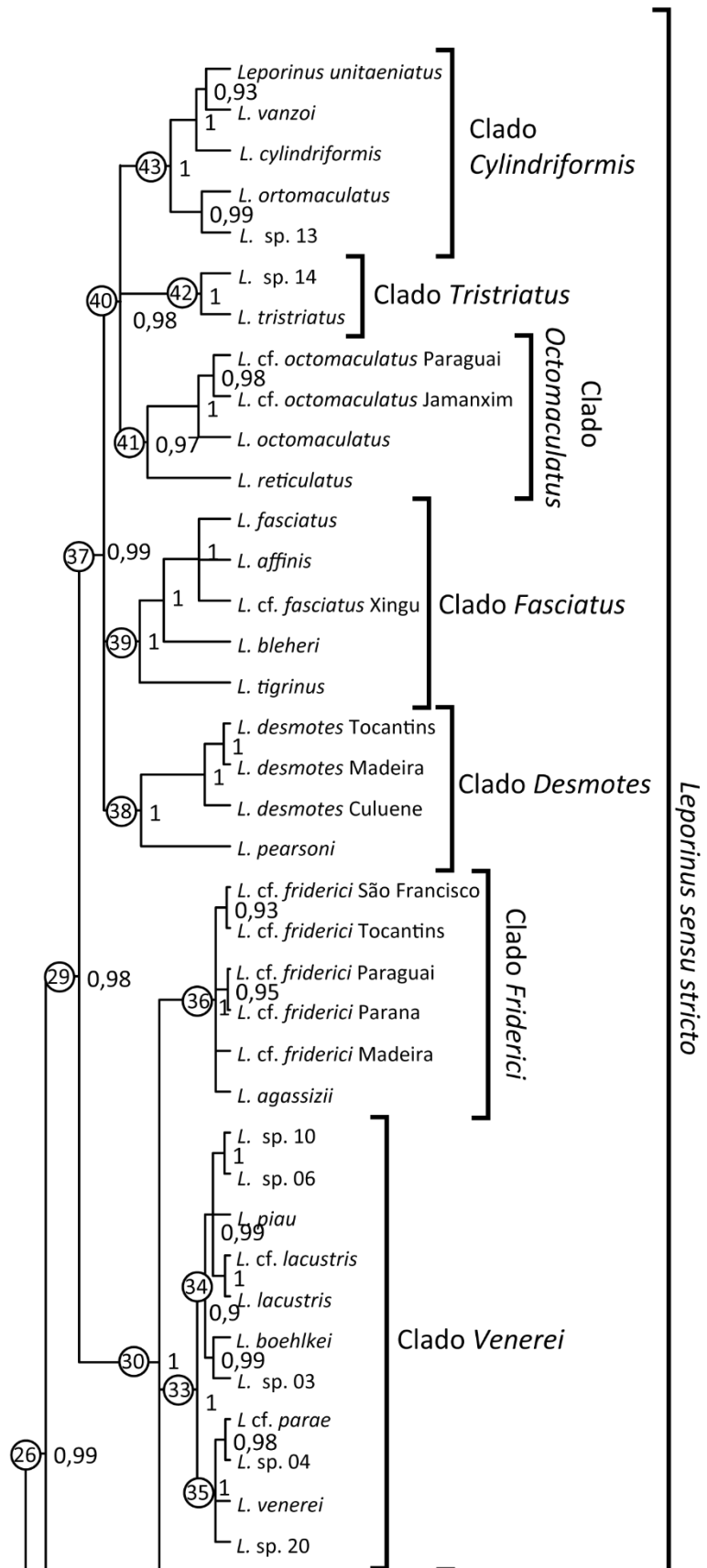


Figura 8 - Árvore multiloco bayesiana *species tree* baseada em 4923 pb. Os valores de probabilidade posterior são mostrados nos nós. Os nós com menos de 0,9 de probabilidade foram colapsados. Os números nos círculos correspondem aos discutidos na seção 5.2.







4.3 Filogeografia das espécies com cromossomos sexuais ZZ/ZW

A árvore calibrada obtida para as espécies com cromossomos sexuais ZZ/ZW é mostrada na figura 9. O suporte dos cladogramas basais foi forte, ao passo que os nós mais terminais não foram estatisticamente bem suportados.

O tempo ao ancestral comum mais recente foi recuperado em 11,56 Ma, com um intervalo de confiança (95% HPD) de 9,57 a 13,56, e corresponde a nossa calibração (Figura 9). Posteriormente, há 8,02 Ma (95% HPD, 5,88 a 10,34) ocorreu uma grande subdivisão em dois cladogramas. A maioria dos eventos de divergência no grupo foram datados a ter ocorrido nos últimos 6 Ma.

Na figura 10 é mostrada a reconstrução ancestral da distribuição das linhagens. Os nós foram numerados do um ao quatorze, para facilitar a discussão.

5 DISCUSSÃO

5.1 DNA barcode

Considerando a amostragem realizada para o estudo, é possível afirmar a representatividade da análise. Na família Anostomidae, parece não haver um padrão geral na família, pelo que não foi possível determinar com sucesso um limiar de separação de espécies, principalmente pela presença de espécies de divergência recente (Clado III, Figura 4). O que explica também a não existência de um *barcode gap*.

Contudo, o DNA *barcode* mostrou-se como uma ferramenta eficiente para identificação das linhagens em Anostomidae. A taxa de identificação pode chegar a 100%, quando considerado a abordagens de caracteres diagnósticos (Tabela 5). Cabe destacar, que não foram encontradas duas espécies nominais que compartilhem haplótipos.

O valor da média normalizada da distância intraespecífica (0,106%) foi relativamente baixo. Podemos comparar esse valor aos encontrados na literatura para peixes neotropicais, como os do Rio Paraíba do Sul (0,13%) (PEREIRA et al., 2011), os do Alto Paraná (0,3) (PEREIRA et al., 2013) e os do São Francisco (0,5%) (DE CARVALHO et al., 2011). O que indica a baixa divergência que existe dentro das espécies (linhagens). Podemos mencionar, por exemplo, a *Leporinus elongatus* que possui uma máxima intraespecífica de 0,159% ao longo da bacia do Jequitinhonha. Essa baixa divergência é

encontrada na maioria das espécies com distribuição restrita a uma única bacia. Podemos encontrar exceções, como *L. venerei* Britski e Birindelli, 2008 (0,319%), da bacia do Rio Tapajós-Araguaia. Ao contrário, espécies com ampla distribuição, mostraram clara subdivisão por bacias hidrográficas (mais de 1% de divergência interlinhagens), como é o caso de *L. bahiensis* Steindachner, 1875, distribuída nas bacias do estado da Bahia. Espécies de ampla distribuição amazônica também mostraram sinais de estruturação populacional; *L. fasciatus* (Bloch, 1794) possui uma máxima intraespecífica de 0,639%. Essas diferenças estariam relacionadas à história evolutiva de cada espécie.

Os trabalhos realizados com DNA *barcode* em peixes neotropicais são geralmente focados em identificação de espécies comerciais ou em peixes de uma única bacia (ARDURA et al., 2010; DE CARVALHO et al., 2011; PEREIRA et al., 2013, 2011). Por esses motivos, os casos de divergência recente são raramente analisados. Na maioria dos trabalhos, usam como limiar, o valor de 2% de divergência interespecífica. Esse valor é usado como ponto inicial, mas alguns pares de espécies validas possuem valores inferiores (DE CARVALHO et al., 2011; PEREIRA et al., 2013, 2011). Ward, Hanner e Hebert (2009) sugerem que quando duas espécies possuem valores superior a 2%, provavelmente sejam duas espécies diferentes. Isso pode ser reforçado, se é que os grupos analisados ocorrem em alopatria, o que é comum em peixes neotropicais, onde espécies nominais, com ocorrência em mais de uma bacia hidrográfica, possuem valores superiores a 2%. Na nossa análise o valor de 2% corresponde a um limiar muito alto, existindo muitas linhagens que possuem valores interespecíficos inferiores a 1%. Isso mostra a importância de fazer análises de *barcode* focando em grupos taxonômicos e não em uma única bacia, o que permitiria avaliar os casos de divergência recente, que são escassos quando se usa essa segunda estratégia de amostragem.

Tudo indica que usar o valor de 2% como limiar para peixes neotropicais pode levar a uma subestimação do número de espécies existentes. Pereira et al. (2013) considera que o valor de 2% deve ser usado como ponto de partida, sendo posteriormente calculado um novo limiar na base comparativa das divergências dentro do mesmo gênero. Hubert et al. (2008), em cambio, consideram que o valor inicial para diferenciar a maioria das espécies é de 1% (três vezes a média intraespecífica encontrada pelo autor) e Hebert et al. (2004) sugerem 10 vezes esse valor (1% para

Anostomidae). Definitivamente, o limiar deve ser determinado acorde a cada grupo analisado, porém considerando a universalidade do DNA *barcode* o valor de 1% parece ser mais adequado como ponto de início. Para estudos onde o foco seja um grupo taxonômico, o limiar pode ser calculado usando como comparação as divergências entre espécies próximas. Casos específicos devem ser assinalados, onde estratégias como os caracteres diagnósticos podem ser utilizados.

O caso de especiação recente com menor divergência encontrado foi usado como limiar (0,479%), mesmo assim ele apresenta casos problemáticos, tanto para as linhagens analisadas (Tabela 3 e Figura 4), como para as espécies nominais (Figura 5 e Tabela 4). Apesar de ter linhagens que caem dentro do grupo II ou III, várias delas podem ser identificados via *barcode*, o qual pode ser feito usando análise de distância ou um NJ, dado que nessas linhagens o mínimo valor de distância interespecífica é maior que a máxima distância intraespecífica. Isso pode ser observado nas figuras 3 e 5, nos pontos que se encontram em cima da linha oblíqua de 45 graus, a qual representa os pontos onde ambas as distâncias possuem valores iguais.

No grupo I, encontra-se a maioria das linhagens avaliadas (Figuras 4 e 5), sendo grupos onde a distâncias intraespecíficas são menores que o limiar e as distâncias interespecíficas maiores que o limiar, permitindo a fácil identificação usando a metodologia *barcode*. No grupo II, encontra-se os chamados complexos de espécies, que possuem uma distância intraespecífica maior que o limiar. Na figura 5 podemos ver nesse grupo, por exemplo, a *Leporinus desmotes* ou *Leporellus vittatus* (Valenciennes, 1850). Espécies com ampla distribuição e com amostragem em mais de uma bacia hidrográfica. No entanto, quando a análise é feita por linhagens, como esperado esses complexos são divididos e caem dentro do grupo I (Figura 4).

No grupo III, encontramos os casos de diversificação recente, hibridização ou sinonímia. Nesse grupo a distância interespecífica é menor que o limiar estabelecido. Dentro desse grupo foi encontrado por exemplo o complexo *Leporinus cf. friderici* (Tabela 3), para uma discussão de esse grupo veja a seção 5.2.

Figura 9 - Cronograma baseado em 4923 nucleotídeos, obtida pelo programa BEAST, para as linhagens do Clado ZZ/ZW. Os números nos nós indicam o tempo de divergência. Tempo em milhões de anos. As barras representam o intervalo de confiança de 95%.

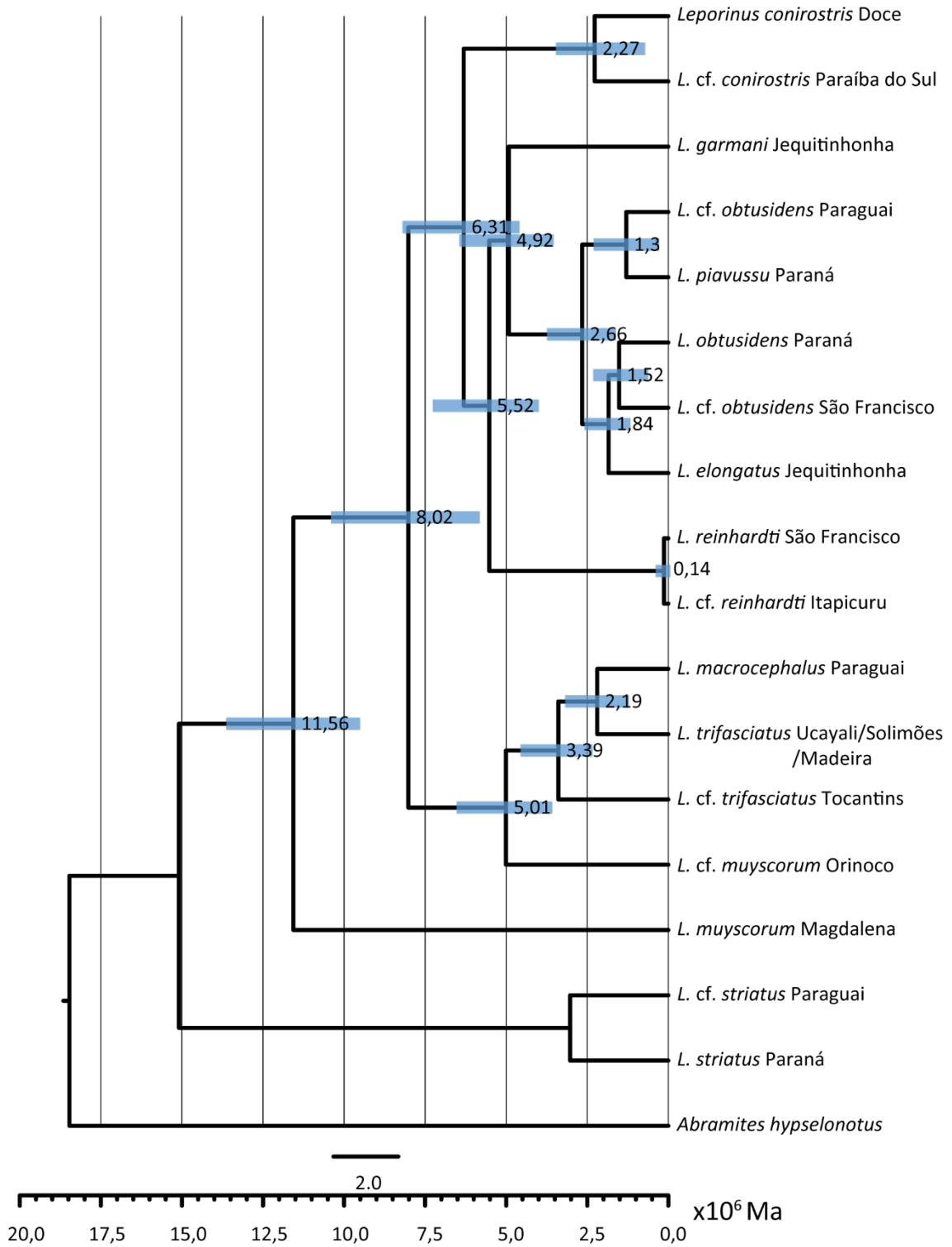
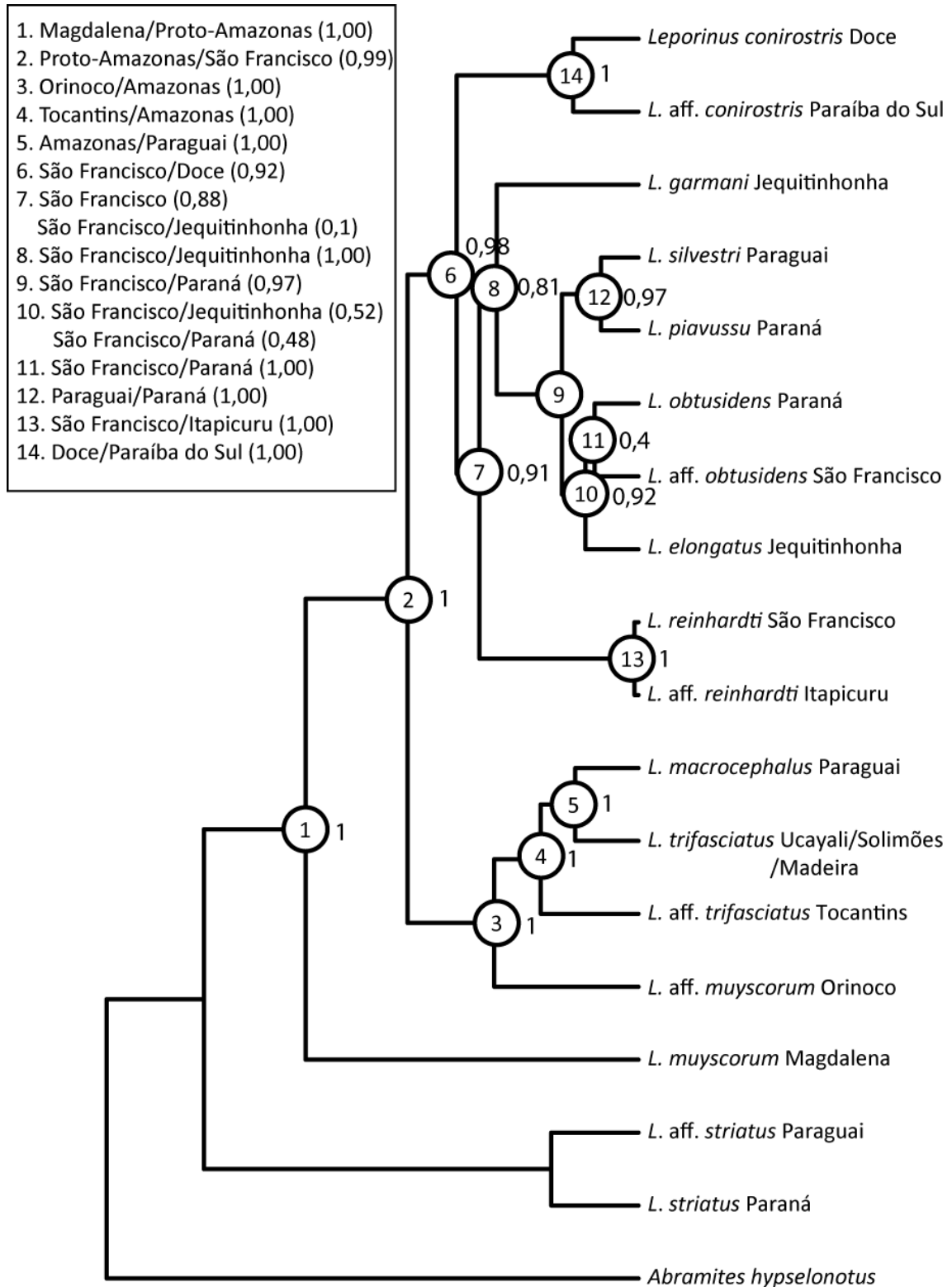


Figura 10 - Reconstrução ancestral da distribuição das linhagens mediante uma análise estatística de dispersão-vicariância (S-DIVA), para as linhagens do Clado ZZ/ZW. Os números nos nós indicam probabilidade posterior. Os números nos círculos indicam o número do evento recuperado. Os valores em parêntese, na legenda, representam frequências.



No último grupo, o IV, são encontrados os casos de provável identificação errada do espécime. Na nossa análise somente três espécies ou linhagens caíram nesse quadrante: *Leporinus affinis* Günther, 1864, *L. cf. friderici* Tocantins e *L. cf. friderici* Paraguai (Figura 4). Essas espécies possuem uma diversidade muito alta, por exemplo, *Leporinus affinis* tem uma máxima intraespecífica de 0,64% dentro da bacia do Tocantins-Araguaia. Enquanto que mostra somente uma divergência de 0,319% até a linhagem de *L. cf. fasciatus* do Tapajós. Se bem não compartilham haplótipos, existe a possibilidade de se tratar de populações com isolamento por distância. Mesmo assim, essas linhagens podem ser identificadas usando os caracteres diagnósticos (Tabela 5).

Outros casos pontuais que mereçam a pena destacar serão discutidos na seção 5.2, conforme seja necessário.

5.2 Filogenia dos Anostomidae

A presente tese é o primeiro estudo em utilizar dados moleculares para reconstruir as relações evolutivas dentro da família Anostomidae, apresentado tanto uma boa resolução quanto um forte sinal filogenético. Além disso, a amostragem utilizada é a maior entre todos os trabalhos revisados.

A monofilia de Anostomidae é suportada por 22 sinapomorfias não-ambíguas (SIDLAUSKAS; VARI, 2008; VARI, 1983). Nossos dados moleculares apoiam essa hipótese (nó 1 nas figuras 6, 7 e 8). Sidlauskas e Vari (2008), em sua filogenia morfológica, não reconheceram nenhuma subfamília como válida. Em nosso estudo, Leporininae (*Leporinus*) e Anostominae *sensu* Géry (1977) não são grupos monofiléticos (Figuras 6, 7 e 8). No entanto, Anostominae *sensu* Winterbottom (1980) e Leporellinae (*Leporellus*) formaram grupos monofiléticos (nós 2 e 3 nas figuras 6, 7 e 8, respetivamente).

Anostominae *sensu* Winterbottom (1980) inclui *Anostomus*, *Gnathodolus*, *Petulanos*, *Pseudanos*, *Sartor* e *Synaptolaemus*. Em nossa análise foram incluídas unicamente espécies dos gêneros *Anostomus* e *Pseudanos*, as quais formaram um grupo monofilético (nó 2 nas figuras 6, 7 e 8). De acordo com os dados morfológicos seria esperado que a subfamília fosse monofilética e válida (SIDLAUSKAS; VARI, 2008; WINTERBOTTOM, 1980). Sidlauskas e Vari (2008) consideram Anostominae *sensu* Winterbottom (1980) como o grupo mais suportado dentro da família Anostomidae, caracterizado principalmente por ter a boca em posição superior e por 13 sinapomorfias

não-ambíguas e sete ambíguas. Contudo, Sidlauskas e Vari (2008) não reconheceram Anostominae *sensu* Winterbottom (1980) como válido, já que em sua hipótese filogenética encontrava-se aninhada dentro de outros grupos, o que requereria designar muitas subfamílias para satisfazer o requerimento de monofilia. Nas nossas hipóteses filogenéticas, Anostominae *sensu* Winterbottom (1980) é monofilético e independente das outras subfamílias, sugerindo que deve ser considerado como válido.

Leporellinae (FOWLER, 1950) foi descrito como monogenérico, englobando unicamente o gênero *Leporellus*. De acordo com Sidlauskas e Vari (2008), *Leporellus* é um gênero fortemente suportado por oito sinapomorfias, caracterizada principalmente pelas aberturas nasais unidas e nadadeira caudal escamada. Os autores recuperaram *Leporellus* como o gênero mais basal na família. Na nossa hipótese filogenética, Leporellinae é um grupo monofilético (nó 3 nas figuras 6, 7 e 8) Dadas as claras diferenças morfológicas do grupo, assim como genéticas, a subfamília deveria ser considerada válida.

Leporininae (FOWLER, 1950) inclui o gênero *Leporinus* como único membro da subfamília, mas é pouca vezes mencionado na literatura, uma vez que sua validade é poucas vezes reconhecida. Em nossa análise, a subfamília (e por conseguinte o gênero *Leporinus*) é parafilética. Para cumprir com o requerimento de monofilia, a subfamília Leporininae deverá incluir os gêneros *Anostomoides*, *Hypomasticus*, *Laemolyta*, *Rhytidodus* e *Schizodon* (nó 4 nas figuras 6, 7 e 8).

As relações entre essas três subfamílias não foram claramente esclarecidas. De acordo com Sidlauskas e Vari (2008), *Leporellus* é o gênero mais basal, enquanto *Anostomus* e *Pseudanos* (Anostominae) são derivados. A nossa hipótese filogenética suporta a posição do *Leporellus*, mas não dos Anostominae. No BST, Anostominae *sensu* Winterbottom (1980) é um grupo monofilético recuperado como grupo-irmão de todos os gêneros restantes de Anostomidae (Figura 8). No entanto, nas análises de MP e ML, Anostominae *sensu* Winterbottom (1980) foi recuperado como grupo-irmão de Leporellinae (figuras 6 e 7), sendo ambas as subfamílias grupo-irmão de um clado formado por todos outros gêneros da família. Uma análise incluindo um maior número de representantes de Anostominae, assim como um número maior de genes é necessário.

A não-monofilia de *Leporinus* foi proposta primeiramente por Sidlauskas e Vari (2008), utilizando marcadores morfológicos (osteológicos). Em consonância, nossos dados moleculares mostram *Leporinus* como um grupo parafilético (nó 4 nas figuras 6, 7 e 8). De acordo com esses resultados, várias mudanças taxonômicas são necessárias a fim de recuperar a monofilia de *Leporinus*. Têm-se duas grandes opções quanto ao quesito da monofilia de *Leporinus*: a primeira seria a descrição de novos gêneros monofiléticos. Por outro lado, a segunda opção consistiria na sinonímia de *Anostomoides*, *Laemolyta*, *Rhytidodus* e *Schizodon* com *Leporinus*, mas as consideráveis diferenças morfológicas entre esses gêneros tornariam essa opção a menos viável.

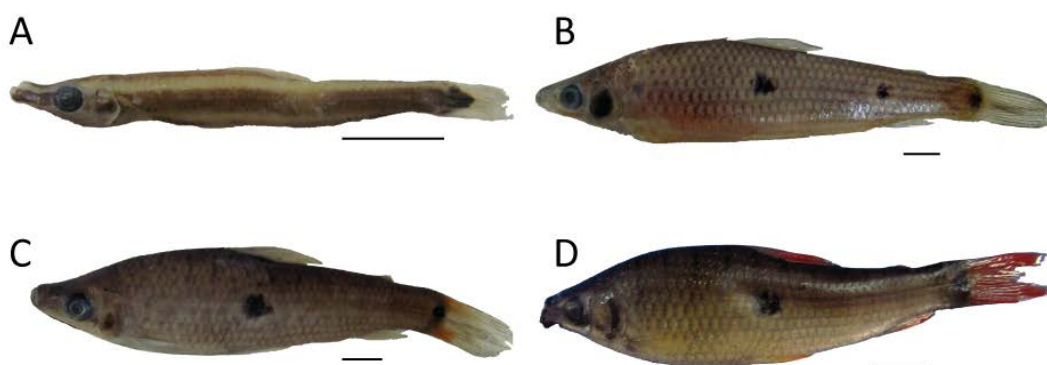
Leporinus foi descrito por Agassiz (SPIX; AGASSIZ, 1829) usando *Leporinus novemfasciatus* como espécie-tipo, a qual foi descrita na mesma publicação. Essa espécie tinha sido descrita anteriormente por Bloch (1794) como *Salmo fasciatus*. De acordo com o princípio da prioridade do Código Internacional de Nomenclatura Zoológica, o nome válido da espécie-tipo seria *Leporinus fasciatus*. Sendo assim, o clado que contém *L. fasciatus* deve ser considerado como *Leporinus sensu stricto*. Os demais clados com espécies de *Leporinus* devem ser avaliados taxonomicamente, a partir de um estudo amplo, o qual inclua o maior número possível de representantes de *Leporinus*, a fim de tornar possível a descrição de cada possível novo gênero.

A família Anostomidae é constituída por 22 clados (Figuras 6, 7 e 8). A continuação, serão discutidas e detalhadas as principais características de cada um dos clados encontrados, desde os mais basais aos mais derivados.

No clado dos Anostominae (Figuras 6, 7, 8 e 11), como discutido anteriormente, encontramos um dos grupos morfológicos mais fortemente estabelecidos. Na análise foram incluídos poucos representantes, o que dificulta a discussão, mas é interessante ressaltar o caso de *P. trimaculatus* (Kner, 1858). As amostras coletadas para o *barcode*, identificadas morfológicamente como essa espécie, formaram três distintas linhagens: *P. trimaculatus* 1, *P. trimaculatus* 2 e *P. cf. trimaculatus*, evidenciando a existência de um complexo de espécies. *P. trimaculatus* foi descrito para o Rio Guaporé (Bacia do Madeira) (KNER, 1858), porém no Rio Madeira foram encontradas duas diferentes linhagens denominadas aqui como *P. trimaculatus* 1 e *P. trimaculatus* 2. Adicionalmente, as amostras do Rio Nanay (Alto Amazonas) foram designadas como *P. cf. trimaculatus*. Essas três linhagens possuem uma distância genética para o gene COI de 1,4% a 1,6%

(Tabela 3), valores considerados altos, seguindo a nossa análise *barcode*. Interessantemente, quando Birindelli, Lima e Britski (2012) designaram *P. irinae* Winterbottom, 1980 como sinônimo júnior de *P. trimaculatus*, relataram uma grande variação dos caracteres diagnósticos dessas duas espécies na bacia amazônica, incluindo a bacia do Rio Madeira.

Figura 11 - Indivíduos de Anostominae usados no estudo. A: *Anostomus ternetzi* L221, B: *Pseudanos gracilis* L528, C: *P. trimaculatus* 2 L532, D: *P. cf. trimaculatus* L710. A barra indica 1 cm. Fotos por J. Ramirez.

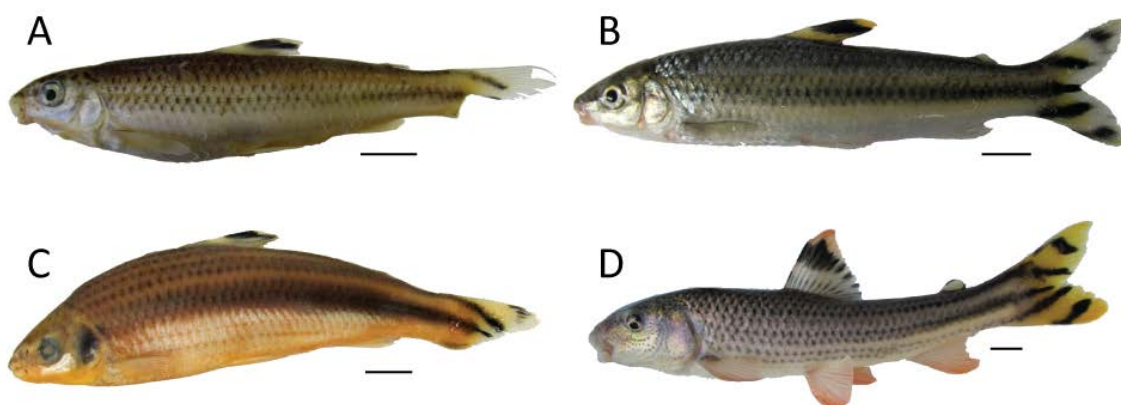


Embora o gênero *Leporellus* seja claramente definido, o mesmo não é evidenciado com as espécies que o constitui. A taxonomia do grupo nunca foi satisfatoriamente revisada e não existem chaves de identificação que permitam diferenciar seus representantes com confiança. Até sete espécies descritas são encontradas na literatura, mas a maioria delas, no entanto, são consideradas possíveis sinônimos de *L. vittatus* ou *L. pictus* (Kner, 1858) (GARAVELLO; BRITSKI, 2003). Sendo que na maioria dos estudos os espécimes coletados são citados como *L. vittatus*. Essa espécie foi descrita por Valenciennes (1850) usando como localidade-tipo o Rio Amazonas, sem dar maiores especificações. No entanto, Lütken (1875) *apud* Alves e Pompeu (2010) relata que o indivíduo usado por Valenciennes foi coletado por Castelnau no Araguaia. Por essa razão o indivíduo do Rio Araguaia foi considerado como *Leporellus vittatus*, sendo geneticamente diferente dos *Leporellus* das outras bacias (Tabela 3).

A espécie de *Leporellus* coletada no Paraná foi considerada aqui como *L. pictus* descrita por Kner (1858) para o Rio Oriçanga. Uma outra espécie foi descrita para a bacia do Paraná, *L. retropinnis* (EIGENMANN, 1922), mas considerando o princípio da prioridade foi utilizado o primeiro nome descrito. Por último, o indivíduo do Paraguai foi identificado com *Leporellus* cf. *vittatus*. E o espécimen do Rio Madeira foi nomeado como *Leporellus* sp.

É possível observar facilmente diferenças morfológicas entre as distintas espécies do gênero. Um exemplo é o número de listras na nadadeira caudal, sendo que *Leporellus* cf. *vittatus* possui uma, enquanto as demais espécies possuem duas (Figura 12). Um estudo detalhado é necessário para realizar uma correta diagnose das espécies de *Leporellus*, a presente filogenia dá o primeiro passo no entendimento da biodiversidade do grupo.

Figura 12 - Indivíduos de *Leporellus* usados no estudo. A: *L. cf. vittatus* L070, B: *L. pictus* L881, C: *L. sp.* L489, D: *L. vittatus* L550. A barra indica 1 cm. Fotos por J. Ramirez.



O Clado *Basal* (nó 5 nas figuras 6, 7 e 8) corresponde ao grupo mais basal entre o parafilético *Leporinus*, e é composto por cinco espécies, três pertencentes às bacias costeiras e duas à bacia hidrográfica do Tapajós. Essas espécies não foram incluídas na filogenia de Sidlauskas e Vari (2008). O clado apresenta uma subdivisão em dois clados menores. No primeiro (nó 6 nas figuras 6, 7 e 8), encontramos *Leporinus* cf. *copelandii*, *L. copelandii* Steindachner, 1875 e *Leporinus steindachneri* Eigenmann, 1907, três espécies morfológicamente semelhantes que ocorrem nas bacias do Atlântico,

apresentando um padrão de duas ou de três manchas escuras ao longo da linha lateral. No outro clado encontramos, *Leporinus* sp. 5 e *Leporinus* sp. 18, que são caracterizadas por várias manchas espalhadas pelo corpo (Figura 13). Além dessas espécies, pode ser incluída nesse grupo, *Leporinus* cf. *steindachneri* e *Hypomasticus mormyrops*, como evidenciado na árvore feita unicamente com o gene COI (Apêndice D). O gênero *Hypomasticus* foi descrito pela particularidade da boca subinferior e usando como espécie-tipo *Leporinus mormyrops* (= *Hypomasticus mormyrops*). Se consideramos essa última espécie dentro do clado, todas as espécies aqui citadas corresponderiam ao gênero *Hypomasticus*. Precisamente, Sidlauskas e Vari (2008), na sua filogenia morfológica, considera *Hypomasticus* como um gênero basal na família, o que seria corroborado na nossa análise.

Figura 13 - Indivíduos analisados de: A: *Leporinus* sp. 5 L058, B: *L. sp.* 18 L092. A barra indica 1 cm. Fotos por J. Ramirez.



Atualmente o gênero *Hypomasticus* possui oito espécies nominais válidas, *Hypomasticus despaxi*, *H. garmani* (= *L. garmani*), *H. julii*, *H. lineomaculatus*, *H. megalepis*, *H. mormyrops*, *H. pachycheilus* e *H. thayeri* (BIRINDELLI et al., 2013). Porém, na nossa hipótese filogenética *Leporinus garmani* e *L. pachycheilus* não são parte do Clado *Basal* (Figuras 6, 7 e 8), tornando o gênero em polifilético. Birindelli e Britski (2009) consideram que o limite entre *Hypomasticus* e *Leporinus* é incerto, sendo impossível assignar com certeza espécies entre esses gêneros.

A espécie *Leporinus brunneus* Myers, 1950 foi uma das poucas que não foram agrupadas, formando um “clado” monotípico. Na análise filogenética, é um dos grupos que determinam a não-monofilia de *Leporinus*, sendo grupo-irmão (nó 8 nas figuras 6, 7 e 8) do clado formado por espécies de *Leporinus* e de outros gêneros (nó 9 nas figuras 6, 7 e 8), merecendo, portanto, uma análise taxonômica mais detalhada. *L. brunneus* é uma espécie alongada com coloração geralmente uniforme a qual apresenta, às vezes,

uma listra escura na linha lateral (Figura 14) (SANTOS; ZUANON, 2008). Essa espécie não foi incluída na filogenia de Sidlauskas e Vari (2008), e também não tem sido considerada dentro dos grupos artificiais de *Leporinus*, como é o grupo das espécies alongadas, o complexo *cylindriformis* (SIDLAUSKAS; MOL; VARI, 2011). Com a futura incorporação de um número maior de espécies é provável que espécies aparentadas apareçam.

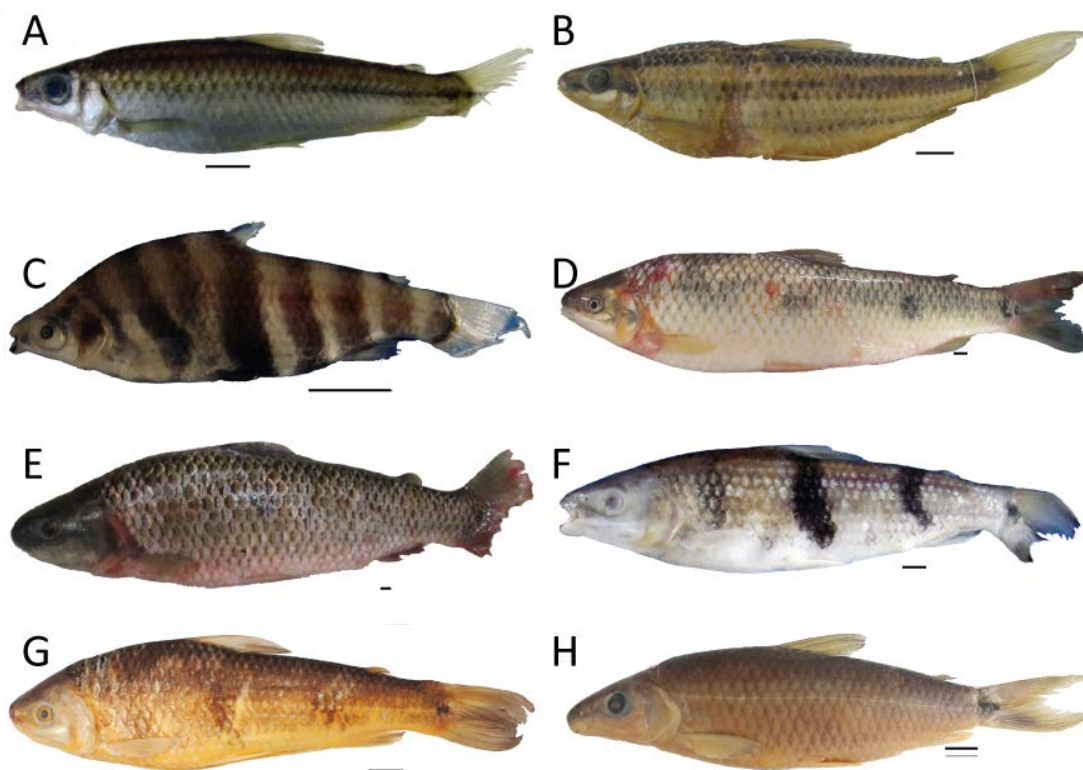
Figura 14- *Leporinus brunneus* L492. A barra indica 1 cm. Foto por J. Ramirez.



No nó 9 (Figuras 6 e 7) encontramos um clado formado por uma politomia, juntando o clado formado pelos clados *Striatus*, *Abramites*, *ZZ/ZW*, o clado que agrupa *Anostomoides*, *Laemolyta*, *Schizodon* e *Rhytiodus*, o Clado *Geminis*, o Clado *Britskii*, o Clado *Amae* e *Leporinus sensu stricto*. No BST (Figura 8), essa politomia foi resolvida, sendo os clados *Striatus*, *Abramites* e *ZZ/ZW* foram grupo-irmão dos demais clados.

Um grande clado foi recuperado (nó 10 nas figuras 6, 7 e 8), onde o Clado *Striatus* (nó 11 nas figuras 6, 7 e 8) é grupo-irmão do clado formado por *Abramites hypselonotus* e as espécies de *Leporinus* com cromossomos sexuais *ZZ/ZW* (Clado *ZZ/ZW*) (nó 12 nas figuras 6, 7 e 8). Esses três clados apresentam diferenças morfológicas evidentes (Figura 15). Na filogenia proposta por Sidlauskas e Vari (2008), *Leporinus striatus* (Clado *Striatus*) forma um clado com *Abramites hypselonotus*, mas os autores consideram que a relação ainda deve ser investigada. Ambas as espécies apresentam grandes diferenças morfológicas, especialmente pela rápida evolução morfológica do gênero *Abramites*, mas compartilham nove sinapomorfias (SIDLAUSKAS; VARI, 2008). Os dados moleculares corroboram os resultados da osteologia.

Figura 15 – Fotos de: A: *Leporinus* cf. *striatus* L050, B: *L. striatus*. 18 L251, C: *Abramites hypselonotus* L643, D: *Leporinus muyscorum* L915. E: *L. cf. muyscorum* L907, F: *L. trifasciatus* L618, G: *L. cf. trifasciatus* L180, H: *L. garmani* L293. A barra indica 1 cm. Fotos por J. Ramirez (A-F e H) e P. Venere (G).



O Clado *Striatus* é composto pelas distintas linhagens de *Leporinus striatus*. Essa espécie possui quatro listras longitudinais e é uma das mais amplamente distribuídas do gênero, ocorrendo no Paraná, Paraguai, Uruguai, Amazonas, Orinoco, e na bacia Magdalena (BIRINDELLI; BRITSKI, 2013). A nossa análise mostra que as linhagens obtidas de *L. striatus* representam potenciais novas espécies (Tabela 3 e Apêndice C), sugerindo que o táxon, de fato, representa um complexo de espécies. As espécies de *Leporinus* que possuem várias listras longitudinais foram designadas no grupo '*striatus*' por Britski e Garavello (1980), quem as considerou como "um conjunto natural com ampla distribuição pela América do Sul". Esse grupo inclui *Leporinus striatus*, *L. despaxi* (= *Hypomasticus despaxi*), *Leporinus arcus* Eigenmann, 1912 e *Leporinus sexstriatus* Britski e Garavello, 1980 (BRITSKI; GARAVELLO, 1980). *Hypomasticus despaxi* está atualmente dentro do gênero *Hypomasticus* devido a boca subinferior e outras

sinapomorfias (BIRINDELLI et al., 2013). O padrão de listras longitudinais representaria uma homoplasia, aparecendo mais de uma vez na filogenia, como é o caso de *L. tristriatus* Birindelli e Britski, 2013, *L. taeniatus* Lütken, 1875 ou *L. amae* Godoy, 1980 (Figuras 6, 7 e 8). Segundo a posição filogenética, o Clado *Striatus* não deveria ser considerado como parte do gênero *Leporinus*, um estudo taxonômico incluindo mais espécies de listras longitudinais é necessário para o melhor entendimento do grupo.

O gênero *Abramites* possui duas espécies: *A. eques* (Steindachner, 1878) da bacia do Rio Magdalena e *A. hypselonotus* das bacias do Rios Orinoco, Amazonas, Paraguai e o Baixo Paraná (GARAVELLO; BRITSKI, 2003; VARI; WILLIAMS, 1987). Este é caracterizado pelo corpo alto e pelo grande número de raios anais (VARI; WILLIAMS, 1987), além de outras três autopomorfias (SIDLAUSKAS; VARI, 2008). Nas análises foram avaliados espécimes do Alto Amazonas e do Rio Madeira, os quais formaram parte da mesma linhagem (Tabela 3 e Apêndice C).

O Clado ZZ/ZW (nó 13 nas figuras 6, 7 e 8) compreende os maiores e os mais comercialmente importantes peixes da família e inclui as espécies de *Leporinus* que possuem um sistema de cromossomos sexuais ZZ/ZW. Essas espécies não foram incluídas na filogenia de Sidlauskas e Vari (2008), para comparação. A presença de um sistema ZW foi proposta como uma sinapomorfia para o grupo, juntando estas espécies em um grupo monofilético (GALETTI JR.; LIMA; VENERE, 1995). A maioria das espécies do grupo apresentam o mesmo número de dentes, sendo 3 na pré-maxila e 3 no dentário, todos eles robustos e dispostos em degraus, decrescendo em tamanho a partir dos pares (BRITSKI; BIRINDELLI; GARAVELLO, 2012; GARAVELLO; BRITSKI, 1988). A exceção é *L. garmani*, que apresenta um quarto dente, de pequeno porte, no dentário. Outras espécies de *Leporinus* (*L. amblyrhynchus* Garavello e Britski, 1987, *L. bleheri* Géry, 1999, *L. brinco* Birindelli, Britski e Garavello, 2013, *L. desmotes*, *L. jatuncochi* Ovchynnyk, 1971, *L. pachyurus* Valenciennes, 1850 e *L. wolfei* Fowler, 1939) possuem fórmula dentária 3/3, sendo algumas delas pertencentes a outro clados de *Leporinus* (Figuras 6, 7 e 8), o que faria desse caráter ambíguo. Assim, as evidências citogenéticas e moleculares (fornecidas neste estudo) reforçam a classificação do clado num novo gênero de anostomídeos. Cabe destacar que o clado foi nomeado ZZ/ZW por incluir todas as espécies descritas com cromossomos sexuais, mas nem todas as espécies recuperadas foram estudadas citogeneticamente. E dentro do clado não foi recuperada

nenhuma espécie que tenha sido estudada citogeneticamente e não possua esses cromossomos. As espécies que não possuem cariótipo descrito são: *Leporinus muyscorum*, *L. cf. conirostris*, *L. cf. muyscorum*, *L. cf. reinhardti*, *L. garmani* e *L. elongatus*; sendo esperado por ancestralidade que elas possuam também cromossomos sexuais.

Dentro do Clado ZZ/ZW encontramos 15 linhagens, que representariam as 15 possíveis diferentes espécies, embora somente nove espécies sejam nominalmente válidas. No Clado ZZ/ZW encontramos uma subdivisão em três clados menores. A espécie mais basal do grupo foi *Leporinus muyscorum*, descrita originalmente para o Rio Magdalena. Essa espécie foi redescrita e a sua área de distribuição foi ampliada para a bacia do Rio Orinoco (GARAVELLO, 2000). No entanto, a linhagem do Orinoco, *Leporinus cf. muyscorum*, foi recuperada como pertencendo a outra espécie que precisa ser descrita. No segundo clado (nó 14 nas figuras 6, 7 e 8) encontramos a *Leporinus cf. muyscorum* (Orinoco), *L. trifasciatus* (Alto Amazonas), *L. cf. trifasciatus* (Araguaia) e *L. macrocephalus* (Paraguai). Essas três últimas espécies são as únicas dentro do Clado ZZ/ZW que possuem manchas negras, verticalmente alongadas no flanco (GARAVELLO; BRITSKI, 1988).

Leporinus trifasciatus foi descrita para a bacia amazônica, com localidade tipo em Tefé, no Alto Amazonas (STEINDACHNER, 1876). As amostras coletadas de *L. trifasciatus* ao longo da bacia amazônica (Rios Ucayali, Amazonas, Madeira e Araguaia) evidenciaram a existências de duas linhagens, sendo uma do Alto Amazonas e outra da bacia do Rio Araguaia. Seguindo a localidade tipo, as amostras do Alto Amazonas foram identificadas como *L. trifasciatus*. Entre as amostras do Alto Amazonas, incluímos amostras do Rio Ucayali, localidade-tipo de *L. wolfei*, espécie considerada como possível sinônimo de *L. trifasciatus* por Garavello e Britski (2003). As análises moleculares confirmam que os indivíduos do Rio Ucayali pertencem à mesma linhagem das amostras do Alto Amazonas (Tabela 3 e Apêndice C), sendo assim *L. wolfei* sinônimo de *L. trifasciatus*.

As amostras coletadas como *L. trifasciatus* no Araguaia, foram aqui designadas como *L. cf. trifasciatus*, uma nova espécie que precisa ser descrita. No entanto, dos taxa já descritos para essa bacia, devemos mencionar *L. pachyurus*, uma espécie enigmática descrita para o Rio Vermelho (BRITSKI, 1997), a qual já foi considerada como possível

sinônimo de *L. trifasciatus* (GARAVELLO; BRITSKI, 1988) e que posteriormente foi considerada como *species inquirenda*, uma vez que a descrição original é insuficiente para identificação certa (BRITSKI; BIRINDELLI; GARAVELLO, 2012). Lamentavelmente, o material-tipo de *L. pachyurus* encontra-se perdido, inviabilizando uma redescrição da espécie é inviável (BRITSKI; BIRINDELLI; GARAVELLO, 2012; BRITSKI, 1997; GARAVELLO; BRITSKI, 1988). Nos maiores inventários das espécies de *Leporinus* da região, a espécie nunca foi citada desde a descrição (BRITSKI, 1997; SANTOS; JÉGU, 1989).

Dentro do terceiro agrupamento do Clado ZZ/ZW (nó 15 nas figuras 6, 7 e 8) foram recuperados *L. conirostris* (Paraíba do Sul), *L. cf. conirostris* (Doce), *L. reinhardtii* (São Francisco), *L. piavussu* (Paraná), *L. cf. obtusidens* Paraguai (Paraguai), *L. elongatus* (Jequitinhonha), *L. cf. obtusidens* São Francisco (São Francisco) e *L. obtusidens* (Paraná). A espécie mais basal entre as mencionadas foi *L. conirostris* e *L. cf. conirostris*. Essas duas linhagens mostraram uma alta divergência (4.1% para o COI) e representam provavelmente duas espécies diferentes. Quando Steindachner (1875) descreveu *L. conirostris* usou como localidade-tipo o Rio Paraíba (do Sul) em Mendes, Juiz de fora e Palmeira, Rio Doce, Rio Mucuri, Rio Paraíba do Sul, Brasil. Na tese foi utilizado o nome *L. conirostris* para as amostras do Rio Paraibuna (Bacia do Rio Paraíba do Sul) por ser a primeira localidade tipo citada na descrição e *L. cf. conirostris* para as amostras do Rio Doce. Um estudo amplo, incluindo todas as populações, e marcadores genéticos é necessário para definir o *status* taxonômico de *L. conirostris*.

Dentro do grupo foi recuperado *L. garmani*, a qual tinha sido incluída no gênero *Hypomasticus* (SIDLAUSKAS; VARI, 2008). Essa espécie possui a boca subinferior característica do gênero *Hypomasticus* (Figura 15), mas como discutido anteriormente essa característica aparece várias vezes na filogenia, conformando uma homoplasia.

Existe um grupo de cinco espécies (*L. piavussu*, *L. cf. obtusidens* Paraguai, *L. elongatus*, *L. cf. obtusidens* São Francisco e *L. obtusidens*), cujas relações não foram totalmente resolvidas na nossa análise, devido principalmente ao fato de apresentarem evento de especiação recente (veja discussão 5.3). Essas cinco linhagens foram identificadas devido à alta divergência genética entre elas (Tabela 3 e Apêndice C), e ao fato de cada uma pertencer a uma bacia hidrográfica diferente. Das cinco linhagens, somente *L. piavussu* e *L. elongatus* são reconhecíveis morfologicamente de *L. obtusidens* (BRITSKI; BIRINDELLI; GARAVELLO, 2012). *L. silvestrii* foi descrita para o Rio Coxipó (Bacia

do Rio Paraguai), sendo sinonimizada com *L. obtusidens* por Britski, Birindelli e Garavello (2012), considerando que todas as medidas merísticas e morfométricas caem dentro dos intervalos de *L. obtusidens*. Esses autores consideram *L. obtusidens* como uma espécie amplamente distribuída nas bacias de La Plata, São Francisco e Parnaíba. Os nossos resultados suportam a *L. silvestrii* como uma espécie válida e a *L. cf. obtusidens* São Francisco como uma espécie diferente que precisa ser descrita.

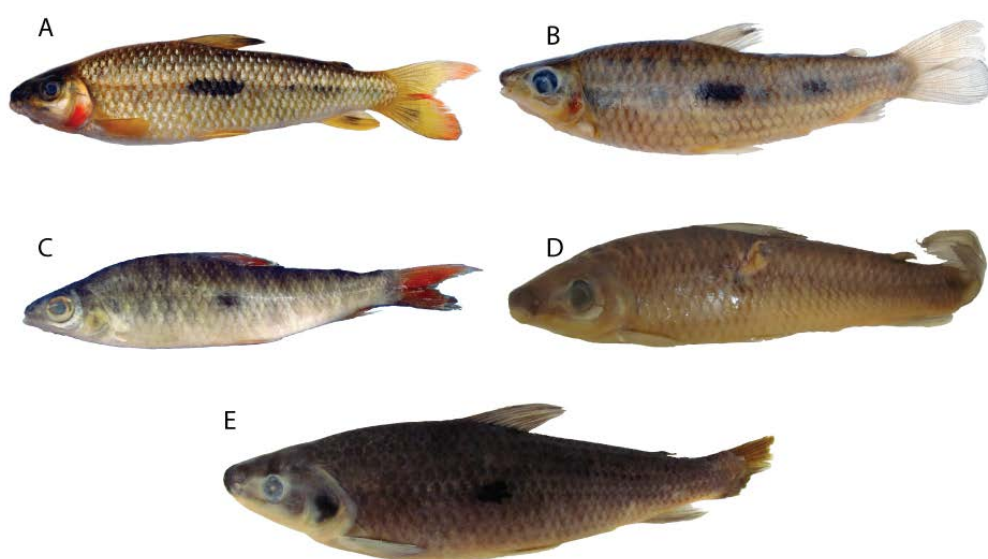
O Clado *Geminis* (nó 16 nas figuras 7 e 8) inclui *Leporinus amazonicus* Santos e Zuanon, 2008, *L. geminis*, *L. cf. geminis* e *L. cf. niceforoi* (Figura 16), todas espécies amazônicas. Dessas, apenas *L. cf. niceforoi* foi incluída na análise morfológica de Sidlauskas e Vari (2008), sendo recuperada como parte da politomia do parafilético *Leporinus*, sem mostrar-se relacionada com alguma outra espécie. As espécies do Clado *Geminis* são de porte médio, de corpo alongado, com nadadeira caudal bifurcada, com boca romba, com 4/4 dentes e possuem uma ou mais manchas alongadas inconspícuas na linha lateral.

Não podemos garantir que *L. cf. niceforoi* seja a mesma mencionada em Sidlauskas e Vari (2008), mas ambas foram coletadas em regiões próximas. *L. niceforoi* Fowler (1943) foi descrita para a Amazônia colombiana (Rio Caquetá), sendo coletada posteriormente na Amazônia peruana e equatoriana (SIDLAUSKAS; MOL; VARI, 2011). Os exemplares de *L. cf. niceforoi* utilizados foram coletados na Amazônia Peruana (Rio Nanay) e Brasileira (Rio Madeira). O exemplar do Rio Madeira representa uma ampliação da distribuição da espécie, sendo um exemplar de aproximadamente 200 mm (Figura 16D). A análise morfométrica realizada por Sidlauskas, Mol e Vari (2011) mostrou que *L. cf. niceforoi* é estatisticamente separável do *L. niceforoi*, mas é necessário uma maior amostragem para determinar o *status* taxonômico de *L. cf. niceforoi*.

Dentro do grupo, *Leporinus amazonicus* foi a espécie mais basal, sendo geneticamente distante das restantes espécies, quando comparado a distância entre elas (Tabela 3 e Apêndice C). Sendo incluso não suportada sua posição dentro clado na análise de MP (Figura 6). *L. geminis* possui dentes característicos, únicos em *Leporinus*, sendo incisiviformes, largos e de borda cortante, escavada internamente (GARAVELLO; SANTOS, 2009). *L. cf. geminis* possui exatamente os mesmos dentes. Essa espécie foi coleta no Rio Culuene (Alto Xingu) e além da diferença genética com *L. geminis* (descrita para a bacia Tocantins-Araguaia) (mais de 5%), é diferenciável por possuir 5/5 escamas

na linha lateral, em vez de 6/5. *L. cf. niceforoi* foi recuperada como uma espécie relacionada as duas anteriores, mas não foi possível confirmar se possui os dentes típicos de *L. geminis*, já que os indivíduos revisados do Peru não passavam dos 100 mm e os dentes eram muito pequenos. Além disso, os dentes do exemplar de maior porte do Rio Madeira não foram revisados.

Figura 16 - Indivíduos de Clado *Geminis* usados no estudo. A: *Leporinus geminis* L154, B: *L. cf. geminis* L562, C: *L. cf. niceforoi* L714, D: *L. cf. niceforoi* L504, E: *Leporinus amazonicus* L490. Fotos por P. Venere (A e B) e J. Ramirez (C, D e E).



A ênfase dada a *L. geminis* no nome do clado é devido principalmente ao sistema de cromossomos sexuais ZW descrito por Venere et al. (2004) (citado como *Leporinus* sp. 2 seguindo Santos e Jégu (1989)). Esse sistema de cromossomos sexuais é diferente do descrito por Galetti Jr., Lima e Venere (1995). A posição de *L. geminis* dentro da filogenia e os testes de KH e SH (Tabela 9) comprovam a origem *de novo* do sistema sexual dessa espécie como proposto por Venere et al. (2004) e Ferreira et al. (2007). Se as demais espécies do Clado *Geminis* possuem ou não esse sistema cromossômico, isso é um quesito deve ainda ser pesquisado.

O clado *Geminis* encontra-se numa politomia junto a vários outros gêneros de Anostomidae e clados de *Leporinus* (nó 9 nas figuras 6, 7 e 8). Sem essa posição

totalmente resolvida não é possível determinar se o clado deve ser considerado efetivamente como *Leporinus* ou como um novo gênero.

No clado formado pelos gêneros *Anostomoides*, *Laemolyta*, *Schizodon* e *Rhytiodus* (nó 17 nas figuras 6, 7 e 8), foi recuperada uma relação de grupos-irmãos entre *Schizodon* e *Rhytiodus* (nó 21 nas figuras 6, 7 e 8). Na filogenia morfológica de Sidlauskas e Vari (2008), *Anostomoides* foi basal aos grupos formados por *Schizodon* e *Rhytiodus*, *Laemolyta* e Anostominae. Os dados moleculares concordam parcialmente com os dados morfológicos, devido a inclusão de Anostominae dentro desse grupo. A relação de grupos-irmãos entre *Schizodon* e *Rhytiodus* é fortemente suportada na hipótese filogenética de Sidlauskas e Vari (2008), por sete sinapomorfias não ambíguas, a mesma relação que é corroborada por nossos dados moleculares.

O gênero *Laemolyta* foi recuperado como um grupo monofilético (nó 18 nas figuras 6, 7 e 8), sendo reconhecidos essencialmente pela morfologia incomum de seus dentes (MAUTARI; MENEZES, 2006; SIDLAUSKAS; VARI, 2008). *Laemolyta* difere de todos os outros gêneros de Anostomidae por ter mandíbula inferior com dentes truncado com bordas superiores lisas e dentes pré-maxilares cuspidados (MAUTARI; MENEZES, 2006; SIDLAUSKAS; VARI, 2008). A filogenia morfológica mais completa de Anostomidae, incluiu quatro espécies de *Laemolyta*, recuperado este gênero como um grupo monofilético suportado por sinapomorfias não-ambíguas (SIDLAUSKAS; VARI, 2008). *Laemolyta* foi descrito originalmente por Cope (1872) e até nove espécies foram descritas para o gênero. Mautari e Menezes (2006) redescreveram o gênero e reconheceram apenas cinco espécies como válidas: *Laemolyta fernandesi* Myers, 1950, *L. garmani* (Borodin, 1931), *L. orinocensis* (Steindachner, 1879), *L. proxima* (Garman, 1890), e *L. taeniata* (Kner, 1858).

Na análise foram incluídos exemplares de *Laemolyta fernandesi* das bacias dos rios Xingu e Tocantins-Araguaia. Os nossos resultados indicam que os indivíduos das duas bacias correspondem a espécies diferentes (Tabela 3 e Apêndice C). *Laemolyta* cf. *fernandesi* foi descrito por Géry (1964), o qual utilizou um exemplar juvenil do rio Araguaia. Mautari e Menezes (2006) examinaram indivíduos de *L. fernandesi* do Xingu e da Bacia do Orinoco e os compararam com espécimes de *L. cf. fernandesi* (Araguaia). Os autores não encontraram diferenças merísticas ou morfométricas para distinguir as espécies e reconheceram somente *L. fernandesi* como uma espécie amplamente

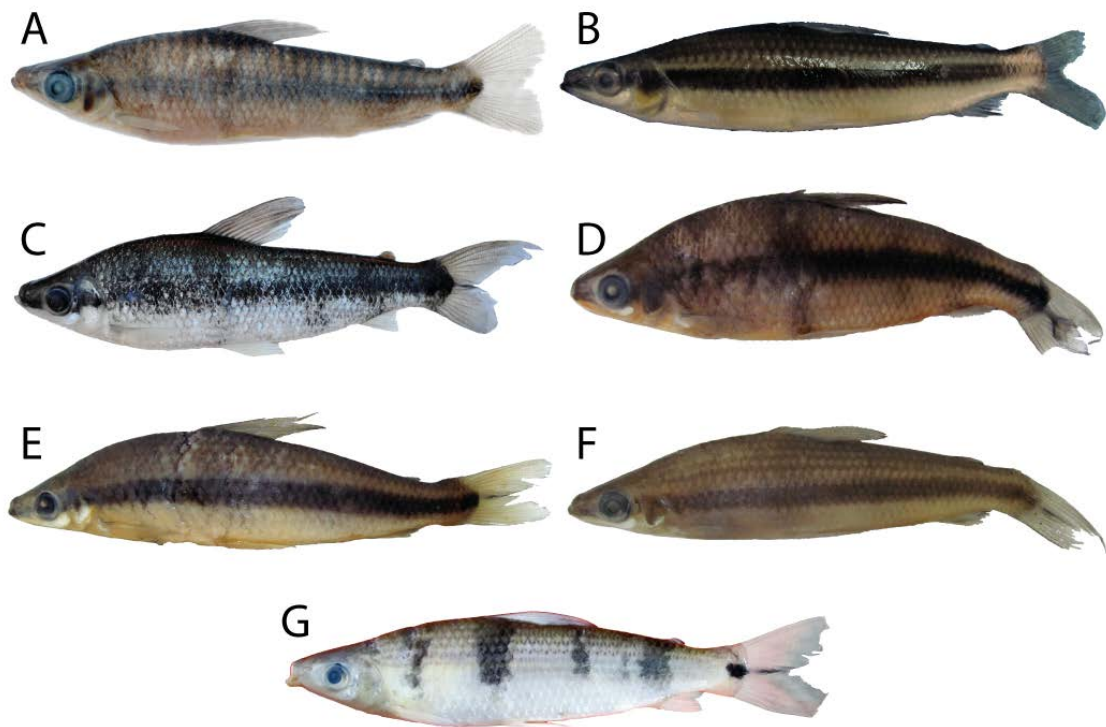
distribuída. Em nossa análise molecular, encontramos uma distância genética COI de 2 a 2,2%, um valor elevado para os Anostomidae (veja Discussão 5.1). Argumentamos que *Laemolyta* cf. *fernandezi* (da bacia Araguaia) deve ser considerada como uma espécie válida, e uma redescrição de *L. cf. fernandezi* e *L. fernandezi* é necessária.

Uma possível nova espécie de *Laemolyta* foi encontrada para o Alto Amazonas, designada como *L. cf. proxima*, devido à proximidade na merística e genética com *L. proxima*. *L. cf. proxima* é 0,8-1,2% e 1,6% geneticamente distante (para o gene COI) de *L. proxima* e *L. fernandezi*, respectivamente. Um valor superior do limiar encontrado para os Anostomidae (veja Discussão 5.1). Além disso, os valores de distância são comparáveis aos observados entre *L. fernandezi* (bacia do Rio Xingu) e *L. proxima* (0,9-1,2 %), duas espécies morfologicamente identificáveis, dando força a hipótese de *L. cf. proxima* ser uma espécie nova. O padrão de cor de *L. cf. proxima* é único em *Laemolyta* e é muito semelhante a algumas espécies de *Schizodon* (Figura 17), possuindo unicamente quatro manchas alongadas no corpo e uma mancha arredondada na base do pedúnculo caudal. Curiosamente, os indivíduos analisados foram coletados juntamente com *Schizodon fasciatus* Spix e Agassiz, 1829. Inicialmente, esses indivíduos foram identificados como *S. fasciatus*, mas após a análise dos dentes, foram identificados como membros do gênero *Laemolyta*. A possibilidade desses indivíduos serem um híbrido é rejeitada pelos genes nucleares utilizados no estudo. Cabe mencionar, que foram amostrados dois indivíduos juvenis (até 100 mm) no rio Nanay (Alto Amazonas), que possuem uma listra escura ao longo da linha lateral. As análises moleculares revelaram ambos os indivíduos juvenis como *L. cf. proxima*. A variação no padrão de colorido pode ser devido a razões ecológicas ou a um processo ontogenético, o que merece ser investigado. A classificação taxonômica de *L. cf. proxima* exigem uma análise integrada, incluindo métodos genéticos e morfológicos.

Duas linhagens foram encontradas dentro de *Laemolyta taeniata* (Figura 17E e Figura 17F). A distância genética observada entre as duas linhagens foi de 1,6-1,8%, um valor alto, considerando os valores encontrados para os Anostomidae (veja Discussão 5.1). A localidade-tipo de *L. taeniata* é o Rio Guaporé, na bacia do Madeira. Ambas as linhagens encontradas aqui foram coletadas nos afluentes do Rio Madeira. Sem uma análise detalhada morfologia, incluindo o holótipo, é impossível determinar qual a linhagem pode representar o verdadeiro *L. taeniata*, portanto, utilizou-se *L. taeniata* 1

e *L. taeniata* 2 para identificar as duas linhagens. Considerando a ampla distribuição de *L. taeniata* (ao longo do Amazonas e do Orinoco (MAUTARI; MENEZES, 2006)) é plausível estarmos frente a um complexo de espécies.

Figura 17 - Fotografias das espécies de *Laemolyta* analisadas. A: *Laemolyta fernandezii* L584, B: *L. garmani* L675, C: *L. cf. fernandezii* L130, D: *L. proxima* L482, E: *L. taeniata* 1 L488, F: *L. taeniata* 2 L487. G: *L. cf. proxima* L703. Fotos por P. Venere (A, C) e J. Ramirez (B, D, E, F, G).



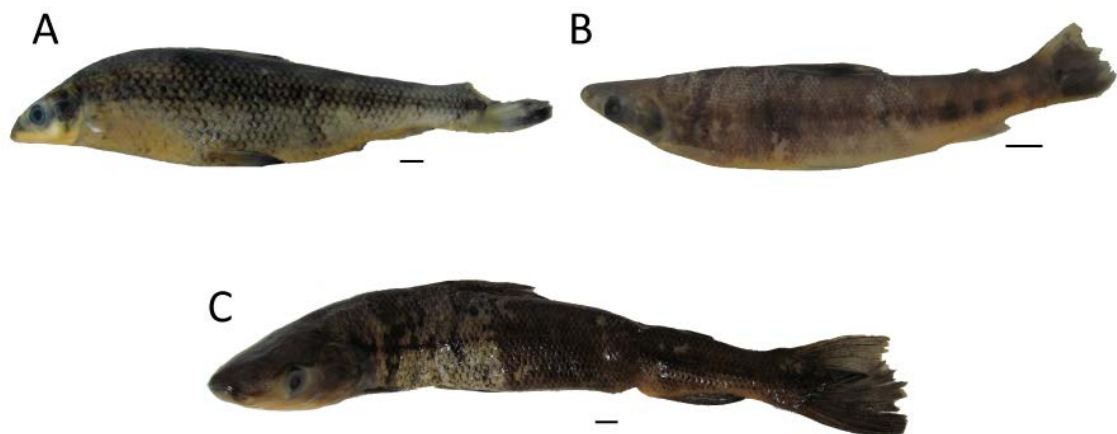
A nossa hipótese filogenética não recupera as relações interespecíficas propostas para *Laemolyta* por Sidlauskas e Vari (2008). No entanto, esses autores mencionam que nenhum dos clados obtidos para *Laemolyta* foi fortemente suportado. Foram recuperados dois grupos monofiléticos dentro do gênero, associados ao padrão de colorido dos peixes. As espécies do primeiro grupo (nó 19 nas figuras 6, 7 e 8) são caracterizadas por apresentarem barras verticais escuras sempre presentes. Nesse grupo, *L. cf. fernandezii* foi consistentemente espécie-irmã do clado formado pelas outras três espécies (*L. fernandezii*, *L. proxima*, e *L. cf. proxima*). Embora as relações evolutivas entre estas três espécies foram fracamente suportadas, em todas as análises, *L. fernandezii* foi grupo-irmão do clado formado por *L. proxima*, e *L. cf. proxima*. As espécies do segundo grupo (nó 20 nas figuras 6, 7 e 8) têm uma faixa longitudinal escura

ao longo da linha lateral e não têm barras verticais. Nesse grupo encontramos *Laemolyta garmani*, *L. taeniata* 1 e *L. taeniata* 2. *Laemolyta orinocensis* foi a única espécie do gênero não amostrada, a qual possui esse padrão de cor, mas sua relação filogenética ainda deve ser testada.

O gênero *Rhytiodus* formou um clado monofilético (nó 22 nas figuras 6, 7 e 8) em concordância com os dados morfológicos (SIDLAUSKAS; VARI, 2008). Morfologicamente a monofilia do gênero é baseada em seis sinapomorfias não-ambíguas (SIDLAUSKAS; VARI, 2008). Sendo o gênero caracterizado por possuir os corpos mais alongados dos Anostomidae, um alto número de escamas na linha lateral, por conseguinte, com escamas de menor tamanho (QUEIROZ et al., 2013; SIDLAUSKAS; VARI, 2008). Três das quatro espécies consideradas válidas (GARAVELLO; BRITSKI, 2003) foram incluídas no estudo, *Rhytiodus argenteofuscus* Kner, 1858, *R. lauzannei* Géry, 1987 e *R. microlepis* Kner, 1858 (Figura 18). A nossa hipótese recupera a mesma topologia apresentada por Sidlauskas e Vari (2008) para o gênero. Sendo *Rhytiodus argenteofuscus* grupo-irmão do clado formado por *R. lauzannei* e *R. microlepis*. *Rhytiodus argenteofuscus* é facilmente diferenciável das outras duas por possuir um menor número de escamas (50 a 55) (SANTOS; FEITOSA, 2013). *R. lauzannei* e *R. microlepis* apresentam 95 a 100 escamas e são unicamente diferenciáveis pela altura do corpo, sendo *R. microlepis* mais alongada e *R. lauzannei* de corpo mais alto em relação ao comprimento padrão (SANTOS; FEITOSA, 2013). Sidlauskas e Vari (2008) considera que existe uma sobreposição entre os intervalos de altura de corpo das duas espécies, e que o *status* de espécies nominais deve ser estudado. No entanto, outros autores propõem uma chave de identificação entre as duas espécies, identificando *R. lauzannei* por possuir altura variando de 3,8 a 5 vezes o comprimento padrão e *R. microlepis* com altura contida de 6 a 6,5 vezes (SANTOS; FEITOSA, 2013). As duas espécies foram identificadas no trabalho seguindo essa chave de identificação. Os indivíduos aqui utilizados de *R. microlepis* foram coletados na bacia do Rio Ucayali e do Rio Madeira. Por sua vez, *R. lauzannei* foi coletado em rios da bacia do Rio Madeira, fora da área de distribuição original (Rio Mamoré, Bolívia), indicando que a espécie possui uma maior distribuição e que habita em simpatria com *R. microlepis*, o que dificulta a identificação. As nossas análises recuperam as duas espécies como válidas, sendo grupos-irmãos muito próximos entre eles.

O gênero *Schizodon*, que é o segundo gênero mais especioso da família, com 15 espécies válidas (SIDLAUSKAS; GARAVELLO; JELLEN, 2007), foi recuperado com um clado monofilético fortemente suportado (nó 23 nas figuras 6, 7 e 8). Este gênero é suportado também na base de cinco sinapomorfias, com destaque especial para a distintiva morfologia dos dentes (SIDLAUSKAS; VARI, 2008). Em nossa análise foram incluídas 10 espécies, sendo uma delas uma nova linhagem não descrita (Figura 19). A espécie aqui listada como *Schizodon* cf. *vittatus* foi coletada no Rio Culuene (Alto Xingu) e apresenta valores merísticos e padrão de colorido similares àqueles de a *S. vittatus* (Valenciennes, 1850). Ambas as espécies apresentam quatro barras verticais e uma faixa longitudinal, a qual eventualmente pode ser inconspícua em *S. vittatus*, sendo mais evidente sobre o pedúnculo caudal (SANTOS; JÉGU, 1989). É essa faixa longitudinal que as diferencia de *S. fasciatus*, a outra espécie da bacia amazônica. Um estudo taxonômico é necessário para descrever essa espécie, considerando a inclusão de espécies com padrão de colorido similar, *S. vittatus* e *S. scotorhabdotus* Sidlauskas, Garavello e Jellen, 2007.

Figura 18 - Fotografias das espécies de *Rhytiodus* analisadas. A: *R. argenteofuscus* L537, B: *R. lauzannei* L540, C: *R. microlepis* L533. A barra indica 1 cm. Fotos por J. Ramirez.



Garavello (1994) definiu dois grupos hipotéticos de *Schizodon* baseando-se no padrão de colorido. O primeiro caracterizado por barras transversais negras sobre o dorso e uma mácula na base do pedúnculo caudal. O primeiro grupo é constituído por: *S. australis* Garavello, 1994 (La Plata), *S. borellii* (Boulenger, 1900) (Paraguai), *S. corti*

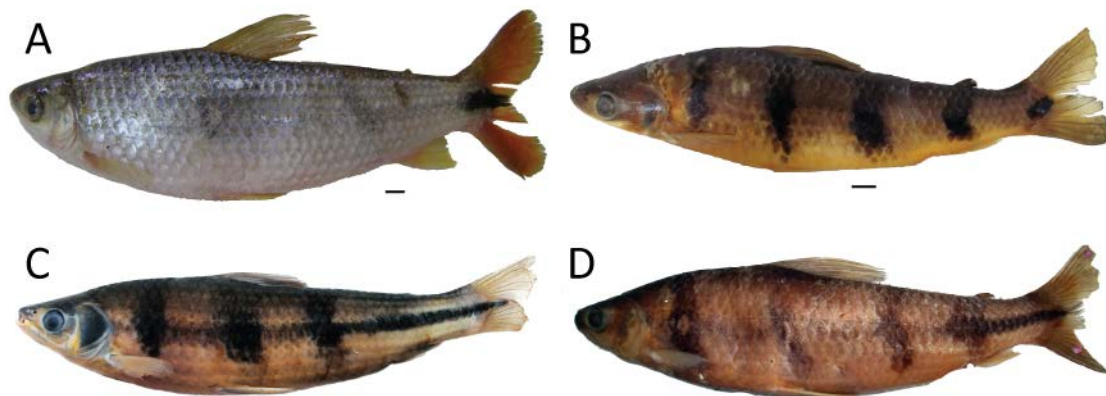
Schultz, 1944 (Orinoco), *S. dissimilis* (Garman, 1890) (rios do Nordeste do Brasil), *S. fasciatus* (Amazonas e rios da Guiana), *S. intermedius* Garavello e Britski, 1990 (Paraná), *S. platae* (Garman, 1890) (La Plata) e *S. vittatus* (Tocantins-Araguaia e rios da Guiana) (GARAVELLO, 1994; SIDLAUSKAS; VARI, 2012). O segundo grupo descrito por Garavello (1994) compreende as espécies com barras transversais negras inconspícuas sobre o dorso e uma faixa na linha lateral que mascara a mácula inconspícua no pedúnculo caudal, foram incluídas nesse grupo: *S. altoparanae* Garavello e Britski, 1990 (Alto Paraná), *S. nasutus* Kner, 1858 (Paraná, Paraguai e Uruguai), *S. isognathus* Kner, 1858 (Paraguai), *S. knerii* (Steindachner, 1875) e *S. jacuiensis* Bergman, 1988 (Lagoa dos Patos).

Na nossa análise filogenética foi recuperada uma subdivisão no gênero, a qual é concordante com a divisão de Garavello (1994). Foram recuperados no primeiro grupo (nó 24 nas figuras 6, 7 e 8), espécies com quatro barras transversais sempre presentes: *S. scotorhabdotus* (Orinoco), *S. borellii* (Paraguai), *S. dissimilis* (Pindaré e Itapecuru), *S. fasciatus* (Alto Amazonas e o Rio Madeira), *S. intermedius* (Alto Paraná), *S. cf. vittatus* (Alto Xingu) e *S. vittatus* (Tocantins-Araguaia). Das espécies não amostradas, as que possuem esse padrão são: *S. australis*, *S. corti* e *S. rostratus* (Borodin, 1931). A espécie mais basal desse grupo foi *S. scotorhabdotus*. *S. dissimilis* foi grupo-irmão das demais espécies. Uma relação de grupos-irmãos entre *S. borellii* e *S. intermedius* foi recuperada, duas espécies alopátricas, muito similares na merística e unicamente diferenciáveis usando morfometria (GARAVELLO; BRITSKI, 1990). Na Amazônia, foram recuperadas três espécies alopátricas: *Schizodon fasciatus*, *S. cf. vittatus* e *S. vittatus*. Essas espécies, com exceção de *S. fasciatus*, possuem uma faixa longitudinal na linha lateral (Figura 19). Como discutido por Sidlauskas e Vari (2012), a ocorrência de espécies com e sem a faixa longitudinal na Amazônia é conhecida desde o século XIX, sendo que para Géry (1977), *Schizodon fasciatus* seria sinônimo júnior de *S. vittatus*. Sidlauskas e Vari (2012) discutem a possibilidade delas serem uma única espécie, sendo a presença da faixa longitudinal considerada como parte de um processo ontogênico. Os autores finalmente reconhecem as duas espécies, em populações da Guiana, em espera de uma maior revisão taxonômica. As evidências aqui apresentadas suportam a validade de *S. vittatus* e apresentam mais uma espécie com esse padrão.

No segundo grupo de *Schizodon* foram recuperadas três espécies (nó 25 nas figuras 6, 7 e 8): *S. jacuiensis* (Jacuí), *S. knerii* (São Francisco) e *S. nasutus* (Uruguai). Essas

espécies possuem em comum que as quatro barras verticais, que caracterizam o anterior grupo, estão geralmente ausentes, sendo as vezes inconspícuas, como descrito para *S. jacuiensis* (BERGMANN, 1988) ou para *S. knerii* (SIDLAUSKAS; GARAVELLO; JELLEN, 2007). As espécies não amostradas e que possuem esse padrão são: *Schizodon altoparanae*, *S. isognathus* e *S. platae*. Quanto à última espécie mencionada, Garavello (1994) a considera como sendo parte do grupo com barras, mas a descrição original (GARMAN, 1890) e a redescritção dada por Bergmann (1988), que inclui uma foto do holótipo, fazem referência a uma única mancha na base do pedúnculo caudal, o que nos leva a considerá-la como pertencente ao grupo sem barras verticais. Todas as espécies aqui mencionadas, com exceção de *S. isognathus*, possuem um colorido uniforme com uma característica mancha negra alongada no pedúnculo caudal. Em *S. isognathus* essa mancha alonga-se até formar uma faixa contínua na linha lateral (GARAVELLO; BRITSKI, 1990).

Figura 19 - Fotografias de espécies de *Schizodon* analisadas. A: *S. knerii* L361, B: *S. fasciatus* L541, C: *S. cf. vittatus* L558, D: *S. vittatus* L100. A barra indica 1 cm. Fotos por D. Carvalho (A), J. Ramirez (B) e P. Venere (C e D).



Em geral, podemos observar que no grupo formado pelos gêneros *Anostomoides*, *Laemolyta*, *Rhytiodus* e *Schizodon*, o padrão de colorido de duas a quatro barras verticais está sempre presente, o que poderia representar uma plesiomorfia, a qual foi perdida independentemente em *Laemolyta* e *Schizodon*. Um estudo dos genes que regulam o desenvolvimento do padrão de colorido poderia dar novas luzes sobre a evolução dos Anostomidae.

Por último, no BST foi recuperado um grande grupo (nó 26 na figura 8) com diversos clados de *Leporinus*. Dentro da politomia recuperada no clado, encontramos o Clado *Amae*, o Clado *Britskii* e o conjunto monofilético de clados que constituem *Leporinus sensu stricto*. Esse clado foi designado em base à espécie-tipo *L. fasciatus*. Os clados *Amae* e *Britskii* não foram incluídos dentro de nossa definição de *Leporinus sensu stricto* por não ter o seu emparelhamento suportado pela análise de MP e ML (Figuras 6 e 7).

O Clado *Amae* (nó 27 nas figuras 6, 7 e 8) é formado por duas espécies, *Leporinus amae* e *L. melanopleurodes* Birindelli, Britski e Garavello, 2013. Podemos incluir mais duas espécies no clado, *L. amblyrhynchus* e *L. microphthalmus* segundo a filogenia molecular obtida para o gene COI (Apêndice D). Essas espécies são caracterizadas, em comum, por possuir boca subinferior com focinho arredondado e proeminente, uma faixa longitudinal contínua com altura de uma fileira de escamas (com exceção de *L. microphthalmus* que possui sete manchas escuras arredondadas sobre a linha lateral), 12 escamas no pedúnculo caudal e três dentes no dentário (ALMIRÓN et al., 2013; GARAVELLO; BRITSKI, 1987). Entre as espécies de *Leporinus* que possuem uma faixa longitudinal podemos mencionar: *L. microphysus* Birindelli e Britski, 2013, *L. taeniatus*, *L. taeniofasciatus* Britski, 1997, *L. unitaeniatus* Garavello e Santos, 2009 e *L. vanzoi* Britski e Garavello, 2005. Todas elas diferenciando-se por ter 16 escamas no pedúnculo caudal. Além disso, várias delas foram recuperadas dentro de outros clados na filogenia molecular (Figuras 6, 7 e 8). As espécies com esse padrão de colorido e 12 escamas no pedúnculo caudal são: *L. bistriatus* Britski, 1997, *L. britskii* e *L. cf. taeniatus*, com exceção da primeira espécie, todas recuperadas em outros clados na nossa hipótese filogenética (Figuras 6, 7 e 8).

No Clado *Britskii* (nó 28 nas figuras 6, 7 e 8) foram recuperadas duas espécies, *Hypomasticus pachycheilus* (atualmente incluída no gênero *Hypomasticus*) e *L. britskii*. Como discutido anteriormente o *status* taxonômico de *Hypomasticus* ainda deve ser estudado, mas conforme a espécie-tipo (o qual pertence ao Clado *Basal*), a espécie aqui incluída não deve ser considerada como parte do gênero. *L. pachycheilus* foi descrita para o Rio Aripuanã, afluente do Rio Madeira (BRITSKI, 1976), sendo que as amostras utilizadas no estudo provêm dessa bacia. Posteriormente, a distribuição da espécie foi ampliada para outros afluentes da bacia, assim como para os rios Uatumã, Araguari e

Tocantins (SANTOS; JÉGU; LIMA, 1996). *L. pachycheilus* apresenta corpo alongado, boca inferior e uma variabilidade intra e interpopulacional no padrão de colorido, com três listras escuras ao longo do tronco, às vezes descontínuas em forma de manchas ovais, (SANTOS; JÉGU; LIMA, 1996). Quando Santos, Jégu e Lima (1996) redescobriram *L. pachycheilus*, descobriram também *L. julii* (= *Hypomasticus julii*) (Bacia do Xingu e Trombetas), que, segundo os autores, seria uma espécie muito semelhante, a qual possui manchas arredondadas e isoladas, sem chegar a formar as faixas. Essa espécie não foi incluída no estudo, mas a mencionamos como um dado importante a ser levado em consideração para futuros estudos. *Leporinus britskii* foi descrita para a bacia do Rio Tapajós e do Rio Jari (FEITOSA; SANTOS; BIRINDELLI, 2011). A espécie é caracterizada por possuir corpo alongado, boca subterminal, uma faixa longitudinal escura na linha lateral formada pela fusão de manchas, barras transversais no dorso, e uma série de manchas alinhadas embaixo da linha lateral. Quando a espécie foi descrita, tanto *Hypomasticus pachycheilus* como *H. julii* tinham sido realocadas no gênero *Hypomasticus*, pelos que os autores não as consideraram para comparação.

Dentro de *Leporinus sensu stricto* (nó 29 nas figuras 6, 7, 8 e 20) podemos encontrar uma subdivisão em dois grupos. O primeiro (nó 30 nas figuras 6, 7 e 8) inclui o Clado *Friderici* que foi o grupo-irmão do clado (nó 31) formado pelos clados *Veneriei* e *Taeniatus*. Enquanto que o segundo (nó 35 nas figuras 6, 7 e 8) agrupa, em uma politomia, os clados *Desmotes*, *Fasciatus*, e o grupo formado por *Octomaculatus*, *Tristriatus* e *Cylindriformis*.

O Clado *Friderici* (nó 36 nas figuras 6, 7 e 8) agrupa três espécies nominais válidas: *Leporinus agassizi* Steindachner, 1876, *L. cf. friderici* e *L. piau* Fowler, 1941 da bacia do São Francisco (= *L. cf. friderici*, ver discussão posterior). A análise de *barcode* mostra que a divergência entre as três espécies é muito baixa, sendo provavelmente recente (Tabela 3 e Apêndice C). *L. friderici* foi descrito como *Salmo friderici* por Bloch (1794) com localidade-tipo no Suriname, sendo caracterizada por possuir três manchas escuras arredondadas ao longo da linha lateral. Como discutido por Sidlauskas e Vari (2012) o nome é amplamente usado em espécimes do continente inteiro, resultando provavelmente em um complexo de espécies. Inclusive, para esses autores existem variações entre os rios do Suriname e do Escudo da Guiana. Existindo uma espécie não coespecífica de *L. friderici* nos rios Demerara, Essequibo e Rupununi (que os autores

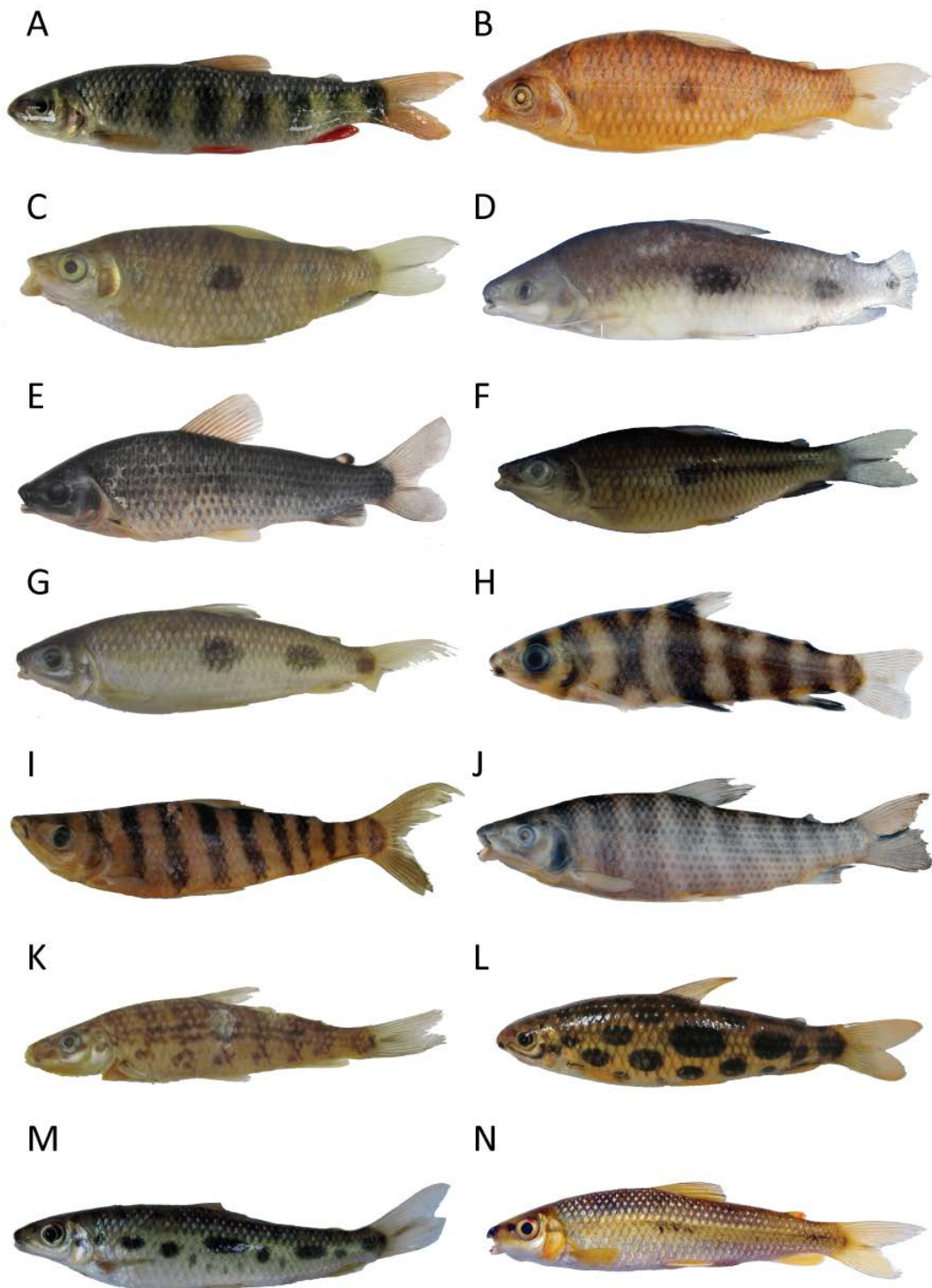
finalmente identificam como *L. agassizi* da bacia amazônica) e *L. friderici*, a qual ocorre nos rios mais ao Leste (SIDLAUSKAS; VARI, 2012). Estudos genéticos mostraram que as populações de *L. friderici* das Guianas e do Brasil são distantes geneticamente, sendo este primeiro ainda dividido entre as populações do Oeste e Leste da Guiana. As populações do leste, por sua vez, estariam mais próximas das populações brasileiras (RENNO et al., 1990, 1991).

No presente estudo, foram coletados espécimes coincidentes com a descrição de *L. friderici* em diversas bacias. Vários deles representam novas espécies de distribuição aparentemente mais restrita (ver Clado *Veneriei*). Os indivíduos aqui designados como *L. cf. friderici* apresentam, por se só, um complexo de espécies com distribuição nas bacias dos rios Madeira, Tapajós, Tocantins-Araguaia, Paraguai, Paraná e São Francisco. Não há haplótipos compartilhados entre nenhuma das bacias, com exceção do Paraná e Paraguai (Figura 21). Alguns indivíduos coletados na bacia do Paraná apresentaram haplótipos do Paraguai (Figura 21), mas o inverso contudo, não é observado. Isso pode ser explicado pela inundação do Salto de Sete Quedas após a construção de Itaipu. A população de *L. cf. friderici* do Rio São Francisco é comumente assignada à espécie *L. piau* (DE CARVALHO et al., 2011; GARAVELLO; BRITSKI, 2003). Isso se deve ao fato de Fowler (1941) citar a bacia do Rio Salgado no Ceará (Bacia do Jaguaribe) como localidade-tipo, mas incluindo um parátipo do Rio Jatobá (Bacia do São Francisco). Os exemplares de *Leporinus piau* da bacia do Rio Salgado aqui analisados, mostraram-se como parte do Clado *Veneriei*, sendo uma espécie diferente a *L. cf. friderici*. Deduzimos por tanto que *L. piau* não se distribui na bacia do São Francisco, sendo os indivíduos dessa bacia pertencentes a *L. cf. friderici*.

Leporinus agassizi foi descrito para a bacia do Rio Iça, no Alto Amazonas (STEINDACHNER, 1876). Essa espécie é caracterizada por possuir uma faixa longitudinal que vai desde a origem da nadadeira dorsal até um pouco antes da nadadeira caudal. Essa espécie é proximamente relacionada a *L. cf. friderici*. Interessantemente, nenhum exemplar de *L. cf. friderici* foi coletado no Alto Amazonas, parecendo que substituem-se mutuamente. Precisamente, a maioria dos registros de indivíduos de *L. agassizi* pertencem as bacias do Alto Amazonas (como o Rio Nanay, Lago Tefé, Rio Negro ou Rio Branco) (BIRINDELLI; BRITSKI; LIMA, 2013). Além disso, não foram coletados indivíduos de *L. cf. friderici* no Alto Amazonas, sendo que todos esses exemplares que possuem o

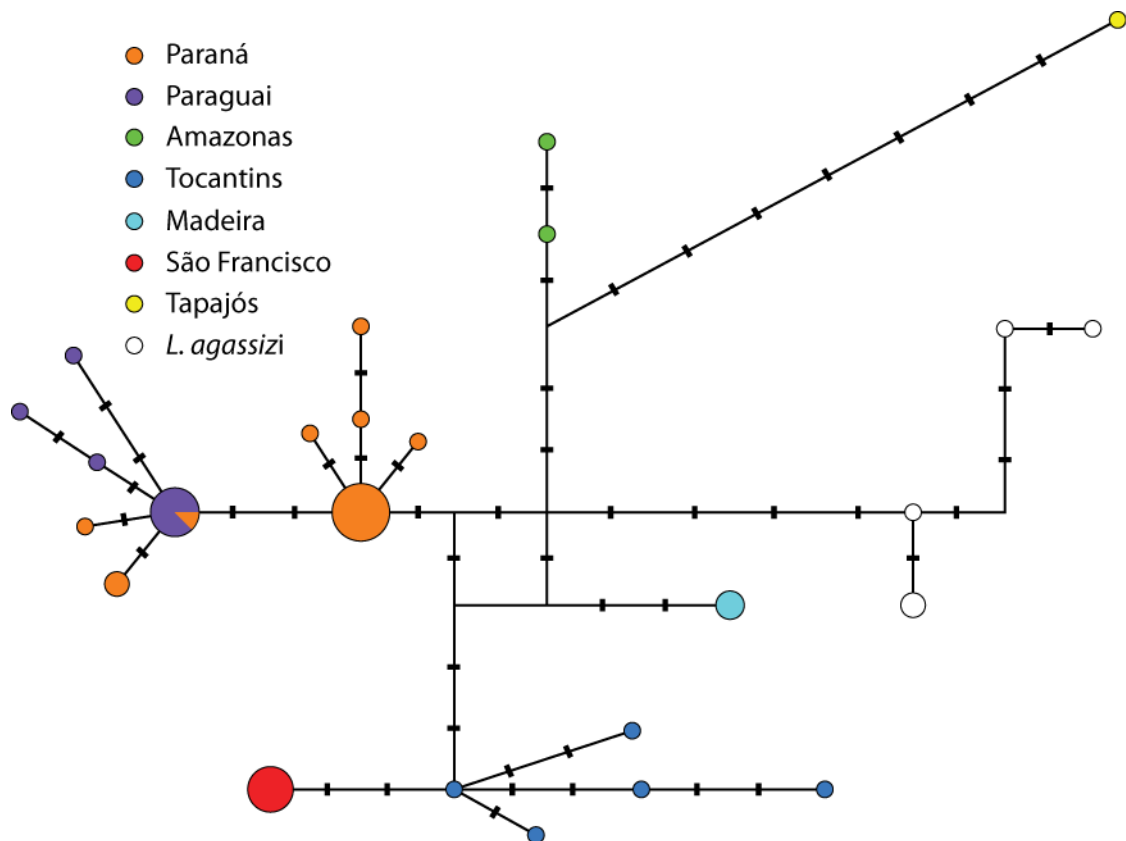
padrão de *L. cf. friderici*, nessas bacias, correspondem à espécie aqui identificada como *L. cf. parae* do Clado *Veneri*.

Figura 20 - Fotografias de espécies de *Leporinus sensu stricto*. A: *L. octofasciatus* L872, B: *L. veneri* L185, C: *L. lacustris* L088, D: *L. cf. parae* L631, E: *L. sp. 4* L173, F: *L. agassizi* L681, G: *L. cf. friderici* L041, H: *L. desmotes* Culuene L561, I: *L. fasciatus* L497, J: *L. cf. fasciatus* Xingu L560, K: *L. reticulatus* L098, L: *L. sp. 14* L551, M: *L. sp. 13*, N: *L. unitaeniatus* L183. Fotos por J. Ramirez e P. Venere (B, E, H, J e N).



O Clado *Veneri* (nó 33 nas figuras 6, 7 e 8) compreende espécies que possuem uma a três manchas no corpo, ao longo da linha lateral. Como visto anteriormente, esse padrão é o apresentado por *Leporinus cf. friderici*, sendo que várias das espécies do clado foram inicialmente coletadas como sendo dessa espécie. Ademais, outras espécies que possuem esse padrão podem ser encontradas em outros clados: *L. steindachneri* e *L. copelandii* no Clado *Basal* e *L. paranensis* Garavello e Britski (1987) e *L. bahiensis* no Clado *Taeniatus*. Adicionalmente podemos mencionar, que todas as espécies possuem 4/4 dentes, com exceção de *L. veneri* que possui 4/3, fórmula dentária única em Anostomidae. Nesse grupo várias espécies foram listadas como *Leporinus* sp. dado que compartilham, não somente um padrão similar e a fórmula dentária, mas também os dados da merística com *L. cf. friderici*.

Figura 21 - Rede haplotípica do gene COI de *Leporinus cf. friderici* e *L. agassizi*. Traços nas linhas indicam passos mutacionais. Os tamanhos dos círculos são proporcionais ao número de indivíduos.



No Clado *Veneri* foram recuperados dois grupos de espécies. No primeiro grupo (nó 34 nas figuras 6, 7 e 8) encontramos: *Leporinus* sp. 3, *L. boehlkei* Garavello, 1988, *L. piau*, *L. lacustris* Campos, 1945, *L. cf. lacustris*, *L. sp. 6* e *L. sp. 10*. Foi recuperada uma relação de grupos-irmão entre *Leporinus* sp. 3 da bacia do Rio Guaporé (Madeira) e *L. boehlkei* da bacia do Rio Orinoco. Podemos também observar uma relação de grupo-irmão entre *L. sp. 6* (Rios Mearim e Itapecuru no Maranhão) e *L. sp. 10* (Bacia amazônica). Adicionalmente, foi recuperado o clado *L. lacustris* (Paraná, bacia-tipo) e *L. cf. lacustris* (Paraguai). A divergência entre elas foi de 0,479% (que corresponde a nosso limiar) e não houve haplótipos compartilhados, o que nos permite considerá-las como duas linhagens diferentes. Essas linhagens são alopátricas, de distribuição restrita e de origem recente (baixa divergência).

O segundo grupo inclui *L. veneri* (Araguaia), *L. cf. parae* (Alto Amazonas e Madeira), *L. sp. 4* (Tocantins-Araguaia) e *L. sp. 20* (nó 35 nas figuras 6, 7 e 8). *L. cf. parae* formou um clado com *L. sp. 4*, sendo as duas linhagens próximas (0,8%), mas não compartilham haplótipos. A hipótese de essas duas linhagens serem uma única espécie com isolamento por distância não deve ser descartada, mas elas parecem ser alopátricas e restritas. Uma maior amostragem, incluindo *L. parae*, descrita para o Baixo Amazonas e com reportes no Orinoco e no Tocantins (BRITSKI; BIRINDELLI, 2008) poderá contribuir a responder essa questão.

Três das quatro espécies nominais do Clado *Veneri*, *L. lacustris*, *L. parae* - *L. cf. parae*- e *L. veneri* foram consideradas como sendo muito similares na aparência, essas espécies compartilham um corpo alto, boca terminal, nadadeira anal longa e escura e manchas na linha lateral (BRITSKI; BIRINDELLI, 2008). O presente resultado dá suporte ao relacionamento dessas três espécies. Uma revisão taxonômica de cunho integrativo se faz necessária para determinar o número exato e a diagnose das espécies do grupo.

No Clado *Taeniatus* (nó 32 nas figuras 6, 7 e 8) foram recuperadas as seguintes espécies: *Leporinus bahiensis*, *L. cf. taeniatus*, *L. octofasciatus* e *L. taeniatus*. Além dessas espécies podemos incluir no grupo *L. paranensis* (Apêndice C). Esse clado compreende espécies de vários padrões de colorido: com barras verticais (*L. octofasciatus*), com manchas no corpo (*Leporinus bahiensis* e *L. paranensis*) ou com uma faixa longitudinal (*L. cf. taeniatus* e *L. taeniatus*). Sendo um grupo com alta plasticidade nesse caráter. Podemos mencionar que todas essas espécies têm em comum a fórmula dentária (3/4).

Na politomia formada pelos clados *Desmotes*, *Fasciatus*, e o grupo formado por *Octomaculatus*, *Tristriatus* e *Cylindriformis* (nó 37 nas figuras 6, 7 e 8), os dois primeiros clados agrupam as espécies com múltiplas barras verticais ao longo do corpo. As espécies com esse padrão foram reconhecidas como um grupo distintivo de *Leporinus* (BRITSKI; GARAVELLO, 1978; GÉRY, 1977), sendo chamadas de grupo-*fasciatus* (GÉRY, 1977). Esse padrão de colorido parece ser basal no gênero, dado que a maioria das espécies, quando jovem possuem barras verticais que desaparecem no desenvolvimento (BRITSKI; GARAVELLO, 1978; MAHNERT; GERY; MULLER, 1997). Unicamente uma espécie com barras verticais não foi recuperada nesses clados: *Leporinus octofasciatus* que pertence ao Clado *Taeniatus* (Figuras 6, 7, 8 e Figura 20). Interessantemente, todas espécies com esse padrão de colorido apresentam uma sinapomorfia, o nono raio da nadadeira pélvica ramificado, com exceção de *L. octofasciatus* (Britski, comunicação pessoal). O que reforça a ideia da convergência evolutiva do padrão de colorido nessa espécie. As espécies com esse padrão foram recuperadas em dois clados bem sustentados, mas a monofilia entre os dois clado não foi recuperada. No BST, a relação não pode ser descartada, dado que existe uma politomia na base (Figura 8). No MP e ML, o Clado *Desmotes* foi basal e não formou um grupo monofilético com o Clado *Fasciatus*. Os testes de KH e SH rejeitaram a hipótese da monofilia conjunta, mas unicamente para um valor de $p < 0,05$ (Tabela 10). Essa relação ainda merece ser melhor investigada.

No Clado *Desmotes* (nó 38 nas figuras 6, 7 e 8) observamos várias linhagens de *Leporinus desmotes* e a *L. pearsoni* Fowler, 1940 do Alto Amazonas. Em *L. desmotes*, enquanto as linhagens do Araguaia, Madeira e Tapajós divergem entre 0,39% e 0,8%, a linhagem do Alto Xingu diverge das anteriores mais 3,26%. A linhagem do Alto Xingu merece uma atenção especial, sendo uma provável nova espécie. Também foi recuperado no clado, *Leporinus pearsoni*, como espécie basal. Essas duas espécies junto com *L. bleheri* e *L. yophorus* Eigenmann, 1922 foram agrupadas como um subgrupo do grupo-*fasciatus* (GÉRY, 1999) por ter corpo não tão alongado e baixo número de barras verticais, formando as letras “X” ou “Y” (6 ou 7). Os autores também discutem a possibilidade de estar incluso *L. tigrinus* Borodin, 1929 nesse subgrupo. No entanto, na nossa hipótese filogenética, *L. bleheri* e *L. tigrinus* foram recuperados no Clado *fasciatus*. Devemos mencionar também a espécie *L. jatuncochi* da Amazônia equatoriana, possível

sinônimo de *L. desmotes* segundo Garavello e Britski (2003) e Sidlauskas e Vari (2012), que poderia vir a ser parte do clado.

As espécies que foram agrupadas no Clado *Fasciatus* foram: *Leporinus tigrinus* (Tocantins-Araguaia), *L. bleheri* (Madeira), *L. affinis* (Tocantins-Araguaia), *L. cf. fasciatus* Xingu (Alto Xingu) e *L. fasciatus* (Nanay, Madeira e Orinoco) (nó 39 nas figuras 6, 7 e 8). A espécie mais basal foi *L. tigrinus*. *L. bleheri* foi grupo-irmão das demais espécies. Como visto anteriormente tanto *L. tigrinus* como *L. bleheri* possuem barras verticais divididas formando padrões similares a “X” ou a “Y”. Em comparação, o grupo monofilético formado por *L. affinis*, *L. cf. fasciatus* Xingu e *L. fasciatus* possui barras verticais sem subdivisões, quando adultos, e um maior número das mesmas (8-10). Como discutido por Sidlauskas e Vari (2012), *L. fasciatus* é possivelmente um complexo de espécies que precisa de revisão. *L. fasciatus* foi descrito para rios do Suriname, mas tem distribuição no Amazonas e Orinoco, com várias subespécies nominais, assim como sinônimos júnior (GARAVELLO; BRITSKI, 2003; SIDLAUSKAS; VARI, 2012). Por enquanto, a evidência aqui apresentada assinala a existência de uma espécie críptica no Alto Xingu, e que a população do Baixo Amazonas (*L. affinis* e *L. cf. fasciatus* Tapajós) e a do Alto Amazonas são diferentes espécies.

Finalmente encontramos o grupo formado pelos Clados *Octomaculatus*, *Tristriatus* e *Cylindriformis* (nó 40 nas figuras 6, 7 e 8). O Clado *Octomaculatus* (nó 41 nas figuras 6, 7 e 8) é formado por *Leporinus reticulatus* (Tapajós), grupo-irmão de *L. octomaculatus* Britski e Garavello, 1993 (Tapajós), *L. cf. octomaculatus* Paraguai e *L. cf. octomaculatus* Jamanxim. A inclusão de *L. reticulatus* no clado foi fracamente suportada (66%) pela árvore de MP, mas fortemente suportada pelo ML e BST, permitindo que o consideremos como sendo de fato parte do grupo. *L. reticulatus* é caracterizado pelo padrão de cor único, tendo manchas irregulares que, em indivíduos pequenos, formam barras vazadas por áreas claras (Figura 20); nos adultos essas manchas ficam mais separadas e irregulares (BIRINDELLI; BRITSKI, 2009; BRITSKI; GARAVELLO, 1993). *Leporinus octomaculatus* possui oito manchas sobre a linha lateral, além de outras manchas acima e abaixo destas (BRITSKI; GARAVELLO, 1993). As espécies do clado, possuem em comum um padrão de múltiplas manchas no corpo e boca subinferior com 3/4 dentes (BIRINDELLI; BRITSKI, 2009). Uma sinapomorfia, mais interessante e incomum, é a proposta por Birindelli e Britski (2009), que observaram que essas duas

espécies possuem o quarto e quinto osso infra-orbital fusionados. Essa característica também foi encontrada em *Hypomasticus megalepis*, *H. despaxi*, *Leporinus aripuanaensis* Garavello e Santos, 1981, *L. ortomaculatus* Garavello, 2000, *L. pellegrinii* Steindachner, 1910 e *L. tigrinus* (SIDLAUSKAS; VARI, 2008) e em *Leporinus guttatus* Birindelli e Britski, 2009 (BIRINDELLI; BRITSKI, 2009). Dessas espécies as únicas que foram analisadas no nosso estudo foram *L. ortomaculatus* e *L. tigrinus*, espécies que formam parte do clado *Desmotes-Fasciatus-Octomaculatus-Tristriatus-Cylindriiformis*, sendo provável que o caráter não seja restrito ao Clado *Octomaculatus*, mais sim ao clado maior. No entanto, Birindelli e Britski (2009) relatam que *L. desmotes* e *L. fasciatus* não possuem essa fusão, o que converteria ao caráter em homoplástico como proposto por Sidlauskas e Vari (2008). Birindelli e Britski (2009) também mencionam duas espécies que possuem um padrão de colorido muito próximo a *L. octomaculatus*: *L. microphthalmus* Garavello (1989) (Bacia do Paraná) e *L. marcgravii* Lütken, 1875 (Bacia do São Francisco). Além disso, essas duas espécies possuem 3/4 dentes e merística similar. Como visto anteriormente, *L. microphthalmus* provavelmente é parte do Clado *Amae*, mas a inclusão da segunda espécie pode revelar um novo táxon relacionado ao clado.

A divergência genética entre as linhagens de *L. octomaculatus* foi de 2,4 a 2,9%, o que evidencia a presença de espécies alopátricas. Devido ao fato de *L. octomaculatus* ter localidade-tipo no Rio Arinos (Bacia do Tapajós), os exemplares da bacia do Paraguai foram nomeados como *L. cf. octomaculatus* Paraguai. Inesperadamente, o exemplar do Jamanxim, mostrou-se como uma linhagem diferente, a pesar de estar também na bacia do Tapajós. As linhagens possuem padrão de colorido e valores merísticos similares. Novos estudos são necessários para separar morfologicamente essas linhagens, e o uso de análises morfométricas ou osteológicas poderiam ajudar a resolver o problema.

O Clado *Tristriatus* (nó 42 nas figuras 6, 7 e 8) é composto unicamente de duas espécies. *Leporinus tristriatus* (Tapajós) e *L. sp. 14* (Araguaia). Essas duas espécies possuem os mesmos valores merísticos: 3/4 dentes, 36-38 e 37 escamas na linha lateral, respectivamente, 4/4 series de escamas transversais e 12 escamas no pedúnculo caudal, mas possuem dois padrões de coloridos totalmente diferentes. Enquanto *L. tristriatus* possui três linhas longitudinais ao longo do corpo, *L. sp. 14* possui manchas arredondadas ao longo do corpo (Figura 20). Interessantemente, em alguns indivíduos

de *L. tristriatus*, a linha longitudinal mais ventral é fragmentada em cinco ou seis manchas (BIRINDELLI; BRITSKI, 2013). Essas duas espécies, mostram como o padrão de colorido pode mudar rapidamente em alguns *Leporinus*.

O Clado *Cylindriformis* (nó 43 nas figuras 6, 7 e 8) compreende *Leporinus cylindriformis* Borodin, 1829, *L. ortomaculatus*, *L. sp. 13*, *L. unitaeniatus* e *L. vanzoi*. O clado foi nomeado em referência ao “*L. cylindriformis group*” (SIDLAUSKAS; MOL; VARI, 2011). Esse grupo abrange espécie alongadas que possuem uma série de manchas escuras ao longo da linha lateral (SIDLAUSKAS; MOL; VARI, 2011). Essa descrição não concorda perfeitamente com todas as nossas espécies no clado, mas o nome foi usado por incluir *L. cylindriformis*, a espécie central do grupo. Os autores incluem dentro do “*L. cylindriformis group*”: *Leporinus amazonicus*, *L. apollo* Sidlauskas e Mol, 2011, *L. cylindriformis*, *L. klausewitzi* Géry, 1960, *L. niceforoi* e *L. ortomaculatus* (SIDLAUSKAS; MOL; VARI, 2011). Dessas espécies *L. cylindriformis* e *L. ortomaculatus* foram recuperadas dentro do clado. As outras espécies, ora pertencem a outros clados, ora não foram avaliadas (*L. apollo* e *L. klausewitzi*). Dentro do clado encontramos uma subdivisão: no primeiro grupo observamos que *L. cylindriformis* (Madeira) foi grupo-irmão do clado formado por *L. vanzoi* (Tapajós) e *L. unitaeniatus* (Araguaia). Essas últimas duas espécies possuem também corpo alongado, com menos de 25% do comprimento padrão (BRITSKI; GARAVELLO, 2005; GARAVELLO; SANTOS, 2009), mas elas possuem listra longitudinal diferindo do conceito do “*L. cylindriformis group*”. No segundo grupo encontramos *L. ortomaculatus* (Araguaia) e *L. sp. 13* (Alto Xingu), duas espécies que possuem padrões de colorido similar, séries de manchas ao longo, abaixo e acima da linha lateral, mas em *L. sp. 13* algumas das manchas na linha lateral são alongadas (Figura 20).

Vários autores têm utilizado uma classificação artificial baseando-se em padrão de colorido, devido à falta de informação filogenética (BRITSKI; GARAVELLO, 1978; GÉRY, 1977; SIDLAUSKAS; VARI, 2012), mas nenhuma destas divisões formaram grupo monofiléticos quando usados os dados moleculares. Alguns padrões parecem ser mais fortes na filogenia e mantidos nos clados. Esse é o caso dos *Leporinus* com barras verticais, que caracteriza todas as espécies dos clados *Desmotes* e *Fasciatus*, mas esse mesmo padrão evoluiu independentemente em *L. octofasciatus* do Clado *Taeniatus*. Outro exemplo, seria o Clado *Veneri*, mas cujo padrão evoluiu várias vezes ao longo da

história evolutiva da família. Enquanto que alguns grupos mostram esses padrões fortes, outros mostram uma incrível plasticidade, como o Clado *Taeniatus*, que reúne espécies com todos os padrões clássicos de *Leporinus*. Finalmente, um caso interessante é o dos gêneros *Schizodon* e *Laemolyta*, nos quais o padrão de quatro barras verticais parece ser plesiomórfico e é perdido independentemente nos dois casos. Nesses gêneros essa perda acompanha a subdivisão em dois clados, sendo um caráter importante. Os nossos resultados mostram que o padrão de colorido no geral não deve ser usado como sistema de classificação no parafilético gênero *Leporinus*, mas acompanhado de outros caracteres pode ajudar a diagnosticar alguns dos clados aqui encontrados.

Dentição é um importante caráter diagnóstico para Anostomidae (BRITSKI, 1997). Em geral, o número de dentes varia de três a quatro em cada premaxilla e dentário (BRITSKI; BIRINDELLI, 2008). Dentro da filogenia molecular, a mesma fórmula dentária aparece repetidas vezes, representando um caráter homoplástico. Portanto, a fórmula dentária parece não ser informativa para a reconstrução filogenética em Anostomidae. No entanto, existem clados monofiléticos onde a fórmula dentária é mantida ao longo da especiação, como é o caso do Clado ZZ/ZW, onde todas as espécies possuem 3/3 dentes. Se bem o caráter pode não ser muito informativo para a reconstrução filogenética, é muito útil para o diagnóstico, diferenciando espécies estreitamente relacionadas e semelhantes. Por exemplo, na Bacia do rio Araguaia são encontrados *Leporinus affinis*, *L. desmotetes* e *L. tigrinus*, três espécies com um padrão de cor semelhante, mas facilmente diagnosticados pela fórmula dental (4/4, 3/3 e 3/4, respectivamente).

Observa-se em cada clado espécies distribuídas em várias bacias, indicando que a família apresenta uma história evolutiva complexa, a qual ocorreu nos últimos 30 milhões de anos (data obtida calibrando o grupo ZZ com a separação do Magdalena). O registro fóssil da família é muito pobre, sendo a maioria registro de dentes (BOGAN et al., 2012). Os registros mais antigos pertencem ao Mioceno na bacia do Rio Cuenca (Equador, aprox. 19 Ma), na formação La Venta (Colômbia, 11,5 Ma) (BOGAN et al., 2012), porém dificilmente alguns desses registros poderiam ser associado a algum clado de Anostomidae. Estudos de filogeografia comparada poderiam fornecer maiores informações sobre os processos que levaram à especiação do grupo. Para isso é necessário de grupos monofiléticos de ampla distribuição com uma boa amostragem de

espécies. Todos esses requisitos são preenchidos pelo Clado ZZ/ZW, e a continuação na seção 5.3 discutimos sobre a história evolutiva do clado.

5.3 Filogeografia das espécies com cromossomos sexuais ZZ/ZW

O ancestral comum mais recente do grupo foi estimado em 11,58 Ma, e corresponde ao nó calibrado como o evento geológico, surgimento da Cordilheira Oriental dos Andes, que isolou completamente a bacia do Rio Magdalena. Esse evento geológico é um dos mais usados na literatura para peixes neotropicais (CARVALHO-COSTA et al., 2011; SIVASUNDAR; BERMINGHAM; ORTÍ, 2001; TURNER et al., 2004). Esse evento foi recuperado pelo S-DIVA no nó 1 (Figuras 10 e 22). O nó marca a separação de *Leporinus muyscorum* das demais espécies do grupo. Antes da elevação da Cordilheira Oriental (13 Ma), o vale do Magdalena era caracterizado por meandros e rios entrelaçados, sendo que as cabeceiras eram originárias do oeste do Escudo da Guiana (HOORN et al., 1995).

O segundo evento cladogênico foi datado em 8,02 Ma (Figura 9), e marca a separação das linhagens do proto-Amazonas-Orinoco e as linhagens do leste do Escudo Brasileiro (Paraná, São Francisco e bacias costeiras) (nó 2, figuras 10 e 22). Esse evento foi recuperado pelo S-DIVA como a separação entre o Amazonas (proto-Amazonas-Orinoco, incluindo o Rio Tocantins) e o São Francisco. A relação entre as duas bacias é pouco estudada e não existem muito trabalhos pesquisando a história biogeográfica em comum das mesmas. Contudo, é sabido que a ictiofauna do Rio São Francisco tem uma origem híbrida, apresentando relações com todas bacias hidrográficas em seu entorno (LIMA; CAIRES, 2011). Existe uma relação biogeográfica entre o Rio São Francisco e a bacia do alto Rio Tocantins, como assinalada pela presença de grupos monofiléticos em comum, para ambas as bacias (LIMA; CAIRES, 2011). Atualmente, as duas bacias possuem uma linha divisora em comum, onde o Rio Sapão (afluente do Rio Grande, bacia do São Francisco) compartilha a cabeceira com o Rio Galheiros (afluente do Rio Novo, bacia do Tocantins) (LIMA; CAIRES, 2011). O divisor nessa região é estabelecido pela Serra Geral do Tocantins, um patamar planáltico erodido pelas cabeceiras do Rio Tocantins, enquanto a bacia do São Francisco drena a porção ainda contínua (LIMA; CAIRES, 2011). O fato da existência da cabeceira em comum, situação conhecida como “águas emendadas”, atesta a presença de capturas de antigos tributários,

possivelmente do São Francisco para o Rio Tocantins (LIMA; CAIRES, 2011). Eventos de dispersão do Amazonas para as bacias do leste do Escudo Brasileiro (como o Rio São Francisco) já foram reportados na literatura, em estudos de filogenia molecular, como é o caso de espécies de *Serrasalmus*, datado em 7,4 Ma (HUBERT et al., 2007) ou o caso de *Hypostomus*, datado entre 10 e 5 Ma (MONTROYA-BURGOS, 2003). No entanto, no caso de *Hypostomus* é considerado um padrão de dispersão com um passo intermediário: 1) Amazonas, 2) Paraná e 3) São Francisco; Devido ao fato de que as capturas entre o rio Amazonas e a bacia do Paraná são mais amplamente documentadas.

Figura 22 - Principais eventos históricos associados a especiação no Clado ZZ/ZW. Os números correspondem aos nós na figura 10. Evento de vicariância são assinaladas por linhas trancas. Evento de dispersão são representados por setas.



O ancestral comum mais recente para as linhagens do proto-Amazonas-Orinoco foi datado em 5,01 Ma (Figura 9, nó 3 nas figuras 10 e 22). A separação do Orinoco e o Amazonas foi ocasionada pelo surgimento do arco de Vaupés. O arco de Vaupés é considerado uma barreira semipermeável, cuja força isoladora é enfraquecida modernamente pelo canal de Cassiquiare (Pleistoceno-Holoceno) (LUJAN; ARMBRUSTER, 2011). O surgimento do arco de Vaupés ocorreu no final do Mioceno e foi estimado entre 10 Ma (GREGORY-WODZICKI, 2000; HOORN, 1994) e 8 Ma (HOORN, 1993; HOORN et al., 1995). Contudo, Albert e Carvalho (2011) encontraram evidência biogeográfica de que a vicariância ocasionada pelo arco parece ser mais recente do que esperado pela datação paleogeográfica. Da mesma maneira, estudos moleculares mostram uma data inferior à proposta pela paleogeografia. Entre esses trabalhos podemos mencionar aos realizados no gênero *Prochilodus*, onde a separação Orinoco-Amazonas foi estimada em 3,9-5,2 Ma (SIVASUNDAR; BERMINGHAM; ORTÍ, 2001) e em 3 Ma (TURNER et al., 2004).

O evento cladogênico 4 (Figuras 10 e 22) corresponde a separação da bacia do Tocantins e do Amazonas. A bacia Tocantins-Araguaia tem uma história geológica complexa, mudando a sua posição de acordo com reativações tectônicas. Um evento vicariante para essas duas bacias é o surgimento do arco de Gurupá no curso baixo do Tocantins, estimado em 5.66 Ma (HUBERT et al., 2007). Posteriormente, no limite entre o Plioceno e o Pleistoceno (aprox. 1,8 Ma), a bacia do Tocantins-Araguaia ainda estava conectada diretamente com o Rio Amazonas, sendo capturado depois ao curso moderno (ROSSETTI; VALERIANO, 2007). A nossa estimativa (3,39 Ma, Figura 9) não coincide com nenhuma dessas datas. A possibilidade de nossa estimativa estar correta é plausível, mas existe ainda outro cenário que é importante ter em consideração. Nossas amostras de *Leporinus trifasciatus* correspondem às bacias do Alto Amazonas (Rios Ucayali e Madeira) e as do *L. cf. trifasciatus* à bacia do Tocantins, duas bacias separadas por bacias intermediárias (Tapajós e Xingu). O evento pode estar refletindo a data de separação do Alto e do Baixo Amazonas (Tapajós, Xingu e Tocantins) e não a separação do Tocantins das restantes sub-bacias amazônicas. Enquanto alguns autores sugerem como limite entre o Alto e o Baixo Amazonas o arco de Purus (FIGUEIREDO et al., 2009; ROSSETTI; DE TOLEDO; GÓES, 2005), outros colocam o limite mais pro leste, no arco do Tapajós (CAMPBELL; FRAILEY; ROMERO-PITTMAN, 2006; COSTA et al., 2001).

Levando em consideração que as amostras da Bacia do Rio Madeira são parte da mesma linhagem das amostras do Rio Ucayali (Tabela 1), o surgimento do arco de Tapajós seria o hipotético evento que marcaria a separação das linhagens do Alto e Baixo Amazonas.

O evento cladogênico 4 (Figuras 10 e 22) corresponde a separação da bacia do Tocantins e do Amazonas. A bacia Tocantins-Araguaia tem uma história geológica complexa, mudando a sua posição de acordo com reativações tectônicas. Um evento vicariante para essas duas bacias é o surgimento do arco de Gurupá no curso baixo do Tocantins, estimado em 5.66 Ma (HUBERT et al., 2007). Posteriormente, no limite entre o Plioceno e o Pleistoceno (aprox. 1,8 Ma), a bacia do Tocantins-Araguaia ainda estava conectada diretamente com o Rio Amazonas, sendo capturado depois ao curso moderno (ROSSETTI; VALERIANO, 2007). A nossa estimativa (3,39 Ma, Figura 9) não coincide com nenhuma dessas datas. A possibilidade de nossa estimativa estar correta é plausível, mas existe ainda outro cenário que é importante ter em consideração. Nossas amostras de *Leporinus trifasciatus* correspondem às bacias do Alto Amazonas (Rios Ucayali e Madeira) e as do *L. cf. trifasciatus* à bacia do Tocantins, duas bacias separadas por bacias intermediárias (Tapajós e Xingu). O evento pode estar refletindo a data de separação do Alto e do Baixo Amazonas (Tapajós, Xingu e Tocantins) e não a separação do Tocantins das restantes sub-bacias amazônicas. Enquanto alguns autores sugerem como limite entre o Alto e o Baixo Amazonas o arco de Purus (FIGUEIREDO et al., 2009; ROSSETTI; DE TOLEDO; GÓES, 2005), outros colocam o limite mais pro leste, no arco do Tapajós (CAMPBELL; FRAILEY; ROMERO-PITTMAN, 2006; COSTA et al., 2001). Levando em consideração que as amostras da Bacia do Rio Madeira são parte da mesma linhagem das amostras do Rio Ucayali (Tabela 1), o surgimento do arco de Tapajós seria o hipotético evento que marcaria a separação das linhagens do Alto e Baixo Amazonas.

O último evento de especiação do clado das linhagens que vieram do proto-Amazonas-Orinoco, corresponde ao evento 5 (Figuras 10 e 22) (2,19 Ma, Figura 9) O evento é considerado pelo S-DIVA como sendo primeiramente de dispersão para a bacia do Paraguai e uma posterior especiação por vicariância. Esse perfil é o esperado para eventos hidrogeológicos, como seria o caso de uma captura de cabeceira do Alto Amazonas (Ucayali e Madeira) pelo Rio Paraguai. As bacias amazônica e do Paraguai possuem uma longa história compartilhada, tendo sofrido, ao longo dos últimos 40 Ma, grandes eventos de captura, e a formação de barreiras semipermeáveis até o

surgimento do arco de Michicola, que finalmente separou as bacias há aproximadamente 11,8 a 10 Ma (LUNDBERG et al., 1998). Atualmente a bacia do Paraguai, possui uma grande área de compartilhamento de cabeceiras com as sub-bacias do Mamoré, Guaporé, Tapajós, Xingu, Tocantins e o Alto Paraná (CARVALHO; ALBERT, 2011). No nosso evento cladogênico, o maior interesse seria nas sub-bacias do Mamoré e Guaporé, que formam parte da bacia do rio Madeira (Alto Amazonas). Existem evidências de intercâmbio de ictiofauna entre essas duas sub-bacias e a bacia do Paraguai, em diversos grupos taxonômicos de peixes (CARVALHO; ALBERT, 2011). Isso demonstra que capturas de cabeceiras foram importantes eventos de geodispersão entre essas duas bacias.

As datações moleculares obtidas para a separação Amazonas-Paraguai são variáveis, especialmente devido ao fato de que o divisor de águas entre essas bacias é semipermeável, sendo possível identificar diversos eventos de vicariância e geodispersão (CARVALHO; ALBERT, 2011). Por exemplo, um estudo das relações filogenéticas do gênero *Hypostomus* encontrou uma separação entre as bacias do Amazonas e a do Paraguai de 11,4-10,5 Ma (MONTROYA-BURGOS, 2003). Enquanto que outro estudo estimou uma divisão mais recente para o gênero *Prochilodus*, 4,1-2,3 Ma (SIVASUNDAR; BERMINGHAM; ORTÍ, 2001). A nossa divergência entre *Leporinus macrocephalus* e *L. trifasciatus* é mais uma evidência das capturas de cabeceiras entre essas duas bacias, ocorrida há 2,19 Ma.

O nó 6 (Figuras 10 e 22) representa o ancestral comum mais recente para o clado das linhagens do leste do Escudo Brasileiro. Essa região inclui duas grandes bacias hidrográficas, a do rio São Francisco e a do Alto Paraná, assim como uma série de bacias hidrográficas costeiras de menor porte (BUCKUP, 2011). Na região, existe uma ampla linha divisora de águas entre as bacias que drenam a costa do Escudo Brasileiro e as bacias dos rios São Francisco e Paraná. Dentre os principais processos históricos que poderiam ter influenciado a distribuição de espécies nos rios costeiros, podemos destacar a instabilidade geológicas dos limites com as bacias adjacentes e as flutuações no nível do mar (BUCKUP, 2011).

A instabilidade geológica dos limites lestes do Escudo Brasileiro tem produzido vários casos de capturas de cabeceiras entre as bacias costeiras e as bacias adjacentes. Um exemplo, é a captura que ocorreu entre a bacia costeira do Paraíba do Sul e a do

Alto Paraná, sendo amplamente documentada. O primeiro a propor uma conexão entre elas foi o naturalista Ihering, (1898). Posteriormente, surgiram mais evidências geológicas e paleontológicas de um intercâmbio de fauna entre as duas bacias (MALABARBA, 1998; RIBEIRO, 2006). O evento cladogênico do nó 6 é de dispersão do São Francisco para o Rio Doce há 6,31 Ma, representando um claro caso de captura de cabeceira do São Francisco para o Rio Doce. Essa captura permitiu que a linhagem de *Leporinus* com cromossomos sexuais ZZ/ZW conquista-se pela primeira vez as bacias costeiras. Além do mais, é possível observar capturas posteriores recorrentes do São Francisco para os rios das bacias costeiras como é o caso do nó 8, 10 e 13 (Figuras 10 e 22), onde linhagens dispersaram para a bacia do Rio Jequitinhonha.

Diversos autores propõem que o nível do mar flutuou durante os últimos milhões de anos (ALBERT; REIS, 2011; MILLER et al., 2005), tendo períodos onde o nível do mar aumentou drasticamente invadindo as terras baixas (incursão marinha), e causando extinções e isolamento de populações. Por outro lado, durante os períodos em que o nível do mar se manteve baixo (regressão marinha), houve uma ampliação da planície costeira e aumento dos rios associados, favorecendo, desse modo, a junção de bacias que antes estavam isoladas, devido à formação de conexões em delta. Aproveitando-se desses períodos de baixo nível do mar, os peixes dos rios costeiros dispersam e ocupam novas bacias. Com o aumento do nível do mar, novos períodos de isolamento ocorrem, o que resulta em diferenciação populacional e posteriormente na formação de novas espécies. Evidências da existência de paleo-bacias e de um complexo sistema fluvial, que atualmente está submerso no mar, são bem conhecidas (DE ABREU et al., 2005; MENEZES et al., 2008). Esse seria o caso do nó 14 (Figuras 10 e 22) que marca a separação das linhagens de *Leporinus conirostris* do Rio Doce e do Rio Paraíba do Sul, estimada em 2,27 Ma (Figura 9). *L. conirostris* foi descrita para os rios Paraíba do Sul, Doce e Mucuri, sendo que a distribuição atual inclui os rios ao sul do Rio Jequitinhonha e ao norte do Ribeira do Iguape (BIRINDELLI; BRITSKI, 2005). Inicialmente, essa linhagem invadiu as bacias costeiras por meio de captura de cabeceira do São Francisco (nó 6, figuras 10 e 22). Posteriormente, a dispersão dessa espécie, ao longo das bacias costeiras mencionadas, ocorreu provavelmente por meio das paleo-bacias. Uma análise incluindo amostras de todas essas bacias é necessária para entender como ocorreu exatamente essa dispersão.

A dispersão do nó 14, ao longo das bacias costeiras ocorreu no início do Pleistoceno (2,27 Ma). Nossa datação apoia a teoria de que as flutuações no nível do mar durante o Pleistoceno foram a causa de especiação (WEITZMAN; MENEZES; WEITZMAN, 1988). Nos últimos 9 Ma, houveram proeminentes períodos de diminuição do nível do mar, registrados aproximadamente cada milhão de ano, há 8,2, 5,7, 4,9, 4,0, 3,3, 2,5 Ma (MILLER et al., 2005). Esse último evento é coincidente com a diminuição da temperatura no Pleistoceno, e está muito próximo da nossa datação, o que suporta a nossa hipótese.

Uma outra opção, é que a dispersão, nas bacias costeiras, ocorreu por meio de múltiplas capturas de cabeceiras de uma bacia contígua a outra. A região das cabeceiras dos rios costeiros mostra uma descontinuidade estrutural, onde os eventos tectônicos promoveram capturas de cabeceiras (RIBEIRO, 2006). No entanto, uma dispersão por múltiplas capturas seria esperada ter ocorrido durante um período maior de tempo, do fim do Cretáceo ao início do Quaternário (RIBEIRO, 2006). Nossa datação mostra que a dispersão ocorreu faz 2,27 Ma, dando maior força a teoria de dispersão por meio de paleo-bacias.

O nó 7, calibrado em 5,52 Ma (Figuras 9 e 10), foi recuperado como um evento de dispersão, onde houve primeiramente uma duplicação da linhagem dentro da bacia do Rio São Francisco (frequência 0,88). Para isso, seria necessário primeiro um evento de especiação simpátrica dentro da bacia e posterior dispersão para a bacia do Rio Jequitinhonha, sendo que uma linhagem permaneceria no São Francisco (*Leporinus reinhardti*) e a outra possuiria uma área ancestral São Francisco-Jequitinhonha que seria posteriormente dividida no evento cladogênico 8 (Figuras 10 e 22). A problemática do presente caso seria a especiação simpátrica dentro de uma mesma bacia. Especiação simpátrica em peixes é considerada incomum e muito difícil de provar (ALBERT; REIS, 2011). Porém, exemplos podem ser encontrados na literatura, onde alguns autores atribuem a especiação à grande heterogeneidade do habitat, embora um processo alopátrico seguido de contato secundário possa originar o mesmo padrão (ALBERT; REIS, 2011; HUBERT et al., 2007). Outro processo a ser sugerido como promotor de especiação simpátrica é o caráter migratório das espécies, onde isolamento pode ser dado por reprodução em diferentes cabeceiras (ALBERT; REIS, 2011; BATISTA; ALVES-GOMES, 2006) ou por diferentes períodos reprodutivos (ALBERT; REIS, 2011). Cabe destacar que

a maioria das espécies modernas de *Leporinus* com cromossomos sexuais ZZ/ZW possuem caráter migratório.

Ainda com relação ao nó 7, foi recuperado um segundo evento cladogênico, que corresponde a dispersão São Francisco-Jequitinhonha, mas com baixíssima frequência (0,1). Esse evento incluiria uma captura de cabeceira do São Francisco para o Jequitinhonha e posterior especiação alopátrica, permanecendo uma linhagem no São Francisco (*Leporinus reinhardti*) e a outra linhagem no Jequitinhonha, Essa última, seria posteriormente recapturada para o São Francisco no evento marcado pelo nó 8 (Figuras 10 e 22). Esse evento tem uma baixa probabilidade devido principalmente a duas razões: A relação do nó 8 é fracamente suportada (0,81, Figura 10) e que um evento de captura e recaptura implica uma maior complexidade (vicariância e dispersão) que um evento de duplicação e posterior dispersão. Como discutido anteriormente, a descontinuidade estrutural e os eventos tectônicos na região das cabeceiras seriam os responsáveis em promover as capturas (RIBEIRO, 2006). A contínua erosão da margem leste do Escudo Brasileiro pode introduzir continuamente linhagens dos rios dos planaltos (como o do São Francisco) para as bacias costeiras, mas não no sentido contrário (RIBEIRO, 2006). Para que isso ocorra é necessário deformações tectônicas significantes (RIBEIRO, 2006). Atualmente, não existem evidências publicadas de capturas de espécies das bacias costeiras para as bacias adjacentes do interior do continente, o que enfraquece a hipótese.

O evento cladogênico 9, refere-se a um evento de dispersão do São Francisco para o Alto Paraná (Figuras 10 e 22). O divisor de águas entre essas bacias é pouco pronunciado e menor que 200 m de altitude, sendo usualmente áreas alagadas em terras planas (BUCKUP, 2011). Estudos ictiofaunísticos indicam um grande número de espécies compartilhadas entre as duas bacias, o que sugere dispersão através das conexões geológicas recentes entre as cabeceiras (BUCKUP, 2011). De fato, existem evidências dessas conexões, como é o caso do Piumhi. No final do Cenozoico, o baixo Piumhi conectava-se diretamente com a bacia do Rio São Francisco (BUCKUP, 2011). Reativações de falhas tectônicas associadas à Serra da Paciência e a Serra do Fumal causaram a elevação do fundo da depressão do Piumhi, originando uma mudança do curso do rio para o Rio Grande (bacia do Alto Paraná) (BUCKUP, 2011). Além disso, existe uma grande falha tectônica, conhecida como Descontinuidade Crustal do Alto Rio São

Francisco (DSCARF), na região localizada entre o Rio São Francisco e o Rio Grande, onde reativações durante o Quaternário puderam representar mecanismos de intercâmbio de fauna (SAADI et al., 2002). A datação desse evento (2,66 Ma, Figura 9) corresponde ao final do Cenozoico, próximo ao início do Quaternário (2,5 Ma). O que mostra que processos, como capturas de cabeceira, foram importantes nesse período e causaram intercâmbio de fauna entre o Rio São Francisco e a bacia do Alto Paraná.

A linhagem do Alto Paraná conseguiu dispersar-se para a bacia do Paraguai, há 1,3 Ma (Figuras 9, 10 e 22, nó 12). Ambas as bacias compartilham um grande divisor de águas, até que o Paraguai junta-se ao Paraná (Baixo Paraná). Apesar de ter uma junção física, a bacia do Alto Paraná e do Paraguai possuem uma ictiofauna diferente, sendo duas sub-bacias separadas historicamente pelo Salto de Sete Quedas (ALBERT; REIS, 2011). Um exemplo de intercâmbio de fauna entre as duas sub-bacias platinas é a origem do pantanal por meio de captura de tributários do alto Paraná há 2.5 Ma (MENEZES et al., 2008). Essa data é superior a nossa calibração, mas capturas posteriores podem ter acontecido, uma vez que trata-se de uma área de depressão tectonicamente ativa (MENEZES et al., 2008).

O S-DIVA recuperou duas possíveis áreas ancestrais no nó 10, Jequitinhonha-São Francisco e Paraná-São Francisco com baixas frequências, 0,52 e 0,48, respectivamente. Isso é devido ao fato que o nó derivado, 11, possui uma baixa probabilidade posterior (0,4, Figura 10). Apesar disso, sabendo que o ancestral proveniente do nó 9 é do São Francisco, podemos deduzir que um novo evento de captura e dispersão para as bacias costeiras (Jequitinhonha) e uma captura São Francisco-Paraná ocorreram no grupo. Esses eventos ocorreram em um tempo muito curto (Figura 9), dificultando assim a reconstrução filogenética.

O nó 13 (figuras 10 e 22) marca o evento cladogenético mais recente no grupo. Esse evento corresponde a uma captura de cabeceira do São Francisco para o Rio Itapicuru na Bahia, há 140.000 anos. O processo de incorporação de fauna para os rios das bacias costeiras ocorreu, no grupo, durante os últimos 6 Ma e repetidamente em vários pontos. Essas duas linhagens representam, mais um caso, de dispersão e posterior diferenciação por alopatria.

A linhagem das espécies de *Leporinus* com cromossomos sexuais ZZ/ZW possui uma história evolutiva complexa, onde o ancestral do grupo habitou as paleo-bacias

existentes há mais de 12 Ma. Duas grandes linhagens foram recuperadas no grupo (Além de *Leporinus muyscorum*, que divergiu inicialmente pela separação da bacia do Rio Magdalena), a linhagem do proto-Amazonas-Orinoco e a do leste do Escudo Brasileiro. A especiação no proto-Amazonas-Orinoco foi dada principalmente por processos paleogeográficos, como são a formação das bacias do Orinoco e do Tocantins. No entanto, o processo de diversificação no leste do Escudo Brasileiro foi predominantemente hidrogeológico, com capturas de cabeceiras entre a bacia do Rio São Francisco e as bacias costeiras, assim como entre as bacias do Rio São Francisco e do Paraná. Outro processo importante para os rios do leste do Escudo Brasileiro foi a dispersão por meio de paleo-bacias no período de baixo nível do mar. Interessantemente, as duas linhagens que habitam o Rio Paraguai, chegaram por capturas de cabeceira, provenientes das duas grandes linhagens do grupo.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O DNA *barcode* é definitivamente uma ferramenta útil para a identificação das linhagens na família Anostomidae, sendo possível reconhecer as linhagens inclusive em casos de divergência recente, como por exemplo no caso das populações de *Leporinus* cf. *friderici*. Outro exemplo da eficácia da metodologia é o caso de *L. macrocephalus*, um peixe muito comercial, que foi encontrado fora da sua distribuição, nos rios Doce e Tietê (Apêndice C), provavelmente sendo espécimes que vieram por soltura de piscicultura. A utilização da metodologia, nesse caso, proporcionaria uma rápida identificação do animal.

O presente estudo usa pela primeira vez marcadores moleculares no grupo e nos proporciona a hipótese filogenética mais completa que tenha sido publicada. Nossa hipótese é fortemente sustentada, mostrando suporte para três subfamílias e vinte e dois clados. Também foi recuperado *Leporinus* como um grupo parafilético, e várias mudanças taxonômicas são necessárias para restaurar a monofilia do gênero. Definitivamente é necessária uma revisão taxonômica mais extensa em Anostomidae, especialmente em *Leporinus* e *Hypomasticus*. Ainda existem espécies que não foram avaliadas no presente trabalho, e descrições de novas espécies estão em andamento. Além disso, complexos de espécies de ampla distribuição, tal como *L. friderici*, precisam ser avaliados.

Estudos filogeográficos em peixes são importantes para entender os processos que levaram a especiação ao longo da história evolutiva. O presente estudo, demonstra o grande potencial desse tipo de trabalhos. Consideramos que futuros estudos devem ser realizados para entender com maior detalhe esses processos. Para isso é necessário obter filogenias robustas e com a maior cobertura de espécies, assim como uma maior informação dos eventos geológicos.

7 REFERÊNCIAS

ABE, K. T. et al. Systematic and historical biogeography of the Bryconidae (Ostariophysi: Characiformes) suggesting a new rearrangement of its genera and an old origin of Mesoamerican ichthyofauna. **BMC evolutionary biology**, v. 14, n. 1, p. 152, jan. 2014.

ALBERT, J. S.; CARVALHO, T. P. Neogene assembly of modern faunas. In: ALBERT, J. S.; REIS, R. E. (Eds.). . **Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes**. Los Angeles, California: University of California Press, 2011. p. 119–136.

ALBERT, J. S.; LOVEJOY, N. R.; CRAMPTON, W. G. R. Miocene tectonism and the separation of cis- and trans-Andean river basins: Evidence from Neotropical fishes. **Journal of South American Earth Sciences**, v. 21, n. 1-2, p. 14–27, mar. 2006.

ALBERT, J. S.; REIS, R. E. **Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes**. Los Angeles, California: University of California Press, 2011.

ALMIRÓN, A. et al. First record and supplementary description of *Leporinus amae* Godoy, 1980 (Characiformes: Anostomidae) from freshwaters in Argentina. **Check List**, 2013.

ALVES, C. B. M.; POMPEU, P. DOS S. **Peixes do Rio das Velhas: passado e presente**. [s.l.: s.n.].

ARDURA, A. et al. DNA barcoding for conservation and management of Amazonian commercial fish. **Biological Conservation**, v. 143, n. 6, p. 1438–1443, jun. 2010.

AVISE, J. C. et al. Intraspecific Phylogeography: The Mitochondrial DNA Bridge Between Population Genetics and Systematics. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 18, n. 1987, p. 489–522, 1987.

AVISE, J. C. **Phylogeography: the History and Formation of Species**. Cambridge, MA: Harvard University Press, 2000.

AVISE, J. C. **Molecular Markers, Natural History and Evolution**. 2nd. ed. New York, USA: Chapman & Hall, 2004. v. 64

BARLUENGA, M.; MEYER, A. Phylogeography, colonization and population history of the Midas cichlid species complex (*Amphilophus* spp.) in the Nicaraguan crater lakes. **BMC evolutionary biology**, v. 10, n. 1, p. 326, jan. 2010.

BATISTA, J. S.; ALVES-GOMES, J. A. Phylogeography of *Brachyplatystoma rousseauxii* (Siluriformes - Pimelodidae) in the Amazon Basin offers preliminary evidence for the first case of “homing” for an Amazonian migratory catfish. **Genetics and Molecular Research**, v. 5, n. 4, p. 723–740, jan. 2006.

BECKER, S.; HANNER, R.; STEINKE, D. Five years of FISH-BOL: brief status report. **Mitochondrial DNA**, v. 22 Suppl 1, n. October, p. 3–9, out. 2011.

BERGMANN, L. A. C. *Schizodon jacuiensis* sp. n., Um novo anostomídeo do sul do Brasil e redescrição de *Schizodon kneri* (Steindachner, 1875) e *S. platae* (Garman, 1890). (Pisces, Characiformes, Anostomidae). **Comunicações do Museu de Ciências da PUCRS.: Serie Zoologia**, v. 1, n. 1, p. 13–28, 1988.

BIRINDELLI, J. L. O. et al. New Species of *Hypomasticus* Borodin, 1929 (Characiformes: Anostomidae) from Tributaries of the Lower Rio Amazonas, Brazil. **Copeia**, v. 2013, n. 3, p. 464–469, 27 set. 2013.

BIRINDELLI, J. L. O.; BRITSKI, H. A. **Revisão Taxonômica das espécies de *Leporinus Agassiz, 1829, do leste brasileiro***. Livro de Resumos do XVI Encontro Brasileiro de Zoologia. **Anais...** João Pessoa: 2005

BIRINDELLI, J. L. O.; BRITSKI, H. A. New species of the genus *Leporinus* Agassiz (Characiformes : Anostomidae) from the rio Curuá , rio Xingu basin , Serra do Cachimbo, Brazil , with comments on *Leporinus reticulatus*. **Neotropical Ichthyology**, v. 7, n. 1, p. 1–10, 2009.

BIRINDELLI, J. L. O.; BRITSKI, H. A. Two new species of *Leporinus* (Characiformes: Anostomidae) from the Brazilian Amazon, and redescription of *Leporinus striatus* Kner 1858. **Journal of fish biology**, v. 83, n. 5, p. 1128–60, 30 nov. 2013.

BIRINDELLI, J. L. O.; BRITSKI, H. A.; LIMA, F. C. T. New Species of *Leporinus* from the Rio Tapajós Basin, Brazil, and Redescription of *L. moralesi* (Characiformes: Anostomidae). **Copeia**, v. 2013, n. 2, p. 238–247, 3 jul. 2013.

BIRINDELLI, J. L. O.; LIMA, F. C. T.; BRITSKI, H. A. New species of *Pseudanos* Winterbottom, 1980 (Characiformes: Anostomidae), with notes on the taxonomy of *P. gracilis* and *P. trimaculatus*. **Zootaxa**, v. 3425, p. 55–68, 2012.

BLOCH, M. E. **Naturgeschichte der ausländischen Fische, vol. 8**. Berlin: [s.n.].

BOGAN, S. et al. *Arrhinolemur scalabrinii* Ameghino, 1898, of the late Miocene - a taxonomic journey from the Mammalia to the Anostomidae (Ostariophysi: Characiformes). **Neotropical Ichthyology**, v. 10, n. 3, p. 555–560, 2012.

BORODIN, N. A. Notes on some species and subspecies of the genus *Leporinus* Spix. **Memoirs of the Museum of Comparative Zoology**, v. 50, n. 3, p. 269–290, 1929.

BOUCKAERT, R. et al. BEAST 2: A Software Platform for Bayesian Evolutionary Analysis. **PLoS computational biology**, v. 10, n. 4, p. e1003537, abr. 2014.

BOULENGER, G. A synopsis of the suborders and families of teleostean fishes. **Annals and Magazine of Natural History (Ser. 7)**, v. 13, p. 161–190, 1904.

BRITSKI, H. A. Sobre uma nova espécie *Leporinus* da Amazônia. **Acta Amazônica**, v. 6, n. 4, p. 87–89, 1976.

BRITSKI, H. A. Descrição de duas espécies novas de *Leporinus* dos rios Araguaia e Tocantins, e comentários sobre as demais espécies do gênero assinaladas na bacia (Ostariophysi, Characiformes, Anostomidae). **Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS: Série Zoologia**, v. 10, p. 27–43, 1997.

BRITSKI, H. A.; BIRINDELLI, J. L. O. Description of a new species of the genus *Leporinus* Spix (Characiformes : Anostomidae) from the rio Araguaia, Brazil, with comments on the taxonomy and distribution of *L. parae* and *L. lacustris*. **Neotropical Ichthyology**, v. 6, n. 1, p. 45–51, 2008.

BRITSKI, H. A.; BIRINDELLI, J. L. O.; GARAVELLO, J. C. A new species of *Leporinus* Agassiz, 1829 from the Upper Rio Paraná basin (Characiformes, Anostomidae) with redescription of *L. elongatus* Valenciennes, 1850 and *L. obtusidens* (Valenciennes, 1837). **Papéis Avulsos de Zoologia**, v. 52, n. 37, p. 441–475, 2012.

BRITSKI, H. A.; GARAVELLO, J. C. Sobre *Leporinus octofasciatus steindachner* da bacia do Paraná (Pisces, Anostomidae). **Papéis Avulsos de Zoologia**, v. 31, n. 16, p. 237–250, 1978.

BRITSKI, H. A.; GARAVELLO, J. C. Sobre uma nova espécie de *Leporinus* da bacia Amazônica (Pisces, Anostomidae) com considerações sobre *L. striatus* Kner, 1859 e espécies afins. **Papéis Avulsos de Zoologia**, v. 33, n. 15, p. 253–262, 1980.

BRITSKI, H. A.; GARAVELLO, J. C. Descrição de duas espécies novas de *Leporinus* da bacia do Tapajós (Pisces, Characiformes). **Comunicações do Museu de Ciências da PUCRS: Serie Zoologia**, v. 6, p. 29–40, 1993.

BRITSKI, H. A.; GARAVELLO, J. C. Uma nova espécie de *Leporinus* Agassiz, 1829, da Bacia Amazônica (Ostariophysi: Characiformes: Anostomidae). **Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS: Série Zoologia**, v. 18, n. 2, p. 75–83, 2005.

BUCKUP, P. A. The Eastern Brazilian Shield. In: ALBERT, J. S.; REIS, R. E. (Eds.). . **Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes**. Berkeley, California, California: University of California Press, 2011. p. 203–210.

CALCAGNOTTO, D.; SCHAEFER, S. A; DESALLE, R. Relationships among characiform fishes inferred from analysis of nuclear and mitochondrial gene sequences. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 36, n. 1, p. 135–53, jul. 2005.

CAMPBELL, K. E.; FRAILEY, C. D.; ROMERO-PITTMAN, L. The Pan-Amazonian Ucayali Penepain, late Neogene sedimentation in Amazonia, and the birth of the modern Amazon River system. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, v. 239, p. 166–219, 2006.

CARVALHO, T. P.; ALBERT, J. S. The Amazon-Paraguay divide. In: ALBERT, J. S.; REIS, R. E. (Eds.). . **Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes**. Los Angeles, California: University of California Press, 2011. p. 193–202.

CARVALHO-COSTA, L. F. et al. Molecular systematics of the neotropical shovelnose catfish genus *Pseudoplatystoma* Bleeker 1862 based on nuclear and mtDNA markers. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 59, n. 1, p. 177–94, abr. 2011.

CHIARI, L. et al. Study of eight species of the Anostomidae family (Pisces, Characiformes) by RAPD analysis. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 2, p. 445–451, 2001.

CHIARI, L.; SODRÉ, L. M. K. Genetic variability in five species of Anostomidae (Ostariophysi - Characiformes). **Genetics and Molecular Biology**, v. 22, n. 4, p. 517–523, 1999.

COPE, E. D. On the fishes of the Ambiyacu River. **Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia**, p. 250–298, 1872.

COSTA, J. B. S. et al. Tectonics and paleogeography along the Amazon river. **Journal of South American Earth Sciences**, v. 14, p. 335–347, 2001.

DARRIBA, D. et al. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. **Nature methods**, v. 9, n. 8, p. 772, ago. 2012.

DE ABREU, J. G. N. et al. Paleocanais na plataforma continental interna do rio grande do sul: Evidências de uma drenagem fluvial pretérita. **Revista Brasileira de Geofísica**, v. 23, n. 2, p. 123–132, jun. 2005.

DE CARVALHO, D. C. et al. Deep barcode divergence in Brazilian freshwater fishes: the case of the São Francisco River basin. **Mitochondrial DNA**, v. 22 Suppl 1, n. October, p. 80–6, out. 2011.

EDWARDS, S. V. Is a new and general theory of molecular systematics emerging? **Evolution; international journal of organic evolution**, v. 63, n. 1, p. 1–19, jan. 2009.

EIGENMANN, C. H. The fishes of western South America, Part I. The fresh-water fishes of northwestern South America, including Colombia, Panama, and the Pacific slopes of Ecuador and Peru, together with an appendix upon the fishes of the Rio Meta in Colombia. **Memoirs of the Carnegie Museum**, v. 9, n. 1, p. 1–346, 1922.

FEITOSA, F. D. S.; SANTOS, G. M.; BIRINDELLI, J. L. O. *Leporinus britskii*: a new anostomid species from the Tapajós and Jari drainages, Brazil (Characiformes: Anostomidae). **Zootaxa**, v. 3120, p. 55–62, 2011.

FERREIRA, I. A. et al. 5S rDNA variation and its phylogenetic inference in the genus *Leporinus* (Characiformes: Anostomidae). **Genetica**, v. 129, n. 3, p. 253–7, mar. 2007.

FIGUEIREDO, J. et al. Late Miocene onset of the Amazon River and the Amazon deep-sea fan: Evidence from the Foz do Amazonas Basin. **Geology**, v. 37, n. 7, p. 619–622, 26 jun. 2009.

FOWLER, H. W. Fishes from the Rupununi River, British Guiana. **Proceedings of the Academy of Natural Sciences, Philadelphia**, v. 66, p. 229–284, 30 nov. 1914.

FOWLER, H. W. Academy of Natural Sciences A Collection of Fresh-Water Fishes Obtained in Eastern Brazil by Dr . Rodolpho Von Ihering. **Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia**, v. 93, p. 123–199, 1941.

FOWLER, H. W. Os peixes de água doce do Brasil. **Arquivos de Zoologia do Estado de São Paulo**, v. 6, p. 205–404, 1950.

GALETTI JR., P. M. et al. Karyotypic similarity in three genera (Leporinus, Leporellus and Schizodon) of the family Anostomidae (Pisces-Teleostei). **Revista Brasileira de Genética**, v. IV, n. 1, p. 11–15, 1981.

GALETTI JR., P. M.; LIMA, N. R. W.; VENERE, P. C. A Monophyletic ZW Sex Chromosome System in Leporinus (Anostomidae, Characiformes). **Cytologia**, v. 60, p. 375–382, 1995.

GARAVELLO, J. C. Descrição de uma nova espécie do gênero Schizodon Agassiz da bacia do rio Uruguai, Brasil (Ostariophysi, Anostomidae). **Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS: Série Zoologia**, v. 7, p. 195–203, 1994.

GARAVELLO, J. C. Two new species of Leporinus Spix with a review of the blotched species of the Rio Orinoco system and redescription of Leporinus muyscorum Steindachner (Charciformes : Anostomidae). **Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia**, v. 150, p. 193–201, 2000.

GARAVELLO, J. C.; BRITSKI, H. A. Duas novas especies do genero Leporinus Spix, 1829, da bacia do alto Paraná (Teleostei, Anostomidae). **Comunicações do Museu de Ciências da PUCRS**, v. 44, p. 153–165, 1987.

GARAVELLO, J. C.; BRITSKI, H. A. Leporinus macrocephalus sp. n. da bacia do rio Paraguai (Ostariophysi, Anostomidae). **Naturalia**, v. 13, p. 67–74, 1988.

GARAVELLO, J. C.; BRITSKI, H. A. Duas novas espécies do gênero Schizodon Agassiz da bacia do Alto Paraná, Brasil, America do Sul (Ostariophysi, Anostomidae). **Naturalia**, v. 15, p. 153–170, 1990.

GARAVELLO, J. C.; BRITSKI, H. A. Family Anostomidae. In: REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS JR., C. J. (Eds.). . **Check list of the freshwater fishes of South and Central America**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2003. p. 71–84.

GARAVELLO, J. C.; SANTOS, G. M. Two new species of Leporinus Agassiz, 1829 from Araguaia-Tocantins system, Amazon basin, Brazil (Ostariophysi, Anostomidae). **Brazilian journal of biology**, v. 69, n. 1, p. 109–116, fev. 2009.

GARMAN, S. On the species of the Genus Anostomus. **Bulletin of the Essex Institute**, 1890.

GÉRY, J. Contributions a l'étude des poissons characoïdes (No. 8). Un nouveau sous-genre de Leporinus (Erythrinidae, Anostominae): Leporinops, type Leporinus moralesi Fowler. **Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle (Série 2)**, v. 32, p. 308–313, 1960.

GÉRY, J. Poissons Characoides nouveaux ou non signalés de l'Ilha do Bananal, Brésil. **Vie Milieu Suppl**, v. 16, p. 447–471, pls 1–4, 1964.

GÉRY, J. **Characoids of the world**. Neptune City, NJ: T.F.H. Publications, 1977.

GÉRY, J. A new anostomid species, *Leporinus bleheri* n. sp., from the Rio Guaporé-Iténez basin, with comments on some related species (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes). **Aqua, Journal of Ichthyology and Aquatic Biology**, v. 3, n. 3, p. 105–112, 1999.

GREGORY-WODZICKI, K. M. Uplift history of the Central and Northern Andes: A review. **Geological Society of America Bulletin**, v. 112, n. 7, p. 1091–1105, 1 jul. 2000.

GÜNTHER, A. **Catalogue of the fishes in the British Museum, vol. 5. Catalogue of the Physostomi, containing the families Siluridae, Characidae, Haplochitonidae, Sternoptychidae, Scopelidae, Stomiatidae in the collection of the British Museum, London**. London: [s.n.].

HAFFER, J. General aspects of the refuge theory. In: PRANCE, G. T. (Ed.). **Biological diversification in the tropics**. New York: Columbia University Press, 1982. p. 6–24.

HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, v. 41, p. 95–98, 1999.

HEBERT, P. D. N. et al. Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings. Biological sciences / The Royal Society**, v. 270, n. 1512, p. 313–21, 7 fev. 2003.

HEBERT, P. D. N. et al. Identification of Birds through DNA Barcodes. **PLoS biology**, v. 2, n. 10, p. e312, out. 2004.

HELED, J.; DRUMMOND, A. J. Bayesian inference of species trees from multilocus data. **Molecular biology and evolution**, v. 27, n. 3, p. 570–80, mar. 2010.

HOORN, C. Marine incursions and the influence of Andean tectonics on the Miocene depositional history of northwestern Amazonia: results of a palynostratigraphic study. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, v. 105, p. 267–309, 1993.

HOORN, C. An environmental reconstruction of the palaeo-Amazon system (Middle-Late Miocene, NW Amazonia). **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, v. 112, p. 187–238, 1994.

HOORN, C. et al. Andean tectonics as a cause for changing drainage patterns in Miocene northern South America. **Geology**, v. 23, n. 3, p. 237–240, 1995.

HUBERT, N. et al. Phylogeography of the piranha genera *Serrasalmus* and *Pygocentrus*: implications for the diversification of the Neotropical ichthyofauna. **Molecular ecology**, v. 16, n. 10, p. 2115–36, maio 2007.

HUBERT, N. et al. Identifying Canadian freshwater fishes through DNA barcodes. **PLoS ONE**, v. 3, n. 6, 2008.

HUBERT, N.; RENNO, J.-F. Historical biogeography of South American freshwater fishes. **Journal of Biogeography**, v. 33, n. 8, p. 1414–1436, ago. 2006.

IHERING, H. VON. Observações sobre os peixes fósseis de Taubaté. **Revista do Museu Paulista**, v. 3, p. 71–75, 1898.

KAVALCO, K. F. et al. Comparative cytogenetics and molecular phylogeography in the group *Astyanax altiparanae* - *Astyanax* aff. *bimaculatus* (Teleostei, Characidae). **Cytogenetic and genome research**, v. 134, n. 2, p. 108–19, jan. 2011.

KISHINO, H.; HASEGAWA, M. Evaluation of the maximum likelihood estimate of the evolutionary tree topologies from DNA sequence data, and the branching order in hominoidea. **Journal of Molecular Evolution**, v. 29, n. 2, p. 170–179, 1989.

KNER, R. Beiträge zur Familie der Characinen. **Sitzungsberichte der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften. Mathematisch-Naturwissenschaftliche Classe**, v. 30, n. 13, p. 75–80, 1858.

KOEHLER, M. R. et al. Cytogenetic of the genus *Leporinus* (Pisces, Anostomidae). II. Molecular cytogenetics, organization and evolutionary conservation of a chromosome-specific satellite DNA from *Leporinus obtusidens*. **Chromosome Research**, v. 5, p. 325–331, 1997.

LARKIN, M. A. et al. Clustal W and Clustal X version 2.0. **Bioinformatics (Oxford, England)**, v. 23, n. 21, p. 2947–8, nov. 2007.

LIBRADO, P.; ROZAS, J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. **Bioinformatics (Oxford, England)**, v. 25, n. 11, p. 1451–2, jun. 2009.

LIMA, F. C. T. DE; CAIRES, R. A. Peixes da Estação Ecológica Serra Geral do Tocantins, bacias dos Rios Tocantins e São Francisco, com observações sobre as implicações biogeográficas das “águas emendadas” dos Rios Sapão e Galheiros. **Biota Neotropica**, v. 11, p. 231–250, 2011.

LÓPEZ, H.; MIQUELARENA, A.; MENNI, R. Lista de peces de agua dulce de la Argentina. **Biología acuática**, v. 12, p. 1–50, 1987.

LOVEJOY, N. R.; COLETTE, B. B. Phylogenetic Relationships of New World Needlefishes (Teleostei: Belonidae) and the Biogeography of Transitions between Marine and Freshwater Habitats. **Copeia**, v. 2, n. 2, p. 324–338, 2001.

LOVEJOY, N. R.; DE ARAÚJO, M. L. G. Molecular systematics, biogeography and population structure of Neotropical freshwater needlefishes of the genus *Potamorhaphis*. **Molecular Ecology**, v. 9, p. 259–268, 2000.

LUJAN, N. K.; ARMBRUSTER, J. W. The guiana shield. In: ALBERT, J. S.; REIS, R. E. (Eds.). . **Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes**. Los Angeles, California: University of California Press, 2011. p. 211–224.

LUNDBERG, J. G. Freshwater fishes and their paleobiotic implications. In: KAY, R. F. et al. (Eds.). . **Vertebrate Paleontology in the Neotropics. The Miocene Fauna of la Venta, Colombia**. Washington, D.C.: Smithsonian Institution Press, 1997. p. 68–91.

LUNDBERG, J. G. et al. The stage for Neotropical fish diversification: A history of tropical South American rivers. In: MALABARBA, L. R. et al. (Eds.). . **Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 1998. p. 13–48.

MAHNERT, V.; GERY, J.; MULLER, S. *Leporinus falcipinnis* n.sp., a new species from the lower rio Tapajos basin, Para, Brazil (Pisces, Characiformes, Anostomidae). **Revue Suisse De Zoologie**, v. 104, p. 837–844, 1997.

MALABARBA, M. C. S. L. Phylogeny of fossil Characiformes and paleobiogeography of the Tremembé formation, São Paulo, Brazil. In: MALABARBA, L. R. et al. (Eds.). . **Phylogeny and classification of Neotropical fishes**. Porto Alegre: Edipucrs, 1998. p. 69–84.

MARTINS, C. et al. Mitochondrial DNA variation in wild populations of *Leporinus elongatus* from the Paraná River basin. **Genetics and Molecular Biology**, v. 26, n. 1, p. 33–38, 2003.

MAUTARI, K. C.; MENEZES, N. A. Revision of the South American freshwater fish genus *Laemolyta* Cope, 1872 (Ostariophysi: Characiformes: Anostomidae). **Neotropical Ichthyology**, v. 4, n. 1, p. 27–44, 2006.

MENEZES, N. A. et al. Biogeography of Glandulocaudinae (Teleostei: Characiformes: Characidae) revisited: phylogenetic patterns, historical geology and genetic connectivity. **Zootaxa**, v. 1726, p. 33–48, 12 mar. 2008.

MILLER, K. G. et al. The Phanerozoic record of global sea-level change. **Science (New York, N.Y.)**, v. 310, p. 1293–1298, 2005.

MILLER, M. A.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T. **Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees** 2010 Gateway Computing Environments Workshop (GCE). **Anais...IEEE**, nov. 2010 Disponível em: <<http://ieeexplore.ieee.org/lpdocs/epic03/wrapper.htm?arnumber=5676129>>. Acesso em: 6 jun. 2014

MONTOYA-BURGOS, J. I. Historical biogeography of the catfish genus *Hypostomus* (Siluriformes: Loricariidae), with implications on the diversification of Neotropical ichthyofauna. **Molecular Ecology**, v. 12, n. 7, p. 1855–1867, jul. 2003.

NOSS, R. F. Indicators for Monitoring Biodiversity: A Hierarchical Approach. **Conservation Biology**, v. 4, p. 1–11, 2006.

OLIVEIRA, C. et al. Phylogenetic relationships within the speciose family Characidae (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes) based on multilocus analysis and extensive ingroup sampling. **BMC evolutionary biology**, v. 11, n. 1, p. 275, jan. 2011.

PEREIRA, L. H. et al. Can DNA barcoding accurately discriminate megadiverse Neotropical freshwater fish fauna? **BMC genetics**, v. 14, n. 1, p. 20, 9 mar. 2013.

PEREIRA, L. H. G. et al. DNA barcodes discriminate freshwater fishes from the Paraíba do Sul River Basin, São Paulo, Brazil. **Mitochondrial DNA**, v. 22 Suppl 1, n. October, p. 71–9, out. 2011.

QUEIROZ, L. J. DE et al. **Peixes do Rio Madeira**. São Paulo: Dialetto Latin American Documentary, 2013. v. I

RAMBAUT, A. et al. **Tracer v1.6**, 2014. Disponível em: <<http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>>

REGAN, C. The classification of the teleostean fishes of the order Ostariophysi, I: Cyprinoidea. **Annals and Magazine of Natural History (Series 8)**, v. 8, p. 13–32, 1911.

RENNO, J.-F. et al. Evidence for genetic isolation among four morphological species of *Leporinus* (Anostomidae, Pisces) in French Guiana. **Aquatic living resources**, v. 2, p. 127–134, 1989.

RENNO, J.-F. et al. Intraspecific genetic differentiation of *Leporinus friderici* (Anostomidae, Pisces) in French Guiana and Brazil: a genetic approach to the refuge theory. **Journal of fish biology**, v. 36, p. 85–95, 1990.

RENNO, J.-F. et al. Polymorphism of mitochondrial genes in populations of *Leporinus friderici* (Bloch, 1794): intraspecific structure and zoogeography of the Neotropical fish. **Genetica**, p. 137–142, 1991.

RIBEIRO, A. C. 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**, v. 4, n. 2, p. 225–246, 2006.

ROSSETTI, D. DE F.; DE TOLEDO, P. M.; GÓES, A. M. New geological framework for Western Amazonia (Brazil) and implications for biogeography and evolution. **Quaternary Research**, v. 63, p. 78–89, 2005.

ROSSETTI, D. F.; VALERIANO, M. M. Evolution of the lowest amazon basin modeled from the integration of geological and SRTM topographic data. **CATENA**, v. 70, n. 2, p. 253–265, jul. 2007.

SAADI, A. et al. **Map and database of Quaternary faults and lineaments in BrazilUSGS Open-File Report**. Denver, Colorado: [s.n.]. Disponível em: <<http://pubs.usgs.gov/of/2002/ofr-02-230/>>.

SAMBROOK, J.; FRITISH, E. F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning: A laboratory manual**. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.

SAMBROOK, J.; FRITISH, E.; MANIATIS, T. **Molecular cloning: A laboratory manual**. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

SANTOS, G. M.; FEITOSA, F. DA S. Anostomidae. In: QUEIROZ, L. J. DE et al. (Eds.). **Peixes do Rio Madeira**. São Paulo: Diaeto Latin American Documentary, 2013. p. 147–165.

SANTOS, G. M.; JÉGU, M. Inventário taxonômico e redescrição das espécies de anostomideos (Characiformes, Anostomidae) do baixo rio Tocantins, PA, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 19, p. 159–213, 1989.

SANTOS, G. M.; JÉGU, M.; LIMA, Á. C. Novas ocorrências de *Leporinus pachycheilus* Britsky, 1976 e descrição de uma espécie nova do mesmo grupo na amazonia brasileira (Osteichthyes, Anostomidae). **Acta Amazonica**, v. 26, n. 4, p. 265–280, 1996.

SANTOS, G. M.; ZUANON, J. *Leporinus amazonicus*, a new anostomid species from the Amazon lowlands, Brazil (Osteichthyes: Characiformes). **Zootaxa**, v. 1815, n. May, p. 35–42, 2008.

SECRETARIAT OF THE CONVENTION ON BIOLOGICAL DIVERSITY. **Convention on biological diversity**. Rio de Janeiro: United Nations Environment Programme, 1992.

SHIMODAIRA, H.; HASEGAWA, M. Multiple Comparisons of Log-Likelihoods with Applications to Phylogenetic Inference. **Molecular biology and evolution**, v. 16, p. 1114–1116, 1999.

SIDLAUSKAS, B. L.; GARAVELLO, J. C.; JELLEN, J. A new *Schizodon* (Characiformes: Anostomidae) from the Río Orinoco System, with a redescription of *S. Isognathus* from the Río Paraguay System. **Copeia**, v. 2007, n. 3, p. 711–725, 2007.

SIDLAUSKAS, B. L.; MOL, J. H.; VARI, R. P. Dealing with allometry in linear and geometric morphometrics: a taxonomic case study in the *Leporinus cylindriformis* group (Characiformes: Anostomidae) with description of a new species from Suriname. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 162, n. 1, p. 103–130, 20 maio 2011.

SIDLAUSKAS, B. L.; VARI, R. P. Phylogenetic relationships within the South American fish family Anostomidae (Teleostei, Ostariophysi, Characiformes). **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 154, n. 1, p. 70–210, set. 2008.

SIDLAUSKAS, B. L.; VARI, R. P. Diversity and distribution of anostomoid fishes (Teleostei : Characiformes) throughout the Guianas. **Cybium**, v. 36, n. 1, p. 71–103, 2012.

SIVASUNDAR, A.; BERMINGHAM, E.; ORTÍ, G. Population structure and biogeography of migratory freshwater fishes (Prochilodus: Characiformes) in major South American rivers. **Molecular Ecology**, v. 10, n. 2, p. 407–417, fev. 2001.

SPIX, J. B.; AGASSIZ, L. **Selecta genera et species Piscium quos in itinere per Brazilian annis 1817–1820; Peracto et pigendus curavit Dr. J.B. de Spix. Digessit descripsit et observationibus anatomicis illustravit Dr. L. Agassiz. [Memoriae J.B. de Spix]**. Munich: Typis C. Wolf, 1829.

STAMATAKIS, A. RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. **Bioinformatics (Oxford, England)**, v. 22, n. 21, p. 2688–90, 1 nov. 2006.

STAMATAKIS, A.; HOOVER, P.; ROUGEMONT, J. A rapid bootstrap algorithm for the RAxML Web servers. **Systematic biology**, v. 57, n. 5, p. 758–71, out. 2008.

STEINDACHNER, F. Die Süßwasserfische des südöstlichen Brasilien (II). **Sitzungsberichte der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften. Mathematisch-Naturwissenschaftliche Classe**, 1875.

STEINDACHNER, F. Ichthyologische Beiträge (V). **Sitzungsberichte der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften. Mathematisch-Naturwissenschaftliche Classe**, 1876.

STOECKLE, M. Y. Taxonomy, DNA, and the Bar Code of Life. **BioScience**, v. 53, n. 9, p. 2–3, 2003.

SWOFFORD, D. L. **PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). Version 4**. Sunderland, Massachusetts.: Sinauer Associates, 2003.

TAMURA, K. et al. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. **Molecular biology and evolution**, v. 30, n. 12, p. 2725–9, dez. 2013.

THOMPSON, A. W. et al. A time-calibrated, multi-locus phylogeny of piranhas and pacus (Characiformes: Serrasalminidae) and a comparison of species tree methods. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 81, p. 242–257, 28 set. 2014.

TURNER, T. F. et al. Phylogeography and intraspecific genetic variation of prochilodontid fishes endemic to rivers of northern South America. **Journal of Fish Biology**, v. 64, p. 186–201, 2004.

VALENCIENNES, M. A. Suite du livre vingt-deuxième. Suite de la famille des Salmonoïdes. In: CUVIER, M.; VALENCIENNES, M. A. (Eds.). . **Histoire naturelle des poissons. Tome vingt-deuxième**. [s.l.: s.n.]. p. 1–91.

VARI, R. P. Phylogenetic Relationships of the Families Curimatidae, Prochilodontidae, Anostomidae and Chilodontidae (Pisces : Characiformes). **Smithsonian contributions to zoology**, v. 378, p. 1–60, 1983.

VARI, R. P.; WILLIAMS, A. M. Headstanders of the neotropical anostomid genus *Abramites* (Pisces : Characiformes : Anostomidae). **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v. 100, n. 1, p. 89–103, 1987.

VENERE, P. C. et al. A novel ZZ/ZW sex chromosome system for the genus *Leporinus* (Pisces, Anostomidae, Characiformes). **Genetica**, v. 121, n. 1, p. 75–80, maio 2004.

WARD, R. D.; HANNER, R.; HEBERT, P. D. N. The campaign to DNA barcode all fishes, FISH-BOL. **Journal of fish biology**, v. 74, n. 2, p. 329–56, fev. 2009.

WEITZMAN, S. H.; MENEZES, N. A.; WEITZMAN, M. J. 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.; HEYER, W. R. (Eds.). . **Proceedings of a Workshops on Neotropical Distribution Patterns**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1988. p. 379–427.

WEITZMAN, S. H.; WEITZMAN, M. 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, 1982. p. 403–422.

WINTERBOTTOM, R. **Sistematics, Osteology and Phylogenetic Relationships of Fishes of the Ostariophysan Subfamily Anostominae (Characoidei, Anostomidae)**. Toronto: The Royal Ontario Museum, 1980.

YU, Y. et al. RASP (Reconstruct Ancestral State in Phylogenies): a tool for historical biogeography. **Molecular phylogenetics and evolution**, 2015.

YU, Y.; HARRIS, A. J.; HE, X. S-DIVA (Statistical Dispersal-Vicariance Analysis): A tool for inferring biogeographic histories. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 56, n. 2, p. 848–850, 2010.

Apêndice A - Indivíduos analisados no estudo. São indicados o número dado no trabalho (ID), a linhagem segundo a tabela 1, os dados de coleta (rio, localidade, bacia, identificador, data, latitude e longitude), e os genes que foram amplificados.

| ID | Espécie | Rio | Localidade | Bacia | Identificador | Data | Latitude | Longitude | COI | CytB | RAG1 | Myh6 | RAG2 |
|------|----------------------------------|-------------|-----------------------------|-----------|---------------|-----------|---------------|---------------|-----|------|------|------|------|
| L718 | <i>Abramites hypselonotus</i> | Abujao | Masisea | Ucayali | J. Chuctaya | | | | ✓ | | | | |
| L699 | <i>Abramites hypselonotus</i> | Amazonas | Belen | Amazonas | J. Ramirez | 24/jul/13 | 03°45'48.33"S | 73°14'44.84"W | ✓ | | | | |
| L643 | <i>Abramites hypselonotus</i> | Yarinacocha | Yarinacocha | Ucayali | J. Ramirez | 16/jul/13 | 8°21'02"S | 74°34'36"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L473 | <i>Abramites hypselonotus</i> | Madeira | Jatuarana | Madeira | | | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L477 | <i>Anostomoides laticeps</i> | Candeias | Próximo à foz do Rio Jamari | Madeira | Ohara, W.M. | 01/mai/10 | 08°37'59.00"S | 63°33'49.63"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L476 | <i>Anostomoides laticeps</i> | Aripuanã | | Madeira | Zuanon J. | | 05°08'55.7"S | 60°23'50.3"W | ✓ | | | | |
| L478 | <i>Anostomoides laticeps</i> | Candeias | Próximo à foz do Rio Jamari | Madeira | | 02/out/11 | 08°37'59.00"S | 63°33'49.63"W | ✓ | | | | |
| L222 | <i>Anostomus ternetzi</i> | Arinos | Nova mutum | Tapajós | H. Britski | | 14°08'40.27"S | 56°05'48.13"W | ✓ | | | | |
| L221 | <i>Anostomus ternetzi</i> | Arinos | Nova mutum | Tapajós | H. Britski | | 14°08'40.27"S | 56°05'48.13"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L479 | <i>Hypomasticus pachycheilus</i> | | | Amazonas | | 02/out/11 | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L123 | <i>Laemolyta cf. fernandezi</i> | Tocantins | Porto Franco | Amazonas | J. Ramirez | | | | ✓ | ☐ | | | |
| L130 | <i>Laemolyta cf. fernandezi</i> | Araguaia | Barra do Garças | Tocantins | J. Ramirez | 16/jun/11 | 15°53'42.37"S | 52°15'16.46"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L701 | <i>Laemolyta cf. proxima</i> | Amazonas | Belen | Amazonas | J. Ramirez | 24/jul/13 | 03°45'48.33"S | 73°14'44.84"W | ✓ | | | | |
| L702 | <i>Laemolyta cf. proxima</i> | Amazonas | Belen | Amazonas | J. Ramirez | 24/jul/13 | 03°45'48.33"S | 73°14'44.84"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L703 | <i>Laemolyta cf. proxima</i> | Amazonas | Belen | Amazonas | J. Ramirez | 24/jul/13 | 03°45'48.33"S | 73°14'44.84"W | ✓ | | | | |
| L704 | <i>Laemolyta cf. proxima</i> | Amazonas | Belen | Amazonas | J. Ramirez | 24/jul/13 | 03°45'48.33"S | 73°14'44.84"W | ✓ | | | | |
| L708 | <i>Laemolyta cf. proxima</i> | Nanay | Santa Clara | Amazonas | J. Ramirez | 27/jul/13 | 03°46'58.88"S | 73°20'27.84"W | ✓ | | | | |
| L709 | <i>Laemolyta cf. proxima</i> | Nanay | Santa Clara | Amazonas | J. Ramirez | 27/jul/13 | 03°46'58.88"S | 73°20'27.84"W | ✓ | | | | |
| L583 | <i>Laemolyta fernandezi</i> | Culuene | São Jose do Couto | Amazonas | J. Ramirez | 16/mai/13 | 13°49'01.82S | 53°14'47.29"W | ✓ | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | |
|------|--------------------------------|--------------------|-------------------|-----------|------------------|-----------|---------------|----------------|---|---|---|---|---|
| L584 | <i>Laemolyta fernandezi</i> | Culuene | São Jose do Couto | Amazonas | J. Ramirez | 16/mai/13 | 13°49'01.82S | 53°14'47.29"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L672 | <i>Laemolyta garmani</i> | Nanay | Santa Clara | Amazonas | J. Ramirez | 23/jul/13 | 03°46'58.88"S | 73°20'27.84"W | ✓ | | | | |
| L674 | <i>Laemolyta garmani</i> | Nanay | Santa Clara | Amazonas | J. Ramirez | 23/jul/13 | 03°46'58.88"S | 73°20'27.84"W | ✓ | | | | |
| L675 | <i>Laemolyta garmani</i> | Nanay | Santa Clara | Amazonas | J. Ramirez | 23/jul/13 | 03°46'58.88"S | 73°20'27.84"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L676 | <i>Laemolyta garmani</i> | Nanay | Santa Clara | Amazonas | J. Ramirez | 23/jul/13 | 03°46'58.88"S | 73°20'27.84"W | ✓ | | | | |
| L677 | <i>Laemolyta garmani</i> | Nanay | Santa Clara | Amazonas | J. Ramirez | 23/jul/13 | 03°46'58.88"S | 73°20'27.84"W | ✓ | | | | |
| L480 | <i>Laemolyta proxima</i> | Arara/São Lourenço | | Madeira | Araújo, T.R. | 06/jan/10 | 09°21'53.10"S | 64°50'59.00"W | ✓ | | | | |
| L482 | <i>Laemolyta proxima</i> | Jatuarana | | Amazonas | Leiva, C.M. | 20/jan/11 | 08°46'03.50"S | 64°02'45.80"W | ✓ | | | | |
| L483 | <i>Laemolyta proxima</i> | Jatuarana | Porto Velho | Madeira | Leiva, C.M. | 22/jan/11 | 08°46'03.50"S | 64°02'45.80"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L481 | <i>Laemolyta proxima</i> | Cautário | | Madeira | Zuanon J. | 02/out/11 | 12°12'45.2"S | 64°35'32.0"W | ✓ | | | | |
| L488 | <i>Laemolyta taeniata 1</i> | Jaci-Paraná | Lago Madalena | Madeira | Cella-Ribeiro, A | 09/mar/10 | 09°17'07.70"S | 64°23'58.80"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L484 | <i>Laemolyta taeniata 1</i> | Jaci-Paraná | Lago Três praias | Madeira | Lima-Filho, J.A | 24/jan/11 | 09°27'16"S | 64°24'59"W | ✓ | | | | |
| L485 | <i>Laemolyta taeniata 2</i> | Cautário | | Madeira | Lima-Filho, J.A | | 12°10'58.10"S | 64°034'59.80"W | ✓ | | | | |
| L486 | <i>Laemolyta taeniata 2</i> | Cautário | | Madeira | Lima-Filho, J.A | | 12°11'42"S | 64°32'38"W | ✓ | | | | |
| L487 | <i>Laemolyta taeniata 2</i> | Cautário | | Madeira | Lima-Filho, J.A | 16/jul/09 | 12°11'42"S | 64°32'38"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L066 | <i>Leporellus cf. vittatus</i> | Seputuba | Salto das Nuvens | Paraguai | J. Ramirez | 04/mar/12 | 14°36'30.27"S | 57°44'6.27"W | ✓ | | | | |
| L067 | <i>Leporellus cf. vittatus</i> | Seputuba | Salto das Nuvens | Paraguai | J. Ramirez | 04/mar/12 | 14°36'30.27"S | 57°44'6.27"W | ✓ | | | | |
| L070 | <i>Leporellus cf. vittatus</i> | Seputuba | Salto das Nuvens | Paraguai | J. Ramirez | 04/mar/12 | 14°36'30.27"S | 57°44'6.27"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L071 | <i>Leporellus cf. vittatus</i> | Seputuba | Salto das Nuvens | Paraguai | J. Ramirez | 04/mar/12 | S 14°36'32.8" | W 57°44'04.6" | ✓ | | | | |
| L879 | <i>Leporellus pictus</i> | Mogi-Guaçu | Pirassununga | Paraná | J. Ramirez | 13/mar/14 | 21°55'38.6"S | 47°21'58.4"W | ✓ | ☐ | | | |
| L881 | <i>Leporellus pictus</i> | Mogi-Guaçu | Pirassununga | Paraná | J. Ramirez | 13/mar/14 | 21°55'38.6"S | 47°21'58.4"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L489 | <i>Leporellus sp.</i> | Igarapé Jatuarana | | Madeira | Mota, A.C.F. | | 08°49'52.40"S | 64°02'53.10"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L550 | <i>Leporellus vittatus</i> | Araguaia | Barra do Garças | Tocantins | J. Ramirez | 09/mai/13 | 15°53'42.37"S | 52°15'16.46"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L101 | <i>Leporinus affinis</i> | Tocantins | Porto Franco | Amazonas | J. Ramirez | | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |

| | | | | | | | | | | | | | | |
|------|---|-------------|--|-----------|-------------|-----------|------------------|---------------|---|---|---|---|---|---|
| L105 | <i>Leporinus affinis</i> | Tocantins | Porto Franco | Amazonas | J. Ramirez | | | | | ✓ | | | | |
| L108 | <i>Leporinus affinis</i> | Tocantins | Porto Franco | Amazonas | J. Ramirez | | | | | ✓ | | | | |
| L137 | <i>Leporinus affinis</i> | Araguaia | Barra do Garças | Tocantins | J. Ramirez | 03/jun/11 | 15°53'42.37"S | 52°15'16.46"W | | ✓ | | | | |
| L138 | <i>Leporinus affinis</i> | Araguaia | Barra do Garças | Tocantins | J. Ramirez | 03/jun/11 | 15°53'42.37"S | 52°15'16.46"W | | ✓ | | | | |
| L131 | <i>Leporinus affinis</i> | Araguaia | Ouro fino | Tocantins | P. Venere | 20/out/11 | | | | ✓ | | | | |
| L133 | <i>Leporinus affinis</i> | Araguaia | Ouro fino | Tocantins | P. Venere | 21/jan/11 | | | | ✓ | | | | |
| L679 | <i>Leporinus agassizii1</i> | Nanay | Correntillo | Amazonas | J. Ramirez | 23/jul/13 | 3°49'55"S | 73°21'44"W | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L680 | <i>Leporinus agassizii1</i> | Nanay | Correntillo | Amazonas | J. Ramirez | 23/jul/13 | 3°49'55"S | 73°21'44"W | | ✓ | | | | |
| L682 | <i>Leporinus agassizii1</i> | Nanay | Correntillo | Amazonas | J. Ramirez | 23/jul/13 | 3°49'55"S | 73°21'44"W | | ✓ | | | | |
| L678 | <i>Leporinus agassizii2</i> | Nanay | Correntillo | Amazonas | J. Ramirez | 23/jul/13 | 3°49'55"S | 73°21'44"W | | ✓ | | | | |
| L681 | <i>Leporinus agassizii2</i> | Nanay | Correntillo | Amazonas | J. Ramirez | 23/jul/13 | 3°49'55"S | 73°21'44"W | | ✓ | | | | |
| L248 | <i>Leporinus amae</i> | Forquilla | Piratuba | Uruguai | J. Ramirez | | 27°31'14.2"S | 51°46'40.3"W | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L249 | <i>Leporinus amae</i> | Forquilla | Piratuba | Uruguai | J. Ramirez | | 27°31'14.2"S | 51°46'40.3"W | | ✓ | | | | |
| L549 | <i>Leporinus amae</i> | Inhandava | Pelotas | Uruguai | J. Ramirez | 18/set/11 | 27°40'39"S | 51°44'13"W | | ✓ | | | | |
| L250 | <i>Leporinus amae</i> | Peixe | Ouro | Uruguai | J. Ramirez | | 27°20'40.85"S | 51°37'19.43"W | | ✓ | | | | |
| L490 | <i>Leporinus amazonicus</i> | Jatuarana | | Amazonas | Ohara, W.M. | 22/jan/11 | 08°38'59.80"S | 63°55'33.50"W | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L782 | <i>Leporinus bahiensis</i> Almada | Almada | | Almada | | | | | | ✓ | | | | |
| L759 | <i>Leporinus bahiensis</i> Contas | Contas | | Contas | | | | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L757 | <i>Leporinus bahiensis</i> Contas | Oricó | | Contas | | | | | | ✓ | | | | |
| L747 | <i>Leporinus bahiensis</i> Jequiriça | Jequiriça | Laje | Jequiriça | | 08/nov/12 | 39°19'16"S | 13°10'43"W | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L744 | <i>Leporinus bahiensis</i> Paraguaçu | Rui Barbosa | Paraguaçu | | | 10/jun/05 | S 12°15'50.0" | W 40°29'40.0" | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | |
| L079 | <i>Leporinus bleheri</i> | Guaporé | Parque Estadual da Serra de Ricardo Franco | Madeira | H. Britski | 08/mar/12 | 14°50'46.12"S | 60°03'58.5"W | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |

| | | | | | | | | | | | | | | |
|------|---|----------------------|--|---------------|-------------|-----------|---------------|---------------|---|---|---|---|---|---|
| L080 | <i>Leporinus bleheri</i> | Guaporé | Parque Estadual da Serra de Ricardo Franco | Madeira | J. Ramirez | 08/mar/12 | 14°50'46.12"S | 60°03'58.5"W | ✓ | | | | | |
| L909 | <i>Leporinus boehlkei</i> | Meta | Puerto Gaitan | Orinoco | J. Ramirez | 25/jul/14 | 4°18'37.61"N | 72°4'28.43"W | ✓ | | | | | |
| L910 | <i>Leporinus boehlkei</i> | Meta | Puerto Gaitan | Orinoco | J. Ramirez | 25/jul/14 | 4°18'37.61"N | 72°4'28.43"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L755 | <i>Leporinus britskii</i> | Jamanxim | Novo progresso | Tapajós | | 23/out/07 | 8°11'4.0"S | 55°21'28.0"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L492 | <i>Leporinus brunneus</i> Madeira | Candeias | Próximo à foz do Rio Jamari | Madeira | Ohara, W.M. | | 08°37'59.00"S | 63°33'49.63"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L493 | <i>Leporinus brunneus</i> Madeira | Candeias | Próximo à foz do Rio Jamari | Madeira | | | 08°37'59.00"S | 63°33'49.63"W | ✓ | | | | | |
| L736 | <i>Leporinus brunneus</i> Tapajós | Renato (Teles Pires) | Itaúba | Tapajós | | 26/fev/08 | 11°4'24.0"S | 55°14'35.0"W | ✓ | | | | | |
| L286 | <i>Leporinus cf. conirostris</i> | Doce | Governador Valadares | Doce | J. Ramirez | 01/out/11 | 19°04'50"S | 42°09'33"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L291 | <i>Leporinus cf. conirostris</i> | Doce | Governador Valadares | Doce | J. Ramirez | 01/out/11 | 19°04'50"S | 42°09'33"W | ✓ | | | | | |
| L292 | <i>Leporinus cf. conirostris</i> | Doce | Governador Valadares | Doce | J. Ramirez | 01/out/11 | 19°04'50"S | 42°09'33"W | ✓ | | | | | |
| L820 | <i>Leporinus cf. conirostris</i> | Doce | Baixo Guandu | Doce | J. Ramirez | 21/nov/13 | 19°30'22"S | 40°55'01"W | ✓ | | | | | |
| L288 | <i>Leporinus cf. copelandii</i> | Manhuaçu | São José do Mantimento | Doce | D. Carvalho | 25/fev/12 | 19°58'42"S | 41°42'50"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L289 | <i>Leporinus cf. copelandii</i> | Manhuaçu | São José do Mantimento | Doce | D. Carvalho | 25/fev/12 | 19°58'42"S | 41°42'50"W | ✓ | | | | | |
| L737 | <i>Leporinus cf. fasciatus</i> Tapajós | Renato (Teles Pires) | Itaúba | Tapajós | | 26/fev/08 | 11°4'24.0"S | 55°14'35.0"W | ✓ | | | | | |
| L738 | <i>Leporinus cf. fasciatus</i> Tapajós | Teles Pires | Itaúba | Tapajós | | 26/set/07 | 11°3'44.0"S | 55°19'8.0"W | ✓ | | | | | |
| L560 | <i>Leporinus cf. fasciatus</i> Xingu | Culuene | São Jose do Couto | Amazonas | J. Ramirez | 16/mai/13 | 13°49'01.82S | 53°14'47.29"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L332 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Lagoa da Presa | | São Francisco | D. Carvalho | 16/jan/10 | 19°44'36"S | 45°27'23"W | ✓ | | | | | |
| L333 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Lagoa da Presa | | São Francisco | D. Carvalho | 16/jan/10 | 19°44'36"S | 45°27'23"W | ✓ | | | | | |
| L334 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Lagoa da Presa | | São Francisco | D. Carvalho | 16/jan/10 | 19°44'36"S | 45°27'23"W | ✓ | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | |
|------|--------------------------------|----------------|--|---------------|-------------|-----------|---------------|---------------|---|---|---|---|---|---|
| L335 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Lagoa da Presa | | São Francisco | D. Carvalho | 16/jan/10 | 19°44'36"S | 45°27'23"W | ✓ | | | | | |
| L331 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Pandeiros | Pandeiros | São Francisco | D. Carvalho | 25/mai/09 | 15° 40'18"S | 44°38'12.3"W | ✓ | | | | | |
| L322 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Urucuia | Urucuia | São Francisco | D. Carvalho | 20/mai/08 | 16°10'38.18"S | 45°41'03.69"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L323 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Urucuia | Urucuia | São Francisco | D. Carvalho | 20/mai/08 | 16°10'38.18"S | 45°41'03.69"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L330 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Urucuia | Urucuia | São Francisco | D. Carvalho | 15/mai/09 | 16°09'57.87"S | 45°40'21.75"W | ✓ | | | | | |
| L073 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Capivari | Cachoeira do Paraiso (Edmilson Goiano) | Amazonas | J. Ramirez | 07/mar/12 | 14°42'38.7"S | 60°14'56.9"W | ✓ | | | | | |
| L019 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Bandeirantes | Nova Olímpia | Paraguai | J. Ramirez | 02/mar/12 | 14°48'55.3"S | 57°06'20.8"W | ✓ | | | | | |
| L027 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Bandeirantes | Nova Olímpia | Paraguai | J. Ramirez | 02/mar/12 | 14°48'55.3"S | 57°06'20.8"W | ✓ | | | | | |
| L029 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Bandeirantes | Nova Olímpia | Paraguai | J. Ramirez | 02/mar/12 | 14°48'55.3"S | 57°06'20.8"W | ✓ | | | | | |
| L030 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Bandeirantes | Nova Olímpia | Paraguai | J. Ramirez | 02/mar/12 | 14°48'55.3"S | 57°06'20.8"W | ✓ | | | | | |
| L034 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Sepotuba | Salto das Nuvens | Paraguai | J. Ramirez | 04/mar/12 | 14°36'32.8"S | 57°44'04.6"W | ✓ | | | | | |
| L037 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Sepotuba | Salto das Nuvens | Paraguai | J. Ramirez | 04/mar/12 | 14°36'32.8"S | 57°44'04.6"W | ✓ | | | | | |
| L040 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Sepotuba | Salto das Nuvens | Paraguai | J. Ramirez | 04/mar/12 | 14°36'32.8"S | 57°44'04.6"W | ✓ | | | | | |
| L041 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Sepotuba | Salto das Nuvens | Paraguai | J. Ramirez | 04/mar/12 | 14°36'30.27"S | 57°44'6.27"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L044 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Sepotuba | Salto das Nuvens | Paraguai | J. Ramirez | 04/mar/12 | 14°36'32.8"S | 57°44'04.6"W | ✓ | | | | | |
| L047 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Sepotuba | Salto das Nuvens | Paraguai | J. Ramirez | 04/mar/12 | 14°36'32.8"S | 57°44'04.6"W | ✓ | | | | | |
| L049 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Sepotuba | Salto das Nuvens | Paraguai | J. Ramirez | 04/mar/12 | 14°36'32.8"S | 57°44'04.6"W | ✓ | | | | | |
| L730 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Jacaré-pepira | Brotas | Paraná | J. Ramirez | 16/abr/13 | 22°14'14.12"S | 48°15'49.38"W | ✓ | | | | | |
| L886 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Mogi-Guaçu | Pirassununga | Paraná | J. Ramirez | 13/mar/14 | 21°55'38.6"S | 47°21'58.4"W | ✓ | | | | | |
| L887 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Mogi-Guaçu | Pirassununga | Paraná | J. Ramirez | 13/mar/14 | 21°55'38.6"S | 47°21'58.4"W | ✓ | | | | | |
| L271 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Paraná | Porto Camargo | Paraná | J. Ramirez | 20/set/12 | 23°21'38.81"S | 53°45'12.30"W | ✓ | | | | | |
| L272 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Paraná | Porto Camargo | Paraná | J. Ramirez | 20/set/12 | 23°21'38.81"S | 53°45'12.30"W | ✓ | | | | | |
| L273 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Paraná | Porto Camargo | Paraná | J. Ramirez | 20/set/12 | 23°21'38.81"S | 53°45'12.30"W | ✓ | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | |
|------|--------------------------------|----------------------|-------------------|-----------|------------|-----------|----------------|---------------|---|---|---|---|---|---|
| L274 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Paraná | Porto Camargo | Paraná | J. Ramirez | 20/set/12 | 23°21'38.81"S | 53°45'12.30"W | ✓ | | | | | |
| L275 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Paraná | Porto Camargo | Paraná | J. Ramirez | 20/set/12 | 23°21'38.81"S | 53°45'12.30"W | ✓ | | | | | |
| L277 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Paraná | Porto Camargo | Paraná | J. Ramirez | 20/set/12 | 23°21'38.81"S | 53°45'12.30"W | ✓ | | | | | |
| L278 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Paraná | Porto Camargo | Paraná | J. Ramirez | 20/set/12 | 23°21'38.81"S | 53°45'12.30"W | ✓ | | | | | |
| L279 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Paraná | Porto Camargo | Paraná | J. Ramirez | 20/set/12 | 23°21'38.81"S | 53°45'12.30"W | ✓ | | | | | |
| L280 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Paraná | Porto Camargo | Paraná | J. Ramirez | 20/set/12 | 23°21'38.81"S | 53°45'12.30"W | ✓ | | | | | |
| L281 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Paraná | Porto Camargo | Paraná | J. Ramirez | 20/set/12 | 23°21'38.81"S | 53°45'12.30"W | ✓ | | | | | |
| L367 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Paraná | Pauliceia | Paraná | J. Ramirez | 12/out/12 | 21°08'30.37" S | 51°48'43.80"W | ✓ | | | | | |
| L374 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Paraná | Pauliceia | Paraná | J. Ramirez | 13/out/12 | 21°08'30.37" S | 51°48'43.80"W | ✓ | | | | | |
| L400 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Paraná | PN Ilha Grande | Paraná | J. Ramirez | 04/jan/13 | 23°25'12"S | 53°54'23"W | ✓ | | | | | |
| L403 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Paraná | PN Ilha Grande | Paraná | J. Ramirez | 04/jan/13 | 23°25'12"S | 53°54'23"W | ✓ | | | | | |
| L405 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Paraná | PN Ilha Grande | Paraná | J. Ramirez | 04/jan/13 | 23°25'12"S | 53°54'23"W | ✓ | | | | | |
| L428 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Paraná | PN Ilha Grande | Paraná | J. Ramirez | 04/jan/13 | 23°25'12"S | 53°54'23"W | ✓ | | | | | |
| L823 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Piracicaba | Piracicaba | Paraná | J. Ramirez | 13/fev/14 | 22°43'10.29"S | 47°39'19"W | ✓ | | | | | |
| L018 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Turvo | Icem | Paraná | J. Ramirez | 14/fev/11 | 20°25'24.0"S | 49°15'16.6"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L142 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Araguaia | Faz. Sta. Helena | Tocantins | P. Venere | | 14° 45'36"S | 51° 52'26"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L144 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Araguaia | Faz. Sta. Helena | Tocantins | P. Venere | | 14° 45'36"S | 51° 52'26"W | ✓ | | | | | |
| L388 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Araguaia | Pitomba | Tocantins | P. Venere | | | | ✓ | | | | | |
| L390 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Araguaia | Pitomba | Tocantins | P. Venere | | | | ✓ | | | | | |
| L393 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Araguaia | Pitomba | Tocantins | P. Venere | | | | ✓ | | | | | |
| L516 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Guaporé | Pedras Negras | Amazonas | | | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L491 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Mequéns | | Madeira | | 24/jan/11 | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L743 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Jamanxim | Novo progresso | Tapajós | | 24/out/07 | 7°3'52.0"S | 55°26'28.0"W | ✓ | | | | | |
| L739 | <i>Leporinus cf. friderici</i> | Renato (Teles Pires) | Itaúba | Tapajós | | 26/fev/08 | 11°4'24.0"S | 55°14'35.0"W | ✓ | | | | | |
| L562 | <i>Leporinus cf. geminis</i> | Culuene | São Jose do Couto | Amazonas | J. Ramirez | 16/mai/13 | 13°49'01.82S | 53°14'47.29"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |

| | | | | | | | | | | | | | |
|------|--|----------------|---------------------------|---------------|-------------|-----------|---------------|---------------|---|---|---|---|---|
| L568 | <i>Leporinus cf. geminis</i> | Culuene | São Jose do Couto | Amazonas | J. Ramirez | 16/mai/13 | 13°49'01.82S | 53°14'47.29"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L585 | <i>Leporinus cf. geminis</i> | Culuene | São Jose do Couto | Amazonas | J. Ramirez | 16/mai/13 | 13°49'01.82S | 53°14'47.29"W | ✓ | | | | |
| L573 | <i>Leporinus cf. geminis</i> | Culuene | São Jose do Couto | Amazonas | | 16/mai/13 | 13°49'01.82S | 53°14'47.29"W | ✓ | | | | |
| L902 | <i>Leporinus cf. lacustris</i> | Cuiabá | Barão de Melgaço | Paraguai | J. Ramirez | 27/jun/14 | 16°24'39.17"S | 56°02'00.96"W | ✓ | | | | |
| L088 | <i>Leporinus cf. lacustris</i> | Cuiabá (Lagoa) | Santo Antônio de Leverger | Paraguai | J. Ramirez | 09/mar/12 | 15°50'26.5"S | 056°03'16.3"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L089 | <i>Leporinus cf. lacustris</i> | Cuiabá (Lagoa) | Santo Antônio de Leverger | Paraguai | J. Ramirez | 09/mar/12 | 15°50'26.5"S | 056°03'16.3"W | ✓ | | | | |
| L907 | <i>Leporinus cf. muyscorum</i> | Meta | Puerto Lopez | Orinoco | J. Ramirez | 25/jul/14 | 4°5'33.84"N | 72°56'32.49"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L714 | <i>Leporinus cf. niceforoi</i> | Nanay | Santa Clara | Amazonas | J. Ramirez | 27/jul/13 | 03°46'58.88"S | 73°20'27.84"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L715 | <i>Leporinus cf. niceforoi</i> | Nanay | Santa Clara | Amazonas | J. Ramirez | 27/jul/13 | 03°46'58.88"S | 73°20'27.84"W | ✓ | | | | |
| L716 | <i>Leporinus cf. niceforoi</i> | Nanay | Santa Clara | Amazonas | J. Ramirez | 27/jul/13 | 03°46'58.88"S | 73°20'27.84"W | ✓ | | | | |
| L504 | <i>Leporinus cf. niceforoi</i> | Aripuanã | | Madeira | | | 05°08'55.7"S | 60°23'50.3"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L084 | <i>Leporinus cf. obtusidens</i> Paraguai | Cuiabá | Santo Antônio de Leverger | Paraguai | J. Ramirez | 09/mar/12 | 15°51'28.7"S | 56°04'44.6"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L314 | <i>Leporinus cf. obtusidens</i> São Francisco | Pandeiros | Pandeiros | São Francisco | D. Carvalho | 05/mai/09 | 15° 40'18"S | 44°38'12.3"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L315 | <i>Leporinus cf. obtusidens</i> São Francisco | Pandeiros | Pandeiros | São Francisco | D. Carvalho | 06/mai/09 | 15° 40'18"S | 44°38'12.3"W | ✓ | | | | |
| L316 | <i>Leporinus cf. obtusidens</i> São Francisco | Urucuia | | São Francisco | D. Carvalho | 20/mai/08 | 16°09'05.60"S | 45°41'38.76"W | ✓ | | | | |
| L320 | <i>Leporinus cf. obtusidens</i> São Francisco | Urucuia | Urucuia | São Francisco | D. Carvalho | 17/out/08 | 16°09'57.87"S | 45°40'21.75"W | ✓ | | | | |
| L253 | <i>Leporinus cf. obtusidens</i> São Francisco | São Francisco | Pirapora | São Francisco | J. Ramirez | 14/jul/12 | | | ✓ | | | | |
| L266 | <i>Leporinus cf. obtusidens</i> São Francisco | São Francisco | Pirapora | São Francisco | J. Ramirez | 14/jul/12 | | | ✓ | | | | |
| L267 | <i>Leporinus cf. obtusidens</i> São Francisco | São Francisco | Pirapora | São Francisco | J. Ramirez | 14/jul/12 | | | ✓ | | | | |
| L268 | <i>Leporinus cf. obtusidens</i> São Francisco | São Francisco | Pirapora | São Francisco | J. Ramirez | 14/jul/12 | | | ✓ | | | | |
| L269 | <i>Leporinus cf. obtusidens</i> São Francisco | São Francisco | Pirapora | São Francisco | J. Ramirez | 14/jul/12 | | | ✓ | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | |
|------|---|--------------|-------------------|----------------|------------|------------|---------------|----------------|---|---|---|---|---|
| L752 | <i>Leporinus cf. octomaculatus</i> Jamanxim | Jamanxim | Novo progresso | Tapajós | | 23/out/07 | 8°11'4.0"S | 55°21'28.0"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L021 | <i>Leporinus cf. octomaculatus</i> Paraguai | Bandeirantes | Nova Olímpia | Paraguai | J. Ramirez | 02/mar/12 | 14°48'55.3"S | 57°06'20.8"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L024 | <i>Leporinus cf. octomaculatus</i> Paraguai | Bandeirantes | Nova Olímpia | Paraguai | J. Ramirez | 02/mar/12 | 14°48'55.3"S | 57°06'20.8"W | ✓ | | | | |
| L026 | <i>Leporinus cf. octomaculatus</i> Paraguai | Bandeirantes | Nova Olímpia | Paraguai | J. Ramirez | 02/mar/12 | 14°48'55.3"S | 57°06'20.8"W | ✓ | | | | |
| L705 | <i>Leporinus cf. parae</i> | Amazonas | Belen | Amazonas | J. Ramirez | 24/jul/13 | 03°45'48.33"S | 73°14'44.84"W | ✓ | | | | |
| L706 | <i>Leporinus cf. parae</i> | Amazonas | Belen | Amazonas | J. Ramirez | 24/jul/13 | 03°45'48.33"S | 73°14'44.84"W | ✓ | | | | |
| L631 | <i>Leporinus cf. parae</i> | Ucayali | Pucallpa (Puerto) | Ucayali | J. Ramirez | 15/jul/13 | 8°23'17"S | 74°31'41"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L634 | <i>Leporinus cf. parae</i> | Ucayali | Pucallpa (Puerto) | Ucayali | J. Ramirez | 15/jul/13 | 8°23'17"S | 74°31'41"W | ✓ | | | | |
| L527 | <i>Leporinus cf. parae</i> | Rsttário | | Amazonas | | 22/jan/11 | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L630 | <i>Leporinus cf. parae</i> | Ucayali | Pucallpa (Puerto) | Ucayali | | 15/jul/13 | 8°23'17"S | 74°31'41"W | ✓ | | | | |
| L656 | <i>Leporinus cf. parae</i> | Yarinacocha | Yarinacocha | Ucayali | | 16/jul/13 | 8°21'02"S | 74°34'36"W | ✓ | | | | |
| L773 | <i>Leporinus cf. reinhardti</i> | Itapicuru | | Itapicuru | | | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L050 | <i>Leporinus cf. striatus</i> Paraguai | Sepotuba | Salto das Nuvens | Paraguai | J. Ramirez | 04/mar/12 | 14°36'30.27"S | 57°44'6.27"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L051 | <i>Leporinus cf. striatus</i> Paraguai | Sepotuba | Salto das Nuvens | Paraguai | J. Ramirez | 04/mar/12 | 14°36'32'8"S | 57°44'04.6"W | ✓ | | | | |
| L774 | <i>Leporinus cf. taeniatus</i> | Itapicuru | | Itapicuru | | | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L775 | <i>Leporinus cf. taeniatus</i> | Itapicuru | | Itapicuru | | | | | ✓ | | | | |
| L776 | <i>Leporinus cf. taeniatus</i> | Itapicuru | | Itapicuru | | | | | ✓ | | | | |
| L179 | <i>Leporinus cf. trifasciatus</i> | Araguaia | Ouro fino | Tocantins | J. Ramirez | 21/dez/10 | | | ✓ | | | | |
| L180 | <i>Leporinus cf. trifasciatus</i> | Araguaia | Barra do Garças | Tocantins | J. Ramirez | 21/jan/11 | 15°50'16.00"S | 51° 58'21.00"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L182 | <i>Leporinus cf. trifasciatus</i> | Araguaia | Barra do Garças | Tocantins | J. Ramirez | 14/jun/11 | 15°53'42.37"S | 52°15'16.46"W | ✓ | | | | |
| L210 | <i>Leporinus conirostris</i> | Paraibuna | | Paraíba do Sul | P. Galetti | 03/06/1996 | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L211 | <i>Leporinus conirostris</i> | Paraibuna | | Paraíba do Sul | P. Galetti | 25/04/1997 | | | ✓ | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | |
|------|---------------------------------------|---------------|-------------------------------------|---------------|-------------|------------|---------------|---------------|---|---|---|---|---|
| L805 | <i>Leporinus copelandii</i> | Santa Clara | Parque Estadual Cachoeira da Fumaça | Itapemirim | | 13/jul/13 | 20°37'53"S | 41°36'02"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L494 | <i>Leporinus cylindriformis</i> | Arara | | Madeira | | | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L141 | <i>Leporinus desmotes</i> Araguaia | Araguaia | Barra do Garças | Tocantins | J. Ramirez | 09/jun/11 | 15°53'42.37"S | 52°15'16.46"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L561 | <i>Leporinus desmotes</i> Culuene | Culuene | São Jose do Couto | Amazonas | J. Ramirez | 16/mai/13 | 13°49'01.82S | 53°14'47.29"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L600 | <i>Leporinus desmotes</i> Culuene | Culuene | São Jose do Couto | Amazonas | J. Ramirez | 16/mai/13 | 13°49'01.82S | 53°14'47.29"W | ✓ | | | | |
| L579 | <i>Leporinus desmotes</i> Culuene | Culuene | São Jose do Couto | Amazonas | | 16/mai/13 | 13°49'01.82S | 53°14'47.29"W | ✓ | | | | |
| L592 | <i>Leporinus desmotes</i> Culuene | Culuene | São Jose do Couto | Amazonas | | 16/mai/13 | 13°49'01.82S | 53°14'47.29"W | ✓ | | | | |
| L746 | <i>Leporinus desmotes</i> Jamanxim | Jamanxim | Novo progresso | Tapajós | | 24/out/07 | 7°3'52.0"S | 55°26'28.0"W | ✓ | | | | |
| L753 | <i>Leporinus desmotes</i> Jamanxim | Jamanxim | Novo progresso | Tapajós | | 23/out/07 | 8°11'4.0"S | 55°21'28.0"W | ✓ | | | | |
| L495 | <i>Leporinus desmotes</i> Madeira | Candeias | Próximo à foz do Rio Jamari | Madeira | Ohara, W.M. | | 08°37'59.00"S | 63°33'49.63"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L287 | <i>Leporinus elongatus</i> | Itacambiruçu | Grão Mogol | Jequitinhonha | D. Carvalho | 27/dez/11 | 16°35'50"S | 42°50'22"W | ✓ | | | | |
| L300 | <i>Leporinus elongatus</i> | Itacambiruçu | Grão Mogol | Jequitinhonha | D. Carvalho | 26/dez/11 | 16°35'50"S | 42°50'22"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L307 | <i>Leporinus elongatus</i> | Jequitinhonha | UHE Irapé | Jequitinhonha | D. Carvalho | | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L308 | <i>Leporinus elongatus</i> | Jequitinhonha | UHE Irapé | Jequitinhonha | D. Carvalho | | | | ✓ | | | | |
| L309 | <i>Leporinus elongatus</i> | Jequitinhonha | UHE Irapé | Jequitinhonha | D. Carvalho | | | | ✓ | | | | |
| L305 | <i>Leporinus elongatus</i> | | | Jequitinhonha | D. Carvalho | 15/05/2012 | | | ✓ | | | | |
| L497 | <i>Leporinus fasciatus</i> | Aripuanã | | Madeira | Zuanon J. | | 05°08'55.7"S | 60°23'50.3"W | ✓ | | | | |
| L683 | <i>Leporinus fasciatus</i> | Nanay | Santa Clara | Amazonas | J. Ramirez | 23/jul/13 | 03°46'58.88"S | 73°20'27.84"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L908 | <i>Leporinus fasciatus</i> | Meta | Puerto Gaitan | Orinoco | J. Ramirez | 25/jul/14 | 4°18'37.61"N | 72°4'28.43"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |

| | | | | | | | | | | | | | | |
|------|--------------------------------|--------------|---------------------------|---------------|-------------|-----------|---------------|---------------|---|---|---|---|---|---|
| L498 | <i>Leporinus fasciatus</i> | Lago Sampaio | | Madeira | Zuanon J. | | 03°50'24.00"S | 59°10'11.00"W | ✓ | | | | | |
| L496 | <i>Leporinus fasciatus</i> | Madeira | Manicoré | Madeira | | | 5°48'19.72"S | 61°18'25.98"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L293 | <i>Leporinus garmani</i> | Itacambiruçu | Grão Mogol | Jequitinhonha | D. Carvalho | 01/set/11 | 16°35'12"S | 42°51'15"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L294 | <i>Leporinus garmani</i> | Itacambiruçu | Grão Mogol | Jequitinhonha | D. Carvalho | 01/set/11 | 16°35'12"S | 42°51'15"W | ✓ | | | | | |
| L295 | <i>Leporinus garmani</i> | Itacambiruçu | Grão Mogol | Jequitinhonha | D. Carvalho | 01/set/11 | 16°35'16"S | 42°48'53"W | ✓ | | | | | |
| L296 | <i>Leporinus garmani</i> | Itacambiruçu | Grão Mogol | Jequitinhonha | | 01/set/11 | 16°35'16"S | 42°48'53"W | ✓ | | | | | |
| L298 | <i>Leporinus garmani</i> | Itacambiruçu | Grão Mogol | Jequitinhonha | | 29/dez/11 | 16°35'16"S | 42°48'53"W | ✓ | | | | | |
| L147 | <i>Leporinus geminis</i> | Araguaia | Pitomba | Tocantins | J. Ramirez | 03/jun/11 | | | ✓ | | | | | |
| L148 | <i>Leporinus geminis</i> | Araguaia | Pitomba | Tocantins | J. Ramirez | 03/jun/11 | | | ✓ | | | | | |
| L149 | <i>Leporinus geminis</i> | Araguaia | Pitomba | Tocantins | J. Ramirez | 03/jun/11 | | | ✓ | | | | | |
| L154 | <i>Leporinus geminis</i> | Araguaia | Barra do Garças | Tocantins | J. Ramirez | 09/jun/11 | 15°53'42.37"S | 52°15'16.46"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L155 | <i>Leporinus geminis</i> | Araguaia | Pitomba | Tocantins | J. Ramirez | 09/jun/11 | | | ✓ | | | | | |
| L157 | <i>Leporinus geminis</i> | Araguaia | Pitomba | Tocantins | J. Ramirez | 09/jun/11 | | | ✓ | | | | | |
| L213 | <i>Leporinus lacustris</i> | Tiete | Barra Bonita | Paraná | H. Britski | 09/mar/12 | 22°30'7.11"S | 48°33'16.24"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L290 | <i>Leporinus macrocephalus</i> | Manhuaçu | São José do Mantimento | Doce | D. Carvalho | 28/fev/12 | 20°02'47"S | 41°44'06"W | ✓ | | | | | |
| L083 | <i>Leporinus macrocephalus</i> | Cuiabá | Santo Antônio de Leverger | Paraguai | J. Ramirez | 09/mar/12 | 15°51'28.7"S | 56°04'44.6"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L085 | <i>Leporinus macrocephalus</i> | Cuiabá | Santo Antônio de Leverger | Paraguai | J. Ramirez | 09/mar/12 | 15°50'11.4"S | 56°06'10.7"W | ✓ | | | | | |
| L225 | <i>Leporinus macrocephalus</i> | Cuiabá | | Paraguai | J. Ramirez | 28/mai/12 | | | ✓ | | | | | |
| L890 | <i>Leporinus macrocephalus</i> | Cuiabá | Barão de Melgaço | Paraguai | J. Ramirez | 27/jun/14 | 16°24'39.17"S | 56°02'00.96"W | ✓ | | | | | |
| L891 | <i>Leporinus macrocephalus</i> | Cuiabá | Barão de Melgaço | Paraguai | J. Ramirez | 27/jun/14 | 16°24'39.17"S | 56°02'00.96"W | ✓ | | | | | |
| L212 | <i>Leporinus macrocephalus</i> | Tiete | Barra Bonita | Paraná | J. Ramirez | 08/mar/12 | 22°30'7.11"S | 48°33'16.24"W | ✓ | | | | | |
| L178 | <i>Leporinus macrocephalus</i> | Araguaia | Ouro fino | Tocantins | P. Venere | 21/dez/10 | | | ✓ | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | |
|------|----------------------------------|-------------|-------------------|-----------|------------|-----------|---------------|---------------|---|---|---|---|---|
| L751 | <i>Leporinus melanopleurodes</i> | das Almas | Nilo Peçanha | das Almas | | 08/dez/12 | 13°36'28"S | 39°08'39"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L913 | <i>Leporinus muyscorum</i> | Magdalena | Neiva (Mercado) | Magdalena | J. Ramirez | 30/jul/14 | 2°55'47.40"N | 75°17'48.97"W | ✓ | | | | |
| L914 | <i>Leporinus muyscorum</i> | Magdalena | Neiva (Mercado) | Magdalena | J. Ramirez | 30/jul/14 | 2°55'47.40"N | 75°17'48.97"W | ✓ | | | | |
| L915 | <i>Leporinus muyscorum</i> | Magdalena | Neiva (Mercado) | Magdalena | J. Ramirez | 30/jul/14 | 2°55'47.40"N | 75°17'48.97"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L282 | <i>Leporinus obtusidens</i> | Paraná | Porto Camargo | Paraná | J. Ramirez | 20/set/12 | 23°21'38.81"S | 53°45'12.30"W | ✓ | | | | |
| L283 | <i>Leporinus obtusidens</i> | Paraná | Porto Camargo | Paraná | J. Ramirez | 20/set/12 | 23°21'38.81"S | 53°45'12.30"W | ✓ | | | | |
| L004 | <i>Leporinus obtusidens</i> | Turvo | Icem | Paraná | J. Ramirez | 11/fev/11 | 20°10'50.4"S | 49°38'02.0"W | ✓ | | | | |
| L007 | <i>Leporinus obtusidens</i> | Turvo | Icem | Paraná | J. Ramirez | 13/fev/11 | 20°25'24.0"S | 49°15'16.6"W | ✓ | | | | |
| L008 | <i>Leporinus obtusidens</i> | Turvo | Icem | Paraná | J. Ramirez | 13/fev/11 | 20°25'24.0"S | 49°15'16.6"W | ✓ | | | | |
| L009 | <i>Leporinus obtusidens</i> | Turvo | Icem | Paraná | J. Ramirez | 13/fev/11 | 20°25'24.0"S | 49°15'16.6"W | ✓ | | | | |
| L016 | <i>Leporinus obtusidens</i> | Turvo | Icem | Paraná | J. Ramirez | 14/fev/11 | 20°25'24.0"S | 49°15'16.6"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L013 | <i>Leporinus obtusidens</i> | Turvo | Icem | Paraná | J. Ramirez | 14/fev/11 | 20°25'24.0"S | 49°15'16.6"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L547 | <i>Leporinus obtusidens</i> | Jacuí | Jacuzinho Foz | Jacuí | | 10/jan/00 | 29°21'00"S | 53°13'44"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L548 | <i>Leporinus obtusidens</i> | Ibicuí | BR 472 | Uruguai | | 26/ago/01 | 29°24'00"S | 56°42'00"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L869 | <i>Leporinus octofasciatus</i> | Mogi-Guaçu | Pirassununga | Paraná | J. Ramirez | 13/mar/14 | 21°55'38.6"S | 47°21'58.4"W | ✓ | | | | |
| L872 | <i>Leporinus octofasciatus</i> | Mogi-Guaçu | Pirassununga | Paraná | J. Ramirez | 13/mar/14 | 21°55'38.6"S | 47°21'58.4"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L875 | <i>Leporinus octofasciatus</i> | Mogi-Guaçu | Pirassununga | Paraná | J. Ramirez | 13/mar/14 | 21°55'38.6"S | 47°21'58.4"W | ✓ | | | | |
| L091 | <i>Leporinus octomaculatus</i> | Sumidouro | Diamantino | Tapajós | H. Britski | 25/mar/11 | 14°07'23.14"S | 56°42'03.71"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L001 | <i>Leporinus ortomaculatus</i> | Araguaia | | Tocantins | J. Ramirez | 04/jul/11 | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L667 | <i>Leporinus pearsoni</i> | Ucayali | Pucallpa | Ucayali | J. Ramirez | 16/jul/13 | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L665 | <i>Leporinus pearsoni</i> | Ucayali | Pucallpa | Ucayali | | 16/jul/13 | | | ✓ | | | | |
| L668 | <i>Leporinus pearsoni</i> | Ucayali | Pucallpa | Ucayali | | 16/jul/13 | | | ✓ | | | | |
| L669 | <i>Leporinus pearsoni</i> | Ucayali | Pucallpa | Ucayali | | 16/jul/13 | | | ✓ | | | | |
| L670 | <i>Leporinus pearsoni</i> | Ucayali | Pucallpa | Ucayali | | 16/jul/13 | | | ✓ | | | | |
| L376 | <i>Leporinus piau</i> | Caras Umari | Juazeiro do Norte | Jaguaribe | | 08/jun/12 | 07°09'25.2"S | 35°16'53.2"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |

| | | | | | | | | | | | | | | |
|------|------------------------------|-------------|--|---------------|-------------|------------|--------------------------------------|---------------|---|---|---|---|---|---|
| L377 | <i>Leporinus piau</i> | Caras Umari | Juazeiro do Norte | Jaguaribe | | 08/jun/12 | 07°09'25.2"S | 35°16'53.2"W | ✓ | | | | | |
| L002 | <i>Leporinus piavussu</i> | Turvo | Icem | Paraná | H. Britski | 11/fev/11 | 20°10'50.4"S | 49°38'02.0"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L284 | <i>Leporinus piavussu</i> | Paraná | Porto Camargo | Paraná | J. Ramirez | 20/set/12 | 23°21'38.81"S | 53°45'12.30"W | ✓ | | | | | |
| L371 | <i>Leporinus piavussu</i> | Paraná | Pauliceia | Paraná | J. Ramirez | 13/out/12 | 21°08'30.37" S | 51°48'43.80"W | ✓ | | | | | |
| L003 | <i>Leporinus piavussu</i> | Turvo | Icem | Paraná | J. Ramirez | 11/fev/11 | 20°10'50.4"S | 49°38'02.0"W | ✓ | | | | | |
| L005 | <i>Leporinus piavussu</i> | Turvo | Icem | Paraná | J. Ramirez | 13/fev/11 | 20°25'24.0"S | 49°15'16.6"W | ✓ | | | | | |
| L006 | <i>Leporinus piavussu</i> | Turvo | Icem | Paraná | J. Ramirez | 13/fev/11 | 20°25'24.0"S | 49°15'16.6"W | ✓ | | | | | |
| L010 | <i>Leporinus piavussu</i> | Turvo | Icem | Paraná | J. Ramirez | 13/fev/11 | 20°25'24.0"S | 49°15'16.6"W | ✓ | | | | | |
| L011 | <i>Leporinus piavussu</i> | Turvo | Icem | Paraná | J. Ramirez | 13/fev/11 | 20°25'24.0"S | 49°15'16.6"W | ✓ | | | | | |
| L014 | <i>Leporinus piavussu</i> | Turvo | Icem | Paraná | J. Ramirez | 14/fev/11 | 20°25'24.0"S | 49°15'16.6"W | ✓ | | | | | |
| L341 | <i>Leporinus reinhardti</i> | Curimataí | Curimataí | São Francisco | D. Carvalho | 09/dez/09 | 17°59'32.9"S | 44°10'47.38"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L342 | <i>Leporinus reinhardti</i> | Curimataí | | São Francisco | D. Carvalho | 10/dez/12 | 17°59'32.9"S | 44°10'47.66"W | ✓ | | | | | |
| L355 | <i>Leporinus reinhardti</i> | Curimataí | | São Francisco | D. Carvalho | 10/dez/12 | 17°59'32.9"S | 44°10'47.66"W | ✓ | | | | | |
| L339 | <i>Leporinus reinhardti</i> | Três Marias | | São Francisco | D. Carvalho | 24/09/2009 | S18o8'9.76" W45o14'41.78" | | ✓ | | | | | |
| L353 | <i>Leporinus reinhardti</i> | Urucuia | Urucuia | São Francisco | D. Carvalho | 17/out/08 | 16°09'57.87"S | 45°40'21.75"W | ✓ | | | | | |
| L338 | <i>Leporinus reinhardti</i> | Pandeiros | | São Francisco | | 25/mai/09 | 15° 40'18"S | 44°38'12.3"W | ✓ | | | | | |
| L343 | <i>Leporinus reinhardti</i> | Urucuia | | São Francisco | | 20/mai/08 | S- 16o09'05.60/W- 45o41'38.76" | | ✓ | | | | | |
| L098 | <i>Leporinus reticulatus</i> | Sumidouro | | Amazonas | J. Ramirez | 11/fev/11 | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L397 | <i>Leporinus reticulatus</i> | Arinos | Nova mutum | Tapajós | | | 14°08'43.94"S | 56°05'54.77"W | ✓ | | | | | |
| L074 | <i>Leporinus</i> sp. 03 | Capivari | Cachoeira do Paraiso (Edmilson Goiano) | Amazonas | J. Ramirez | 07/mar/12 | 14°42'38.7"S | 60°14'56.9"W | ✓ | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | |
|------|-------------------------|--------------|--|-----------|------------|------------|----------------|----------------|---|---|---|---|---|---|
| L075 | <i>Leporinus</i> sp. 03 | Capivari | Cachoeira do Paraiso (Edmilson Goiano) | Amazonas | J. Ramirez | 07/mar/12 | 14°42'38.7"S | 60°14'56.9"W | ✓ | | | | | |
| L077 | <i>Leporinus</i> sp. 03 | Guaporé | Parque Estadual da Serra de Ricardo Franco | Madeira | J. Ramirez | 08/mar/12 | 14°50'46.12"S | 60°03'58.5"W | ✓ | | | | | |
| L078 | <i>Leporinus</i> sp. 03 | Guaporé | Parque Estadual da Serra de Ricardo Franco | Madeira | J. Ramirez | 08/mar/12 | S 14°50'46.11 | W 60°03'58.5" | ✓ | | | | | |
| L081 | <i>Leporinus</i> sp. 03 | Guaporé | Pontes e Lacerda | Madeira | J. Ramirez | 08/mar/12 | S 15°12'57.62" | W 59°24'14.29" | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L118 | <i>Leporinus</i> sp. 04 | Tocantins | Porto Franco | Amazonas | J. Ramirez | | | | ✓ | | | | | |
| L173 | <i>Leporinus</i> sp. 04 | Araguaia | Pitomba | Tocantins | J. Ramirez | 03/jun/11 | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L174 | <i>Leporinus</i> sp. 04 | Araguaia | Barra do Garças | Tocantins | J. Ramirez | 16/jun/11 | 15°53'42.37"S | 52°15'16.46"W | ✓ | | | | | |
| L175 | <i>Leporinus</i> sp. 04 | Araguaia | | Tocantins | J. Ramirez | 23/fev/11 | | | ✓ | | | | | |
| L058 | <i>Leporinus</i> sp. 05 | Papagaio | Sapezal | Amazonas | J. Ramirez | 03/mar/12 | 13°33'31.6"S | 58°24'29.4"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L060 | <i>Leporinus</i> sp. 05 | Papagaio | Sapezal | Amazonas | J. Ramirez | 03/mar/12 | 13°33'31.6"S | 58°24'29.4"W | ✓ | | | | | |
| L061 | <i>Leporinus</i> sp. 05 | Papagaio | Sapezal | Amazonas | J. Ramirez | 03/mar/12 | 13°33'31.6"S | 58°24'29.4"W | ✓ | | | | | |
| L059 | <i>Leporinus</i> sp. 05 | Papagaio | Sapezal | Amazonas | | 04/mar/12 | S 13°33'31.6" | w 58°24'29.4" | ✓ | | | | | |
| L062 | <i>Leporinus</i> sp. 05 | Papagaio | Sapezal | Amazonas | | 03/mar/12 | 13°33'31.6"S | 58°24'29.4"W | ✓ | | | | | |
| L254 | <i>Leporinus</i> sp. 06 | Itapecuru | | Itapecuru | J. Ramirez | | | | ✓ | | | | | |
| L256 | <i>Leporinus</i> sp. 06 | Cajari | Penalva-MA | Mearim | J. Ramirez | 05/ago/06 | | | ✓ | | | | | |
| L257 | <i>Leporinus</i> sp. 06 | Lago Açu | | Mearim | J. Ramirez | 13/02/2007 | | | ✓ | | | | | |
| L255 | <i>Leporinus</i> sp. 06 | Mearim | Arari | Mearim | J. Ramirez | 05/ago/06 | | | ✓ | | | | | |
| L226 | <i>Leporinus</i> sp. 06 | Pindaré | Pindaré-mirim | Mearim | J. Ramirez | 28/mai/12 | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L229 | <i>Leporinus</i> sp. 06 | Pindaré | Pindaré-mirim | Mearim | J. Ramirez | 28/mai/12 | | | ✓ | | | | | |
| L233 | <i>Leporinus</i> sp. 06 | Pindaré | Pindaré-mirim | Mearim | J. Ramirez | 28/mai/12 | | | ✓ | | | | | |
| L258 | <i>Leporinus</i> sp. 10 | Turiçu | Santa Helena | Amazonas | J. Ramirez | 01/fev/07 | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L515 | <i>Leporinus</i> sp. 10 | Lago Sampaio | | Madeira | J. Ramirez | 09/mar/10 | 03°50'09.40"S | 59°10'43.00"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |

| | | | | | | | | | | | | | |
|------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------|---------------|-------------|------------|---------------|---------------|---|---|---|---|---|
| L575 | <i>Leporinus</i> sp. 13 | Culuene | São Jose do Couto | Amazonas | J. Ramirez | 16/mai/13 | 13°49'01.82S | 53°14'47.29"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L594 | <i>Leporinus</i> sp. 13 | Culuene | São Jose do Couto | Amazonas | J. Ramirez | 16/mai/13 | 13°49'01.82S | 53°14'47.29"W | ✓ | | | | |
| L551 | <i>Leporinus</i> sp. 14 | Taquaral | Taquarazinho | Amazonas | J. Ramirez | 09/mai/13 | S15°40'41.48" | W52°17'51.52" | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L552 | <i>Leporinus</i> sp. 14 | Taquaral | Taquarazinho | Amazonas | | 09/mai/13 | 15°40'41.48" | 52°17'51.52" | ✓ | | | | |
| L092 | <i>Leporinus</i> sp. 18 | Sumidouro | Diamantino | Tapajós | J. Ramirez | 05/set/11 | 14°07'23.14"S | 56°42'03.71"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L093 | <i>Leporinus</i> sp. 18 | Sumidouro | Diamantino | Tapajós | J. Ramirez | 30/set/11 | 14°07'23.14"S | 56°42'03.71"W | ✓ | | | | |
| L094 | <i>Leporinus</i> sp. 18 | Sumidouro | Diamantino | Tapajós | J. Ramirez | 30/set/11 | 14°07'23.14"S | 56°42'03.71"W | ✓ | | | | |
| L095 | <i>Leporinus</i> sp. 18 | Sumidouro | Diamantino | Tapajós | J. Ramirez | 30/set/11 | 14°07'23.14"S | 56°42'03.71"W | ✓ | | | | |
| L096 | <i>Leporinus</i> sp. 18 | Arinos | Nova mutum | Tapajós | | 15/out/11 | 14°08'40.27"S | 56°05'48.13"W | ✓ | | | | |
| L097 | <i>Leporinus</i> sp. 18 | Arinos | Nova mutum | Tapajós | | 15/out/11 | 14°08'40.27"S | 56°05'48.13"W | ✓ | | | | |
| L395 | <i>Leporinus</i> sp. 18 | Arinos | Nova mutum | Tapajós | | | 14°08'43.94"S | 56°05'54.77"W | ✓ | | | | |
| L734 | <i>Leporinus</i> sp. 19 | Riacho BR 163 (Teles Pires) | Itaúba | Tapajós | | 18/fev/08 | 11°06'10.0"S | 55°17'59.0"W | ✓ | | | | |
| L742 | <i>Leporinus</i> sp. 20 | 13 de maio | Altamira | Amazonas | | 22/out/07 | 8°43'41.0"S | 55°1'38"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L302 | <i>Leporinus steindachneri</i> | Itacambiruçu | Grão Mogol | Jequitinhonha | D. Carvalho | 26/dez/11 | 16°36'24"S | 42°49'46"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L297 | <i>Leporinus steindachneri</i> | Jequitinhonha | Berilo | Jequitinhonha | D. Carvalho | 01/set/11 | 16°44'08"S | 42°33'54"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L306 | <i>Leporinus steindachneri</i> | | | Jequitinhonha | D. Carvalho | 17/05/2012 | | | ✓ | | | | |
| L722 | <i>Leporinus striatus</i> | Jacaré-pepira | Brotas | Paraná | J. Ramirez | 16/abr/13 | 22°14'14.12"S | 48°15'49.38"W | ✓ | | | | |
| L725 | <i>Leporinus striatus</i> | Jacaré-pepira | Brotas | Paraná | J. Ramirez | 16/abr/13 | 22°14'14.12"S | 48°15'49.38"W | ✓ | | | | |
| L727 | <i>Leporinus striatus</i> | Jacaré-pepira | Brotas | Paraná | J. Ramirez | 16/abr/13 | 22°14'14.12"S | 48°15'49.38"W | ✓ | | | | |
| L251 | <i>Leporinus striatus</i> | Uruguai | Mondaí | Uruguai | J. Ramirez | | 27°06'10"S | 53°24'07"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L321 | <i>Leporinus taeniatus</i> | São Francisco | Três Marias | São Francisco | D. Carvalho | 24/set/09 | S18°8'9.76" | W45°14'41.78" | ✓ | | | | |
| L356 | <i>Leporinus taeniatus</i> | Urucuia | Urucuia | São Francisco | D. Carvalho | 20/mai/08 | 16°09'05.60"S | 45°41'38.76"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L924 | <i>Leporinus taeniatus</i> | Salgado | Icó | Jaguaribe | J. Ramirez | 10/ago/14 | 6°24'25.8"S | 38°52'1.7"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |

| | | | | | | | | | | | | | | |
|------|-----------------------------------|---------------------|-------------------|---------------|-------------|-----------|---------------|----------------|---|---|---|---|---|---|
| L360 | <i>Leporinus taeniatus</i> | Curimataí | | São Francisco | | 10/dez/12 | 17°59'32.9"S | 44°10'47.66"W | ✓ | | | | | |
| L358 | <i>Leporinus taeniatus</i> | Pandeiros | | São Francisco | | 25/mai/09 | 15° 40'18"S | 44°38'12.3"W | ✓ | | | | | |
| L112 | <i>Leporinus tigrinus</i> | Tocantins | Porto Franco | Amazonas | J. Ramirez | | | | ✓ | | | | | |
| L176 | <i>Leporinus tigrinus</i> | Araguaia | Barra do Garças | Tocantins | J. Ramirez | 03/jun/11 | 15°53'42.37"S | 52°15'16.46"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L177 | <i>Leporinus tigrinus</i> | Araguaia | Barra do Garças | Tocantins | J. Ramirez | 07/jun/11 | 15°53'42.37"S | 52°15'16.46"W | ✓ | | | | | |
| L690 | <i>Leporinus trifasciatus</i> | Amazonas | Mercado Belen | Amazonas | J. Ramirez | 25/jul/13 | 3°45'54"S | 73°14'45"W | ✓ | | | | | |
| L618 | <i>Leporinus trifasciatus</i> | Ucayali | Pucallpa (Puerto) | Ucayali | J. Ramirez | 15/jul/13 | 8°23'17"S | 74°31'41"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L621 | <i>Leporinus trifasciatus</i> | Ucayali | Pucallpa (Puerto) | Ucayali | J. Ramirez | 15/jul/13 | 8°23'17"S | 74°31'41"W | ✓ | | | | | |
| L519 | <i>Leporinus trifasciatus</i> | Madeira | | Amazonas | | | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L731 | <i>Leporinus tristriatus</i> | Matrinchã | Itaúba | Tapajós | | 25/fev/08 | 10°51'9.0"S | 55°13'44.0W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L183 | <i>Leporinus unitaeniatus</i> | Araguaia | Barra do Garças | Tocantins | J. Ramirez | 09/jun/11 | 15°53'42.37"S | 52°15'16.46"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L184 | <i>Leporinus unitaeniatus</i> | Araguaia | Pitomba | Tocantins | J. Ramirez | 09/jun/11 | | | ✓ | | | | | |
| L553 | <i>Leporinus unitaeniatus</i> | Caiapó | | Tocantins | J. Ramirez | 15/mai/13 | 15°53'25.34"S | 51°51'07.50"W | ✓ | | | | | |
| L555 | <i>Leporinus unitaeniatus</i> | Caiapó | | Tocantins | | 15/mai/13 | 15°53'25.34"S | 51°51'07.50"W | ✓ | | | | | |
| L735 | <i>Leporinus vanzoi</i> | Teles Pires | Itaúba | Tapajós | | 26/set/07 | 11°3'44.0"S | 55°19'8.0"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L185 | <i>Leporinus venerei</i> | Córrego 2 de agosto | Araguaiana | Amazonas | J. Ramirez | 12/jun/11 | 15°08'40.47"S | 51° 45'40.53"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L186 | <i>Leporinus venerei</i> | Córrego 2 de agosto | Araguaiana | Amazonas | J. Ramirez | 12/jun/11 | 15°08'40.47"S | 51° 45'40.53"W | ✓ | | | | | |
| L187 | <i>Leporinus venerei</i> | Córrego 2 de agosto | Araguaiana | Amazonas | J. Ramirez | 12/jun/11 | 15°08'40.47"S | 51° 45'40.53"W | ✓ | | | | | |
| L188 | <i>Leporinus venerei</i> | Córrego 2 de agosto | Araguaiana | Amazonas | J. Ramirez | 12/jun/11 | 15°08'40.47"S | 51° 45'40.53"W | ✓ | | | | | |
| L190 | <i>Leporinus venerei</i> | Córrego 2 de agosto | Araguaiana | Amazonas | J. Ramirez | 12/jun/11 | 15°08'40.47"S | 51° 45'40.53"W | ✓ | | | | | |
| L710 | <i>Pseudanos cf. trimaculatus</i> | Nanay | Santa Clara | Amazonas | J. Ramirez | 27/jul/13 | 03°46'58.88"S | 73°20'27.84"W | ✓ | | | | | |
| L528 | <i>Pseudanos gracilis</i> | Madeira | Porto Velho | Madeira | Ohara, W.M. | 24/jan/11 | 08°39'42.30"S | 63°52'41.80"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L529 | <i>Pseudanos trimaculatus</i> 1 | Madeira | Porto Velho | Madeira | | | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |

| | | | | | | | | | | | | | |
|------|---------------------------------|--------------|---------------------------|-----------|-----------------|------------|---------------|----------------|---|---|---|---|---|
| L532 | <i>Pseudanos trimaculatus</i> 2 | Cautário | | Madeira | Lima-Filho, J.A | 02/set/12 | 12°11'42"S | 64°32'38"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L536 | <i>Rhytidus argenteofuscus</i> | Jatuarana | | Amazonas | | | 08°46'03.50"S | 64°02'45.80"W | ✓ | | | | |
| L537 | <i>Rhytidus argenteofuscus</i> | Rsjtário | | Amazonas | | | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L535 | <i>Rhytidus argenteofuscus</i> | Cautário | | Madeira | | | 12°10'52.20"S | 65°33'25.10"W | ✓ | | | | |
| L534 | <i>Rhytidus argenteofuscus</i> | Lago Cuniã | | Madeira | | | 08°19'24.60"S | 63°29'36.80"W | ✓ | | | | |
| L545 | <i>Rhytidus lauzannei</i> | Jatuarana | | Amazonas | Lima-Filho, J.A | | 08°46'03.50"S | 64°02'45.80"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L540 | <i>Rhytidus lauzannei</i> | Madeira | Porto Velho | Madeira | | | 08°38'35.10"S | 63°51'1.10"W | ✓ | | | | |
| L638 | <i>Rhytidus microlepis</i> | Yarinacocha | Yarinacocha | Ucayali | J. Ramirez | 16/jul/13 | 8°21'02"S | 74°34'36"W | ✓ | | | | |
| L538 | <i>Rhytidus microlepis</i> | Cuntário | | Amazonas | Lima-Filho, J.A | | 08°19'24.50"S | 63°29'38.30"W | ✓ | | | | |
| L533 | <i>Rhytidus microlepis</i> | Madeira | Porto Velho | Madeira | | | 08°39'43.70"S | 63°52'41.90"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L635 | <i>Rhytidus microlepis</i> | Yarinacocha | Yarinacocha | Ucayali | | 16/jul/13 | 8°21'02"S | 74°34'36"W | ✓ | | | | |
| L086 | <i>Schizodon borellii</i> | Cuiabá | Santo Antônio de Leverger | Paraguai | H. Britski | 09/mar/12 | 15°50'11.4"S | 56°06'10.7"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L063 | <i>Schizodon borellii</i> | Bugres | Barra do Bugres | Paraguai | J. Ramirez | 04/mar/12 | 15°04'34.9"S | 57°11'03.6"W | ✓ | | | | |
| L224 | <i>Schizodon borellii</i> | | | Paraguai | J. Ramirez | 28/mai/12 | | | ✓ | | | | |
| L243 | <i>Schizodon cf. nasutus</i> | Pelotas | Anita Garibaldi | Uruguai | J. Ramirez | | 27°46'31.8"S | 51° 11' 42.3"W | ✓ | | | | |
| L244 | <i>Schizodon cf. nasutus</i> | Pelotas | Capão Alto | Uruguai | J. Ramirez | | 28°12'49.6"S | 50°45'22.6"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L245 | <i>Schizodon cf. nasutus</i> | Vacas Gordas | Campo Belo do Sul | Uruguai | J. Ramirez | | 28° 01'15.5"S | 51° 57' 1.0"W | ✓ | | | | |
| L558 | <i>Schizodon cf. vittatus</i> | Culuene | São Jose do Couto | Amazonas | J. Ramirez | 16/mai/13 | 13°49'01.82S | 53°14'47.29"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L261 | <i>Schizodon dissimilis</i> 2 | Itapecuru | | Itapecuru | J. Ramirez | | | | ✓ | | | | |
| L264 | <i>Schizodon dissimilis</i> 2 | Cajari | Penalva-MA | Mearim | J. Ramirez | 05/ago/06 | | | ✓ | | | | |
| L260 | <i>Schizodon dissimilis</i> 2 | Lago Açú | | Mearim | J. Ramirez | 13/02/2007 | | | ✓ | | | | |
| L265 | <i>Schizodon dissimilis</i> 2 | Mearim | Arari | Mearim | J. Ramirez | 12/ago/06 | | | ✓ | | | | |
| L236 | <i>Schizodon dissimilis</i> 2 | Pindaré | Pindaré-mirim | Mearim | J. Ramirez | 28/mai/12 | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L237 | <i>Schizodon dissimilis</i> 2 | Pindaré | Pindaré-mirim | Mearim | J. Ramirez | 28/mai/12 | | | ✓ | | | | |
| L239 | <i>Schizodon dissimilis</i> 2 | Pindaré | Pindaré-mirim | Mearim | J. Ramirez | 28/mai/12 | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |

| | | | | | | | | | | | | | |
|------|---------------------------------|---------------|---------------------|---------------|-------------|------------|------------------------------|----------------|---|---|---|---|---|
| L242 | <i>Schizodon dissimilis 2</i> | Pindaré | Pindaré-mirim | Mearim | J. Ramirez | 28/mai/12 | | | ✓ | | | | |
| L262 | <i>Schizodon dissimilis 2</i> | | Pindaré-Mirim | Mearim | J. Ramirez | 15/fev/07 | | | ✓ | | | | |
| L263 | <i>Schizodon dissimilis 2</i> | | Pindaré-Mirim | Mearim | J. Ramirez | 15/fev/07 | | | ✓ | | | | |
| L698 | <i>Schizodon fasciatus</i> | Amazonas | Mercado Belen | Amazonas | J. Ramirez | 25/jul/13 | 3°45'54"S | 73°14'45"W | ✓ | | | | |
| L918 | <i>Schizodon fasciatus</i> | Orteguaza | Florencia (Mercado) | Amazonas | J. Ramirez | 01/ago/14 | 1°37'2.08"N | 75°36'26.96"W | ✓ | | | | |
| L259 | <i>Schizodon fasciatus</i> | Turiaçu | | Amazonas | J. Ramirez | 01/fev/07 | | | ✓ | | | | |
| L082 | <i>Schizodon fasciatus</i> | Guaporé | Pontes e Lacerda | Madeira | J. Ramirez | 08/mar/12 | S 15°12'57.62" | W 59°24'14.29" | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L626 | <i>Schizodon fasciatus</i> | Ucayali | Pucallpa (Puerto) | Ucayali | J. Ramirez | 15/jul/13 | 8°23'17"S | 74°31'41"W | ✓ | | | | |
| L541 | <i>Schizodon fasciatus</i> | Aripuanã | | Madeira | Zuanon J. | 22/jan/11 | 05°08'55.7"S | 60°23'50.3"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L542 | <i>Schizodon fasciatus</i> | Lago Sampaio | | Madeira | Zuanon J. | 24/jan/11 | 03°50'24.00"S | 59°10'11.00"W | ✓ | | | | |
| L372 | <i>Schizodon intermedius</i> | Paraná | Epitácio | Paraná | J. Ramirez | 13/out/12 | | | ✓ | | | | |
| L219 | <i>Schizodon intermedius</i> | Tiete | Barra Bonita | Paraná | J. Ramirez | 10/mar/12 | 22°30'7.11"S | 48°33'16.24"W | ✓ | | | | |
| L012 | <i>Schizodon intermedius</i> | Turvo | Icem | Paraná | J. Ramirez | 14/fev/11 | 20°25'24.0"S | 49°15'16.6"W | ✓ | | | | |
| L214 | <i>Schizodon intermedius</i> | Tiete | Barra Bonita | Paraná | J. Ramirez | 10/mar/12 | 22°30'7.11"S | 48°33'16.24"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L546 | <i>Schizodon jacuiensis</i> | Jacuí | Ibarama | Jacuí | | 11/jul/99 | 29°24'28"S | 53°13'50"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L365 | <i>Schizodon knerii</i> | Curimataí | | São Francisco | D. Carvalho | 10/dez/12 | 17°59'32.9"S | 44°10'47.66"W | ✓ | | | | |
| L361 | <i>Schizodon knerii</i> | Urucuia | | São Francisco | D. Carvalho | 17/10/2008 | S-16o09'05.60/W-45o41'38.76" | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L270 | <i>Schizodon knerii</i> | São Francisco | Pirapora | São Francisco | J. Ramirez | 14/jul/12 | | | ✓ | | | | |
| L363 | <i>Schizodon knerii</i> | Pandeiros | | São Francisco | | 25/mai/09 | 15° 40'18"S | 44°38'12.3"W | ✓ | | | | |
| L889 | <i>Schizodon nasutus</i> | Mogi-Guaçu | Pirassununga | Paraná | J. Ramirez | 13/mar/14 | 21°55'38.6"S | 47°21'58.4"W | ✓ | | | | |
| L905 | <i>Schizodon scotorhabdotus</i> | Meta | Puerto Lopez | Orinoco | J. Ramirez | 25/jul/14 | 4°5'33.84"N | 72°56'32.49"W | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| L906 | <i>Schizodon scotorhabdotus</i> | Meta | Puerto Lopez | Orinoco | J. Ramirez | 25/jul/14 | 4°5'33.84"N | 72°56'32.49"W | ✓ | | | | |
| L100 | <i>Schizodon vittatus</i> | Tocantins | Porto Franco | Amazonas | J. Ramirez | | | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |

| | | | | | | | | | | | | | |
|-------------|---------------------------|----------|------------------|-----------|------------|-----------|-------------|-------------|---|--|--|--|--|
| L208 | <i>Schizodon vittatus</i> | Araguaia | Pitomba | Tocantins | J. Ramirez | 03/jun/11 | | | ✓ | | | | |
| L197 | <i>Schizodon vittatus</i> | Araguaia | Faz. Sta. Helena | Tocantins | P. Venere | | 14° 45'36"S | 51° 52'26"W | ✓ | | | | |
| L205 | <i>Schizodon vittatus</i> | Araguaia | Ouro fino | Tocantins | P. Venere | 21/dez/10 | | | ✓ | | | | |
| L206 | <i>Schizodon vittatus</i> | Araguaia | Ouro fino | Tocantins | P. Venere | 21/dez/10 | | | ✓ | | | | |
| L207 | <i>Schizodon vittatus</i> | Araguaia | Ouro fino | Tocantins | P. Venere | 21/dez/10 | | | ✓ | | | | |
| L209 | <i>Schizodon vittatus</i> | Araguaia | Pitomba | Tocantins | P. Venere | 09/mar/11 | | | ✓ | | | | |
| L380 | <i>Schizodon vittatus</i> | Araguaia | Pitomba | Tocantins | P. Venere | | | | ✓ | | | | |

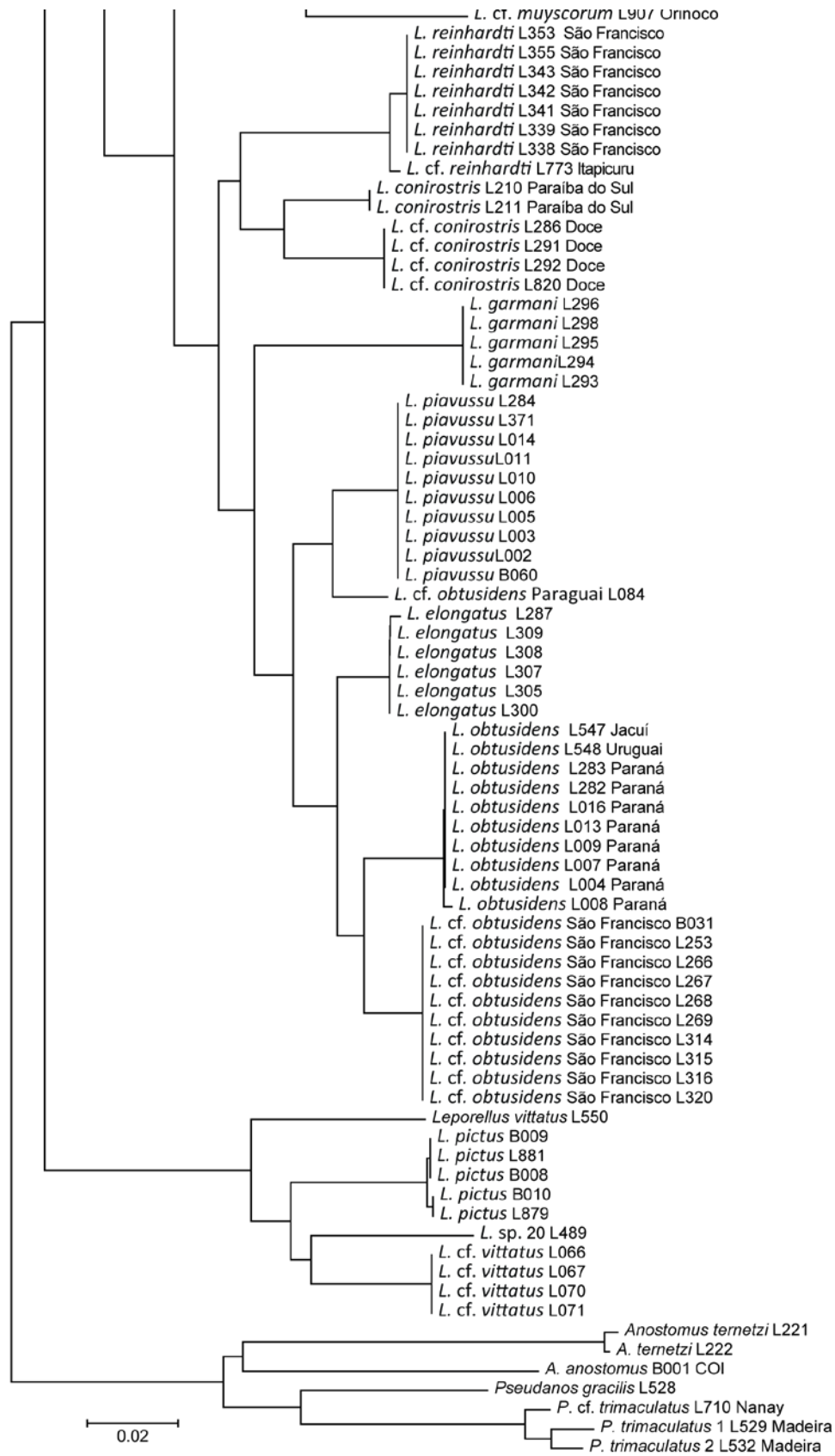
Apêndice B - Indivíduos obtidos da base de dado da BOLD. São indicados o número dado no trabalho (ID), a linhagem segundo a tabela 1, os dados de coleta (rio, bacia, latitude e longitude), o número identificador do BOLD e do GenBank, quando houver e se possuíam o ABI para edição.

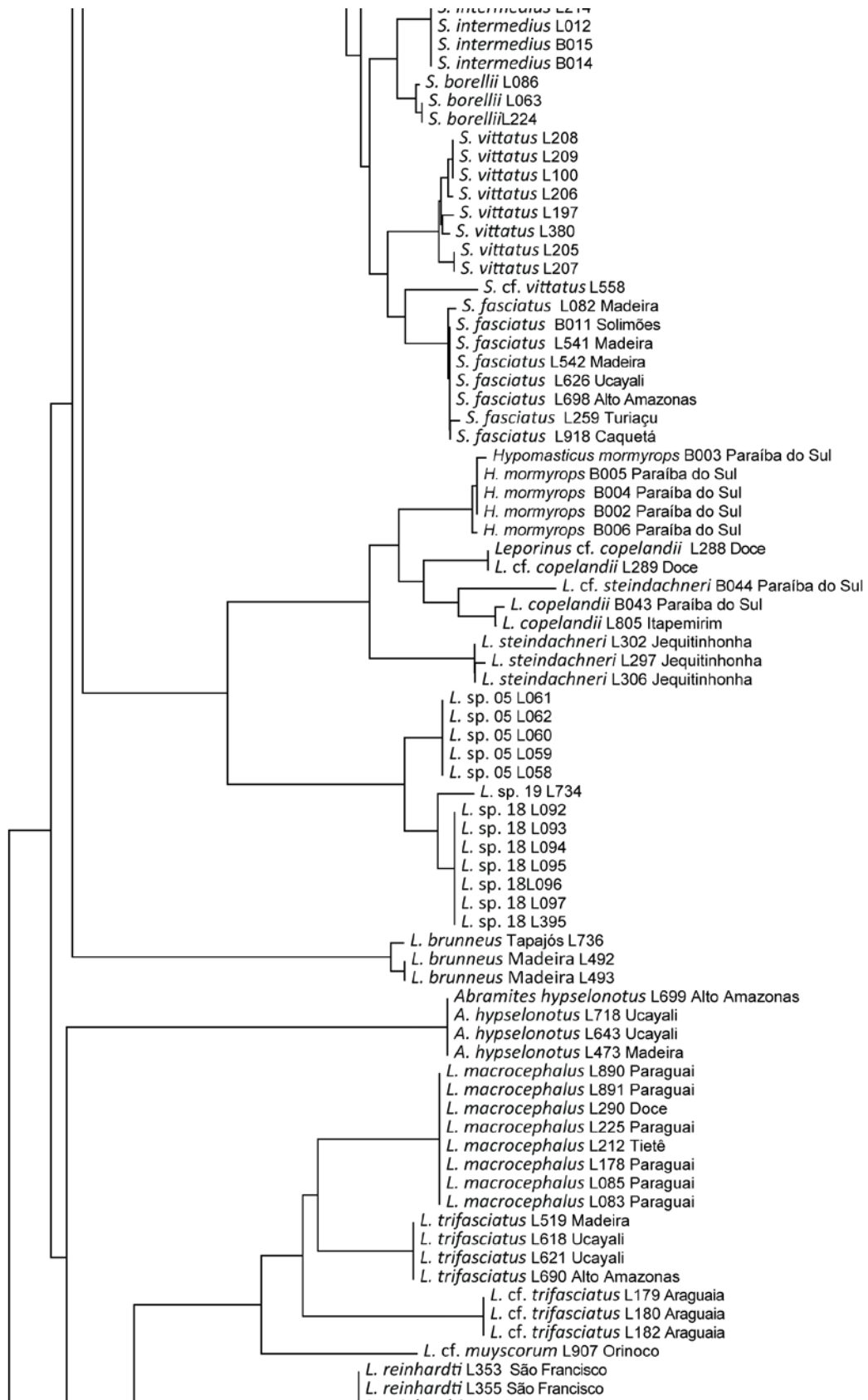
| ID | Espécie | Rio | Bacia | Latitude | Longitude | BOLD | GENBANK | ABI |
|------|--|-----------------------|----------------|----------|-----------|-------------|----------|-----|
| B001 | <i>Anostomus anostomus</i> | | | | | AMCC098-06 | | SIM |
| B002 | <i>Hypomasticus mormyrops</i> | Paraíba do Sul | Paraíba do Sul | -23,374 | -46,053 | FPSR001-09 | GU702177 | SIM |
| B003 | <i>Hypomasticus mormyrops</i> | Paraíba do Sul | Paraíba do Sul | -23,374 | -46,053 | FPSR002-09 | GU702178 | SIM |
| B004 | <i>Hypomasticus mormyrops</i> | Paraíba do Sul | Paraíba do Sul | -23,374 | -46,053 | FPSR003-09 | GU702179 | SIM |
| B005 | <i>Hypomasticus mormyrops</i> | Paraíba do Sul | Paraíba do Sul | -23,374 | -46,053 | FPSR004-09 | GU702180 | SIM |
| B006 | <i>Hypomasticus mormyrops</i> | Paraíba do Sul | Paraíba do Sul | -23,374 | -46,053 | FPSR005-09 | GU702181 | SIM |
| B008 | <i>Leporellus pictus</i> | Paranapanema | Paraná | -22,9392 | -50,2523 | FUPR392-09 | GU701641 | SIM |
| B009 | <i>Leporellus pictus</i> | Paranapanema | Paraná | -22,9392 | -50,2523 | FUPR393-09 | GU701640 | SIM |
| B010 | <i>Leporellus pictus</i> | Paranapanema | Paraná | -22,9392 | -50,2523 | FUPR394-09 | JN988978 | SIM |
| B031 | <i>Leporinus cf. obtusidens</i> | São Francisco | São Francisco | -18,191 | -45,248 | BSB158-10 | HM405029 | SIM |
| B044 | <i>Leporinus cf. steindachneri</i> | Lagoa Feia | Paraíba do Sul | -22 | -41,333 | FPSR245-09 | HM065002 | SIM |
| B029 | <i>Leporinus cf. striatus</i> Alto Madeira | Macuucu | Madeira | | | AMCC007-06 | | SIM |
| B030 | <i>Leporinus cf. striatus</i> Alto Madeira | Macuucu | Madeira | | | AMCC073-06 | | SIM |
| B045 | <i>Leporinus amblyrhynchus</i> | Itararé | Paraná | -23,4125 | -49,5709 | FUPR028-09 | JN988979 | SIM |
| B028 | <i>Leporinus cf. friderici</i> Amazonas | Amazonas | Amazonas | -3,1 | -60,0167 | AECIO18-10 | | NÃO |
| B062 | <i>Leporinus cf. friderici</i> Parana | Ivinhema | Paraná | -22,0438 | -53,7274 | FUPR1342-10 | JN988988 | SIM |
| B043 | <i>Leporinus copelandii</i> | Paraíba do Sul | Paraíba do Sul | -23,374 | -46,053 | FPSR006-09 | HM065001 | SIM |
| B049 | <i>Leporinus lacustris</i> | Tietê | Paraná | -21,107 | -50,2646 | FUPR039-09 | JN988996 | SIM |
| B050 | <i>Leporinus lacustris</i> | Tietê | Paraná | -21,107 | -50,2646 | FUPR040-09 | JN988997 | SIM |
| B051 | <i>Leporinus lacustris</i> | São Jose dos Dourados | Paraná | -20,4335 | -51,2614 | FUPR041-09 | JN988998 | SIM |
| B063 | <i>Leporinus microphthalmus</i> | Ribeirão Arapuca | Paraná | -17,0994 | -48,7615 | FUPR204-09 | JN989000 | SIM |
| B064 | <i>Leporinus microphthalmus</i> | Ribeirão Arapuca | Paraná | -17,0994 | -48,7615 | FUPR205-09 | JN989001 | SIM |

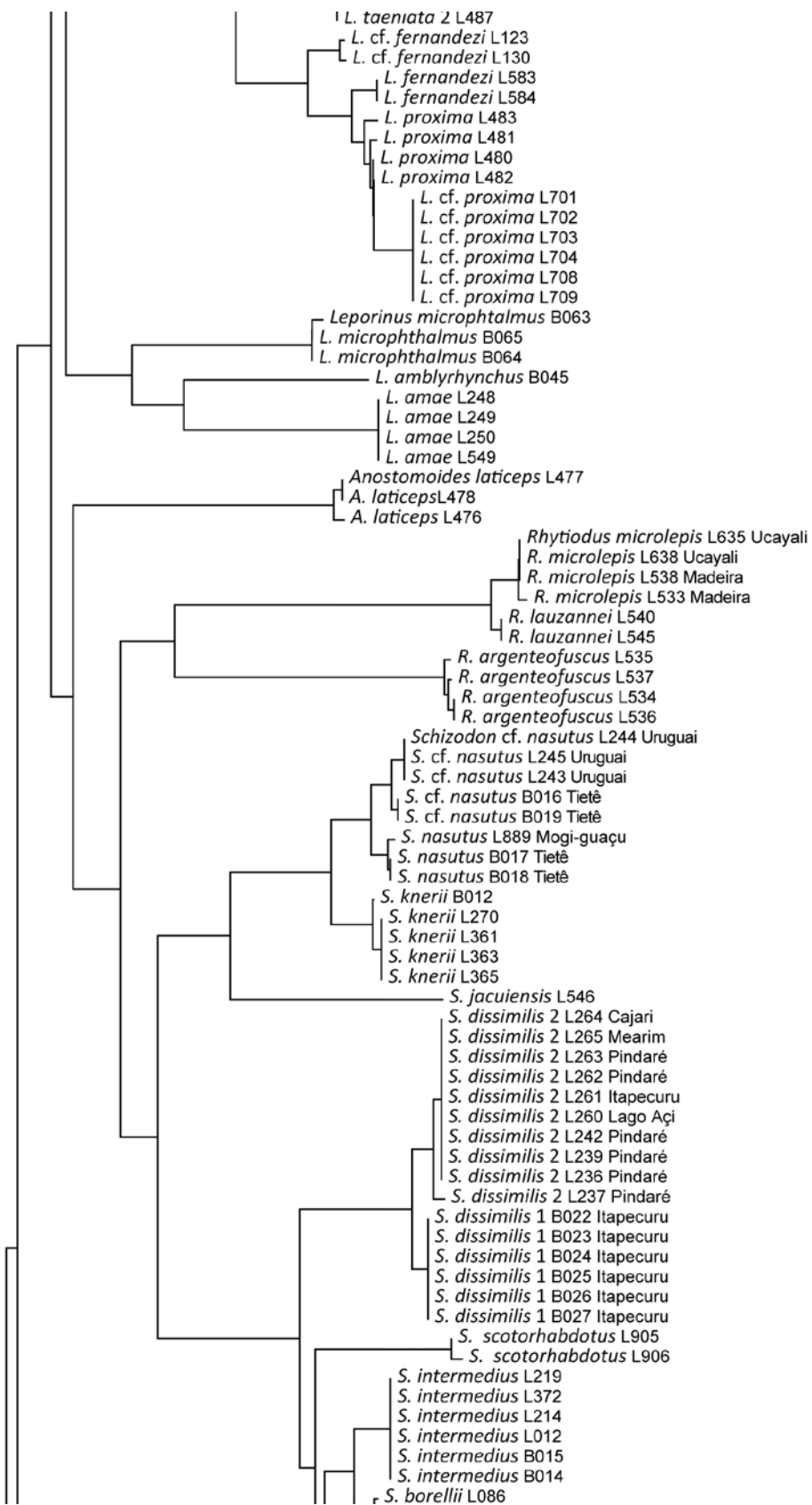
| | | | | | | | | |
|-------------|---------------------------------|-----------------------|---------------|----------|----------|-------------|----------|-----|
| B065 | <i>Leporinus microphthalmus</i> | Ribeirão Arapuca | Paraná | -17,0994 | -48,7615 | FUPR206-09 | JN989002 | SIM |
| B052 | <i>Leporinus octofasciatus</i> | Ribeirão Jagora | Paraná | -20,3996 | -50,3203 | FUPR045-09 | JN989009 | SIM |
| B055 | <i>Leporinus paranensis</i> | Grande | Paraná | -20,0854 | -50,9831 | FUPR046-09 | JN989013 | SIM |
| B053 | <i>Leporinus paranensis</i> | Novo | Paraná | -23,0239 | -48,8257 | FUPR049-09 | JN989016 | NÃO |
| B054 | <i>Leporinus paranensis</i> | Novo | Paraná | -23,0239 | -48,8257 | FUPR050-09 | JN989017 | NÃO |
| B056 | <i>Leporinus paranensis</i> | Novo | Paraná | -23,0239 | -48,8257 | FUPR047-09 | JN989014 | NÃO |
| B057 | <i>Leporinus paranensis</i> | Novo | Paraná | -23,0239 | -48,8257 | FUPR048-09 | JN989015 | NÃO |
| B060 | <i>Leporinus piavussu</i> | Piracicaba | Paraná | -22,6321 | -48,1675 | FUPR1202-10 | JN989005 | SIM |
| B058 | <i>Leporinus striatus</i> | Paranapanema | Paraná | -23,3333 | -48,5667 | FUPR051-09 | JN989018 | SIM |
| B059 | <i>Leporinus striatus</i> | Paranapanema | Paraná | -23,3333 | -48,5667 | FUPR052-09 | JN989019 | SIM |
| B066 | <i>Leporinus striatus</i> | Grande | Paraná | -20,2361 | -48,6672 | FUPR214-09 | JN989020 | SIM |
| B016 | <i>Schizodon cf. nasutus</i> | Tiete | Paraná | -21,107 | -50,2646 | FUPR058-09 | JN989220 | SIM |
| B019 | <i>Schizodon cf. nasutus</i> | São Jose dos Dourados | Paraná | -20,4335 | -51,2614 | FUPR215-09 | JN989223 | SIM |
| B022 | <i>Schizodon dissimilis 1</i> | Itapecuru | Itapecuru | -2,94 | -44,2408 | ITAPE203-15 | | SIM |
| B023 | <i>Schizodon dissimilis 1</i> | Itapecuru | Itapecuru | -2,94 | -44,2408 | ITAPE204-15 | | SIM |
| B024 | <i>Schizodon dissimilis 1</i> | Itapecuru | Itapecuru | -2,94 | -44,2408 | ITAPE205-15 | | SIM |
| B025 | <i>Schizodon dissimilis 1</i> | Itapecuru | Itapecuru | -2,94 | -44,2408 | ITAPE206-15 | | SIM |
| B026 | <i>Schizodon dissimilis 1</i> | Itapecuru | Itapecuru | -4,87472 | -43,3469 | ITAPE207-15 | | SIM |
| B027 | <i>Schizodon dissimilis 1</i> | Itapecuru | Itapecuru | -6,02583 | -44,2492 | ITAPE208-15 | | SIM |
| B011 | <i>Schizodon fasciatus</i> | Amazonas | Amazonas | -3,1 | -60,0167 | AECI002-10 | | NÃO |
| B014 | <i>Schizodon intermedius</i> | Tiete | Paraná | -22,8204 | -48,1041 | FUPR053-09 | JN989215 | SIM |
| B015 | <i>Schizodon intermedius</i> | Tiete | Paraná | -22,8204 | -48,1041 | FUPR054-09 | | SIM |
| B012 | <i>Schizodon knerii</i> | Urucuia | São Francisco | -16,166 | -45,673 | BSB414-10 | HM405218 | SIM |
| B017 | <i>Schizodon nasutus</i> | Tiete | Paraná | -21,107 | -50,2646 | FUPR059-09 | JN989221 | NÃO |
| B018 | <i>Schizodon nasutus</i> | Tiete | Paraná | -21,107 | -50,2646 | FUPR060-09 | JN989222 | NÃO |

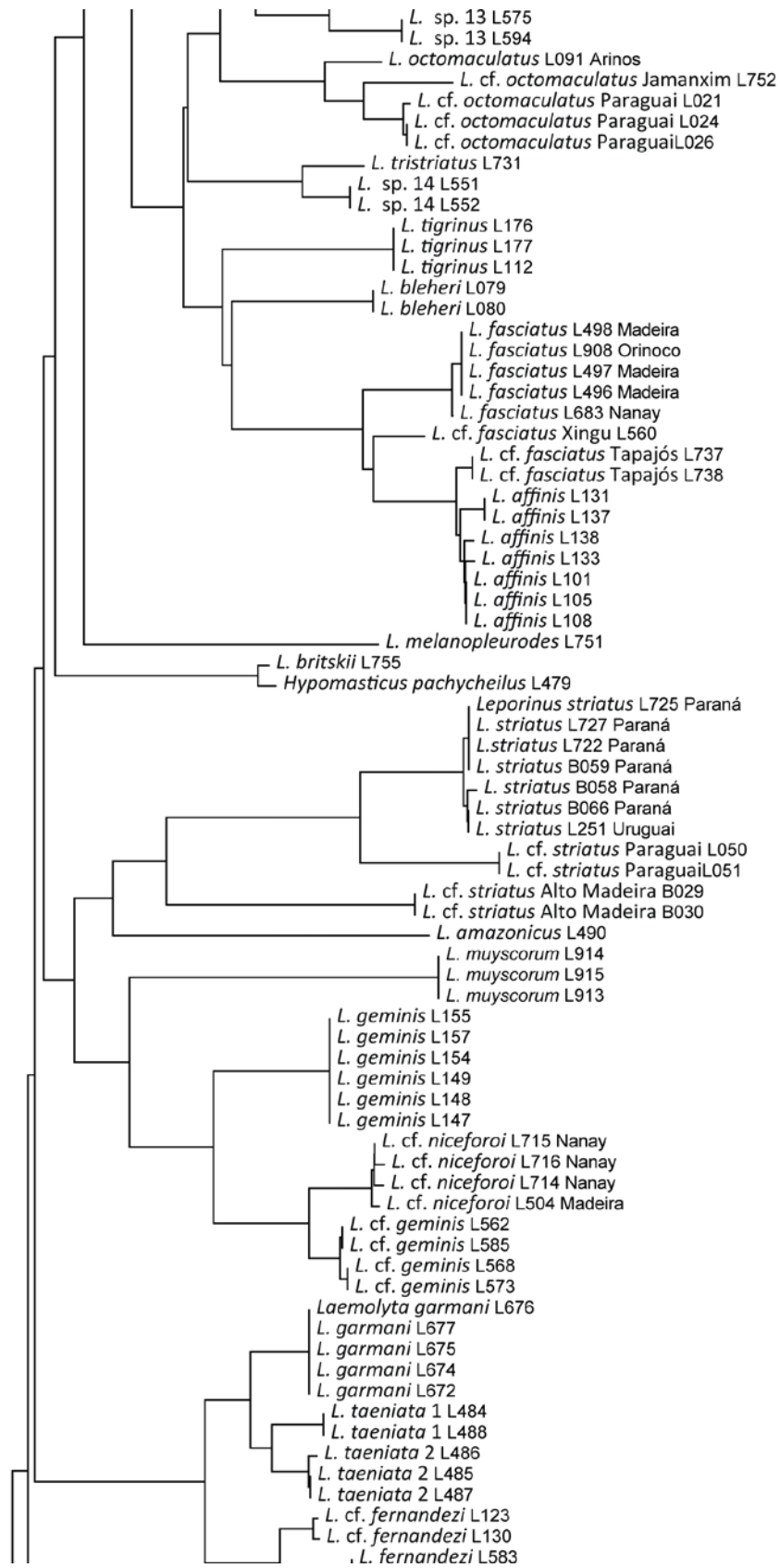
Apêndice C - Árvore de Neighbor-joining mostrando agrupamento das linhagens

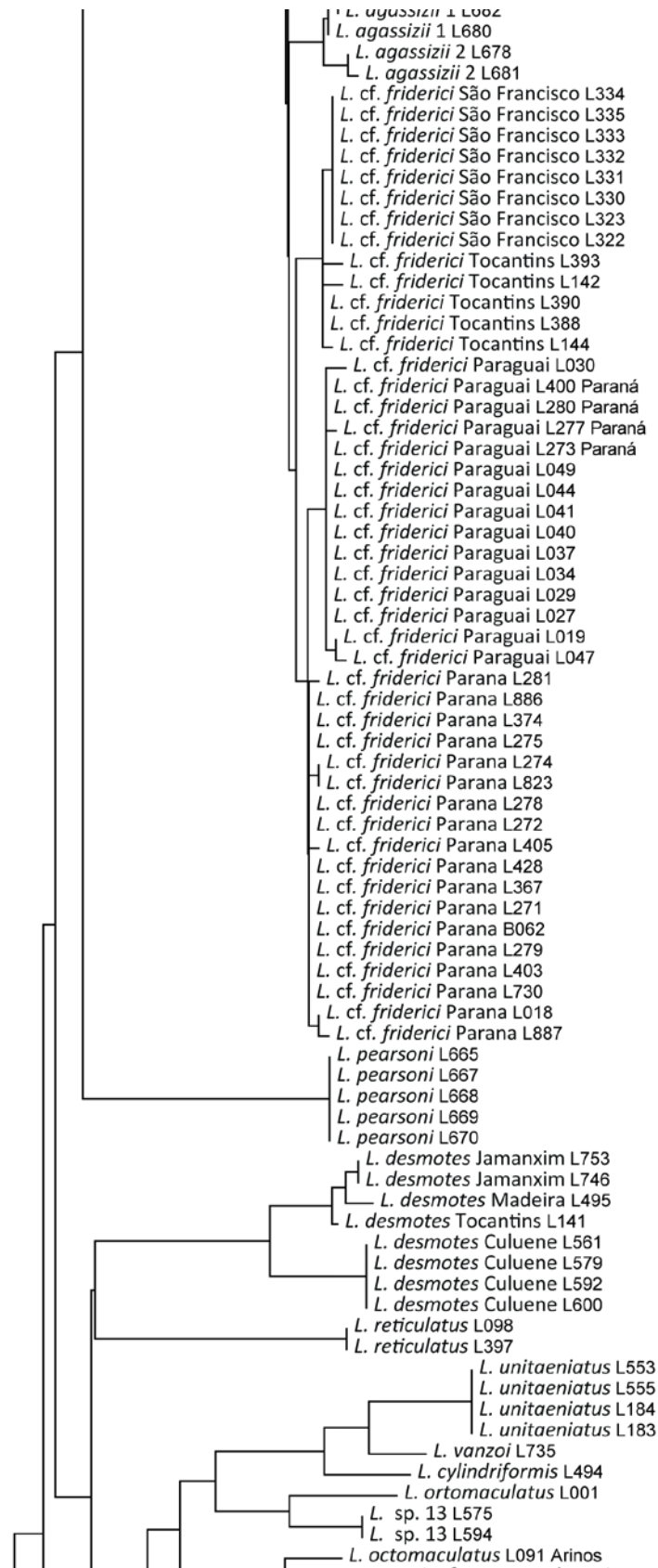
pela distância.

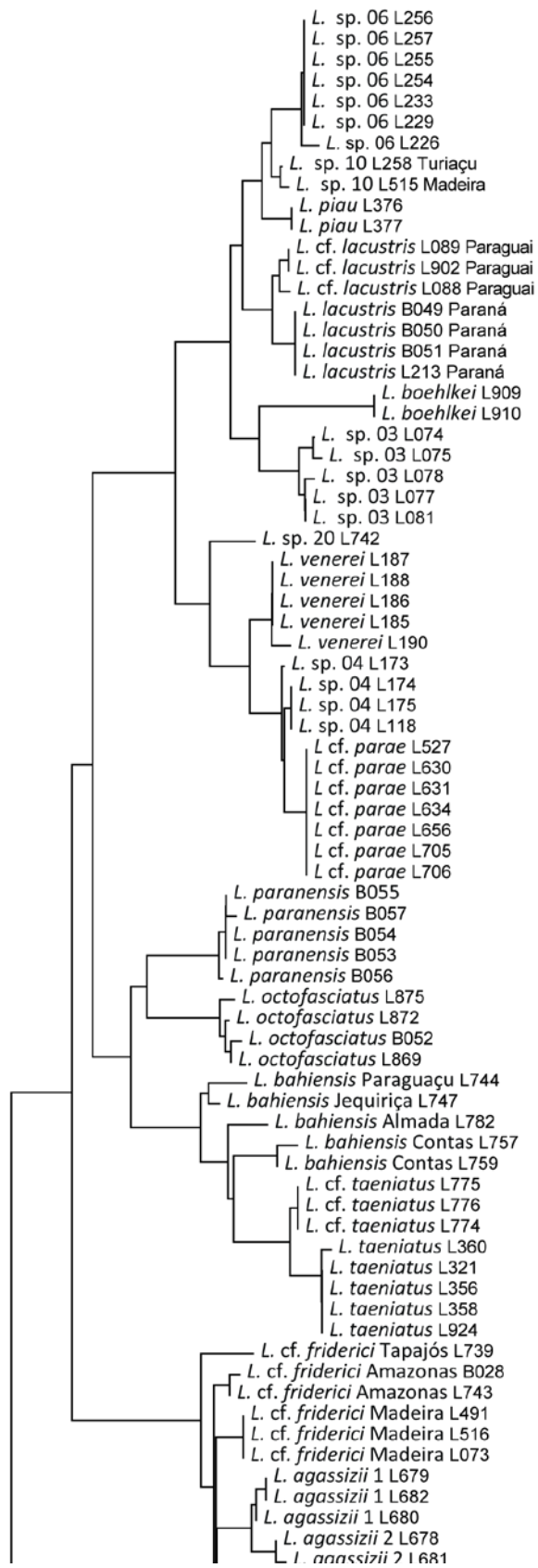












Apêndice D - Árvore de Inferência bayesiana para o conjunto de dado do gene da Citocromo Oxidase I.

