



Pós-Graduação
ZOOLOGIA
MPEG/UFPA



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA
MESTRADO EM ZOOLOGIA

JOÃO MARCELO DA SILVA ABREU

**VARIAÇÃO GEOGRÁFICA EM *Schizodon dissimilis* (Garman, 1890) E
DIVERSIDADE GENÉTICA E FILOGEOGRÁFICA DO GRUPO *Schizodon*
fasciatus sensu lato (CHARACIFORMES: ANOSTOMIDAE)**

BELÉM – PA

2013

JOÃO MARCELO DA SILVA ABREU

**VARIAÇÃO GEOGRÁFICA EM *Schizodon dissimilis* (Garman, 1890) E
DIVERSIDADE GENÉTICA E FILOGEOGRÁFICA DO GRUPO *Schizodon
fasciatus sensu lato* (CHARACIFORMES: ANOSTOMIDAE)**

Dissertação de mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Curso de Mestrado, da Universidade Federal do Pará e Museu Paraense Emílio Goeldi, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Zoologia.

Orientador: Prof. Dr. Horacio Schneider

BELÉM – PA

2013

JOÃO MARCELO DA SILVA ABREU

Variação geográfica em *Schizodon dissimilis* (Garman, 1890) e diversidade genética e filogeográfica do grupo *Schizodon fasciatus sensu lato* (CHARACIFORMES: ANOSTOMIDAE)

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Horacio Schneider (Orientador)
Universidade Federal do Pará

Prof. Dr. Marcelo Nazareno Vallinoto de Souza
Universidade Federal do Pará

Prof. Dr. Júlio Cesar Garavello
Universidade Federal de São Carlos

Prof. Dr. Izeni Pires Farias
Universidade Federal do Amazonas

Prof. Dr. Luis Fernando Carvalho Costa
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Pedro Manoel Galetti Júnior
Universidade Federal de São Carlos

A todos que acreditaram
e principalmente a todos
que duvidaram.

AGRADECIMENTOS

À minha família que durante todo esse percurso me deu total apoio para a concretização desse sonho. Em especial a minha mãe que lutou e sonhou junto comigo atravessando todos os obstáculos que apareceram.

À Danielle, que esteve incondicionalmente ao meu lado durante o mestrado, mesmo que a distância, mas sempre apoiando e ajudando nos momentos mais difíceis. Inclusive fazendo a revisão de todos os textos.

Aos Prof. Dr. Horacio Schneider e Prof. Dr. Iracilda Sampaio, pelas orientações, direcionamentos e apoio durante todo o desenvolvimento do projeto. Ao Dr. Luis Fernando pelo auxílio nas análises e estruturação do artigo de genética.

Queria agradecer especialmente ao Prof. Dr. Nivaldo Piorski, que mesmo não tendo nenhuma obrigação me ajudou e contribuiu para todo o desenvolvimento desta dissertação.

Aos amigos de São Luís (não citarei nomes para não correr o risco de esquecer alguém) que contribuíram principalmente nos momentos de descontração, fazendo-me esquecer por alguns momentos das dificuldades.

Aos amigos do museu, principalmente aos amigos da turma PPGZOO2011 em especial a Michelle e ao Mateus, que sempre estiveram presentes nos momentos de desespero generalizado e nos momentos de descontração que foram fundamentais para que não enlouquecêssemos durante essa jornada.

Ao CNPq pela concessão da bolsa e ao Museu Paraense Emílio Goeldi pela estrutura da pós para o desenvolvimento do projeto.

Aqueles que me conhecem sabem que não sou muito bom com palavras, então deixo expresso, mesmo que nessas curtas linhas, os meus mais sinceros agradecimentos a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse momento.

OBRIGADO.

Às vezes eu penso que sai
dos teus olhos o feixe.
De raio que controla
a onda cerebral do peixe.”
A rede – Lenine

SUMÁRIO

Introdução Geral	1
Referências Bibliográficas	7
Artigo a ser publicado na revista Neotropical Ichthyology: Novas ocorrências e variação geográfica em <i>Schizodon dissimilis</i> (Characiformes: Anostomidae)	12
Resumo	12
Abstract	12
Introdução	13
Material e Métodos	14
Resultados	15
Discussão	17
Literatura citada	20
Tabelas	24
Legendas das figuras	27
Artigo a ser publicado na revista Genetics and Molecular Biology: Diversidade genética e filogeográfica do grupo <i>Schizodon fasciatus sensu lato</i> (Characiformes: Anostomidae)	32
Resumo	33
Abstract	33
Introdução	34
Material e Método	36
Resultados	38
Discussão	42
Referências	47
Tabelas	58
Legendas das figuras	60
ANEXO I – Normas de submissão para a Neotropical Ichthyology	69
ANEXO II – Normas de submissão para a revista Genetics and Molecular Biology ..	74

INTRODUÇÃO GERAL

A grande diversidade morfológica e ecológica da ictiofauna mundial é um reflexo do grande número de espécies de peixes existentes, aproximadamente 28.000 espécies (Nelson, 2006). A ictiofauna Neotropical de água doce é a detentora da maior parte dessa riqueza, com aproximadamente 6.000 espécies das 13.000 espécies de água doce conhecidas no mundo, destacando-se a superordem Ostariophysi como a mais diversa (Reis *et al.*, 2003).

A ordem Characiformes é uma grande representante dos Ostariophysi, possuindo distribuição nas Américas e na África, sendo mais diversa na região Neotropical (Buckup, 1998). Esta ordem possui 1.674 espécies válidas em 270 gêneros (Nelson, 2006), divididas em 14 famílias, sendo quatro africanas e as demais neotropicais (Reis *et al.*, 2003).

Os Characiformes apresentam uma grande variação no tamanho corporal, existindo desde espécies milimétricas, conhecidas como espécies miniaturas (Weitzman & Vari, 1988) à espécies predadoras que podem passar de um metro de comprimento padrão (Moreira, 2007). Apresentam também, uma grande diversidade de hábitos alimentares, forma corporal, estrutura da mandíbula, dentição e anatomia interna, além de ocorrerem em diferentes ambientes (Moreira, 2007; Vari, 1998).

A família Anostomidae contribui com cerca de 138 espécies descritas em 12 gêneros, para a diversidade de Characiformes (Garavello & Britski, 2003). Dentre suas principais características, os anostomídeos apresentam corpo alongado, nadadeira anal curta, membranas branquiais unidas ao ístimo, narina anterior formando um tubo, uma única série de dentes, com três ou quatro dentes em cada pré-maxila ou dentário e ausência de dentes no maxilar e no palato (Géry, 1977).

Estudando as relações entre as famílias Anostomidae, Chilodontidae, Prochilodontidae e Curimatidae, Vari (1983) sugeriu que estas formam um grupo monofilético com base em quinze sinapomorfias dentro da família Anostomidae. Recentemente, Sidlauskas & Vari (2008) confirmaram o monofiletismo da família Anostomidae, através da análise de 123 caracteres morfológicos variáveis dentro da família (Figura 1).

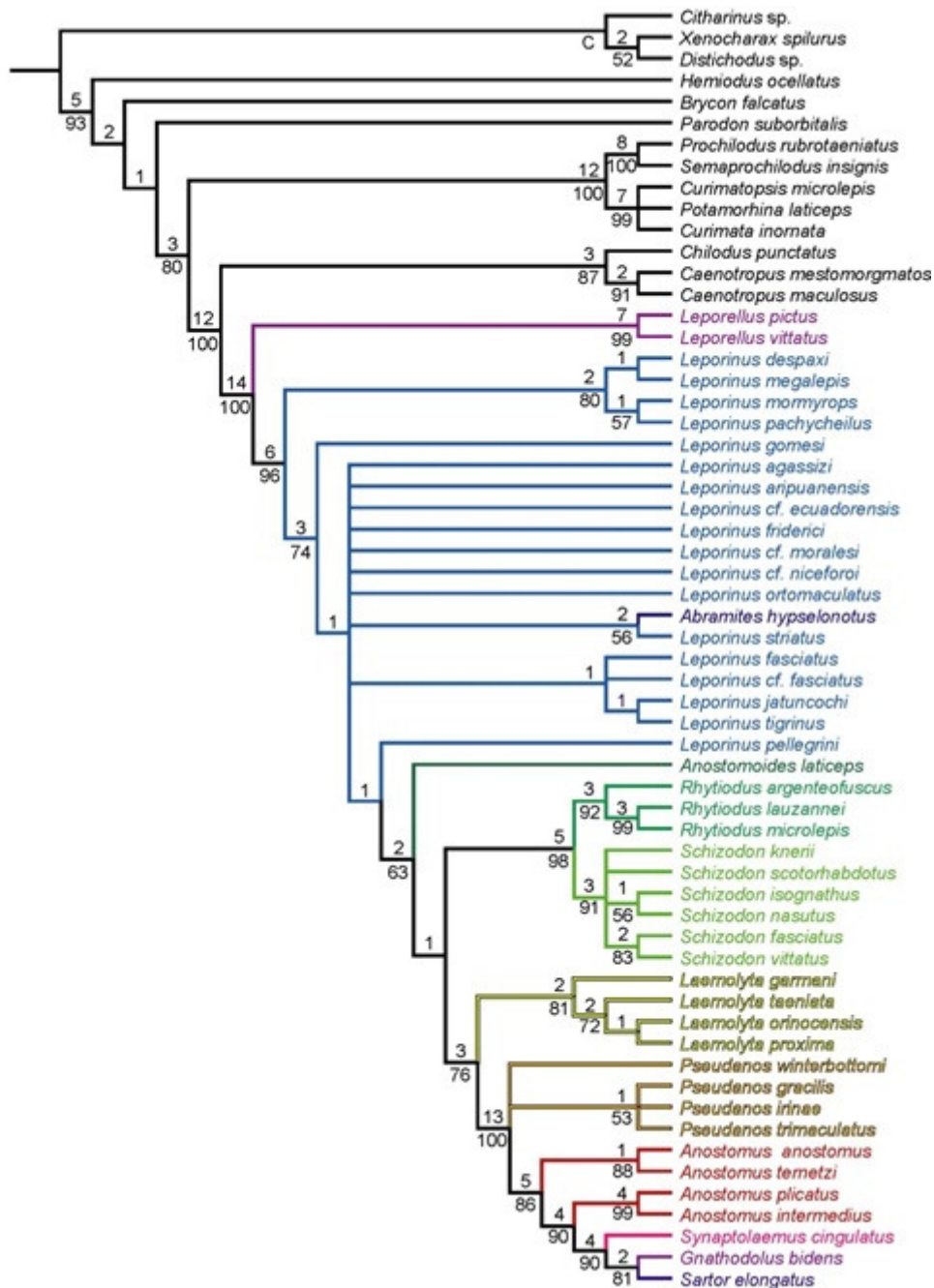


Figura 1: Árvore de consenso estrito mais parcimoniosa para a família Anostomidae, baseada em dados morfológicos. Terminais coloridos representam os gêneros da família Anostomidae. Sidlauskas & Vari, 2008.

As espécies da família Anostomidae possuem ampla distribuição a partir do sudeste da América Central até as regiões tropical e subtemperada da América do Sul (Garavello & Britski, 2003). Espécies dos gêneros *Leporinus* e *Schizodon*, são amplamente exploradas pela pesca comercial e de subsistência, devido às longas migrações realizadas por essas espécies (Godoy, 1975; Goulding, 1981).

É possível se distinguir os Anostomidae de outros Characiformes pela presença de uma série exclusiva de três ou quatro dentes, em cada pré-maxilar ou dentário (Garavello & Britski, 2003). A posição da boca nos gêneros *Leporinus*, *Schizodon* e *Laemolyta* é modificada com a idade (Garavello, 1979), variando desde a posição terminal a subinferior em *Leporinus* ou subterminal em *Schizodon* e *Laemolyta*, dependendo da diferenciação do crescimento dos ossos pré-maxilar ou dentário.

O gênero *Schizodon*, é o segundo mais numeroso da família Anostomidae com 16 espécies, perdendo apenas para o gênero *Leporinus* (Sidlauskas *et al.*, 2007). Devido a grande semelhança existente entre algumas espécies do gênero *Schizodon*, Géry (1977) considera as espécies *Schizodon fasciatus*, *Schizodon vittatus* e *Schizodon dissimilis* como pertencente ao grupo *Schizodon fasciatus sensu lato*. Estas espécies, apresentam um padrão de coloração com 4 faixas verticais escuras ao longo do corpo e sendo separadas umas das outras pela presença de uma mancha na nadadeira caudal da primeira, pela presença de uma faixa horizontal na região do pedúnculo caudal da segunda e pela ausência destas características na terceira (Figura 2).

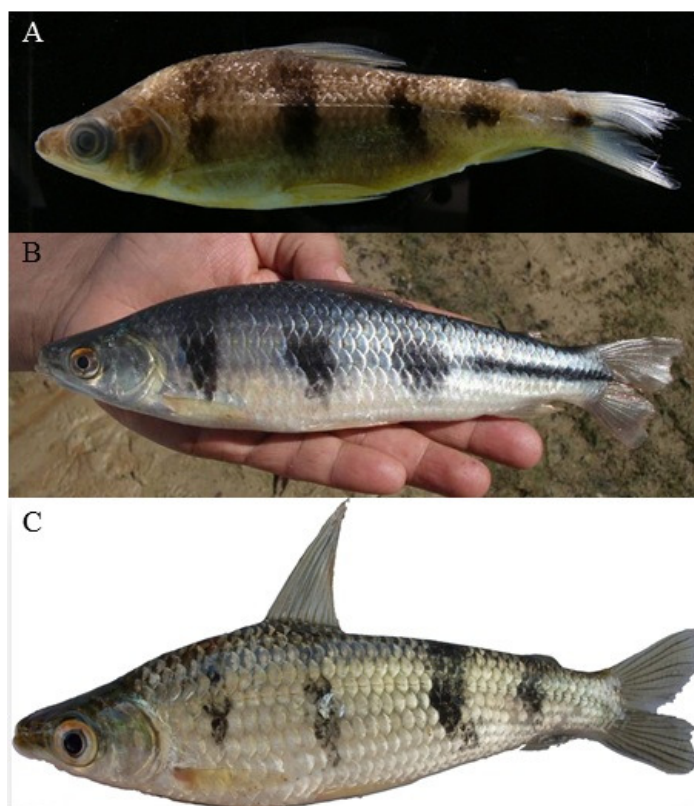


Figura 2. Grupo *S. fasciatus sensu lato*. (A) *S. fasciatus* (Berindelli, 2011); (B) *S. vittatus* (Carvalho *et al.*, 2009) e (C) *S. dissimilis* (Piorski).

Desde a década de 1980, diversos estudos de revisão desse gênero vêm sendo realizados, porém, de forma parcial e sempre redescrevendo espécies já conhecidas ou elevando subespécies ao nível de espécie ou descrevendo novas espécies (Bergmann, 1988; Garavello, 1994; Garavello & Britski, 1990; Sidlauskas *et al.*, 2007; Vari & Raredon, 1991), sendo necessário ainda uma revisão completa do gênero. Em um dos trabalhos mais extensos sobre a família Anostomidae, Sidlauskas & Vari (2008), estudaram algumas espécies do gênero *Schizodon*, passando a considerá-lo um gênero monofilético e as espécies *S. fasciatus* e *S. vittatus* como espécies irmãs. Porém, em nenhum estudo taxonômico publicado até os dias de hoje, a espécie *S. dissimilis* foi analisada assim como, ainda existe muitas dúvidas quanto a sua real distribuição geográfica, demonstrando a necessidade do levantamento de informações sobre esta espécie.

Apesar de inúmeros estudos taxonômicos e sistemáticos com grupos da ordem Characiformes, o conhecimento das relações filogenéticas desses grupos ainda é muito pequeno (Santos, 2007), sendo restrito principalmente a dados morfológicos (Sidlauskas & Vari, 2008; Vari, 1983; Winterbottom, 1980). Porém atualmente, muitos trabalhos têm sido desenvolvidos a partir de dados genéticos de peixes (Reeves & Bermingham, 2006; Sturmbauer *et al.*, 2001; Østbye *et al.*, 2006), colaborando com a compreensão da atual distribuição das espécies.

Os estudos filogeográficos fornecem uma compreensão mais objetiva das relações históricas entre diferentes áreas, devido à utilização de caracteres genéticos, permitindo assim, o reconhecimento de grupos monofiléticos num contexto espaço-temporal (Nelson & Platnick, 1981). Em estudos de filogeografia comparativa, analisam-se os padrões filogeográficos entre as espécies na tentativa de encontrar padrões gerais da história evolutiva dessas espécies e demonstrar os processos evolutivos que regem esses padrões (Bermingham & Avise, 1986; Hewitt, 2000; Zink, 1996). Em uma abordagem regional, a filogeografia comparativa pode ser usada para a conservação, localizando áreas de alta biodiversidade e, portanto, de alto valor de conservação (Moritz & Faith, 1998).

Avise *et al.* (1987) usaram pela primeira vez o termo filogeografia para descrever uma nova área de estudo, dentro da biogeografia, que tem como objetivo

compreender as variantes responsáveis pela distribuição das linhagens num contexto temporal e espacial. A filogeografia analisa os fatores responsáveis pela genealogia das linhagens e sua localização geográfica, a nível intra e interespecífico, o que permite a análise da origem de zonas de híbridos, introgressão e espécies de fronteiras (Hewitt, 2001; Hubert *et al.*, 2008; Martínez-Ortega *et al.*, 2004), podendo servir como ligação entre estudos de processos micro e macroevolutivos (Avise, 2000). A filogeografia também pode ser usada em conjunto com outras áreas das ciências naturais, tais como: genética populacional, ecologia, etologia, filogenia, paleontologia e história geológica para a análise da distribuição das linhagens (Ruokonen, 2001).

Embora a análise de DNA mitocondrial (DNAMt) tenha emergido como uma importante ferramenta no estudo da estrutura e da história da população humana (Stoneking, 1993), o desenvolvimento da filogeografia baseou-se principalmente no uso do DNAMt. Isso ocorreu devido a sua herança clonal, a existência de apenas uma cópia por organismo e rápidas taxas mutacionais, permitindo que esta molécula seja particularmente apropriada para estudos de filogenia (Avise, 2000; Avise *et al.*, 1987), enquanto que a maioria dos marcadores nucleares, por exemplo, microssatélites e aloenzimas, fornecem dados à base de frequência de alelo.

O DNA mitocondrial tem sido o mais utilizado para estudos de filogeografia em animais (Avise, 1994), por ser uma molécula pequena e de fácil isolamento; apesar de possuir fita dupla como o DNA nuclear, apresenta-se de forma circular (Santos, 2008). Seu tamanho gira em torno de 16 a 21 kb (Ray & Densmore, 2002), com uma estrutura altamente conservada com cerca de 37 genes: 13 genes codificadores de proteínas; 22 genes codificadores de RNAt e; 2 genes codificadores de RNAr (12S e 16S); além de uma região não codificadora chamada de região controle, alça D ou D-loop (displacement loop) (Anderson *et al.*, 1981; Avise *et al.*, 1986; Brown *et al.*, 1979; Meyer, 1993).

Por possuir uma taxa de substituição de nucleotídeos de 2 a 5 vezes maior do que a dos genes codificadores de proteínas (Aquadro *et al.*, 1983) e por ser onde estão contidos os sítios de iniciação da replicação da fita pesada e os promotores de transcrição das fitas do DNAMt (Brown *et al.*, 1986; Honeycutt & Wheeler, 1990; Strachan & Read, 1996), a região controle do DNAMt tem se tornado a região mais importante e mais estudada da molécula de DNAMt.

Com o objetivo de desenvolver um sistema de identificação de todas as espécies do planeta, utilizando pequenos fragmentos de DNA, o *Consortium for the Barcode of Life* (CBOL) foi criado em 2004 (Azeredo-Espin, 2005). Propondo um sistema de “código de barras do DNA” ou “DNA Barcoding”, foi estabelecido que para estudos animais seria utilizado o gene mitocondrial, Citocromo Oxidase Subunidade I (COI) (Blaxter, 2004; Herbert *et al.*, 2003). Esse gene foi escolhido devido às características do DNA mitocondrial que facilitam o seu manuseio e identificação. Este sistema foi criado com o intuito de auxiliar na identificação de espécies, através da análise de pequenas sequências de DNA, ajudando nos estudos de diversidade biológica e taxonomias (Azeredo-Espin, 2005).

A análise conjunta de dados genéticos e morfológicos ajuda na compreensão das interações ecológicas das espécies, assim como, no entendimento taxonômico e sistemático das mesmas. Permitindo um maior conhecimento sobre os processos evolutivos que compreendem o desenvolvimento das espécies estudadas, auxiliando na identificação e preservação da biodiversidade.

Com base no exposto, este estudo tem por objetivo testar a hipótese de que as populações de *S. dissimilis* encontradas na Região Hidrográfica Atlântico Nordeste Ocidental e no trecho baixo do rio Tocantins formam uma unidade taxonômica. Assim como, através de análises genéticas, testar a validade das espécies que compõem o grupo *S. fasciatus sensu lato*.

REFERÊNCIAS

- ANDERSON, S.; BANKIER, A. T.; BARREL, B. G.; DE BRUIJIN, M.H.L.; COULSON, A. R.; DROUIN, J.; EPERON, I. C.; NIERLICH, D. P.; ROE, B. A.; SANGER, F.; SCHREIER, P. H.; SMITH, A. J. H.; STADEN, R.; YOUNG, I. G. Sequence and Organization of the human mitochondrial genome. **Nature**.v. 290, p. 457 – 465. 1981.
- AQUADRO, C. F.; GREENBERG, B. D. Human mitochondrial DNA variation and evolution: Analysis of nucleotide sequences from seven individuals. **Genetics**. v. 103, p. 287 – 312. 1983.
- AVISE, J. C. **Molecular Markers, Natural History and Evolution**. Chapman & Hall, London. 532p. 1994.
- AVISE, J. C. **Phylogeography: The History and Formation of Species**. Massachusetts: Harvard University Press. 447p. 2000.
- AVISE, J. C.; ARNOLD, J.; BALL, R. M.; BERMINGHAM, E.; LAMB, T.; NEIGEL, J. E.; REEB, C. A.; SAUNDERS, N. C. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial bridge between population genetics and systematics. **Annual Review of Ecology and Systematics**.v. 18,p. 489 – 522. 1987.
- AVISE, J. C.; HELFMAN, G. S.; SAUNDERS, N. C.; STANTON, L. H. Mitochondrial DNA differentiation in north atlantic eels: Population genetic consequences of an unusual life history pattern. **Proc. Nat. Acad. Sci**.v. 83, p. 4350 – 4354. 1986.
- AZEREDO-ESPIN, A. M. L. **O Código de Barras da Vida baseado no DNA “Barcoding of Life”: Considerações e Perspectivas**. 2005. Disponível em: <www.cria.org.br/cgee/documentos/DNAbarcoding_2005.doc>. Acesso em: 05 jun. 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, Série Zoologia** 1: 13–28. 1988.
- BERMINGHAM, E; AVISE, J. C. Molecular zoogeography of freshwater fishes in the southeastern United States. **Genetics**.v. 113, p. 939 – 965. 1986.
- BLAXTER, M. L. The promise of a DNA taxonomy. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences**.v. 359, n. 1444, p. 669–679. 2004.
- BROWN, W. M., GADALETA, G., PEPE, G., SACCONI, C., SBIZA, E. Structural conservation and variation in the D-Loop containing region of vertebrate mitochondrial DNA. **J. Mol. Biol**.v. 192, p. 503 – 511. 1986.

BROWN, W. M.; GEORGE, M. J. R.; WILSON, A. C. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. **Proc. Natl. Acad. Sci.**v. 76, p. 1967 – 1971. 1979.

BUCKUP, P. A. Relationships of the Characidiinae and phylogeny of characiform fishes (Teleostei: Ostariophysi). In: MALABARBA, L. R.; REIS, R. E.; VARI, R. P.; LUCENA, Z. M.; LUCENA, C. A. (Eds.). **Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes**. Porto Alegre, Edipucrs. 123 – 144p. 1998.

GARAVELLO, J. C. **Revisão Taxonômica do gênero *Leporinus* Spix, 1829**. PhD Thesis for the Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, v + 451 pgs.,pls. &figs. 1979.

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 da PUCRS, Série Zoologia** 7: 179–193. 1994.

GARAVELLO, J. C.; BRITSKI, H. A. Duas novas espécies do gênero *Schizodon* Agassiz da bacia do alto Paraná, Brasil, América do Sul (Ostariophysi, Anostomidae). **Naturalia** (São Paulo) 15: 153–170. 1990.

GARAVELLO, J. C.; BRITSKI, H. A. Family Anostomidae. In: Reis, R. E.; Kullander, S. O.; Ferraris Jr., C. J. **Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America**. p71-84. 2003.

GÉRY, J. **Characoids of the world**. T.F.H. Publications, Inc., N.J. 672 p. 1977.

GODOY, M.P. **Peixes do Brasil: Subordem Characoide: Bacia do rio Mogi-Guassu**. Editora Franciscana. Piracicaba, São Paulo. In 4 volumes. 1975.

GOULDING, M. **Man and fisheries on an Amazonian frontier**. W. Junk Publishers, The Hague. 137 p. 1981.

HEBERT, P. D. N.; CYWINSKA, A.; BALL, S. L.; DEWAARD, J. R. Biological identifications through DNA barcodes. **Proceeding of the Royal Society of London**. v. 270, n. 1512, p. 313 – 321. 2003.

HEWITT, G. M. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. **Nature**.v. 405, p. 907 – 913. 2000.

HEWITT, G. M. Speciation, hybrid zones and phylogeography - or seeing genes in space and time. **Mol. Ecol.** v. 10, n. 3, p. 537 – 549. 2001.

HONEYCUTT, R. I.; WHELLER, W. C. Mitochondrial DNA: Variation in humans and higher primates. In: DUTTA, S. K.; WINTER. W. P. (Ed.). **DNA Systematics: Human and higher Primates**. Vol 3. Boca Roton, Florida, USA, CRC Press inc., p. 91 – 124. 1990.

HUBERT, N.; TORRICO, J. P.; BONHOMME, F.; RENNO, J. F. Species polyphyly and mtDNA introgression among three *Serrasalmus* sister-species. **Mol. Phylogenet. Evol.** v. 46, n. 1, p. 375 – 381. 2008.

MARTÍNEZ-ORTEGA, M. M.; LUIS, D.; ALBACH, D. C.; ELENA-ROSSELLO, J. A.; RICO, E. Species boundaries and phylogeographic patterns in cryptic taxa inferred from AFLP markers: Veronica subgen. Pentasepalae (Scrophulariaceae) in the Western Mediterranean. **Syst. Botany.**, v. 29, n. 4, p. 965 – 986. 2004.

MEYER, A. Evolution of mitochondrial DNA of fishes. In: HOCHACHKA, P. W.; MOMMSEN, P. (Ed.). **Molecular biology frontiers, biochemistry and molecular biology.** Amsterdam: Elsevier Press. p. 1 – 38. 1993.

MOREIRA, C. R. **Relações filogenéticas na ordem Characiformes (Ostariophysi, Teleostei).** 468p. 2007. Tese (Doutorado) Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. 2007.

MORITZ, C.; FAITH, D. P. Comparative phylogeography and the identification of genetically divergent areas for conservation. **Mol Ecol.** n. 7, p. 419 – 429. 1998.

NELSON, J. S. **Fishes of the world.** John Wiley & Sons, New York. 4th ed. 601p. 2006.

NELSON, G.; PLATNICK, N. I. **Systematics and biogeography: cladistics and vicariance.** Columbia University Press, New York. 1981.

ØSTBYE, K.; AMUNDSEN, P. A.; BERNATCHEZ, L.; KLEMETSEN, A.; KNUDSEN, R.; KRISTOFFERSEN, R.; NÆSJE, T.F.; HINDAR, K. Parallel evolution of ecomorphological traits in the European whitefish *Coregonus lavaretus* (L.) species complex during postglacial times. **Molecular Ecology.** v. 15, p. 3983–4001. 2006.

RAY, D. A.; DENSMORE, L. The Crocodylian Mitochondrial Control Region: General Structure, Conserved Sequences, and Evolutionary Implications. **Journal of Experimental Zoology (Mol Dev Evol).** v. 294, p. 334 – 345. 2002.

REEVES, R. G.; BERMINGHAM, E. Colonization, population expansion, and lineage turnover: phylogeography of Mesoamerican characiform fish. **Biological Journal of the Linnean Society.** v. 88, p. 235–255. 2006.

REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS, C. **Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America (CLOFFSCA).** EDIPUCRS, Porto Alegre, 729p. 2003.

RUOKONEN, M. **Phylogeography and conservation genetics of the lesser white-fronted goose (*Anser erythropus*).** Oulu University Press. 54p. 2001.

SANTOS, G. S. A. DOS. **Análise filogenética das espécies de *Leporinus* (Ostariophysi: Characiformes: Anostomidae) das bacias do Prata e São Francisco.** 96p. 2007. Dissertação (Mestrado) Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. 2007.

SANTOS, R. C. DOS. **Estrutura genética das populações de irapuca (*Podocnemis erythrocephala*, Podocnemididae) da Amazônia brasileira: implicações para a conservação.** 2008. 78p. Dissertação (Mestrado). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. 2008

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

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

STONEKING, M. DNA and recent human evolution. **Evol. Anthropol.** v. 2, p. 60 – 73. 1993.

STRACHAN, T.; READ, A. P. **Human molecular genetics.** Bios Scientific Publishers Ltd, Oxford. 610 p. 1996.

STURMBAUER, C.; BARIC, S.; SALZBURGER, W.; RUBER, L.; VERHEYEN, E. Lake level fluctuations synchronize genetic divergences of cichlid fishes in African lakes. **Mol. Biol. Evol.** v.18, n. 2, p. 144–154. 2001.

VARI, R. P. Phylogenetic Relationships of the Families Curimatidae, Prochilodontidae, Anostomidae, and Chilodontidae (Pisces: Characiformes). **Smithsonian Contributions to Zoology**, 378, 60p. 1983.

VARI, R. P. Higher level phylogenetic concepts within characiforms (Ostariophysi), a historical review. In: MALABARBA, L. R.; REIS, R. E.; VARI, R. P.; LUCENA, Z. M.; LUCENA, C. A. (Eds.). **Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes.** Porto Alegre, Edipucrs. 111 – 122p. 1998.

VARI, R. P.; RAREDON, S. J. The genus *Schizodon* (Teleostei: Ostariophysi: Anostomidae) in Venezuela, a reappraisal. **Proceedings of the Biological Society of Washington** 104:12–22. 1991.

WEITZMAN, S. H.; VARI, R. P. Miniaturization in South American freshwater fishes; an overview and discussion. **Proceedings of the Biological Society of Washington**. v. 101, n. 2, p. 444 – 465. 1988.

WINTERBOTTOM, R. Systematics, osteology and phylogenetic relationships of fishes of the ostariophysan subfamily Anostominae (Characoidei, Anostomidae). **Life Sciences Contributions: Royal Ontario Museum**. n. 123, p. 1 – 112. 1980.

ZINK, R.M. Comparative phylogeography in North American birds. **Evolution**. v. 50, p. 308 – 317. 1996.

Novas ocorrências e variação geográfica em *Schizodon dissimilis* (Characiformes: Anostomidae)

João Marcelo da Silva Abreu^{1,2}, Nivaldo M. Piorski², Horacio Schneider³, Iracilda Sampaio³

¹Pós-Graduação de Zoologia, Universidade Federal do Pará / Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, Pará, Brazil, joaabreu@gmail.com

²Departamento de Oceanografia, Universidade Federal do Maranhão, nivaldopiorski@yahoo.com.br

³Instituto de Estudos Costeiros, Laboratório de Genética e Biologia Molecular, Campus Universitário de Bragança, Universidade Federal do Pará, Bragança-PA, Brazil, horacio@ufpa.br, ira@ufpa.br

RESUMO

Através da análise dos espécimes de *Schizodon dissimilis* depositados em coleções científicas, registramos a ocorrência desta espécie nas bacias dos rios Pindaré-Mearim, Itapecuru, Turiaçu e Tocantins (trecho baixo), ampliando a área de distribuição da espécie que, até o momento, estava restrita à bacia do Rio Parnaíba. As análises realizadas, demonstram uma tendência a separação das populações dessas bacias, onde as populações do rio Tocantins podem ser separadas das demais populações, assim como, as populações dos rios Turiaçu e Pindaré-Mearim, podem ser consideradas próximas. Provavelmente essas caracterizações são definidas por eventos geológicos ocorridos nessas áreas ou apenas por pressão seletiva. Porém, tais resultados não podem evidenciar uma separação definitiva entre essas populações em espécies distintas.

Palavras-chave: Piau, Neotropical, morfometria, diferenciação, geométrica.

Abstract

Through the analysis of specimens *Schizodon dissimilis* deposited in scientific collections recorded the occurrence of this species in the basins of Pindaré-Mearim, Itapecuru, Turiaçu and Tocantins (low current), expanding the distribution area of the species, so far, was restricted to the basin of the Parnaíba River. The analyzes show a tendency to separation of the populations of these basins, where populations of the Tocantins River can be separated from the other populations as well as populations of

rivers Turiaçu and Pindaré-Mearim may be considered next. Probably these characterizations are defined by geological events that occurred in these areas or just selective pressure. However, these results can not show a definitive separation between these populations in different species.

Key-words: Piau, Neotropical, morphometry, differentiation, geometric.

Introdução

A ordem Characiformes é um grande representante dos Ostariophysi, possuindo distribuição nas Américas e na África, sendo mais diversa na região Neotropical (Buckup, 1998). Esta ordem possui 1674 espécies válidas em 270 gêneros (Nelson, 2006), divididas em 14 famílias, sendo quatro africanas e as demais neotropicais (Garavello & Britski, 2003).

A família Anostomidae contribui para a diversidade de Characiformes com cerca de 138 espécies descritas em 12 gêneros. Apesar de alguns endemismos a nível de espécie e gênero (Birindelli & Britski, 2009; Britski & Birindelli, 2008) a família como um todo apresenta ampla distribuição, ocorrendo desde o sudeste da América Central até as regiões tropical e subtemperada da América do Sul (Garavello & Britski, 2003).

Dentre suas principais características, os anostomídeos apresentam corpo alongado, nadadeira anal curta, membranas branquiais unidas ao ístimo, narina anterior formando um tubo, uma única série de dentes, com três ou quatro dentes em cada pré-maxila ou dentário e ausência de dentes no maxilar e no palato (Géry, 1977). A posição da boca nos gêneros *Leporinus*, *Schizodon* e *Laemolyta* é variável com a idade (Garavello, 1979), variando desde a posição terminal a subinferior em *Leporinus* ou subterminal em *Schizodon* e *Laemolyta*, dependendo da diferenciação do crescimento dos ossos pré-maxilar ou dentário.

O gênero *Schizodon* é o segundo mais numeroso da família Anostomidae com 16 espécies, perdendo apenas para o gênero *Leporinus* (Sidlauskas *et al.*, 2007). A espécie *Schizodon dissimilis* foi descrita por Garman (1890) no gênero *Anostomus* dentro do subgênero *Schizodon*, mais tarde elevado a gênero por Eigenmann (1910).

Géry (1977) considera *Schizodon dissimilis* como pertencente ao grupo *Schizodon fasciatus sensu lato*, juntamente com *Schizodon vittatus*, apresentando 4 faixas verticais ao longo do corpo e sendo distinto destes, pela ausência de mancha na nadadeira caudal e ausência de faixa vertical, respectivamente.

Schizodon dissimilis é citada para a bacia do Rio Poti, tributário da drenagem do Rio Parnaíba (Garavello & Britski, 2003). Entretanto, coletas recentes na Região Hidrográfica Atlântico Nordeste Ocidental (Barros *et al.*, 2011; Piorski, em preparo) e trecho baixo do Rio Tocantins têm revelado a ocorrência de exemplares com as características de *S. dissimilis*. A história geológica dessas áreas, por outro lado, sugerem que o curto espaço de tempo envolvido na separação delas tem promovido variações menores entre as populações de peixes das diferentes bacias (Piorski, 2010). Dessa forma, este trabalho testa a hipótese de que as populações de *S. dissimilis* da RH Atlântico Nordeste Ocidental e baixo Tocantins formam uma unidade taxonômica.

Material e Métodos

Para a realização deste estudo, foram utilizados 68 espécimes depositados nas coleções de ictiologia das seguintes instituições: Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP), Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS (MCP) e Coleção do Departamento de Oceanografia e Liminologia da Universidade Federal do Maranhão (CDPOL). Com os quais foram realizadas análises de morfometria tradicional e de morfometria geométrica. Dos 68 espécimes analisados, 29 pertenciam a bacia do rio Pindaré-Mearim, 19 do rio Turiaçu, 15 do Itapecuru, 4 do Tocantins e 1 do Parnaíba.

O conjunto de dados tradicionais foi composto por 19 caracteres morfométricos e 17 métricos, segundo Sidlauskas *et al.*, (2007) e Winterbottom (1980). As medidas foram realizadas com o auxílio de paquímetro (0,01mm) no lado esquerdo dos espécimes, exceto quando a estrutura a ser medida estava reconhecidamente anormal ou danificada desse lado (Mautari & Menezes, 2006) sob microscópio estereoscópico, com luz incidente, quando necessário.

A análise da variação na forma do corpo através de técnica de morfometria geométrica foi baseada em 59 exemplares. Cada espécime foi fotografado individualmente e sobre a imagem, foram digitalizados 16 marcos anatômicos através do programa tpsDig 2.11 (Rohlf, 2008). Os marcos anatômicos definidos no corpo do animal foram: 1) Limite anterior da pré-maxila; 2) Primeira escama da região pré-dorsal; 3) Origem do primeiro raio da nadadeira dorsal; 4) Inserção do último raio da nadadeira dorsal; 5) Origem da nadadeira adiposa; 6) Inserção do raio medial da nadadeira caudal; 7) Inserção do último

raio da nadadeira anal; 8) Origem do primeiro raio da nadadeira anal; 9) Origem da nadadeira pélvica; 10) Origem da nadadeira peitoral; 11) Limite anterior da órbita; 12) Limite dorsal da órbita; 13) Limite ventral da órbita; 14) Limite posterior da órbita; 15) Margem posterior distal do opérculo e; 16) Margem proximal superior do opérculo. O conjunto de dados morfométricos obtido através do protocolo de morfometria tradicional foi submetido a uma análise de variáveis canônicas (CVA) no programa Past (Hammer *et al.*, 2001), a partir da matriz de variância-covariância dos caracteres morfométricos, transformados em logaritmos decimais para normalizar a distribuição dos dados e homogeneizar as variâncias (Bookstein *et al.*, 1985; Sokal & Rohlf, 1981), associado a uma MANOVA. Os dados geométricos foram transformados em variáveis de forma (Procrustes) e a matriz resultante foi submetida a uma CVA no programa MorphoJ (Klingenberg, 2008).

Resultados

A análise dos espécimes depositados em coleções científicas permitiu registrar a ocorrência de *S. dissimilis* nas bacias dos rios Pindaré-Mearim, Itapecuru, Turiaçu e Tocantins (trecho baixo), ampliando a área de distribuição da espécie que, até o momento, estava restrita à bacia do Rio Parnaíba (Fig. 1).

O único exemplar encontrado pertencente ao rio Parnaíba foi desconsiderado, nas análises, pois não seria possível a realização de uma comparação precisa entre este rio e os demais rios.

F1

Morfometria tradicional

A análise de variáveis canônicas aplicada sobre os dados de medidas tradicionais (Tabela 1) logaritimizadas, discriminou os exemplares do rio Tocantins, daqueles das demais drenagens (Wilk's $\lambda = 0,098$; $F = 2,788$; $p < 0,01$) e evidenciou uma tendência para separação entre os espécimes do rio Pindaré-Mearim e dos rios Turiaçu e Itapecuru (Figura 2).

T1

F2

A tipologia dos grupos representada no espaço morfométrico dos dois primeiros eixos canônicos (89,39% de variação acumulada) é definida principalmente pela maior

contribuição das variáveis 2 e 4 (ver Tabela 1) (Tabela 2). Essas distâncias são maiores nos indivíduos do Rio Tocantins.

T2

Com relação aos dados merísticos, não foi possível verificar-se nenhuma grande diferença entre os exemplares das drenagens estudadas (Tabela 3).

T3

Morfometria geométrica

A análise de variáveis canônicas (CVA) demonstrou variações significativas entre os grupos de *S. dissimilis*. Os dois primeiros eixos da análise explicaram 81,67% da variação na amostra. No espaço morfométrico definido por estes eixos foi possível a identificação de três agrupamentos: um formado pelos exemplares do Rio Itapecuru, outro por aqueles do Rio Tocantins e o terceiro constituído pelos espécimes dos rios Pindaré-Mearim e Turiaçu (Figura 3). O restante da variação na amostra (18,33%) foi acumulada no terceiro eixo canônico. No espaço definido pelo primeiro e terceiro eixos canônicos é possível identificar discriminação entre os exemplares dos rios Pindaré-Mearim e Turiaçu (Figura 4).

F3

De acordo com a análise, *S. dissimilis* do rio Itapecuru, diferencia-se dos demais grupos pelo alongamento do focinho devido o deslocamento do ponto 1; encurtamento da distância entre o opérculo e a nadadeira peitoral, pela convergência dos pontos 10 e 15; aumento da porção pré-dorsal, através do deslocamento oposto dos pontos 2 e 3; aumento em altura e alongamento da região medial do corpo devido o deslocamento dos pontos 3 e 9; e redução da altura da região caudal pelo deslocamento dos pontos 5, 7 e 8 (Figura 3).

Os exemplares do rio Tocantins foram definidos no segundo eixo pelas seguintes características: encurtamento do focinho, definido pelo deslocamento do ponto 1; diminuição do diâmetro do olho, através da convergência dos pontos 11, 12, 13 e 14; encurtamento da porção pré-dorsal, devido o deslocamento do ponto 2; encurtamento das nadadeiras dorsal e anal, através dos pontos 3 e 4, 7 e 8, respectivamente (Figura 3).

F4

Os exemplares do rio Turiaçu, discriminados ao longo do terceiro eixo canônico, foram definidos pelo encurtamento do focinho, através do ponto 1; diminuição do comprimento da cabeça, pontos 2 e 15; aumento da porção pré-dorsal, pelo

deslocamento oposto dos pontos 2 e 3; diminuição da altura da região dorsal, devido o deslocamento do ponto 9; e encurtamento da região caudal, devido o deslocamento dos pontos 5 e 8 (Figura 4).

Discussão

Os dados analisados demonstram que possivelmente há uma grande diferenciação entre a fauna aquática das diversas drenagens presentes nessa área, visto que a área utilizada para a realização deste estudo é composta por três regiões hidrográficas segundo a SRH/MMA (2006) e está situada em uma bacia sedimentar que pode ser dividida em quatro bacias distintas, como proposto por Silva *et al.* (2003).

Entretanto, por causa do tamanho desigual das amostras e devido à falta de múltiplos locais de coletas em alguns rios, é possível que as diferenças de formas encontradas entre as amostras disponíveis de *S. dissimilis* não reflitam a verdadeira estrutura fenotípica das populações naturais.

Sidlauskas *et al.* (2011) analisando o grupo *Leporinus cylindriformis* tiveram problema semelhante relacionado à amostragem e também encontraram resultados diferentes entre as análises linear e geométrica. Estes autores, propuseram que assumindo que a diferenciação encontrada entre as populações de *L. cylindriformis* que habitam diferentes regiões não foi devido a amostragem, existe pelo menos duas explicações possíveis. As diferenças de formas podem ter sido geradas por variações genéticas entre as populações ou por flutuações ambientais e de habitats que podem ter influenciado a morfologia da espécie.

Abreu *et al.* (em preparo) analisando dados genéticos de populações de *S. dissimilis* encontraram resultado semelhante, onde representantes do rio Tocantins também se diferenciaram das populações presentes nos demais rios. Evidenciando assim, uma tendência real de separação das populações presentes no rio Tocantins das demais populações dessa espécie. Porém, contrariando o resultado obtido na análise geométrica, não conseguiram separar as populações do rio Itapecuru das populações dos demais rios maranhense.

Essa diferenciação pode ser influenciada tanto pela configuração atual das drenagens quanto pela velocidade e direção das águas dos rios, pelas variações climáticas das áreas e até mesmo por eventos geológicos ocorridos no passado dessas áreas.

Um importante evento ocorrido durante a formação dessas drenagens foi a formação da Serra do Tiracambu durante o Mioceno-Plioceno (ca. 5,3 Ma) (Costa *et al.*, 1997), que separou o rio Tocantins das demais drenagens estudadas. A ocorrência deste evento pode ser uma explicação para o resultado demonstrado pelas análises executadas, onde os exemplares do rio Tocantins se diferenciaram dos exemplares dos demais rios.

Já a similaridade dos exemplares dos rios Turiaçu e Pindaré-Mearim, pode ser explicada pelos eventos conhecidos como incursões marinhas, onde estes rios tiveram porções de seus cursos inundados pelas águas do mar. Os eventos de incursões marinhas também podem ser utilizados para explicar a diferenciação encontrada entre o rio Itapecuru e os demais rios, já que este foi o rio que menos sofreu influência desses eventos.

Simulações sobre as incursões marinhas, realizadas por Piorski (estudos não publicados), demonstram que no Mioceno médio quando o mar atingiu um nível de 150m acima do nível atual (Haq *et al.*, 1987), todos os rios desta área estavam inundados, com apenas as partes altas descobertas. No final do Mioceno-Plioceno inferior, o mar atingiu 100m acima do nível atual (Nores, 2004) inundando todos os rios até o trecho médio de seus cursos, com exceção do rio Turiaçu que apresentava apenas sua cabeceira descoberta.

No plioceno médio (~ 3 Ma) o nível do mar estava 50m acima do nível atual (Haq *et al.*, 1987), encobrendo apenas os trechos baixos do curso destes rios. Entre o Pleistoceno médio e inferior (ca. 0,78 Ma) o mar sofreu diversas regressões ficando cerca de 10 a 14m acima do nível atual (Barreto *et al.*, 2002; Villwock *et al.*, 1986), inundando apenas os trechos baixos dos rios. Porém, nessa época, os rios Itapecuru e Parnaíba já não sofriam mais tanta influência das transgressões marinhas.

Já durante o Holoceno (~10 – 9 Ka) o mar estava próximo ao nível atual, atingindo máximas de 5m acima deste nível (Behling & Costa, 2001). Esse aumento teria sido o suficiente para uma inundação do rio Tocantins até a proximidade da atual cidade de Tucuruí e inundar quase que totalmente o curso médio-inferior do rio Turiaçu. A drenagem Pindaré-Mearim, a mais atingida por estas transgressões, teria seu percurso inundado até a altura das atuais cidades de Viana e Lago Açu. O rio Parnaíba seria atingido até a região do Delta e o rio Itapecuru estaria totalmente descoberto.

Porém, não se pode explicar a diferença na forma dos exemplares destes rios apenas com base em eventos históricos, devemos levar em consideração também, a existência

de pressões seletivas existentes nas áreas estudadas, pressões estas, que podem está influenciando diretamente na forma dos animais.

Os exemplares utilizados neste estudo são todos oriúndos dos cursos baixos dos seus respectivos rios com exceção, de alguns exemplares do rio Itapecuru que são provenientes também, dos alto e médio cursos. Como todos os rios amostrados têm a sua região baixa sofrendo grande influência da variação de maré e sendo formado por águas escuras e lamacentas, isso deve ter contribuído para o resultado obtido na análise linear onde todos apresentaram tendência a separação, porém, não chegando a se separar com exceção, do rio Tocantins.

Isso também pode ser evidenciado na análise geométrica, onde os exemplares do rio Turiaçu só se separaram dos exemplares do rio Pindaré-Mearim no terceiro eixo amostral. Outra demonstração da influência da composição do rio, pode ser observada na separação dos exemplares do rio Itapecuru encontrada na análise geométrica, resultado que pode ter se apresentado devido a presença de indivíduos de outras porções do rio que apresentam características bem distintas da porção baixa, como águas clara e límpidas por exemplo.

É notório também, que essa diferença nos resultados se deva ao fato de a análise geométrica ser uma análise mais refinada, como já observado em outros estudos em que os resultados obtidos pelo método geométrico foram mais consistentes que os resultados obtidos pelo método linear (Fink & Zelditch, 1997; Maderbacher *et al.*, 2008; Parsons *et al.*, 2003; Sidlauskas *et al.*, 2011).

Possivelmente, o aumento do n amostral e do número de áreas amostradas facilite a separação entre os grupos dos diferentes rios e os fatores que determinam tal separação. Entretanto, o material disponível em coleções desta espécie é muito escasso, devido principalmente a difícil identificação das espécies da família Anostomidae e da similaridade de *S. dissimilis* com outras espécies como, por exemplo, *S. fasciatus*, *S. vittatus* e *S. borelli* o que promove erros de identificação. Sendo necessária uma extensa revisão do material já depositado em diversas coleções assim como, uma revisão taxonômica do gênero *Schizodon*.

Material examinado. Todos os lotes do Brasil. *Schizodon dissimilis*: MPEG21192 (1; 125,21 mm CP), Maranhão, Alto Alegre do Pindaré, rio Pindaré-Mearim (3°39'14,02"S

45°42'19,66"W). MPEG20901 (1; 78,47 mm CP), Maranhão, Alto Alegre do Pindaré, rio Pindaré-Mearim (3°42'47,30"S 46°3'26,11"W). MPEG21193 (1; 61,05 mm CP), Maranhão, Alto Alegre do Pindaré, rio Pindaré-Mearim (3°42'57,93"S 45°31'57,08"W). MPEG21194 (1; 63,52 mm CP), Maranhão, Alto Alegre do Pindaré, rio Pindaré-Mearim (3°39'14,02"S 45°42'19,66"W). MPEG21195 (1; 66,72 mm CP), Maranhão, Alto Alegre do Pindaré, rio Pindaré-Mearim (3°39'10,82"S 45°46'23,54"W). MCP24971 (7; 94,96-133,19 mm CP), Maranhão, Santa Inês, rio Pindaré-Mearim (3°39'36"S 45°27'59"W). CPDOL 99291 (3; 132,13-145,75 mm CP), Maranhão, Viana, rio Pindaré-Mearim (3°13'14"S 45°00'13"W). CDPOL98300 (1; 146,85 mm CP), Maranhão, Viana, rio Pindaré-Mearim (3°13'14"S 45°00'13"W). CDPOL98287 (3; 156,69-169,99 mm CP), Maranhão, Viana, rio Pindaré-Mearim (3°13'14"S 45°00'13"W). CDPOL99293 (4; 113,83-143,83 mm CP), Maranhão, Viana, rio Pindaré-Mearim (3°13'14"S 45°00'13"W). CDPOL99290 (4; 120,19-178,97 mm CP), Maranhão, Viana, rio Pindaré-Mearim (3°13'14"S 45°00'13"W). CDPOL98294 (2; 153,4-158,96 mm CP), Maranhão, Viana, rio Pindaré-Mearim (3°13'14"S 45°00'13"W). MPEG2987 (1; 205,44 mm CP), Maranhão, Turiaçu, rio Turiaçu. CDPOL98298 (1; 121,54 mm CP), Maranhão, Turiaçu, rio Turiaçu. CDPOL98471 (1; 144,93mm CP), Maranhão, Turiaçu, rio Turiaçu. CDPOL98296 (1; 183,2mm CP), Maranhão, Turiaçu, rio Turiaçu. CDPOL99292 (1; 131,28mm CP), Maranhão, Turiaçu, rio Turiaçu. CDPOL98281 (3; 132,29-168,74mm CP), Maranhão, Turiaçu, rio Turiaçu. CDPOL98288 (2; 176,41-186,09 mm CP), Maranhão, Turiaçu, rio Turiaçu. CDPOL98286 (4; 152,55-208,06mm CP), Maranhão, Turiaçu, rio Turiaçu. CDPOL98282 (5; 188,45-227,46mm CP), Maranhão, Turiaçu, rio Turiaçu. MZUSP104577 (2; 228,08-238,65 mm CP), Maranhão, Caxias, rio Itapecuru (5°02'44"S 43°24'45"W). CPDOL13724 (3; 182,98-231,61mm CP), Maranhão, Parque Estadual do Mirador, rio Itapecuru (6°46'42"S 45°32'19"W). CPDOL13725 (10; 116,25-191,11 mm CP), Maranhão, rio Itapecuru (3°22'60"S 44°22'W). MZUSP21263 (4; 117,15-134,02mm CP), Pará, Baião, rio Tocantins (2°47'27"S 49°40'17"W). MCP24967 (1; 98,09mm CP), Piauí, Teresina, rio Parnaíba (5°28'8"S 42°57'35"W).

LITERATURA CITADA

BARRETO, A. M. F., BEZERRA, F. H. R., SUGUIO, K., TATUMI, S. H., YEE, M., PAIVA, R. P. & MUNITA, C. S. 2002; Late Pleistocene marine terrace deposits in

- northeastern Brazil: sealevel change and tectonic implications. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 179: 57-69.
- BARROS, M. C.; FRAGA, E. C. & BIRINDELLI, J. L. O. 2011. Fishes from the Itapecuru River basin, State of Maranhão, northeast Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 71(2): 375-380.
- BEHLING, H. & COSTA, M. L. 2001. Holocene vegetational and coastal environmental changes from the Lago Crispim record in northeastern Pará State, eastern Amazonia. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 114: 145-155.
- BIRINDELLI, J. L. O. & BRITSKI, H. A. 2009. 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*. 7(1): 1–10.
- BOOKSTEIN, F., CHERNOFF, B., ELDER, R., HUMPHRIES, J. SMITH, G. & STRAUSS, R. 1985. *Morphometrics in evolutionary biology*. Academy of Natural Sciences of Philadelphia, 15: 1–277.
- BRITSKI, H. A. & BIRINDELLI, J. L. O. 2008. 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*. 6(1): 45–51.
- BUCKUP, P. A. 1998. Relationships of the Characidiinae and phylogeny of characiform fishes (Teleostei: Ostariophysi). In: MALABARBA, L. R.; REIS, R. E.; VARI, R. P.; LUCENA, Z. M.; LUCENA, C. A. (Eds.). *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes*. Porto Alegre, Edipucrs. 123 – 144p.
- COSTA, J. B. S., BEMERGUY, R. L., HASUI, Y., BORGES, M. D. S., JÚNIOR, C. R. P. F., BEZERRA, P. É. L., COSTA, M. L. D. & FERNANDES, J. M. G. 1997. Neotectônica da região amazônica: Aspectos tectônicos, geomorfológicos e deposicionais. *Geonomos*, 4 (2): 23-44.
- EIGENMANN, C. H. 1910. Catalogue of fresh water fishes of tropicaland South America. Reports of the Princeton University Expedition to Patagonia, 1896–1899, 3(4): 375–511.
- FINK, W. L. & ZELDITCH, M. L. 1997. Shape analysis and taxonomic status of *Pygocentrus* piranhas (Ostariophysi, Characiformes) from the Paraguay and Paraná river basins of South America. *Copeia*, 1997: 179–182.
- GARAVELLO, J. C. 1979. Revisão Taxonômica do gênero *Leporinus*Spix, 1829. PhD Thesis for the Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, v + 451 pgs.,pls. & figs.

- GARAVELLO, J. C. & BRITSKI, H. A. 2003. Family Anostomidae. In: Reis, R. E., Kullander, S. O. & Ferraris Jr., C. J. Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America. p71-84.
- GARMAN, S. 1890. On the species of the genus *Anostomus*. Bull. Essex Inst., 22 (1-3): 15-23.
- GÉRY, J. 1977. Characoids of the world. T.F.H. Publications, Inc., N.J. 672 p.
- HAMMER, Ø., HARPER, D. A. T. & RYAN, P. D. 2001. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4: 1–9.
- HAQ, B. U., HARDENBOL, J. & VAIL, P. R. 1987. Chronology of Fluctuating Sea Level since the Triassic. *Science*, 235 (4793): 1156-1167.
- KLINGENBERG, C. P. 2008. MorphoJ. 1.02b ed. Manchester, UK: Faculty of Life Sciences, University of Manchester.
- MADERBACHER, M., BAUER, C., HERLER, J., POSTL, L., MAKASA, L. & STURMBAUER, C. 2008. Assessment of traditional versus geometric morphometrics for discriminating populations of the *Tropheus moorii* species complex (Teleostei: Cichlidae), a Lake Tanganyika model for allopatric speciation. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 46: 153–161.
- MAUTARI, K. C. & MENEZES, N. A. 2006. Revision of the South American freshwater fish genus *Laemolyta* Cope, 1872 (Ostariophysi: Characiformes: Anostomidae). *Neotropical Ichthyology*, 4(1): 27 – 44.
- NELSON, J. S. 2006. *Fishes of the world*. John Wiley & Sons, New York. 4th ed. 601p.
- NORES, M. 2004. The implications of Tertiary and Quaternary sea level rise events for avian distribution patterns in the lowlands of northern South America. *Global Ecology and Biogeography*, 13: 149-161.
- PARSONS, K. J., ROBINSON, B. W. & HRBEK, T. 2003. Getting into shape: an empirical comparison of traditional truss-based morphometric methods with a newer geometric method applied to new world cichlids. *Environmental Biology of Fishes*, 67: 417–431.
- PIORSKI, N. M. 2010. Diversidade genética e filogeográfica das espécies *Hoplia smalabaricus* (Bloch, 1794) e *Prochilodus lacustris* Steindachner, 1907 no Nordeste do Brasil. Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos. 152p.
- ROHLF, F. J. 2008. tpsDig, digitize landmarks and outlines, version 2.12. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.

SIDLAUSKAS, B., GARAVELLO, J. C. & JELLEN, J. 2007. A new *Schizodon* (Characiformes: Anostomidae) from the Río Orinoco system, with a redescription of *S. isognathus* from the Rio Paraguay system. *Copeia*, 2007 (3): 711–725.

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

SILVA, A. J. P. D., LOPES, R. D. C., VASCONCELOS, A. M. & BAHIA, R. B. C. 2003. Bacias sedimentares paleozóicas e meso-cenozóicas interiores. In: BIZZI, L. A., SCHOBENHAUS, C., VIDOTTI, R. M. & GONÇALVES, J. H. (Ed.). *Geologia, Tectônica e Recursos Minerais do Brasil*. Brasília: CPRM.

SOKAL, R. R. & ROHLF, F. J. 1981. *Biometry*. San Francisco, W.H. Freeman, 2nd ed. 859p.

SRH/MMA. 2006. *Ecorregiões aquáticas do Brasil*. Brasília: Ministério do Meio Ambiente / Secretaria de Recursos Hídricos.

VILLWOCK, J. A., TOMAZELLI, J. L., LOSS, E. L., DEHNARDT, E. A., HORN FILHO, N., BACHI, F. A. & DEHNARDT, B. A. 1986. Geology of the Rio Grande do Sul coastal province. Pp. 79-97. In: BALKEMA, A. A. (Ed.). *Quaternary of South America and Antarctic Peninsula*.

WINTERBOTTOM, R. 1980. Systematics, osteology and phylogenetic relationships of fishes of the ostariophysan subfamily Anostominae (Characoidei, Anostomidae). *Life Sciences Contributions: Royal Ontario Museum*, 123: 1–112.

Tabelas.Tabela 1. Caracteres morfométricos de *Schizodon dissimilis*. DP = desvio padrão. Caracteres 1-11 correspondem à porcentagem de comprimento padrão, caracteres 12-18 a porcentagem de comprimento da cabeça.

Caracteres	Pindaré-Mearim			Turiçu			Tocantins			Itapecuru		
	Média	DP	Varição	Média	DP	Varição	Média	DP	Varição	Média	DP	Varição
Comprimento Padrão	122,86	31,57	61,05 - 178,97	176,01	28,59	121,54 - 227,46	125,26	7,23	117,15 - 134,02	166,10	46,68	116,25 - 238,65
1. Distância da mandíbula até a origem da nadadeira anal	82,45	1,83	80,06 - 88,31	81,29	2,79	74,12 - 85	84,37	0,38	84 - 84,78	82,52	2,77	76,78 - 90,81
2. Distância da mandíbula até a origem da nadadeira adiposa	85,44	0,86	84 - 87,74	84,51	2,62	76,23 - 87,07	85,78	0,64	85,22 - 86,7	85,96	2,55	84,02 - 94,87
3. Distância da mandíbula até a origem da nadadeira dorsal	44,07	1,90	40,51 - 48,93	42,74	1,53	39,06 - 45,41	44,97	0,27	44,66 - 45,31	43,63	1,90	41,83 - 49,71
4. Distância da mandíbula até a origem da nadadeira pélvica	47,77	1,36	45,07 - 50,79	46,87	2,18	41,33 - 49,97	48,23	0,62	47,39 - 48,85	47,31	1,90	43,51 - 50,63
5. Distância da origem da nadadeira dorsal à origem da nadadeira caudal	57,92	2,54	51,54 - 62,27	58,52	2,37	50,22 - 60,47	57,94	1,29	57,08 - 59,84	60,17	2,06	57,2 - 65,4
6. Distância da origem da nadadeira dorsal à origem da nadadeira adiposa	43,22	1,63	40,6 - 46,35	43,95	1,78	37,89 - 46,58	42,75	1,07	41,92 - 44,32	45,11	1,95	41,95 - 49,29
7. Comprimento do pedúnculo caudal	11,05	0,87	9,57 - 12,46	10,70	1,06	9 - 12,87	11,11	0,42	10,63 - 11,52	11,54	1,10	10,47 - 13,62
8. Altura do corpo	26,31	2,01	22,79 - 32,16	25,76	2,21	21,89 - 30,11	24,61	0,93	23,8 - 25,57	26,42	1,86	22,57 - 30,57
9. Largura do corpo	13,48	1,02	11,05 - 15,69	13,88	1,35	11,97 - 17,28	15,57	5,23	12,48 - 23,37	14,56	0,97	12,67 - 16,06
10. Altura do pedúnculo caudal	10,48	0,70	8,83 - 12,92	9,95	0,53	8,82 - 10,77	11,47	1,03	9,96 - 12,27	10,43	0,60	9,49 - 11,62
11. Comprimento da cabeça	25,61	1,81	23,06 - 29,88	23,69	1,23	21,22 - 26,2	24,44	0,94	23,17 - 25,28	23,85	1,27	22,04 - 27,14
12. Distância da mandíbula para a margem posterior do preopérculo	74,97	2,32	69,8 - 79,37	74,22	4,18	68,23 - 89,25	77,59	2,95	74,43 - 81,42	76,34	3,03	72,05 - 81,37
13. Comprimento da boca	32,66	2,59	25,71 - 36,7	35,13	3,14	29,33 - 43,05	37,78	2,76	33,83 - 40,24	35,33	2,97	31,56 - 42,92
14. Altura da cabeça	77,36	5,73	65,44 - 93,29	81,18	5,29	72,26 - 91,42	75,69	3,55	71,4 - 79,73	81,84	4,10	74,71 - 91,44
15. Altura preopercular	63,94	4,25	54,16 - 73,33	65,23	4,01	56,06 - 70,04	58,61	1,60	56,46 - 60,25	67,14	5,36	57,94 - 79,46
16. Altura da boca	35,93	3,40	30,74 - 47,73	36,99	2,60	32,87 - 44,01	35,85	2,76	31,76 - 37,75	36,40	3,97	29,44 - 44,33
17. Diâmetro do olho	30,30	2,52	25,6 - 36,38	27,75	2,36	22,72 - 32,47	27,87	1,89	25,68 - 30,01	28,38	3,19	19,9 - 32,17
18. Largura interorbital	47,99	2,53	43,17 - 54,34	49,35	2,48	43,03 - 54,65	48,32	2,51	44,81 - 50,58	49,16	3,40	45,24 - 56,13

Tabela 2. Scores das variáveis utilizadas na Análise de Variáveis Canônicas.

Variável/ Eixo	Eixo1	Eixo2	Eixo3
1	-14,532	-6,9906	-16,42
2	59,711	-40,148	-15,059
3	-95,17	-81,831	-26,035
4	73,554	37,122	21,653
5	-2,5778	78,364	-22,098
6	9,5165	-5,2404	25,643
7	20,237	37,418	9,7061
8	4,5395	-3,9372	14,524
9	-26,558	-5,237	-13,231
10	-3,495	-9,5788	3,9718
11	32,25	-9,6408	4,5107
12	-13,495	8,679	7,1656
13	6,819	3,4618	15,622
14	1,3419	1,6617	-6,9643
15	21,992	23,197	-17,298
16	-26,399	2,0346	25,471
17	-13,653	-4,0357	-8,9417
18	-13,642	3,0227	-9,3767
19	-24,296	-13,955	0,87957

Tabela 3. Caracteres merísticos de *Schizodon dissimilis*. DP = desvio padrão. Série incompleta de pequenas escamas nas bases das nadadeiras dorsal e anal foi contada como meia escama nas contagens transversais.

Caracteres	Pindaré-Mearim			Turiaçu			Tocantins			Itapecuru		
	Moda	DP	Variação	Moda	DP	Variação	Moda	DP	Variação	Moda	DP	Variação
Escamas da linha lateral	43	3,23	34 - 45	41	2,04	37 - 45	43	0,82	42 - 44	43	1,30	39 - 44
Escamas acima da linha lateral	5,5	0,47	4,5 - 5,5	5,5	0,31	4,5 - 5,5	4	0,58	4 - 5	5	0,50	4 - 5
Escamas abaixo da linha lateral	5,5	0,49	4 - 5,5	4,5	0,51	4, - 5,5	4	0,00	4	5	0,35	4 - 5
Escamas pre-dorsal	11	1,01	9 - 14	11	0,86	9 - 13	-	1,29	10 - 13	11	0,99	10 - 13
Escamas entre a nadadeira dorsal e a nadadeira adiposa	15	0,88	13 - 17	15	0,89	13 - 16	15	0,00	15	15	0,83	15 - 17
Escamas entre a nadadeira adiposa e a caudal	9	0,96	6 - 10	10	0,48	9 - 10	11	0,82	10 - 12	9	0,88	8 - 11
Escamas entre o istímo e a nadadeira pélvica	17	1,77	11 - 18	15	0,88	14 - 17	16	0,96	14 - 16	16	1,31	13 - 17
Escamas entre a nadadeira pélvica e a anal	15	1,33	12 - 17	15	0,88	12 - 16	15	0,96	13 - 15	15	0,82	13 - 16
Escamas entre a nadadeira anal e a caudal	8	0,98	6 - 10	9	0,67	7 - 9	9	1,26	8 - 11	8	0,74	8 - 10
Escamas circumpedunculares	16	0,81	13 - 17	16	0,74	14 - 17	15	0,58	15 - 16	16	0,53	15 - 17
Raios não ramificados da nadadeira dorsal	i	0,30	0 - 1	i	0,58	0 - 2	0	0,00	0	2	0,35	1 - 2
Raios ramificados da nadadeira dorsal	11	0,52	10 - 12	11	0,91	9 - 13	11	0,82	10 - 12	11	0,99	8 - 11
Raios não ramificados da nadadeira anal	i	0,66	0 - 2	0	0,48	0 - 1	i	0,82	0 - 2	2	0,35	1 - 2
Raios ramificados da nadadeira anal	9	1,19	7 - 11	10	0,99	8 - 11	8	1,26	6 - 9	9	0,99	6 - 9
Raios da nadadeira peitoral	16	1,43	10 - 17	17	1,09	14 - 18	16	0,50	15 - 16	16	1,13	13 - 18
Raios da nadadeira pélvica	9	0,63	7 - 10	9	0,31	9 - 10	9	0,00	9	9	0,26	9 - 10
Raios branquiostegais	4	0,00	4	4	0,00	4	4	0,00	4	4	0,00	4

Legendas das Figuras

Figura 1. Localidade dos exemplares encontrados nas coleções visitadas.

Figura 2. Resultado da CVA aplicada aos dados de medidas tradicionais logaritimizadas. Exemplares do rio Pindaré-Mearim (cruz); rio Turiaçu (quadrado); rio Itapecuru (xis) e; rio Tocantins (círculo).

Figura 3. Ordenação das amostras de *Schizodon dissimilis* no espaço morfométrico das duas primeiras variáveis canônicas. Abaixo do gráfico são mostradas as mudanças estimadas na forma do corpo associadas com cada eixo canônico. Números nas grades de deformação referem-se aos marcos anatômicos definidos sobre o corpo do animal.

Figura 4. Ordenação das amostras de *Schizodon dissimilis* no espaço morfométrico da primeira e terceira variáveis canônicas. Abaixo do gráfico são mostradas as mudanças estimadas na forma do corpo associada com o terceiro eixo canônico. Números nas grades de deformação referem-se aos marcos anatômicos definidos sobre o corpo do animal.

Figuras

Fig.1



Fig. 2

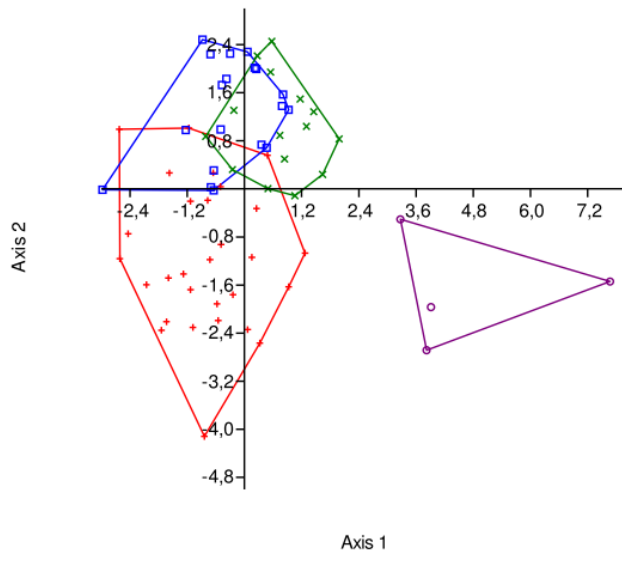


Fig. 3

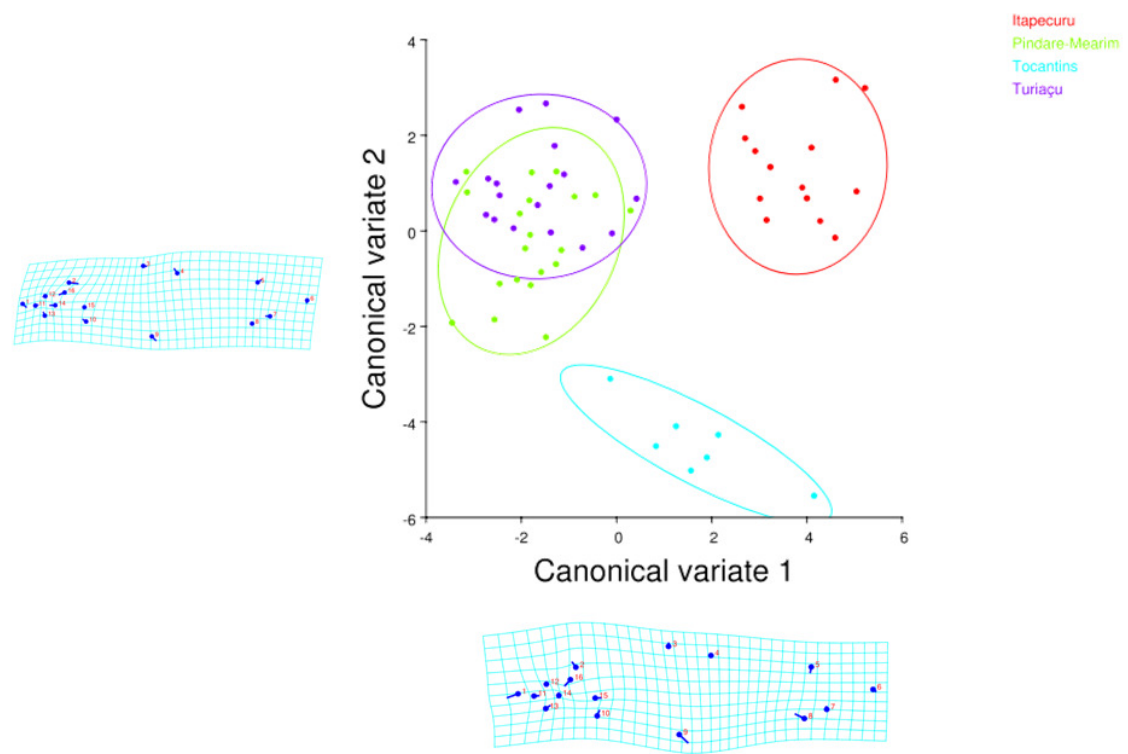
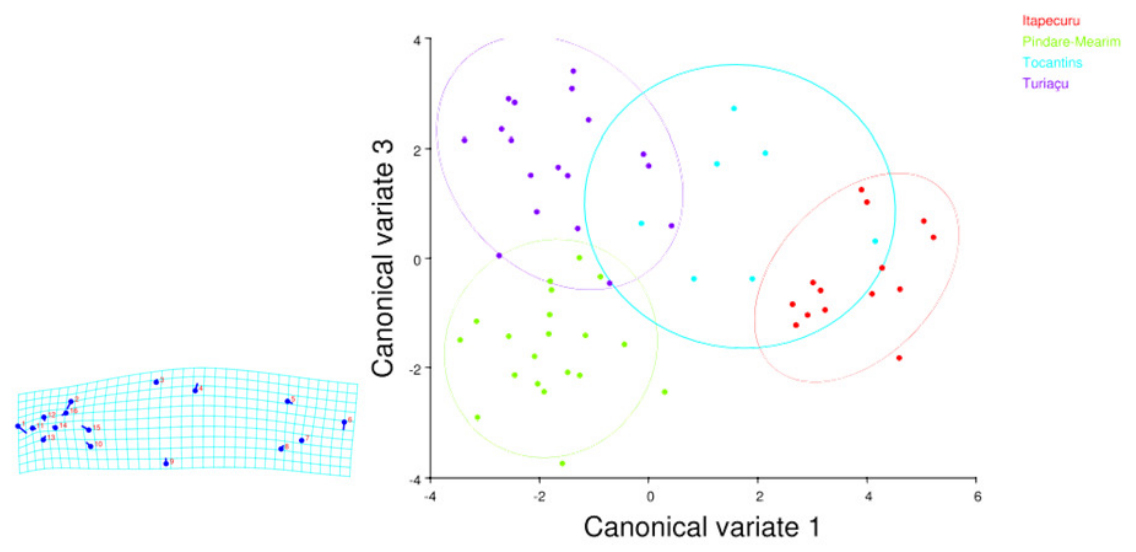


Fig. 4



1 **Diversidade genética e filogeográfica do grupo *Schizodon fasciatus sensu lato***
2 **(Characiformes: Anostomidae)**

3

4 João Marcelo da Silva Abreu¹, Nivaldo M. Piorski², Jaqueline Diniz Pinho³, Luis
5 Fernando da Silva Rodrigues Filho⁴, Jeferson Carneiro⁴, Horacio Schneider⁴, Iracilda
6 Sampaio⁴

7

8 ¹Pós-Graduação em Zoologia, Universidade Federal do Pará / Museu Paraense Emílio
9 Goeldi, Belém, Pará, Brasil

10 ²Departamento de Oceanografia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís,
11 Maranhão, Brasil

12 ³Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente, Universidade Federal do Maranhão, São
13 Luís, Maranhão, Brasil

14 ⁴Instituto de Estudos Costeiros, Laboratório de Genética e Biologia Molecular, Campus
15 Universitário de Bragança, Universidade Federal do Pará, Bragança, Pará, Brasil

16

17 **Genética do grupo *Schizodon fasciatus***

18

19 **Palavras chave:** Filogeografia, diversidade, anostomídeos.

20

21 **Autor correspondente:** João Marcelo da Silva Abreu, Instituto de Estudos Costeiros,
22 Universidade Federal do Pará, Campus de Bragança, Alameda Leandro Ribeiro SN,
23 Bairro Aldeia, 68600-000, Bragança, PA, Brasil. E-mail: joaabreu@gmail.com

24

25

26 **Resumo**

27

28 Apesar de inúmeros, os trabalhos de revisão da família Anostomidae, ainda não foram
29 suficientes para solucionar as dúvidas em relação a quantidade de espécies e quais as
30 espécies válidas para essa família. A existência dessas lacunas vem impedindo a
31 construção de filogenias mais precisas para o grupo, tendo nas ferramentas genéticas um
32 grande suporte para a busca por soluções viáveis para análises com este grupo. Neste
33 trabalho, temos como objetivo testar a validade dos táxons pertencentes ao grupo
34 *Schizodon fasciatus sensu lato* através de métodos genéticos, analisando o gene
35 mitocondrial citocromo oxidase subunidade 1 (COI) e a região controle do DNAm
36 (Dloop). Os resultados aqui encontrados não foram suficientes para demonstrar a
37 separação entre as três espécies, porém, indicam tanto tendências à hibridização entre as
38 espécies quanto, à separação das mesmas.

39

40 **Abstract**

41

42 Although numerous, the revision study of Anostomidae family not yet been sufficient to
43 answer the questions related to the number of species and what species are valid for this
44 family. The existence of these gaps has prevented the construction of more accurate
45 phylogenies for the group, having in the genetic tools a great support the search for
46 viable solutions to analyzes with this group. In this work, we have for objective to test
47 the validity of the taxa belonging to the group *Schizodon fasciatus sensu lato* by genetic
48 methods, analyzing the mitochondrial gene cytochrome oxidase subunit 1 (COI) and the
49 control region of mtDNA (Dloop). The results found here weren't sufficient to

50 demonstrate the separation between the three species, however, showing trends to
51 hybridization between species as to the separation of the same.

52

53 **INTRODUÇÃO**

54

55 Os peixes popularmente denominados de aracus ou pias são representantes da
56 família Anostomidae, os quais são restritos à América do Sul e devido às longas
57 migrações realizadas por essas espécies (Godoy, 1975; Goulding, 1981), são
58 distribuídos por todas as bacias hidrográficas brasileiras (Géry, 1977; Santos & Jégu,
59 1996). Esta família, pertencente à ordem Characiformes tem sido considerada um
60 agrupamento monofilético (Vari, 1983) baseado principalmente em sinapomorfias
61 relacionadas a modificações no aparelho branquial e suspensorium, assim como também
62 por meio da análise de 123 caracteres morfológicos (Sidlauskas & Vari, 2008).

63 Desde que Winterbottom (1980) identificou alguns gêneros da família
64 Anostomidae como pertencentes à Subfamília Anostominae, diversas espécies foram
65 descritas e alguns gêneros da família foram revistos total ou parcialmente (Géry, 1987;
66 Santos & Jégu, 1987, 1996; Vari & Williams, 1987; Bergmann, 1988; Géry *et al.*, 1988;
67 Garavello, 1988, 1989, 1990; Garavello & Britski, 1988, 1990; Vari & Raredon, 1991;
68 Santos *et al.*, 1996; Sidlauskas & Santos, 2005; Mautari & Menezes, 2006; Santos &
69 Zuanon, 2006; Sidlauskas *et al.*, 2007). Porém, a maioria dos gêneros e subgêneros não
70 pertencentes a essa subfamília e que possuem um maior número de táxons, não foram
71 suficientemente revistos (Sidlauskas & Vari, 2008). Também na família Anostomidae
72 ainda persistem dúvidas em relação ao número de espécies válidas (Garavello & Britski,
73 2003; Sidlauskas & Vari, 2008). Um exemplo claro disso é o caso do gênero *Schizodon*
74 que apesar de ser conhecido por mais de 180 anos, sendo o segundo gênero mais

75 numeroso da família Anostomidae, com 16 espécies, há ainda muitas dúvidas em
76 relação ao número de espécies. Até hoje novas espécies são descritas e outras
77 redescritas (Bergmann, 1988; Garavello & Britski, 1990; Vari & Raredon, 1991;
78 Garavello, 1994; Sidlauskas *et al.*, 2007). Como comentado acima, Sidlauskas & Vari
79 (2008) consideraram o gênero *Schizodon* monofilético, baseado em diferentes
80 morfologias da dentição oral, na largura expandida do ângulo-articular e na torção da
81 flange medial do mesocoracóide. Estes autores também consideraram as espécies
82 *Schizodon fasciatus* e *Schizodon vittatus* como espécies irmãs, devido à presença de
83 processo lateral do palatino muito longo e ausência de listra longitudinal ao longo da
84 linha lateral.

85 Estas duas espécies, *Schizodon fasciatus* e *Schizodon vittatus*, junto com
86 *Schizodon dissimilis*, são consideradas por Géry (1977) como membros do grupo
87 *Schizodon fasciatus sensu lato*, devido ao compartilhamento de diversos caracteres
88 externos e internos, que as tornam muito semelhantes entre si. Além disso, apresentam
89 uma distribuição geral muito parecida e vivem em simpatria em diversos rios, sendo
90 espécies muito comuns em rios amazônicos, apresentando grande importância na pesca
91 comercial da região (Santos & Jégu, 1996; Garavello & Britski, 2003). Segundo
92 Sidlauskas & Vari (2008), as inúmeras dúvidas quanto à verdadeira constituição da
93 assembleia de espécies da família Anostomidae tem impossibilitado uma descrição
94 confiável das relações filogenéticas entre os gêneros da família. O presente trabalho
95 aborda apenas um dos gêneros da família e tem por objetivo verificar se as populações
96 de *S. dissimilis* encontradas na Região Hidrográfica Atlântico Nordeste Ocidental e no
97 trecho baixo do rio Tocantins formam uma unidade taxonômica e se as espécies que
98 compõem o grupo *S. fasciatus sensu lato* podem ser geneticamente diferenciadas com
99 os marcadores usados na presente dissertação.

100

101 MATERIAL E MÉTODOS

102

103 Amostragem

104

105 As amostras de tecidos das espécies foram obtidas a partir de pedaços de
106 nadadeiras e músculo e, preservadas em etanol absoluto. Os exemplares foram coletados
107 nos rios distribuídos ao longo dos estados do Piauí, Maranhão e Pará. As coletas foram
108 feitas em 13 localidades ao longo dos rios Parnaíba, Itapecuru, Mearim, Pindaré,
109 Tocantins e Tapajós (Figura 1). Este último, sendo utilizado para a coleta de *S. fasciatus*
110 e *S. vittatus* e os demais para a coleta de *S. dissimilis*.

111

112 Extração de DNA, amplificação e sequenciamento

113

114 O DNA foi extraído por meio do kit de extração da Promega. A região controle
115 do DNA mitocondrial (DNAm_t) – Dloop – foi amplificada usando os *primers* DLOOP-
116 L (CRONIN *et al.*, 1993) e H16498 (KOCHER *et al.*, 1989) e o gene mitocondrial
117 citocromo oxidase subunidade I (COI), foi amplificado usando os *primers* FishF1 e
118 FishR1 (Ward *et al.*, 2005). O mix para a reação de PCR, para todos os genes, foi
119 preparado para um volume final de 25µl contendo 14,3µl de água, 2,5µl de solução
120 tampão fornecida com o kit, 1µl de MgCl₂, 4µl da mistura de dNTPs, 1µl de cada
121 *primer*, 0,2µl de Taq Polymerase e 1µl de DNA.

122

123 As condições de PCR para amplificação do Dloop foram as seguintes: 35 ciclos
124 de 94°C durante 15 segundos, 52°C por 15 segundos e 72°C por 30 segundos com um
período de incubação inicial a 94° C por 2 minutos e extensão final a 72°C durante 5

125 minutos. Para a amplificação do COI utilizou-se as seguintes condições: 30 ciclos de
126 94°C durante 30 segundos, 58°C por 30 segundos e 72°C por 30 segundos com uma
127 incubação inicial a 95°C por 3 minutos e extensão final a 72°C durante 3 minutos. A
128 qualidade do DNA extraído e dos produtos de PCR foram visualizados em gel de
129 agarose a 1%, purificados e sequenciados.

130

131 **Análises genéticas**

132

133 As sequências foram alinhadas usando o programa ClustalW 2.0.3 (Larkin *et al.*,
134 1997) e a qualidade do alinhamento inspecionada visualmente no programa BioEdit
135 7.0.5.3 (Hall, 1999). O nível de saturação das sequências foi avaliado através da análise
136 gráfica do número de substituições, no programa DAMBE (Xia e Xie, 2001).

137 Para as análises filogenéticas foram utilizados os métodos de máxima
138 verossimilhança (MV) no programa Phyml 3.0 (Guindon & Gascuel, 2003), com base
139 em 1000 pseudo-replicações de bootstrap e análise de Inferência Bayesiana (IB)
140 realizada no programa Mr.Bayes 3.2.1 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003), executando o
141 programa durante 10.000.000 de gerações, com a amostragem de uma árvore a cada
142 1.000 gerações. O modelo de evolução molecular mais apropriado para o conjunto de
143 dados, foi encontrado com auxílio do programa jModelTest 0.1.1 (Posada, 2008).
144 Foram construídas redes de haplótipos para identificar relações genealógicas entre as
145 populações usando o programa Haploviewer 1.6 (Salzburger *et al.*, 2011) tanto para o
146 COI quanto para o Dloop.

147 Foi construída uma árvore de espécies baseada no método bayesiano com o uso
148 do aplicativo *BEAST (Heled & Drummond, 2010) no programa BEAST 1.6.2
149 (Drummond & Rambaut, 2007). Para estimativa da árvore foi usado o “prior *Yule*

150 *speciation process* com 30 milhões de gerações (comprimento das cadeias
151 markovianas). A convergência da distribuição a posteriori das cadeias em relação a
152 vários parâmetros foi estimada pela inspeção dos valores de ESS (effective sample size)
153 no software TRACER 1.5 (Rambaut & Drummond, 2007). A análise de tempo de
154 divergência foi realizada no programa Mr.Bayes 3.2.1 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003),
155 através do método de amostragem *stepping-stone* (ss) comparando os modelos de
156 relógio estrito e relógio relaxado, seguindo o exposto no tutorial do programa. Baseado
157 nesta comparação, o modelo escolhido para a análise de tempo de divergência foi o
158 relógio estrito executando a análise pelo método bayesiano de MCMC por 20 milhões
159 de gerações.

160 A estrutura das populações foi estudada através da Análise de Variância
161 Molecular (AMOVA) utilizando o programa Arlequin 3.5.1.3 (Excoffier & Lisher,
162 2010), a variância foi particionada para haplótipos dentro e entre os grupos encontrados.
163 Verificou-se a distância genética não corrigida (distância p) entre as espécies estudadas
164 com base no banco de dados dos dois genes separados e concatenados. Esses cálculos
165 foram feitos com base no software MEGA 5.05 (Librado & Rozas, 2009).

166 No programa Arlequin 3.5.1.3 (Excoffier & Lisher, 2010), a diversidade
167 genética foi estudada através dos índices de diversidade haplotípica (H) e diversidade
168 nucleotídica (π). A hipótese nula de neutralidade seletiva foi testada usando os testes D
169 (Tajima, 1989) e Fs (Fu, 1997).

170

171 **RESULTADOS**

172

173 **Análise da saturação**

174

175 A análise de saturação realizada no DAMBE plotando distâncias de Tamura-Nei
176 (1993) contra transições e transversões não revelou saturação tanto para o COI quanto
177 para o Dloop (dados não apresentados).

178

179 **Diversidade genética e filogeografia**

180

181 As árvores filogenéticas obtidas para o Dloop e o COI apresentaram topologias
182 distintas que evidenciam a formação de subgrupos dentro das populações das três
183 espécies analisadas, porém, a análise com o gene COI não apresentou uma resolução
184 confiável.

185 A análise do Dloop apresentou uma divisão em mais grupos, com
186 compartilhamento de haplótipos por alguns rios e a inserção de indivíduos de *S. vittatus*
187 no clado formado por indivíduos de *S. fasciatus* (Figura 2).

188 A análise do gene COI apresentou uma divisão com quatro grupos, também com
189 compartilhamento de haplótipos entre alguns rios e com a inserção de indivíduos das
190 três espécies em um único clado, chamado Grupo *S. fasciatus* (Figura 3), mas sem
191 resolução devido aos baixos valores de suporte nas posições basais.

192 A árvore de espécie apresentou uma topologia em dois grandes clados com
193 baixo valor de apoio. Um clado formado por indivíduos dos rios Parnaíba, Itapecuru,
194 Pindaré e Mearim, divididos em dois grupos nomeados Parnaíba e Itapecuru. O outro
195 clado é formado por indivíduos dos rios Pindaré e Tocantins e, por indivíduos de *S.*
196 *fasciatus* e *S. vittatus* (Figura 4). Para o enraizamento dessa análise foram usadas
197 sequências do gene COI da espécie *Schizodon intermedius* disponíveis no NCBI.

198 Esta análise apresentou uma mescla entre as árvores geradas para o Dloop e para
199 o COI onde os indivíduos do grupo Pin-Mea, presente na árvore do Dloop (Figura 2),

200 foram divididos entre os grupos Parnaíba e Itapecuru, alguns indivíduos do rio Pindaré
201 foram deslocados para o grupo *S. fasciatus* como mostrado na árvore do gene COI
202 (Figura 3).

203 As redes de haplótipos dos dois genes corroboraram as topologias encontradas
204 nas árvores filogenéticas. Na rede formada por haplótipos do Dloop também é possível
205 a visualização dos seis grupos encontrados na árvore, um grupo formado por haplótipos
206 dos rios Pindaré, Mearim e Itapecuru (grupo Pin-Mea), um segundo grupo formado por
207 haplótipos dos rios Itapecuru e Parnaíba (grupo Itapecuru), outros três grupos formados
208 exclusivamente por haplótipos do rio Parnaíba (grupo Parnaíba), do rio Tocantins
209 (grupo Tocantins) e por exemplares de *S. vittatus* (grupo *S. vittatus*) e, um último grupo
210 formado por haplótipos de indivíduos de *S. fasciatus* e *S. vittatus* (grupo *S. fasciatus*)
211 (Figura 5).

212 Na rede formada por haplótipos do gene COI, também é possível a visualização
213 dos quatro grupos encontrados na árvore, um grupo formado por haplótipos dos rios
214 Parnaíba, Itapecuru, Pindaré e Mearim (grupo Parnaíba), outros dois grupos formados
215 exclusivamente por haplótipos do rio Tocantins (grupo Tocantins) e por exemplares de
216 *S. vittatus* (grupo *S. vittatus*) e, um último grupo formado por haplótipos do rio Pindaré
217 e de indivíduos de *S. fasciatus* e *S. vittatus* (grupo *S. fasciatus*) (Figura 6).

218 O resultado da AMOVA, aplicada tanto sobre os dados concatenados quanto
219 sobre os dados separados, indicou alta estruturação na amostra, com valores de FST
220 variando entre 0,83 e 0,94, com a maior parte da variação acumulada entre grupos, que
221 variou entre 82,9% e 94,02% (Tabela 1).

222 A análise de tempo de divergência foi baseada no relógio estrito usando como
223 calibração a taxa de evolução de $0,2 \times 10^{-6}\%$ para cada milhão de anos do gene COI
224 para Teleosteos e para o enraizamento dessa análise também foram usadas sequências

225 do gene COI da espécie *S. intermedius* disponíveis no NCBI. Esta análise demonstrou
226 uma separação de 1,12 Ma entre as populações dos grupos Parnaíba e Itapecuru e, os
227 demais grupos (Figura 7). Estes, por sua vez, são mais próximos de *S. intermedius*
228 divergindo deste a aproximadamente 0,98 Ma. O grupo Tocantins, assim como nas
229 demais análises mostrou-se mais próximo de *S. vittatus* divergindo deste a apenas 0,56
230 Ma, estes se separaram do grupo *S. fasciatus* a aproximadamente 0,72 Ma (Figura 7).

231 Os níveis de divergência não corrigidos (distância p) foram calculados com base
232 nos clados formados pela árvore de espécies (onde o clado formado pelos grupos
233 Parnaíba e Itapecuru, representa a espécie *S. dissimilis*) e obtidos a partir do conjunto de
234 dados com genes mitocondriais separados e concatenados variando entre 1% e 5,2%
235 entre os grupos assumidos, onde os menores índices foram encontrados na comparação
236 *S. fasciatus* x *S. vittatus*, variando entre 1,2% e 2,1%. E os maiores índices na
237 comparação Tocantins x *S. dissimilis*, que variaram entre 4,2% e 5,2% (Tabela 2).

238 Com relação aos indivíduos de *S. vittatus* que compartilham haplótipos com *S.*
239 *fasciatus* e foram representados em todas as análises como pertencentes ao grupo *S.*
240 *fasciatus*, percebemos que os mesmos apresentavam o mesmo padrão de coloração que
241 os indivíduos pertencentes ao grupo *S. vittatus*, porém, com a última mancha
242 apresentando falhas, o que pode ser característica de exemplares híbridos (Figura 8).

243

244 **Análises populacionais**

245

246 Para o estudo de estrutura populacional, as sequências geradas para ao Dloop e
247 para o COI foram analisadas de forma concatenada, assumindo para tal, os grupos
248 encontrados na árvore de espécies. As 107 sequências com 1088pb obtidas para o Dloop
249 e o COI concatenados apresentaram 58 haplótipos, com 105 sítios variáveis (87

250 informativos e 18 não informativos). Todos os grupos apresentaram altos valores de
251 diversidade haplotípica, porém, os grupos Parnaíba e *S. vittatus* não confirmaram a
252 hipótese de neutralidade seletiva avaliada pelo teste F_s de F_u (Tabela 3).

253 Os valores de F_{ST} par a par foram significantes entre todos os grupos estudados,
254 variando entre 0,6 e 0,92 (Tabela 4), com os maiores valores (0,92) obtidos para os
255 pares Tocantins x Itapecuru e *S. vittatus* x Itapecuru. E o menor valor (0,6) obtido para o
256 par Itapecuru x Parnaíba.

257

258 **DISCUSSÃO**

259

260 A falta de informações sobre a correta distribuição geográfica das espécies de
261 *Schizodon*, que são consideradas espécies migratórias (Lassala & Renesto, 2007),
262 dificulta uma análise mais precisa sobre o seu processo de dispersão. Estudos
263 apresentam a distribuição de espécies desse gênero para praticamente toda a América do
264 Sul, porém, fragmentada (Géry, 1977; Reis *et al.*, 2003; Nelson, 2006; Sidlauskas *et al.*,
265 2007; Abell *et al.*, 2008). Um exemplo dessa distribuição fragmentada pode ser
266 observado nas informações sobre *S. dissimilis* que tem sua distribuição oficial restrita ao
267 rio Parnaíba (Reis *et al.*, 2003) enquanto, que alguns autores listam sua presença na
268 Bacia do rio Paraguai (Abell *et al.*, 2008), região onde ocorre uma espécie
269 morfológicamente muito semelhante, *S. borelli*, que tem sua distribuição reconhecida
270 como sendo entre a bacia do Araguaia e a Argentina (Reis *et al.*, 2003; Liotta, 2006).

271 O fato de todas essas espécies existirem em simpatria e apresentarem um padrão
272 de coloração muito semelhante faz com que em uma rápida análise em campo, por
273 exemplo, e levando em consideração apenas o padrão de coloração e o conhecimento da
274 literatura, muitos coletores identifiquem de forma incorreta os exemplares coletados,

275 depositando-os em coleções com a identificação errada, pois se devido o conhecimento
276 da distribuição das espécies, quem ocorre no local de coleta é a espécie X e não a Y, o
277 coletor podendo estar de posse da espécie Y a identificará como sendo a espécie X.

278 Realizando a identificação pelo padrão de coloração erros também podem
279 ocorrer, pois no caso desse grupo, o padrão é muito semelhante e a presença de falhas
280 na pigmentação pode ocasionar a identificação errada, visto que a presença ou ausência
281 de pigmentação em determinada região do espécime é um caráter a ser considerado para
282 a sua identificação.

283 Fatores como, falta de informação na literatura e a grande semelhança entre os
284 exemplares já descritos para este gênero, são fortes evidências que corroboram a
285 necessidade de uma revisão taxonômica completa do gênero. Muitas espécies já
286 identificadas podem, na verdade, ser apenas variações dentro de outras espécies devido
287 à pressão ambiental ou outros fatores, já que estas espécies habitam rios com
288 características bem distintas, o que as levariam a necessidade de adequação
289 comportamental e até mesmo morfológica.

290 Portanto, tomando como preceito a correta identificação dos peixes amostrados e
291 o conhecimento dos eventos responsáveis pela formação das bacias hidrográficas
292 amostradas, podemos traçar hipóteses para a dispersão e diferenciação destas espécies,
293 nesta área.

294 Lassala & Renesto (2007) consideram as espécies do gênero *Schizodon* como
295 espécies migratórias de longa distância e como espécies migratórias de curta distância
296 ou sedentárias. Essas migrações dependem de conexões entre as bacias hidrográficas,
297 que normalmente são determinadas por eventos geológicos passados (Bermingham &
298 Martin, 1997; Lundberg *et al.*, 1998; Sivasundar *et al.*, 2001).

299 Costa *et al.* (1997) propõem que a formação da Serra do Tiracambu durante o
300 Mioceno-Plioceno (ca. 5,3 Ma), tenha promovido a separação do rio Tocantins das
301 demais drenagens da área. Por outro lado, Rossetti & Valeriano (2007) sugerem a
302 presença de um delta no rio Tocantins na altura da atual cidade de Tucuruí, no período
303 entre o Plio-Pleistoceno (ca. 2,5 Ma) e o final do Pleistoceno (ca. 0,12 Ma), que pode ter
304 funcionado como um divisor de águas e um canal de dispersão para muitas espécies
305 dessa região.

306 Este delta pode ter mantido a conectividade por mais tempo do rio Tocantins
307 com os demais rios da região, promovendo a dispersão de *S. dissimilis* e de outras
308 espécies na área, o que pode ser confirmado pelo resultado encontrado na análise de
309 tempo de divergência, onde as populações localizadas nos rios distribuídos ao longo do
310 Estado do Maranhão divergiram da população do rio Tocantins e das demais espécies a
311 aproximadamente 1,12 Ma, período em que o delta de Tucuruí ainda estava presente,
312 demonstrando que apesar da influência da formação da Serra do Tiracambu na
313 separação dos peixes do rio Tocantins dos peixes das demais drenagens, a presença do
314 delta fez com que a separação definitiva entre essas linhagens fosse mais tardia.

315 Costa *et al.* (1997) também identificaram que a região nordeste do Maranhão é
316 formada por uma bacia sedimentar de tipo de afastamento, controlada por falhas
317 transcorrentes e falhas normais. Essas falhas foram responsáveis pela formação do
318 sistema de lagos na região do município de Penalva. A existência desses lagos pode está
319 funcionando como uma barreira ao fluxo gênico das espécies assim como contribuindo
320 para o cruzamento de diferentes espécies, pois os exemplares coletados nessa área e
321 identificados como *S. dissimilis* se agruparam com os exemplares de *S. fasciatus*
322 coletados no rio Tapajós na análise do gene COI, gene atualmente utilizado para a
323 identificação de espécies por ser considerado espécie-específico, o que pode ser um

324 indício de cruzamento entre essas espécies já que ambas são encontradas na região de
325 lagos do rio Pindaré no município de Penalva. Enquanto que na análise com o Dloop,
326 essa população permaneceu agrupada as demais populações do rio Pindaré.

327 Os diferentes resultados encontrados nas análises dos diferentes genes podem
328 tanto evidenciar cruzamento entre essas espécies como demonstrado anteriormente,
329 quanto podem apenas comprovar um distanciamento genético real entre essa população
330 e as demais populações de *S. dissimilis* da região.

331 Outros eventos importantes que ocorreram na região foram os períodos de
332 formação do Golfão Maranhense (Petris & Fúlfaro, 1983) e das incursões marinhas
333 (Rossetti, 2000). Estes eventos juntos podem explicar os resultados encontrados pelas
334 árvores filogenéticas e pela rede de haplótipos, onde as populações dos rios Pindaré,
335 Mearim, Itapecuru e Parnaíba formam um clado único.

336 O clado [Parnaíba + Itapecuru + Mearim + Pindaré] pode ter apresentado essa
337 configuração devido à ligação que estes rios possuem entre si de lagoas marginais e
338 pequenos rios que conectam as quatro drenagens, e do Golfão Maranhense, no caso dos
339 três últimos, o que permite um grande fluxo gênico entre as populações desses rios.
340 Outro fator que pode ter contribuído para esse fluxo gênico trata-se da captura de
341 cabeceira, já que algumas localidades em diferentes rios são muito próximas umas das
342 outras e exemplares dessas espécies podem se deslocar de um rio para outro através de
343 pequenas lagoas marginais ou de aflúvios que conectam as drenagens principais.

344 Os elevados valores de divergência não corrigida (distância p) entre a população
345 do rio Tocantins e as demais população de *S. dissimilis*, assim como a separação desses
346 grupos apresentadas em todas as árvores e redes de haplótipos e, na rede de espécie,
347 além, da proximidade desta população com as populações de *S. fasciatus* e *S. vittatus*,
348 demonstra a importância da Bacia do rio Tocantins para a formação de espécies, tanto

349 no passado quanto no presente, já que esta região é comprovadamente importante para a
350 dispersão dos peixes das bacias do nordeste brasileiro (Costa *et al.*, 1997; Rossetti &
351 Valeriano, 2007). Porém, não apresentando mais conectividade com estas, evidenciando
352 certo grau de isolamento que pode vir a proporcionar a formação de novas espécies.

353 No presente estudo, nós encontramos elevados índices de variabilidade genética,
354 em todas as populações e alta diferenciação genética da população do rio Tocantins em
355 relação às demais. O resultado da AMOVA, também aponta para uma elevada
356 estruturação das populações. Porém, este teste desconsidera em sua análise, informações
357 referentes à distância geográfica das populações, assim como, informações biológicas
358 das mesmas, considerando apenas os dados moleculares resultantes de uma matriz de
359 distância entre os haplótipos (Batista, 2001).

360 Estudos com espécies da família Anostomidae na bacia do rio Paraná,
361 encontraram resultado bem diversos. Gomes *et al.* (2008) estudando *Leporinus*
362 *elongatus*, encontraram alta variabilidade a partir da análise de porcentagem de
363 fragmentos polimórficos, Chiari & Sodré (1999) encontraram uma baixa
364 heterozigosidade para *S. intermedius* e *S. nasutus*, usando dados proteicos. E Galdino *et*
365 *al.* (2002) encontraram moderada diferenciação genética entre populações nativas de *L.*
366 *elongatus*. Estes resultados demonstram uma ausência de padrão de estruturação das
367 espécies de Anostomídeos.

368 A diferença de resultados entre este estudo e os demais estudos apresentados
369 pode ser resultado das diferenças entre as bacias estudadas e devido à utilização de
370 diferentes marcadores, pois uma maior variabilidade genética geralmente é esperada em
371 marcadores mitocondriais devido a sua rápida taxa evolutiva (Wilson *et al.*, 1985;
372 Meyer, 1993; Bazin *et al.*, 2006).

373 A presença de haplótipos compartilhados entre exemplares de *S. fasciatus* e *S.*
374 *vittatus* pode ser um forte indício da formação de híbridos entre estas duas espécies, já
375 que ambas foram coletadas na mesma localidade. E como demonstrado na figura 7, os
376 exemplares coletados apresentam os padrões de coloração descritos para as duas
377 espécies e nos exemplares de *S. vittatus* que compartilham haplótipos com *S. fasciatus* e
378 que foram representados como pertencentes ao grupo *S. fasciatus*, podemos verificar um
379 padrão de coloração como o descrito para a sua espécie, porém, com falhas na listra
380 horizontal próxima ao pedúnculo caudal, o que pode ser uma evidência morfológica da
381 existência de híbridos entre essas duas espécies.

382 As três espécies aqui estudadas são relacionadas por Géry (1977) como
383 pertencentes ao grupo *S. fasciatus sensu lato* devido as suas semelhanças externas e
384 internas. Os resultados aqui encontrados não foram suficientes para demonstrar a
385 separação entre as três espécies, o que nos leva a propor a existência de um complexo
386 de espécies que apresenta as três formas hoje conhecidas por essas três “espécies”.
387 Possivelmente uma análise com mais genes, incluindo genes nucleares assim como,
388 uma análise de expressão gênica estudando o padrão de coloração dessas “espécies”,
389 possa apresentar resultados que evidenciam a separação desses grupos em espécies
390 distintas. Ao contrário dos resultados aqui apresentados, que apenas podem descrever
391 tais grupos como diferentes linhagens que divergiram ao longo de milhares de anos e
392 devido à conectividade ou falta de conectividade entre as bacias passaram a apresentar
393 diversas variações em sua morfologia.

394

395

REFERÊNCIAS

396

- 397 ABELL R, THIEME ML, REVENGA C, BRYER M, KOTTELAT M,
398 BOGUTSKAYA N, COAD B, MANDRAK N, BALDERAS SC, BUSSING W *et al*
399 (2008) Freshwater ecoregions of the world: A new map of biogeographic units for
400 freshwater biodiversity conservation. *BioScience* 58(5):403-414.
401
- 402 BATISTA JS (2001) Estimativa da variabilidade genética intra-específica da dourada -
403 *Brachyplatystoma flavicans* Castelnau, 1855 (Pimelodidae – Siluriformes) no Sistema
404 Estuário-Amazonas-Solimões. 2001. 97 p. Dissertação de Mestrado em Biologia
405 Tropical e Recursos Naturais. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. 2001
406
- 407 BAZIN E, GLÉMIN S AND GALTIER N (2006) Population size does not influence
408 mitochondrial genetic diversity in animal. *Science* 312:570-572.
409
- 410 BERGMANN LAC (1988) *Schizodon jacuiensis* sp. n., um novo anostomídeo do sul do
411 Brasil e redescrição de *Schizodon kneri* (Steindachner, 1875) e *S. platae* (Garman,
412 1890). (Pisces, Characiformes, Anostomidae). *Comunicações do Museu de Ciências da*
413 *PUCRS, Série Zoologia* 1:13–28.
414
- 415 BERMINGHAM E AND MARTINS AP (1997) Comparative mtDNA phylogeography
416 of Neotropical freshwater fishes: testing shared history to infer the evolutionary
417 landscape of lower Central America. *Mol. Ecol.* 7:499–517.
418
- 419 CHIARI L AND SODRÉ LMK (1999) Genetic variability in Five species of
420 Anostomidae (Ostariophysi – Characiformes). *Genetics and Molecular Biology*
421 22(4):517–523.

422

423 COSTA JBS, BEMERGUY RL, HASUI Y, BORGES MDS, JÚNIOR CRPF,
424 BEZERRA PÉL, COSTA MLD AND FERNANDES JMG (1997) Neotectônica da
425 região amazônica: Aspectos tectônicos, geomorfológicos e deposicionais. *Geonomos*
426 4(2):23-44.

427

428 CRONIN MA, SPEARMAN WJ, WILMOT RL, PATTON JC AND W BJ (1993)
429 Mitochondrial DNA variation in Chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) and chum
430 salmon (*O. keta*) detected by restriction enzyme analysis of polymerase chain reaction
431 (PCR) products. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 50(4):708–715.

432

433 DRUMMOND AJ AND RAMBAUT A (2007) BEAST: Bayesian evolutionary analysis
434 by sampling trees. *BMC evolutionary biology* 7:214.

435

436 EXCOFFIER L AND LISCHER HEL (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of
437 programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows.
438 *Molecular Ecology Resources* 10:564-567.

439

440 FU Y–X (1997) Statistical tests of neutrality of mutations against population growth,
441 hitchhiking and background selection. *Genetics* 147:915–925.

442

443 GALDINO JC, SEKINI ES, PRIOLI AJ, PRIOLI SMAP, JÚLIO Jr HF AND PRIOLI
444 LM (2002) Distância genética entre populações de *Leporinus elongatus*
445 (Characiformes), *Pseudoplatystoma corruscans* (Siluriformes), *Hemisorubim*

446 *platyrhynchos* (Siluriformes) isoladas por Sete Quedas. Disponível em:
447 http://www.peld.uem.br/relat2002/pdf/comp_biotico_distncia.pdf (23 nov, 2010).

448

449 GARAVELLO JC (1988) A new species of the genus *Leporinus* Spix from the Río
450 Meta, Colombia, South America (Pisces, Ostariophysi, Anostomidae). Proceedings of
451 the Academy of Natural Sciences of Philadelphia 40:143–149.

452

453 GARAVELLO JC (1989) *Leporinus microphthalmus* n. sp. from the Paranaíba River
454 basin, Alto Parana River system (Pisces: Anostomidae). Revista Brasileira Biologica
455 49:497–501.

456

457 GARAVELLO JC (1990) A new species of the anostomid genus *Leporinus* Spix from
458 Suriname, with redescriptions of two related species (Pisces, Characiformes,
459 Anostomidae). Bulletin Zoologisch Museum Universiteit van Amsterdam 12:161–170.

460

461 GARAVELLO JC (1994) Descrição de uma nova espécie do gênero *Schizodon* Agassiz
462 da bacia do Rio Uruguai, Brasil (Ostariophysi, Anostomidae). Comunicações do Museu
463 de Ciências da PUCRS, Série Zoologia 7:179–193.

464

465 GARAVELLO JC AND BRITSKI HA (1988) *Leporinus macrocephalus* sp. n. da bacia
466 do Rio Paraguai (Ostariophysi, Anostomidae). Naturalia (São Paulo) 13:67–74.

467

468 GARAVELLO JC AND BRITSKI HA (1990) Duas novas espécies do gênero
469 *Schizodon* Agassiz da bacia do alto Paraná, Brasil, América do Sul (Ostariophysi,
470 Anostomidae). Naturalia (São Paulo) 15:153–170.

471

472 GARAVELLO JC AND BRITSKI HA (2003) Family Anostomidae. In: Reis RE,
473 Kullander SO AND Ferraris Jr CJ (Eds) Check List of the Freshwater Fishes of South
474 and Central America. p71-84.

475

476 GÉRY J (1977) Characoids of the world. T.F.H. Publications, Inc., N.J. 672pp.

477

478 GÉRY J (1987) Description d'une nouvelle espèce de poisson anostomidé
479 (Ostariophysi, Characoidei) du Rio Mamoré, Bolivie. *Rhytiodus lauzannei* sp. n.
480 *Cybiurn* 11:365–373.

481

482 GÉRY J, PLANQUETTE P AND LE BAIL P-Y (1988) Nomenclature des espèces du
483 groupe *Leporinus maculatus* et formes affines des Guyanes (Pisces, Characoidei,
484 Anostomidae). *Revue Suisse de Zoologie* 95:699–713.

485

486 GODOY MP (1975) Peixes do Brasil: Subordem Characoide: Bacia do rio Mogi-
487 Guassu. Editora Franciscana. Piracicaba, São Paulo. In 4 volumes.

488

489 GOMES PC, RIBEIRO RP, BARERO NL, POVH JA, VARGAS L AND SIROL RN
490 (2008) Diversidade genética de três estoques de piapara (*Leporinus elongatus*),
491 utilizando RAPD. *Acta Sci. Anim. Sci.* 30(2):241–247.

492

493 GOULDING M (1981) Man and fisheries on an Amazonian frontier. W. Junk
494 Publishers, The Hague. 137 pp.

495

- 496 HALL TA (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and
497 analysis program for Windows 95/98/NT. Nucl. Acids. Symp. Ser. 41:95–98.
498
- 499 HELED J AND DRUMMOND AJ (2010) Bayesian inference of species trees from
500 multilocus data. Molecular Biology and Evolution 27:570–580.
501
- 502 KOCHER D, THOMAS WK, MEYER A, EDWARDS SV, PAABO S,
503 VILLABLANCA FX AND WILSON AC (1989) Dynamics of mitochondrial DNA
504 evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. Proceeding
505 of the National Academy of Science U.S.A. 86(18):6916–6920.
506
- 507 LARKIN MA, BLACKSHIELDS G, BROWN NP, CHENNA R, MCGETTIGAN PA,
508 MCWILLIAM H, VALENTIN F, WALLACE IM, WILM A, LOPEZ R, *et al.* (2007)
509 "ClustalW and ClustalX version 2". *Bioinformatics* 23:2947–2948.
510
- 511 LASSALA MDP AND RENESTO E (2007) Reproductive strategies and genetic
512 variability in tropical freshwater fish. *Genetics and Molecular Biology* 30(3):690–697.
513
- 514 LIBRADO P AND ROZAS J (2009) DNASP v.5. A software for comprehensive
515 analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25:1451–1452.
516
- 517 LIOTTA J (2006) Distribución geográfica de los peces de aguas continentales de la
518 República Argentina. ProBiota, Serie Documentos N°3, FCNyM, UNLP. Buenos Aires,
519 701pp.
520

- 521 LUNDBERG JG, MARSHALL LG, GUERRERO J, HORTON B, MALABARBA
522 MCSL AND WESSWLINGH F (1998) The stage for Neotropical fish diversification: a
523 history of tropical South American rivers. In: MALABARBA LR, REIS RE, VARI RP,
524 LUCENA ZMS AND LUCENA CAS (Eds) Phylogeny and classification of
525 Neotropical fishes. Porto Alegre: EDIPUCRS. pp 13–48.
526
- 527 MAUTARI KC AND MENEZES NA (2006) Revision of the South American
528 freshwater fish genus *Laemolyta* Cope, 1872 (Ostariophysi: Characiformes:
529 Anostomidae). *Neotropical Ichthyology* 4(1):27–44.
530
- 531 MEYER A (1993) Evolution of mitochondrial DNA of fishes. In: HOCHACHKA PW
532 AND MOMMSEN P (Eds) *Molecular biology frontiers, biochemistry and molecular*
533 *biology*. Amsterdam: Elsevier Press. pp 1–38.
534
- 535 NELSON JS (2006). *Fishes of the world*. John Wiley & Sons, New York. 4th ed. 601pp.
536
- 537 PETRI S AND FÚLFARO VJ (1983) *Geologia do Brasil*. São Paulo: Editora da
538 Universidade de São Paulo. 631pp.
539
- 540 POSADA D (2008) jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology*
541 *and Evolution* 25:1253–1256.
542
- 543 RAMBAUT A AND DRUMMOND A (2007) TRACER, Version 1.5. Disponível
544 online no sitio: <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>
545

546 RONQUIST F AND HUELSENBECK JP (2003) MrBayes 3: Bayesian Phylogenetic
547 Inference Under Mixed Models. *Bioinformatics* 19:1572–1574.

548

549 ROSSETTI DF (2000) Influence of low amplitude/high frequency relative sea-level
550 changes in a wave-dominated estuary (Miocene), São Luís Basin, northern Brazil.
551 *Sedimentary Geology* 133:295-324.

552

553 ROSSETTI DF AND VALERIANO MM (2007) Applying SRTM topographic data to
554 characterize a Quaternary paleovalley in northern Brazil. *Anais XIII Simpósio*
555 *Brasileiro de Sensoriamento Remoto, INPE, Florianópolis, Brasil*, p.2125-2132.

556

557 SALZBURGER W, EWING GB AND VON HAESELER A (2011) The performance
558 of phylogenetic algorithms in estimating haplotype genealogies with migration.
559 *Molecular Ecology* 20(9):1952–63.

560

561 SANTOS GM AND JÉGU M (1987) Novas ocorrências de *Gnathodolus bidens*,
562 *Synaptaemus cingulatus* e descrição de duas espécies novas de *Sartor* (Characiformes,
563 Anostomidae). *Amazoniana* 10:181–196.

564

565 SANTOS GM AND JÉGU M (1996) Inventário taxonômico dos anostomídeos (Pisces,
566 Anostomidae) da bacia do rio Uatamã – AM, Brasil, com descrição de duas espécies
567 novas. *Acta Amazonica* 26:151–184.

568

569 SANTOS GM AND ZUANON J (2006) *Anostomoides passionis*, a new fish species
570 from Rio Xingu, Brasil (Characiformes: Anostomidae). *Zootaxa* 1168:59–68.

571

572 SANTOS GM, JÉGU M AND LIMA A (1996) Novas ocorrências de *Leporinus*
573 *pachycheilus* Britsky, 1976 e descrição de uma espécie nova do mesmo grupo na
574 Amazônia Brasileira (Osteichthys, Anostomidae). Acta Amazonica 26:265–280.

575

576 SIDLAUSKAS BL AND SANTOS GM (2005) *Pseudanos winterbottomi*, a new
577 anostomine species (Teleostei: Characiformes: Anostomidae) from Venezuela and
578 Brazil, and comments on its phylogenetic relationships. Copeia 2005:109–123.

579

580 SIDLAUSKAS B AND VARI RP (2008) Phylogenetic relationships within the South
581 American fish family Anostomidae (Teleostei, Ostariophysi, Characiformes).
582 Zoological Journal of the Linnean Society 154: 70–210.

583

584 SIDLAUSKAS B, GARAVELLO JC AND JELLEN J (2007) A new *Schizodon*
585 (Characiformes: Anostomidae) from the Río Orinoco system, with a redescription of *S.*
586 *isognathus* from the Rio Paraguay system. Copeia 2007(3):711–725.

587

588 SIVASUNDAR A, BERMINGHAM E AND ORTI G (2001) Population structure and
589 biogeography of migratory freshwater fishes (*Prochilodus*: Characiformes) in major
590 South American rivers. Mol. Ecol. 10:407–417.

591

592 TAJIMA F (1989) Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by
593 DNA polymorphism. Genetics 123:585–595.

594

- 595 THOMPSON JD, GIBSON TJ, PLEWNIAK F, JEANMOUGIN F AND HIGGINS DG
596 (1997) The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence
597 alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* 25:4876–4882.
598
- 599 VARI RP (1983) Phylogenetic Relationships of the Families Curimatidae,
600 Prochilodontidae, Anostomidae, and Chilodontidae (Pisces: Characiformes).
601 *Smithsonian Contributions to Zoology* 378:60p.
602
- 603 VARI RP AND RAREDON SJ (1991) The genus *Schizodon* (Teleostei: Ostariophysi:
604 Anostomidae) in Venezuela, a reappraisal. *Proceedings of the Biological Society of*
605 *Washington* 104:12–22.
606
- 607 VARI RP AND WILLIAMS AM (1987) Headstanders of the Neotropical anostomid
608 genus *Abramites* (Pisces: Characiformes: Anostomidae). *Proceedings of the Biological*
609 *Society of Washington* 100:89–103.
610
- 611 WARD RD, ZEMLAK TS, INNES BH, LAST PR AND HEBERT PD (2005) DNA
612 barcoding Australia's fish species. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 360(1462):1847–57.
613
- 614 WILSON AB, TEUGELS GG, CARR SM, GEORGE M, GYLLENSTEN UB,
615 HELMBYCHOWSKI KM, HIGUCHI RG, PALUMBI SR, PRAGER EM, SAGE RD
616 *et al.* (1985) Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics.
617 *Biological Journal of the Linnean Society* 26:375–400.
618

619 WINTERBOTTOM R (1980) Systematics, osteology and phylogenetic relationships of
620 fishes of the ostariophysan subfamily Anostominae (Characoidei, Anostomidae). Life
621 Sciences Contributions: Royal Ontario Museum 123:1–112.

622

623 XIA X AND Xie Z (2001) DAMBE: Data analysis in molecular biology and evolution.

624 J. Hered 92:371–373.

625

626

627

628

629

630

631

632

633

634

635

636

637

638

639

640

641

642

643

644 **Tabelas**

645 Tabela1. Resultado da AMOVA para o conjunto de dados concatenados e separados
 646 (Dloop e COI) entre os grupos de *S. dissimilis*, *S. vittatus* e *S. fasciatus* encontrados nas
 647 análises filogenéticas.

Fonte de Variação	Marcadores		
	Concatenado	DLOOP	COI
Entre os grupos	82,9%	90,85%	94,02%
Dentro dos grupos	17,1%	9,15%	5,98%
FST	0,83	0,91	0,94

648

649

650 Tabela 2. Divergência genética (distância p) entre os grupos de *S. dissimilis*, *S. vittatus* e
 651 *S. fasciatus* encontrados nas análises filogenéticas.

Grupos	Marcadores		
	Concatenado	DLOOP	COI
<i>S. dissimilis</i> x <i>S. vittatus</i>	4%	3,8%	4,1%
<i>S. dissimilis</i> x <i>S. fasciatus</i>	3,9%	3,8%	4,0%
<i>S. vittatus</i> x <i>S. fasciatus</i>	1,6%	2,1%	1,2%
Tocantins x <i>S. dissimilis</i>	4,7%	4,2%	5,2%
Tocantins x <i>S. vittatus</i>	2,5%	2,7%	2,3%
Tocantins x <i>S. fasciatus</i>	2,9%	3%	2,8%

652

653

654

655

656

657

658

659 Tabela 3. Índices de diversidade dos grupos de *S. dissimilis*, *S. vittatus* e *S. fasciatus*
 660 para o conjunto de dados concatenados de Dloop e COI.

Grupos	N	Ha	Diversidade Haplótica	Diversidade nucleotídica	D de Tajima	Fs de FU
Parnaíba	30	18	0,91 ± 0,04	0,005 ± 0,003	0,2	-5,49*
Itapecuru	21	5	0,58 ± 0,1	0,004 ± 0,002	1,44	3,07
Tocantins	4	3	0,83 ± 0,22	0,007 ± 0,004	0,44	2
<i>S. vittatus</i>	15	14	0,99 ± 0,03	0,003 ± 0,002	-0,94	-10,94*
<i>S. fasciatus</i>	37	18	0,87 ± 0,04	0,009 ± 0,005	-0,03	-1,14

661 N = número de indivíduos; Ha = número de haplótipos; *= p<0,05

662

663 Tabela 4. Comparação par a par dos valores de FST dos grupos de *S. dissimilis*, *S.*
 664 *vittatus* e *S. fasciatus* para o conjunto de dados concatenados de Dloop e COI.

	Parnaíba	Itapecuru	Tocantins	<i>S. vittatus</i>
Parnaíba				
Itapecuru	0,6			
Tocantins	0,89	0,92		
<i>S. vittatus</i>	0,89	0,92	0,84	
<i>S. fasciatus</i>	0,82	0,84	0,73	0,67

665

666

667

668

669

670

671

672

673

674

675 LEGENDAS DAS FIGURAS

676 Figura 1. Mapa das áreas de coleta. 1. Santarém (Rio Tapajós); 2. Tucuruí (Rio
677 Tocantins); 3. Buriticupu; 4. Pindaré-Minrim; 5. Penalva (Rio Pindaré); 7. Arari; 8.
678 Lago-Açu (Rio Mearim); 6. Rosário; 10. Codó; 11. Colinas (Rio Itapecuru); 9. Santa
679 Quitéria; 12. São João dos Patos; 13. Nova Iorque (Rio Parnaíba).

680 Figura 2. Árvore obtida pelo método de MV e IB para o Dloop. Os números acima da
681 barra indicam os valores de bootstrap obtidos para MV, números abaixo da barra
682 indicam os valores de probabilidade posterior para IB, o “-” indica valores de suporte
683 abaixo de 75%.

684 Figura 3. Árvore obtida pelo método de MV e IB para o gene COI. Os números abaixo
685 da barra indicam os valores de bootstrap obtidos para MV, números acima da barra
686 indicam os valores de probabilidade posterior para IB.

687 Figura 4. Árvore de espécies gerada para os grupos de *S. dissimilis*, *S. vittatus* e *S.*
688 *fasciatus* a partir de 1088pb dos dados concatenados de Dloop e COI. Números
689 associados aos nós indicam valores de probabilidade posterior obtidos na análise com
690 20 milhões de gerações.

691 Figura 5. Rede de haplótipos do marcador Dloop para os grupos de *S. dissimilis*, *S.*
692 *vittatus* e *S. fasciatus*.

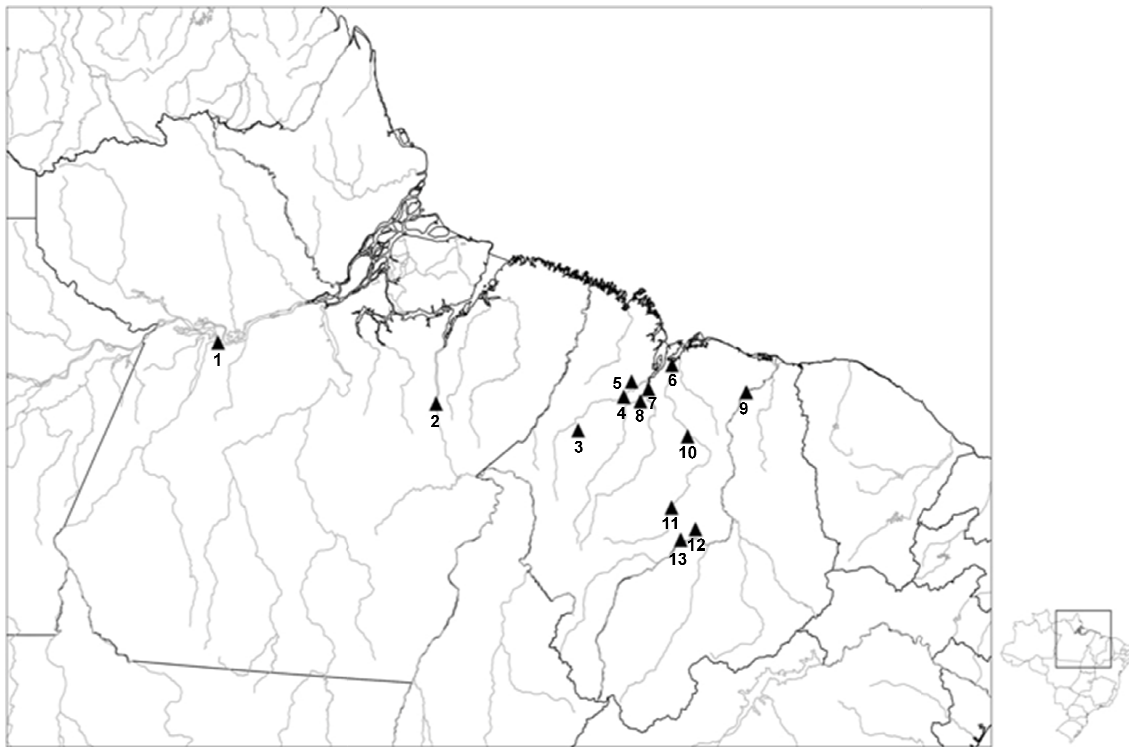
693 Figura 6. Rede de haplótipos do gene mitocondrial COI para os grupos de *S. dissimilis*,
694 *S. vittatus* e *S. fasciatus*.

695 Figura 7. Cronograma de divergência entre as linhagens dos grupos de *S. dissimilis*, *S.*
696 *vittatus* e *S. fasciatus* obtido por Inferência Bayesiana com 30 milhões de gerações,
697 baseada no relógio molecular estrito para os marcadores Dloop e COI concatenados.

698 Figura 8. Comparação entre os exemplares de *S. vittatus* e *S. fasciatus* analisados.

699

700 Figura 1.



701

702

703

704

705

706

707

708

709

710

711

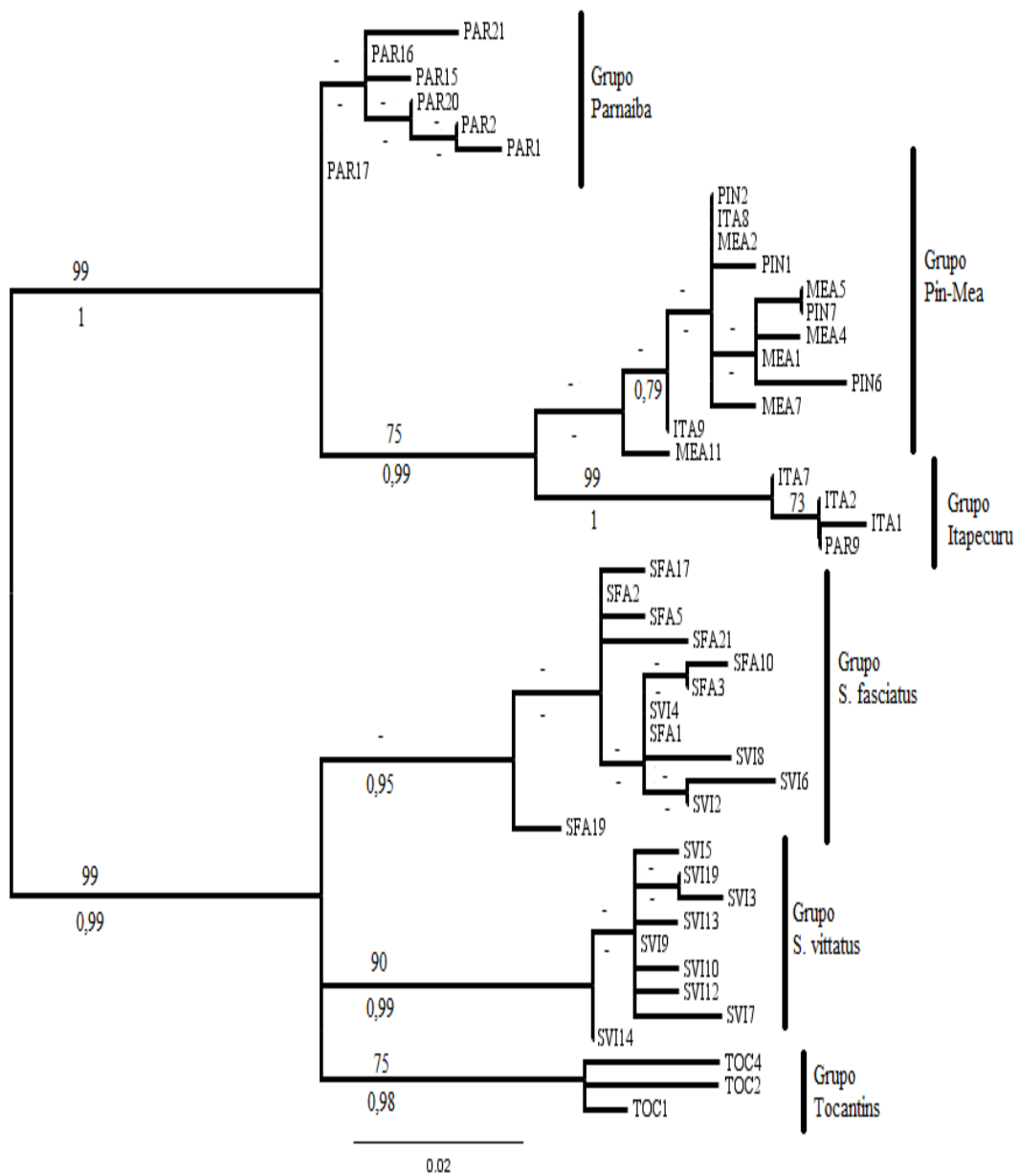
712

713

714

715

716 Figura 2.



717

718

719

720

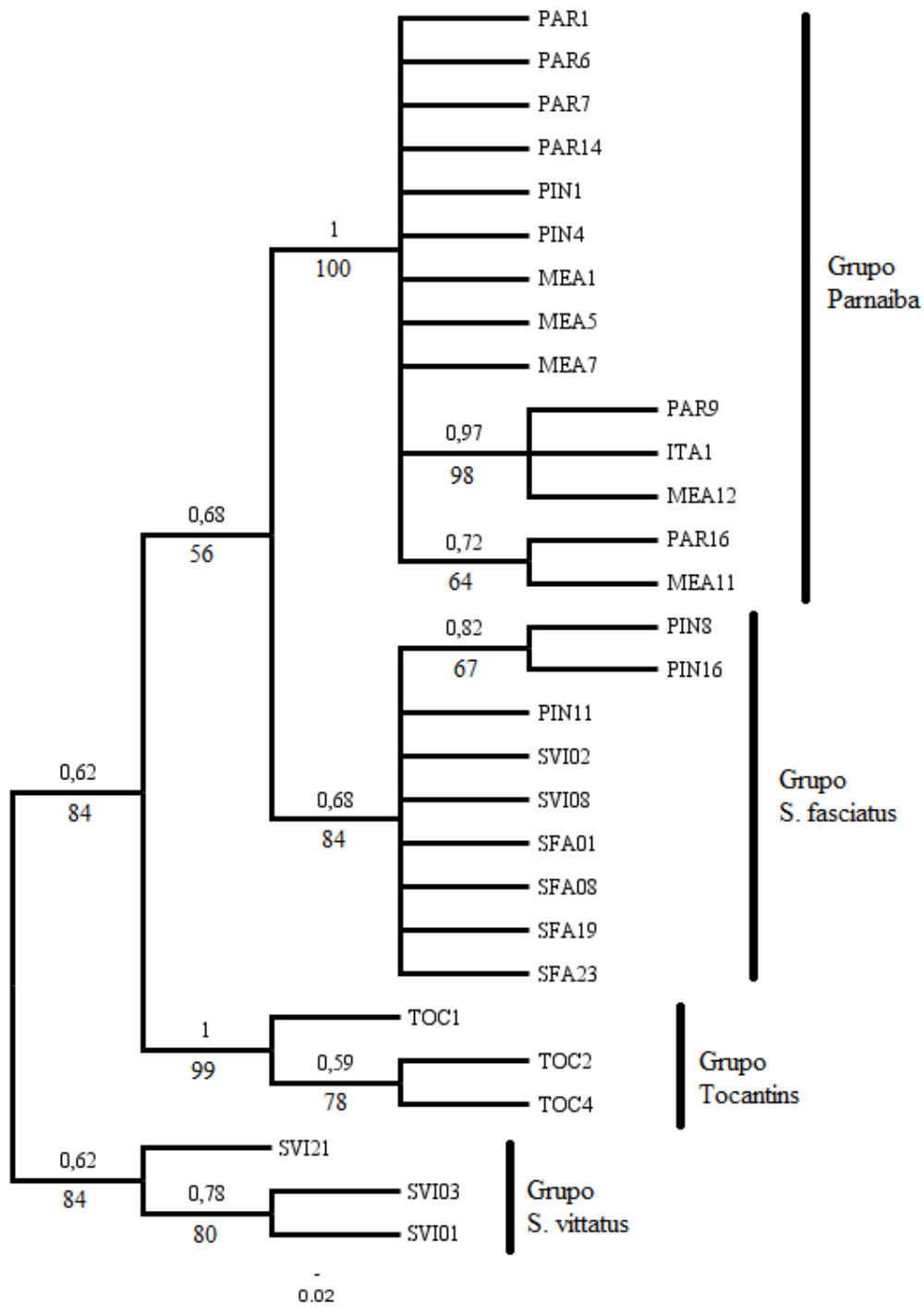
721

722

723

724

725 Figura 3.



726

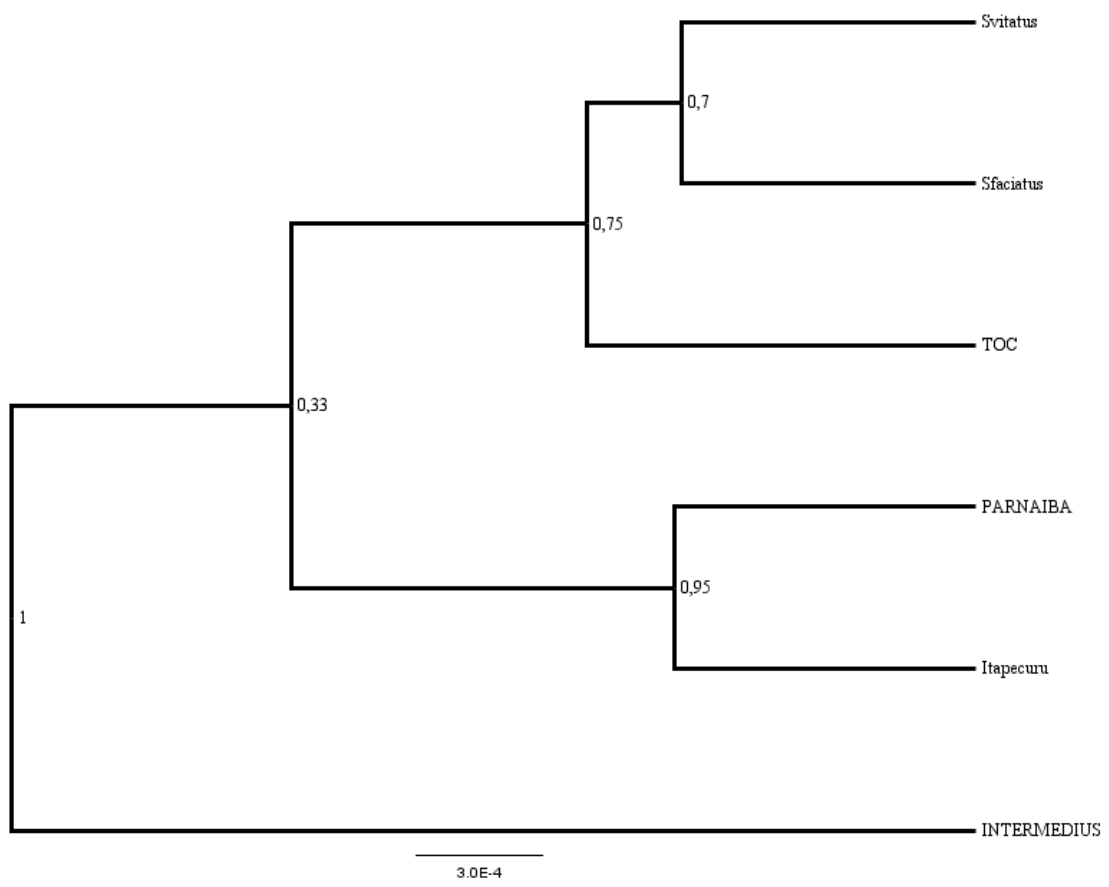
727

728

729

730

731 Figura 4.



732

733

734

735

736

737

738

739

740

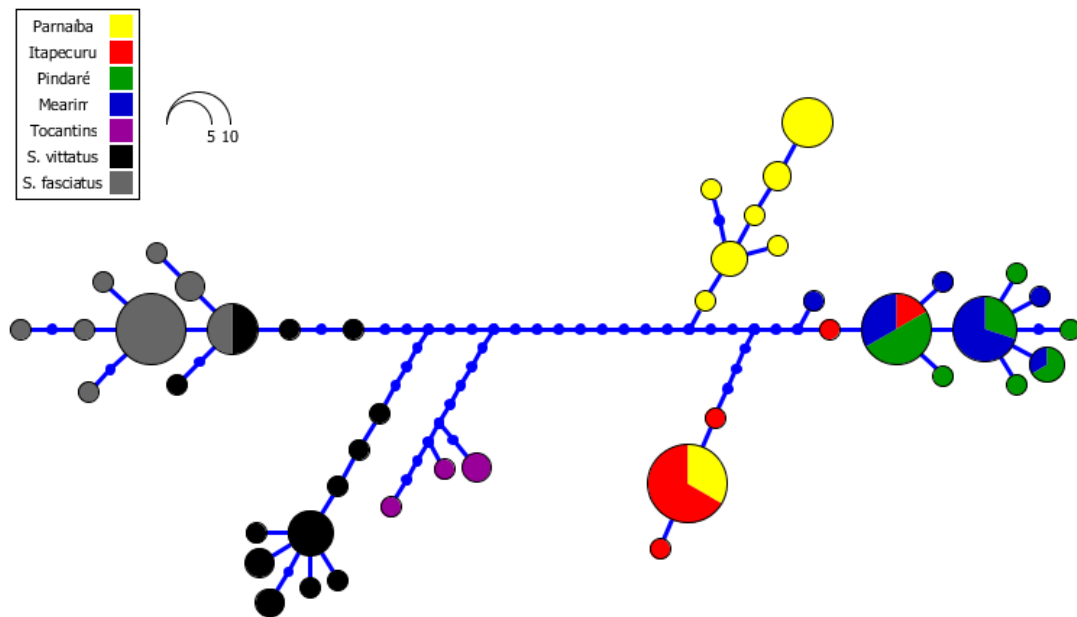
741

742

743

744

745 Figura 5.



746

747

748

749

750

751

752

753

754

755

756

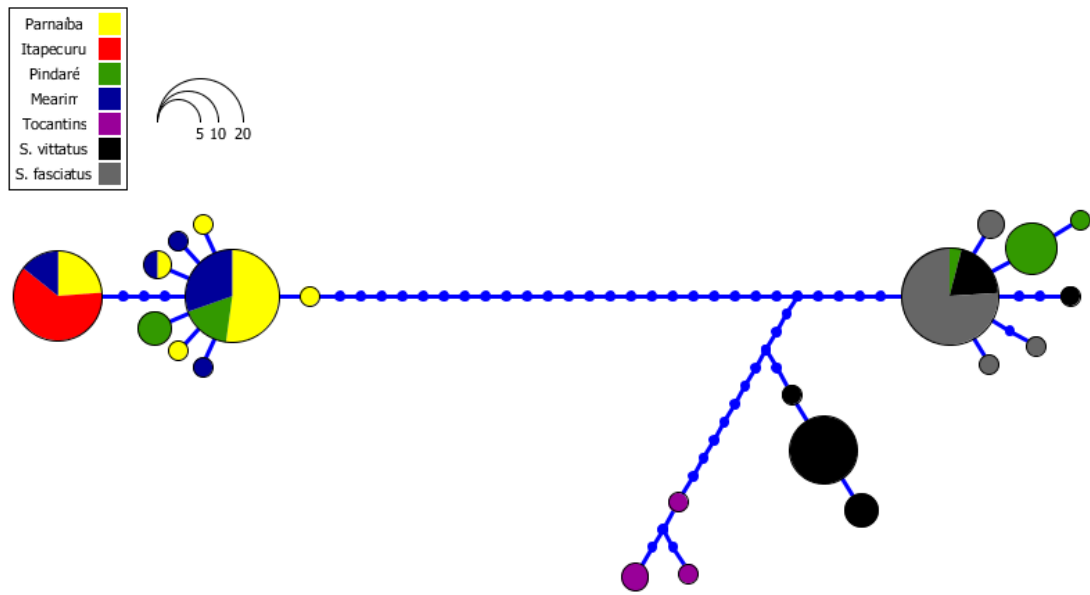
757

758

759

760

761 Figura 6.



762

763

764

765

766

767

768

769

770

771

772

773

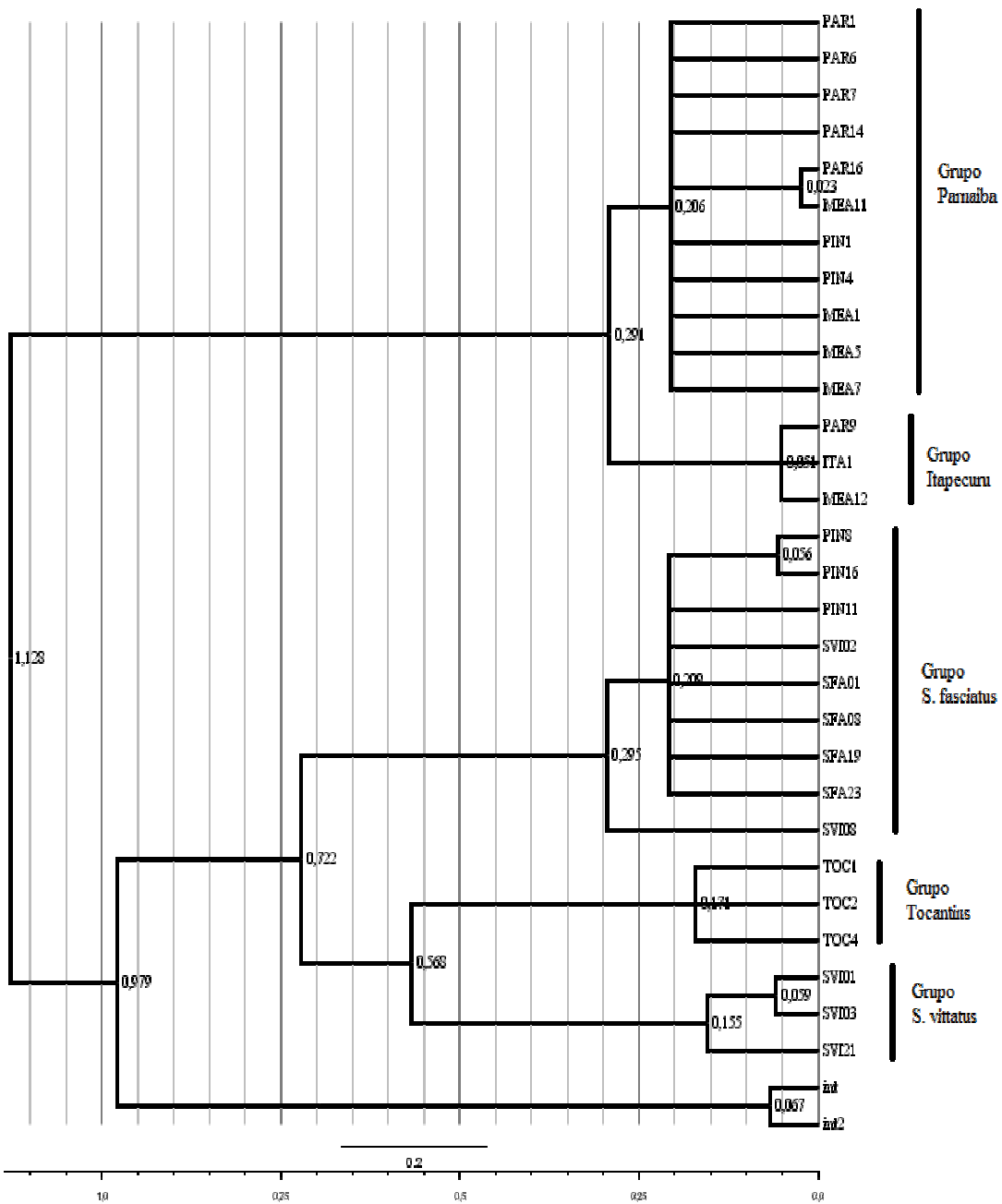
774

775

776

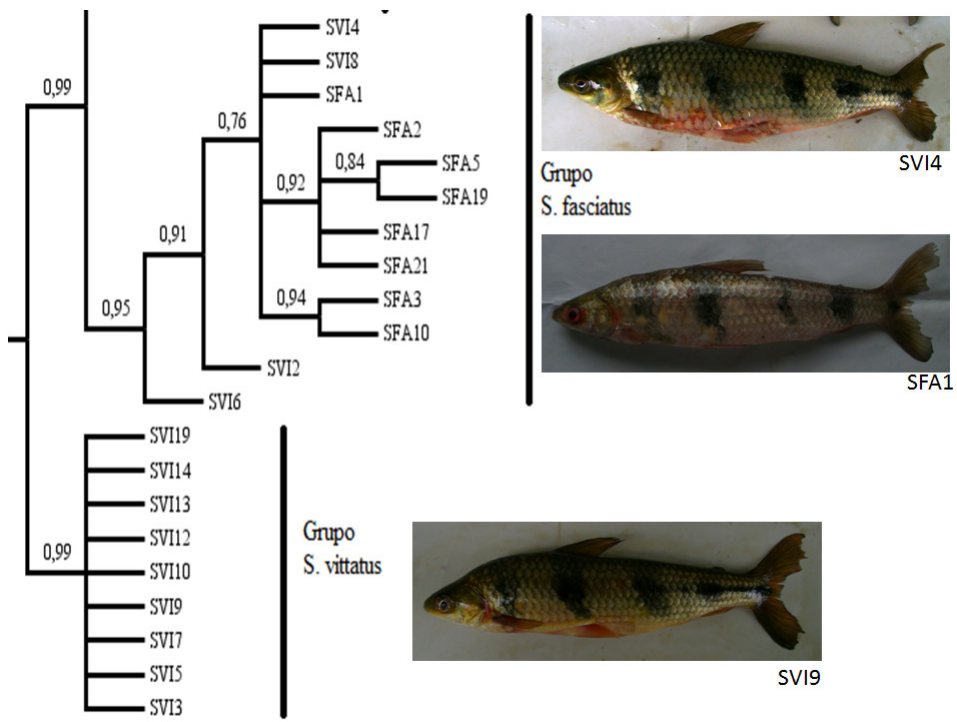
777

778 Figura 7.



779
 780
 781
 782
 783
 784
 785

786 Figura 8.



787

ANEXO I – Normas de submissão para a Neotropical Ichthyology

Forma e preparação de manuscritos

Texto deve ser em Word for Windows ou arquivos rtf.

Figuras e tabelas devem ser carregadas separadamente como arquivos individuais.

Não duplique informações no texto, figuras e tabelas. Apresente apenas figuras e tabelas que são estritamente necessárias.

Formato

Texto deve ser apresentado em inglês.

O manuscrito deve conter os seguintes itens, nesta ordem:

Título

-Título em minúsculas da seguinte forma: “*Isbrueckerichthys epakmos*, a new species of loricariid catfish from the rio Ribeira de Iguape basin, Brazil (Teleostei: Siluriformes)”.

- Táxons subordinados devem ser separados por dois-pontos, como segue: "(Siluriformes: Loricariidae)".

Autor (es) nome (s)

-Só as iniciais devem ser em letras maiúsculas. Nunca abrevie o primeiro nome.

Endereços

-Não apresente os endereços em nota de rodapé.

-Use números arábicos sobrescritos¹ para identificação no caso de múltiplos autores e endereços.

-Listar endereços completos e email de todos os autores.

Abstract

-Em inglês.

Resumo

-Em Português ou espanhol. Deve ter o mesmo conteúdo do *Abstract* em inglês.

Palavras-chave

-Cinco palavras-chave em inglês, não repetir palavras ou expressões do título.

Introdução**Material e Métodos****Resultados****Discussão****Agradecimentos****Literatura citada****Tabela (s)****Legenda(s) da(s) Figura(s)**

Em trabalhos taxonômicos Verifique também: [*Neotropical Ichthyology taxonomic contribution style sheet*](#).

Texto

-Páginas de texto não podem incluir cabeçalhos, rodapés, ou notas de rodapé (exceto o número de página) ou qualquer formato de parágrafo. Texto deve ser alinhado à esquerda.

-Usar Times New Roman fonte tamanho 12.

-Não hifenizar o texto.

-Usar a fonte "symbol" para representar os caracteres a seguir: χ μ θ ω ε ρ τ ψ ν ι ο π α σ δ Φ κ λ ε ω β ν ≡ Θ Ω Σ Δ Φ

-Espécies, gêneros e termos em Latim (*et al.*, *in vitro*, *in vivo*, *vs.*) devem ser em itálico.

- Termos em Latim apresentados entre os nomes genéricos e específicos - cf., aff. (por exemplo, *Hoplias* cf. *malabaricus*) não devem ser em itálico.

-Não abreviar o nome do gênero no início de uma frase.

-Não sublinhar palavras.

-Os títulos a seguir devem ser apresentados em negrito: **Introduction, Material and Methods, Results, Discussion, Acknowledgements,**

Literature Cited.

-Listar abreviaturas utilizadas no texto em Material e métodos, exceto para aqueles de uso comum (por exemplo, min, km, mm, kg, m, s, h, ml, L, g).

-As medidas devem usar o sistema métrico.

-Manuscritos devem conter as siglas institucionais e os números de catálogo de espécimes-testemunho.

-Descritores geográficos (rio, igarapé, arroio, córrego) devem ser em letras minúsculas, exceto quando se refere a um nome de localidade (*e.g.* municipality of Arroio dos Ratos, State of Rio Grande do Sul, etc).

-O agradecimento deve ser conciso.

Nomenclatura

-Nomes científicos devem ser citados de acordo com o ICZN (1999).

-A autoria de nomes científicos é necessária apenas em trabalhos taxonômicos e na primeira referência de uma espécie ou gênero. Não inclua autoria no resumo e abstract.

-Verifique a ortografia, nomes válidos e autoria de espécies no *Catalog of fishes* em <http://research.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>

Tabelas

-Tabelas devem ser numeradas sequencialmente de acordo com a sua ordem de citação no texto, usando os seguintes formatos: Table 1, Tables 1-2, Tables 1, 4.

-A palavra **Table** e o respectivo número devem ser grifados em negrito nas legendas das Tabelas.

-Tabelas devem ser construídas usando linhas e colunas; não use tabulações e espaços.

-Tabelas não podem conter linhas verticais ou notas de rodapé. Arquivos digitais de tabelas devem ser formatados em células. Arquivos digitais de tabelas com colunas separadas por tabulação ou espaço não serão aceitas.

-Tabelas e legendas devem ser incluídas no final do manuscrito, no seguinte formato:

Table 1. Monthly variation of the gonadosomatic index in *Diapoma speculiferum*...

-Os locais aproximados onde as tabelas devem ser inseridas devem ser indicados ao longo da margem do texto.

Figuras

-Figuras devem ser numeradas sequencialmente de acordo com a sua ordem de citação no texto, usando os seguintes formatos: Fig. 1, Figs. 1-2, Fig. 1a, Figs. 1a-b, Figs. 1a, c.

-A palavra **Fig.** e respectivo número devem ser apresentados em negrito nas legendas.

-Figuras devem ser de alta qualidade e definição.

-Texto incluído em gráficos e imagens deve ter tamanho de fonte compatível com reduções à largura da página (175 mm) ou largura da coluna (85 mm). Gráficos serão impressos preferencialmente com a largura de uma coluna (85 mm).

-Fotos coloridas serão aceitas somente se necessário e o custo da impressão poderá ser cobrado dos autores.

-Figuras compostas devem ser preparadas a fim de ajustar-se à largura da página (175 mm) ou largura da coluna (85 mm).

-Ilustrações devem incluir uma escala ou uma referência para o tamanho do item ilustrado na legenda da figura.

-Nunca inclua objetos ou ilustrações na legenda da figura. Substituir por texto (por exemplo, "triângulo negro") ou representar seu significado na própria figura.

-Uma lista de legendas das figuras deve ser apresentada no final do arquivo do manuscrito.

Literatura citada

-Use os seguintes formatos de citação no texto: Eigenmann (1915, 1921) ou (Eigenmann, 1915, 1921; Fowler, 1945, 1948) ou Eigenmann & Norris (1918) ou Eigenmann *et al.* (1910a, 1910b).

-Não inclua resumos e relatórios técnicos na literatura citada.

-Evite referências desnecessárias a teses ou dissertações.

-Nunca use tabulação ou espaço para formatar referências.

-A literatura citada deve ser ordenada em ordem alfabética. Referências com dois ou mais autores devem ser listadas na ordem alfabética do sobrenome do primeiro autor e, em seguida, do sobrenome do segundo autor e assim

sucessivamente.

-Não abreviar nomes dos periódicos.

-Não use itálico ou negrito para títulos de livros e revistas.

-As citações no texto devem corresponder às referências em Literatura Cited.

-Use os seguintes formatos:

Livros:

Campos-da-Paz, R. & J. S. Albert. 1998. The gymnotiform "eels" of Tropical America: a history of classification and phylogeny of the South American electric knifefishes (Teleostei: Ostariophysi: Siluriphysi). Pp. 419-446. In: Malabarba, L. R., R. E. Reis, R. P. Vari, Z. M. S. Lucena & C. A. S. Lucena (Eds.). *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes*. Porto Alegre, Edipucrs.

Teses/Dissertações:

Langeani, F. 1996. Estudo filogenético e revisão taxonômica da família Hemiodontidae Boulenger, 1904 (sensu Roberts, 1974) (Ostariophysi, Characiformes). Unpublished Ph.D. Dissertation, Universidade de São Paulo, São Paulo. 171p.

Artigos:

Lundberg, J. G., F. Mago-Leccia & P. Nass. 1991. *Exallodontus aguanai*, a new genus and species of Pimelodidae (Teleostei: Siluriformes) from deep river channels of South America and delimitation of the subfamily Pimelodinae. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 104: 840-869.

Artigos no prelo:

Burns, J. R., A. D. Meisner, S. H. Weitzman & L. R. Malabarba. (in press). Sperm and spermatocyte ultrastructure in the inseminating catfish, *Trachelyopterus lucenai* (Ostariophysi: Siluriformes: Auchenipteridae). *Copeia*, 2002: 173-179.

Recursos da Internet:

Author. 2002. Title of website, database or other resources, Publisher name and location (if indicated), number of pages (if known). Available from: <http://xxx.xxx.xxx/> (Date of access)

ANEXO II – Normas de submissão para a Genetics and Molecular Biology

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Submission of papers

There is a publication charge for manuscripts once they are accepted. For price information, exemptions and waiver policies, please consult the journal homepage <http://www.gmb.org.br>.

1. Manuscripts must be submitted through a Scholar One submission platform hosted at: <http://mc.manuscriptcentral.com/gmb>

The cover letter should be addressed to:

- Editor-in-Chief, Genetics and Molecular Biology

2. For submission the following instructions must be observed:

a) The manuscript that must be submitted by the Corresponding Author. This is the person who will also check the page proofs, and arranges for the payment that may incur during the editorial process.

b) Entering the following metadata is required: (i) the manuscript title, (ii) a short running title (max. 35 characters), (iii) the Abstract, and (iv) up to five keywords. All these items must be exactly the same as those figuring in the first two pages of the manuscript file. Furthermore, a cover letter addressed to the Editor is required. It must be edited by the corresponding author inserted within the reserved data field

c) Statements are required informing that the data have not been published and are not under consideration elsewhere, and that all authors have approved the submission of the manuscript. Furthermore, possible conflicts of interest (e.g. due to funding, consultancies) must also be disclosed.

d) The names of all co-authors, including institutional affiliations and e-mail addresses must be entered, as contact information for the Editorial Office.

e) In the referee suggestions field, up to five reviewer names can be entered by the author(s); valid e-mail contact addresses for these are required, in case they are selected by the editor. These suggestions can be made separately as preferred and not-preferred reviewer(s).

f) Files must be uploaded separately and identified according to file

types. The main text file must include references and, if applicable, figure legends, which must be typed on a separate page following the References and Internet Resources sections. Each table, figure and element containing supplementary material must be saved and uploaded in a separate file. Formats for text and tables are Word or RTF in Windows platform. Figures should be in TIFF or JPEG formats (see detailed instructions in 3.1.h).

g) Manuscripts including photos or any other identifiable data of human subjects must be accompanied by a copy of the signed consent by the individual or his/her guardian.

Failure to adhere to these guidelines can delay the handling of your contribution and manuscripts may be returned before being reviewed.

Special attention should be given to the structuring of the manuscript and correct language usage. These are important factors in the smooth running of the editorial and peer-review process, and can result in faster publication.

3. Categories of Contribution

3.1. Research Articles

Manuscripts must be written in English in double-spaced, 12-point type throughout; marked with consecutive line and page numbers, beginning with the cover page.

The following elements must start on a new page and be ordered as they are listed below:

a) **The title page** must contain: a concise and informative title; the authors' names (first name at full length); the authors' institutional affiliation, including department, institution, city, state or province and country; different affiliations indicated with superscript Arabic numbers; a short running title of about 35 characters, including spaces; up to five key words; the corresponding author's name, postal address, phone and fax numbers and email address.

b) **The Abstract** must be a single paragraph that does not exceed 200 words and summarizes the main results and conclusions of the study. It should not contain references.

c) **The text** must be as succinct as possible. Text citations: articles should be referred to by authors' surnames and date of publication; citations with two authors must include both names; in citations with three or more authors, name the first author and use et al. List two or more references in the same citation in chronological order, separated by semi-colons. When two or more works in a citation were published in the same year, list them alphabetically by the first author surname. For two or more works by the same author(s) in a citation, list them

chronologically, with the years separated by commas. (Example: Freire-Maia et al., 1966a, 1966b, 2000). Only articles that are published or in press should be cited. In the case of personal communications or unpublished results, all contributors must be listed by initials and last name (et al. should not be used). Numbers: In the text, numbers nine or less must be written out except as part of a date, a fraction or decimal, a percentage, or a unit of measurement. Use Arabic numerals for numbers larger than nine. Binomial Names: Latin names of genera, species and infraspecific taxa must be printed in italics; names of orders and families should appear in the Title and also when first mentioned in the text. URLs for programs, data or other sources should be listed in the Internet Resources Section, immediately after the References Section, not in the text.

The text includes the following elements:

Introduction - Description of the background that led to the study.

Material (or Subjects) and Methods - Details relevant to the conduct of the study. Statistical methods should be explained at the end of this section.

Results - Undue repetition in text and tables should be avoided. Comment on significance of results is appropriate but broader discussion should be part of the Discussion section.

Discussion - The findings of the study should be placed in context of relevant published data. Ideas presented in other publications should not be discussed solely to make an exhaustive presentation.

Some manuscripts may require different formats appropriate to their content.

d) **The Acknowledgments** must be a single paragraph that immediately follows the discussion and includes references to grant support.

e) The References Section: references must be ordered alphabetically by the first author surname; references with the same first author should be ordered as follows: first, as single author in chronological order; next, with only one more co-author in alphabetical order by the second author; and finally followed by references with more than two co-authors, in chronological order, independent of the second author surnames. In references with more than 10 authors only the first ten should be listed, followed by et al. Use standard abbreviations for journal titles as suggested by NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/journals/>).

Only articles that are published or in press should be included in this section. Works submitted for publication but not yet accepted, personal communications and unpublished data must be cited within the text.

"Personal communication" refers to individuals other than the authors of the manuscript being submitted; "unpublished data" refers to data produced by at least one of the authors of the manuscript being submitted. Works of restricted circulation (e.g., theses not available in public databases, congress abstracts not published in regular journals or public databases) should not be listed in this section.

Sample journal article citation:

Breuer ME and Pavan C (1955) Behaviour of polytene chromosomes of *Rhynchosciara angelae* at different stages of larval development. *Chromosoma* 7:371-386.

Yonenaga-Yassuda Y, Rodrigues MT and Pellegrino KCM (2005) Chromosomal banding patterns in the eyelid-less microteiid lizard radiation: The X1X1X2X2:X1X2Y sex chromosome system in *Calyptommatus* and the karyotypes of *Psilophtalmus* and *Tretioscincus* (Squamata, Gymnophthalmidae). *Genet Mol Biol* 28:700-709.

Sample book citation:

Dobzhansky T (1951) *Genetics and Origin of Species*. 3rd edition. Columbia University Press, New York, 364 pp.

Sample chapter-in-book citation:

Crawford DC and Howard-Peebles PN (2005) Fragile X: From cytogenetics to molecular genetics. In: Gersen SL and Keagle MB (eds) *The Principles of Clinical Cytogenetics*. 2nd edition. Humana Press, New Jersey, pp 495-513.

Sample electronic article citation:

Gotzek D, Ross KG (2009) Current status of a model System: The gene Gp-9 and its association with social organization in fire ants. *PLoS One* 4:e7713.

f) **Internet Resources Section:** this section should contain a list of URLs referring to data presented in the text, software programs and other Internet resources used during data processing. Date of consultation must be stated.

Sample Internet resource citation:

Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM),
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/OMIM> (September 4, 2005)

LEM Software,
http://dir.niehs.nih.gov/dirbb/weinbergfiles/hybrid_design.htm
(September 4, 2005)

g) **Tables** must be in Word format prepared with table tool (do not use space bar or tabulator). A concise title should be provided above the table. Tables must be numbered consecutively in Arabic numerals. Each column must have a title in the box head. Footnotes typed directly

below the table should be indicated in lowercase superscript numbers. Tables that are to appear in the printed version must be saved in Word format and not as figures, so that they can later be fitted during typesetting. Each table must be saved and uploaded as a separate file.

h) **Figures** must be numbered consecutively in Arabic numerals. Images should be in TIFF or JPEG format and provided in separate files. Identify each illustration by the first author name and the number of the respective figure. Figures in Word, PowerPoint or Excel format cannot be published. Only sequence data can be presented in Word format. Journal quality reproduction will require grayscale resolution yielding 300 dpi, color figures should be at 600 dpi. These resolutions refer to the output size of the file; if it is anticipated that images will be enlarged or reduced, the resolutions should be adjusted accordingly. Figures composed of several elements should be sent as a single panel, obeying the print size definitions of the journal (single or two columns width). Scanned figures should not be submitted. Color illustrations are accepted.

Each figure/panel must be saved and uploaded as a separate file. When uploading, identify each illustration by the first author name and the number of the respective figure.

Figure legends must be included in the main text file and should be typed on a new page that immediately follows the tables.

i) **Nomenclature** should adhere to current international standards.

j) **Sequences** may appear in text or in figure. DNA, RNA and protein sequences equal to or greater than 50 units must be entered into public databases and accession numbers must be provided upon acceptance of the article. Failure to do so will delay publication.

k) **Data access:** reference should be made to availability of detailed data and materials used for reported studies.

l) **Ethical issues:** reports of experiments on live vertebrates must include a statement that the institutional review board approved the work and the protocol number must be provided. For experiments involving human subjects, authors must also include a statement that informed consent was obtained from all subjects. If photos or any other identifiable data are included, a copy of the signed consent must accompany the manuscript.

m) **Supplementary Material:** Data that the authors consider of importance for completeness of a study, but which are too extensive to be included in the published version, can be submitted as Supplementary Material. This material will be made available together with the electronic version. In case a manuscript contains such material, it should be appropriately identified within the text file. Supplementary

material in tables should be identified as Table S1, Table S2, etc., in case of figures, they should be named accordingly, Figure S1, Figure S2. In addition, a list of this material should be presented at the end of the manuscript text file, containing the following statement:

Supplementary material - the following online material is available for this article:

- Table S1 < short title >
- Figure S1 - < short title >

This material is available as part of the online article from <http://www.scielo.br/gmb>

3.2 Short Communications

Short Communications present brief observations that do not warrant full-length articles. They should not be considered preliminary communications;

- should be 15 or fewer typed pages in double spaced 12-point type, including literature cited;
 - should include an Abstract;
 - but no further subdivision, with introduction, material and methods, results and discussion; all in a single section and without headers.
 - up to four items (tables and/or figures) may be submitted;
- Note: The title page, abstract and reference section format is that of a full-length Research Article. For Supplementary Material see instructions in item 3.1.m

3.3 Letters to the Editor

Relate or respond to recent published items in the journal. Discussions of political, social and ethical issues of interest to geneticists are also welcome in this form.

3.4 Review Articles

Review Articles are welcome. The Editor should be contacted prior to submission.

3.5 Book Reviews

Publishers are invited to submit books on Genetics, Evolution and related disciplines, for review in the journal. Aspiring reviewers may propose writing a review.

3.6 History, Story and Memories

Accounts on historical aspects of Genetics relating to Brazil.

4. Articles accepted for publication

Once an article is accepted, the Editorial Office will send it to a copy editor for language and technical corrections. If major corrections were proposed, the manuscript with the highlighted corrections will be

returned to the corresponding author for approval. The final version approved by the authors must be free of any text/correction markings when returned to the Editorial Office.

After typesetting, page proofs will be sent to the corresponding author. Changes made to page proofs, apart from typesetting errors, will be charged to the authors. Notes added in proof require Editorial approval.

A form of consent to publish and transfer of copyright will have to be signed by the corresponding author, also on behalf of any co-authors.

5. Reprints

Reprints are free of charge and provided as a pdf-file.