

**unesp** 

CAMPUS DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO

# Filogeografia de *Thoropa* grupo *miliaris* (Anura: Cycloramphidae)

Ariadne Fares Sabbag

MESTRADO



PÓS GRADUAÇÃO  
EM BIOLOGIA ANIMAL

Biologia  
Estrutural



UNIVERSIDADE ESTADUAL  
DE MARACÁ

Ariadne Fares Sabbag

Filogeografia de *Thoropa* grupo *miliaris* (Anura:  
Cycloramphidae)

São José do Rio Preto  
2013

Ariadne Fares Sabbag

Filogeografia de *Thoropa* grupo *miliaris* (Anura:  
Cycloramphidae)

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Animal, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Área de Concentração Sistemática e Evolução, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, *campus* de São José do Rio Preto.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cinthia Aguirre Brasileiro

Co-orientadora: Dr<sup>a</sup>. Mariana Lúcio Lyra

São José do Rio Preto  
2013

Sabbag, Ariadne Fares.

Filogeografia de *Thoropa* grupo *miliaris* (Anura: Cycloramphidae) /  
Cinthia Brasileiro. - São José do Rio Preto : [s.n.], 2013.

84 f. : 21 il. ; 30 cm.

Orientador: Cinthia Aguirre Brasileiro

Co-orientador: Mariana Lúcio Lyra

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de  
Biotecnologia, Letras e Ciências Exatas

1. Anura. 2. Biogeografia 3. Mata Atlântica 4 Brasil. I. Sabbag,  
Ariadne Fares. II. Brasileiro, Cinthia Aguirre; III. Lyra, Mariana Lúcio.  
IV. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biotecnologia, Letras e  
Ciências Exatas. V. Título.

CDU – 597.8

Ariadne Fares Sabbag

Filogeografia de *Thoropa* grupo *miliaris* (Anura: Cycloramphidae)

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Animal, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Área de Concentração Sistemática e Evolução, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, *campus* de São José do Rio Preto.

Banca Examinadora

Profa. Dra. Cinthia Aguirre Brasileiro  
UNIFESP – Diadema  
Orientadora

Profa. Dra. Cynthia Peralta de Almeida Prado  
UNESP - Jaboticabal

Dra. Maria Tereza Chiarioni Thomé  
UNESP – Rio Claro

São José do Rio Preto  
2013

*Á memória hilária e eterna de Astrid Sabbag*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradecer é uma tarefa difícil para muitas pessoas. Eu, mesmo pecando pelo excesso em situações formais, nem sempre deixo claro a alguém tudo o que a pessoa é e fez por mim. Vou tentar aqui agradecer às pessoas que, de uma forma ou de outra, me ajudaram, durante e no meu mestrado, mesmo que não fale tudo que gostaria de falar. Espero também não me esquecer de ninguém.

Primeiramente agradeço à minha orientadora, Cinthia Aguirre Brasileiro, por ter aceitado me orientar espontânea e repentinamente, e sem nem me conhecer. Agradeço a ela por toda a orientação que me deu, por sempre ter sido muito sincera e franca sobre meus erros, por ser muito prática e ter “podado” as ideias malucas que poderiam ter complicado ainda mais meu tempo do mestrado, por me ensinar muito sobre escrita e ética, por gostar de conversar e falar e me divertir muito, e por ser exemplo pra mim em milhares de coisas.

Ao Célio Fernando Baptista Haddad, que “me aceitou” pela primeira vez no laboratório em 2008, que confiou em mim e me deu a oportunidade de trabalhar como técnica por um ano (e aprender milhares de coisas), e por permitir que eu usufrísse da estrutura do laboratório dele para desenvolver meu trabalho. Agradeço também a ele por ter me dado conselhos preciosos e tirado minhas dúvidas quando eu precisava.

À minha co-orientadora Mariana Lúcio Lyra por ter me ensinado inúmeras coisas técnicas e de bancada, por ter me dado dicas ótimas de organização dos dados, por estar sempre cheia de ideias, por ser paciente. Agradeço a ela também por ter me tirado do desespero constante e inerente diversas vezes, sempre com palavras e expressões de tranquilidade, e por demonstrar confiança no meu trabalho.

Aos membros da banca, Kátia Cristina Machado Pellegrino, Maria Tereza Chiarioni Thomé, Victor Goyannes Dill Orrico e Cynthia Peralta de Almeida Prado, que aceitaram me ajudar e dar opiniões importantes para melhoria do meu trabalho. Agradeço imensamente também as ideias e discussões oferecidas por Fábio Raposo do Amaral e Kátia Pellegrino na minha apresentação de qualificação.

Ao Renato Neves Feio, por ter doado grande parte das amostras utilizadas no meu trabalho e por ter feito uma revisão do gênero *Thoropa* que me serviu de bíblia. E agradeço a ele e ao Jorge Dergam por terem me recebido muito bem na Universidade Federal de Viçosa e por terem perdido o tempo deles para me ajudar a encontrar os tecidos.

Ao João L. Gasparini, pelas conversas sobre *Thoropa miliaris* e *T. lutzi* e por ter coletado junto ao Célio F. B. Haddad muitos espécimes que utilizei no trabalho.

A todas as pessoas e instituições que se dispuseram a doar e coletar tecidos para meu trabalho: Taran Grant (USP), Patrick Colombo e Gláucia Pontes (PUC-RS); Paulo Garcia e Felipe Leite (UFMG); Hussam El-Dine Zaher e Carolina Mello (MZUSP); José P. Pombal Júnior e Natalia Gonzaga (MNRJ); Mirco Solé e Euvaldo Silva (UESC), Ana Telles de Carvalho e Silva (UNIRIO); Karoline Ceron e Humberto Morrinho (UNESC); Mainara Jordani (UNESP); Amom Mendes (UNIFESP), Luciana Ardenghi Fusinato (UERJ); Fernanda Centeno, Marina Walker Faria, Carla Santana Cassini Victor Goyannes Dill Orrico, Thaís Helena Condez e Bianca von Muller Berneck (UNESP).

A todos meus ajudantes e companheiros de campo: Rafael Camargo Consolmagno, Nadya Carolina Pupin, Patrick Colombo (e Caroline Zank e família), Tuliana Oliveira Brunes, Luciana Fusinato, João Paulo de Côrtes e Andréia Nasser Figueiredo.

À Sarah Fitzpatrick e Kelly Rachek Zamudio, por me auxiliarem com os dados de Fitzpatrick et al. (2009). E agradeço à Kelly Rachel Zamudio e Karen Lizel Uy por sequenciarem as amostras de Fitzpatrick et al. (2009) na Universidade de Cornell.

Aos técnicos importantíssimos do laboratório: Alexandre Takara, Franco Dani, e Sérgio Miagui, inclusive por me salvarem várias vezes dos meus próprios erros.

À Nadya Carolina Pupin também por ter me auxiliado com os tecidos da coleção CFBH, e a Dina Maria por todas as ajudas burocráticas. E agradeço as duas pelo suporte técnico, e pelos momentos de boas risadas nos meus dias.

À Vanessa Rossetto Marcelino e Mariana Lúcio Lyra por me cederem seqüências de algumas espécies que utilizei como grupo externo.

Ao Francisco Brusquetti, Maria Tereza Chiarioni Thomé, Kelly Rachel Zamudio, Fábio Raposo do Amaral, Bianca von Muller Berneck, Victor Goyannes Dill Orrico, Clarissa Canedo, Tuliana Oliveira Brunes e Carla Santana Cassini por terem

me ajudado com dúvidas sobre programas, métodos de análises e caminhos possíveis.

À Maria Elina Bichuette, por ter me acompanhado no estágio em docência.

Ao Lucas Nicioli Bandeira, pela companhia insubstituível em quase todos os momentos do mestrado, nas burocracias, nas provas e disciplinas (e almoços) em São José do Rio Preto, e por todos os momentos em que ele se fez um amigo único.

À todos amigos e colegas do laboratório (os atuais, os antigos, os passageiros e os loucos), que coloriram meus três anos em Rio Claro: Lucas Nicioli Bandeira, Bianca von Muller Berneck, Nadya Carolina Pupin, Fábio Perin de Sá, Eliziane Garcia de Oliveira, Danilo Delgado, Alexandre Takara, Franco Dani, Mariana Lúcio Lyra, Dina Maria, Maria Tereza Chiarioni Thomé, Francisco Brusquetti, Carla Santa Cassini, Victor Goyannes Dill Orrico, Thaís Helena Condez, Marina Walker Faria, Luciana Fusinatto, Fernanda Centeno, Olívia Araújo, Marina Sartori, Rafael Parelli Bovo, Renato Filogonio, Rafael Camargo Consolmagno, Vitor Hugo Mendonça do Prado, Clarissa Canedo, Daniel Loebmann, Luís Menta Giasson, Vanessa Rossetto Marcelino, Ricardo Ribeiro, André Tacioli e máquina de café.

Agradeço de coração a todos do laboratório que me emprestaram os ouvidos e ombros para as minhas “pirações” exaustivas: Bianca von Muller Berneck, Lucas Nicioli Bandeira, Nadya Carolina Pupin, Francisco Brusquetti, Maria Tereza Chiarioni Thomé, Eliziane Oliveira Garcia, Fábio Perin de Sá, Dina Maria e Mariana Lúcio Lyra.

À todas minhas companhias (e alguns amigos novos) do caminho da roça: Fernando Mello Trevisani, Renata Tardivo, Marcella Montório, Patrícia Mayumi, Gabriel Katayama Passini, Luana Hortenci, Gabriela Schmaedecke, Chris Brasil, Vanessa Benites, Silvio Otero-Garcia, Renata Muylaert, Felipe Ribeiro, Vivian Lobo, Emilie Bovy e tantos outros. Agradeço também à Centrovias, por deixar sempre bem cuidado (mesmo que a um custo alto) o meu querido trecho da BR-310.

Ao Célio Fernando Baptista Haddad, Julián Faivovich e João Miguel de Barros Alexandrino, por terem aberto caminho (talvez com muita paciência) para que eu aprendesse e começasse a gostar de biologia molecular.

Aos filogeógrafos e filogeneticistas, que aumentaram meu interesse nessas linhas antes do mestrado: Bianca von Muller Berneck (com quem fiz minha primeira

PCR), João Miguel de Barros Alexandrino, Julián Faivovich, Maria Tereza Chiarioni Thomé, Francisco Brusquetti, Víctor Goyannes Dill Orrico, Clarissa Canedo e Tuliana Brunet.

Agradeço, imensamente, às amadas famílias Fares e Sabbag pelo apoio emocional e possivelmente eterno (mesmo que não façam ideia de pra que serve o que eu faço):

Aos meus pais Janete Aparecida Fares e Rubens Gabriades Sabbag por terem se preocupado com minha educação por me ajudarem financeiramente;

As minhas companheiras de casa, Stéfanie e Mirella Fares, por todas as risadas e convivências divertidas;

Aos meus avós, Ali Fares e Neid Maluli Fares, e aos meus padrinhos, Jaime Fares e Janice Fares, pelo carinho e exemplo;

Ao meu primo, Felipe Saad, por me suportar chata quase todo dia dos últimos anos; e ao meu primo, Richêm Saad, por ter me servido um café há dois anos que iniciou meu suave vício.

Ao meu cunhado, Luiz Carlos Irber, por me ensinar computação e fazer piadas;

Aos meus tios queridos: Jorge, Jamil, Gislaine, Sueli, Lucinda, Mayard, Vivian, Sidney, Clóvis, Soudki, Daisy, Zênia, Teresa; Elizabeth

E a os meus primos Fares-Sabbag: Richêm, Eduardo, Nicolas, Roberto, Rodrigo, Alessandra, Janailma, Caroline, Caio e Michelly, Daniel, Aline, Larissa, Juliana, Thaís, Zeiny, Nathalie, Lívia, Isadora, Jéssica, Bruno, Marlon e Felipe.

Agradeço aos amigos lindos que amo e adoro, dos quais sinto muita falta, incluso alguns que me aguentam há anos: Clara Di Martino, Xênia Moreira Lopes, Priscila Adriana Rossi, Luiz Fernando Catai Coradello, Luana Hortenci, Andréia Nasser Figueiredo, Aline Gomes Zaffani, Érico Pessoa Félix, Rafaela Sanfelice, Gabriela Sumariva, Tylá Pilotto Duarte, Daniela Gayotto, Mariana Bissoli, Pavel Dodonov, Alois Foltram Muller, Jonas Eduardo Gallao, Gisele Vieira, Bruna Vacondio, Leandro Bisanha, Ailton Fujitani, Rodrigo Lopes e Thaís Pacheco. Agradeço à Priscila, Andréia, Rafaela, Aline e Leandro pela presença são-carlense tão necessária, e ao Luiz Fernando e Priscila, pela ajuda com figuras e texto.

Aos meus pequenos amores: Ada, Mei, Balu, Shinta, Satine, Lassie, Lin, Tuta, Wendy, Star, Shelley, Lily, Bily, Mel, e todos os outros peludos.

Ao Hélio Hoshina, por tudo que fez por mim, sempre com paciência, tranquilidade e profissionalismo

À Denise de Cerqueira Rossa-Feres, pelo carinho antigo, estímulo e exemplo.

À Juliana Zina pela amizade, por ter me ensinado as primeiras coisas de herpetologia, por ter acreditado em mim, e por ter me ajudado a ter meu primeiro artigo.

Ao Harry Greene, por ter me “provado” que reprovações não fazem o pesquisador.

Aos professores da graduação que mais me ensinaram: Gilberto Moraes, Reinaldo Brito, Maria Elina Bichuette, Marcelo Adorna Fernandes, Marco Del Lama. E agradeço ao Júlio Garavello e Alexandre Kannebley, por fazerem parte dos meus primeiros aprendizados de sistemática e taxonomia.

À Macrogen, Inc. pela eficiência asiática imprescindível.

Ao GridUNESP e CIPRES pelas análises realizadas.

À Lilian Casatti, Silvia Emiko, e aos integrantes do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, por todos os auxílios e apoios.

Ao MMA-ICMBio pela concessão para coletas em campo.

À FAPESP, CNPq e CAPES, pelo suporte financeiro com todo o trabalho, e à CAPES pela bolsa de mestrado concedida por dois anos.

**Muito obrigada a todos!**

## RESUMO

A Mata Atlântica, uma formação florestal com alta diversidade e ameaçada por ação antrópica, é foco de interesse de vários estudos sobre diversificação de espécies. Este estudo teve como objetivo principal entender a história evolutiva das espécies de *Thoropa* grupo *miliaris* (Anura: Cycloramphidae), que inclui *T. miliaris*, *T. taophora*, *T. saxatilis* e *T. megatympenum*. Utilizei sequências de DNA mitocondrial dos fragmentos 16S, ND2 e COI de indivíduos das quatro espécies (N = 487), distribuídos em um total de 98 localidades. Realizei análises de agrupamento para os três fragmentos separados, e posteriormente realizei análises filogenéticas sob Inferência Bayesiana, Máxima Verossimilhança e Máxima Parcimônia com os fragmentos concatenados. Além disso, fiz redes de haplótipos com as sequências de 16S, e calculei diversidades genéticas, além das divergências genéticas intra e interclados. Por fim, estimei tempos de divergência por meio de análises coalescentes ( $t_{MRCA}$ ) e das divergências genéticas ( $d_A$ ). Encontrei a diversidade genética distribuída em oito clados distintos. *Thoropa saxatilis* e *T. megatympenum* são grupos monofiléticos bem estruturados. A primeira localiza-se no nordeste do Rio Grande do Sul e sudeste de Santa Catarina, e a segunda ocorre na Serra do Espinhaço. *Thoropa miliaris* inclui cinco grupos parafiléticos em relação à *T. taophora*, e ocorrem desde o sudeste da Bahia até o sudeste do Rio de Janeiro, e sobrepõem-se no centro-sul do Espírito Santo e centro-norte do Rio de Janeiro. *Thoropa taophora* inclui populações do extremo sudeste do estado do Rio de Janeiro e do litoral do estado de São Paulo. Alguns clados de *Thoropa miliaris* são bem estruturados, e os outros formam, juntamente com *T. taophora*, um agrupamento com pouca diversidade genética. *Thoropa* grupo *miliaris* possivelmente começou a diversificar no Mioceno (tempo de divergência 8,5 – 3,7 Ma) e os ancestrais comuns mais recentes datam de 12,6 – 0,7 Ma. As hipóteses de barreiras geográficas e a hipótese de eventos neotectônicos são possíveis explicações para a diversidade atual das linhagens do grupo. Esses resultados mostram que a diversidade no grupo possui uma história evolutiva complexa que precisa ser mais investigada.

*Palavras-chave:* Anura, Brasil, Diversificação, DNA mitocondrial, Mata Atlântica

## ABSTRACT

The Atlantic Forest, a forest formation with high diversity and threatened by human action, is the subject of interest of many studies on species diversification. This study is based on the evolutionary history of the *Thoropa miliaris* group (Anura: Cycloramphidae), which includes *T. miliaris*, *T. taophora*, *T. saxatilis* and *T. megatympenum*. I used sequences of mitochondrial DNA fragments of 16S, ND2 and COI from individuals of the four species (N = 487), distributed in 98 localities. I performed cluster analysis for the three separated fragments, and after that, phylogenetic analyzes with Bayesian Inference, Maximum Likelihood and Maximum Parsimony with the concatenated fragments. In addition, I made haplotype networks using the 16S fragment, and also calculated genetic diversity and genetic divergences within and between clades. Finally, I estimated times of divergence using coalescent analysis ( $t_{MRCA}$ ) and genetic divergence ( $d_A$ ). I found the genetic diversity distributed in eight distinct clades. *Thoropa saxatilis* and *T. megatympenum* are monophyletic and structured groups. The first located in northeastern Rio Grande do Sul and southeast Santa Catarina and the second occurs at Serra do Espinhaço. *Thoropa miliaris* includes five paraphyletic groups that occur from southern Bahia to southern Rio de Janeiro, and these clades overlap in the center-south of the Espírito Santo and north-central Rio de Janeiro. *Thoropa taophora* includes populations from the extreme southeastern of the state of Rio de Janeiro, and the coast of the São Paulo state. Some clades of *Thoropa miliaris* are structured, and the others form, along with *T. taophora*, a group with low genetic diversity. *Thoropa miliaris* group possibly began its diversification in the Miocene (tempo de divergência: 8.5 to 3.7 My) and most recent common ancestors are from 12.6 to 0.7 My ago. Both hypothesis of geographical barriers and neotectonic events are possible explanations for the current diversity of the group. These results show that the diversity in the group holds a complex evolutionary history that needs more investigation.

**Keywords:** Anurans, Atlantic Forest, Brazil, Diversification, Mitochondrial DNA

## CONTEÚDO

Introdução.....	1
Material e Métodos.....	7
1. Amostragem.....	7
2. Extração de DNA, amplificação e sequenciamento.....	9
3. Inferências filogenéticas.....	10
4. Distribuição da diversidade genética dentro dos clados.....	11
5. Estimativas de tempo.....	12
Resultados.....	14
1. Inferências filogenéticas.....	14
2. Distribuição da diversidade genética dentro dos clados.....	21
3. Estimativas de tempo.....	40
Discussão.....	42
Conclusões.....	48
Referências bibliográficas.....	49
Apêndices.....	58
1. Indivíduos utilizados de <i>Thoropa grupo miliaris</i> .....	58
2. Indivíduos utilizados como grupo externo.....	70

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Espécies de <i>Thoropa</i> Cope, 1865.....	4
Figura 2	Desova de <i>Thoropa taophora</i> e girino de <i>Thoropa saxatilis</i> .....	6
Figura 3	Mapa de distribuição dos espécimes de <i>Thoropa</i> gr. <i>miliaris</i> .....	8
Figura 4	Topologias das análises de agrupamento (Neighbor-Joining).....	16
4a	Análise de agrupamento do fragmento de 16S.....	16
4b	Análise de agrupamento do fragmento de ND2.....	17
4c	Análise de agrupamento do fragmento de COI.....	18
Figura 5	Árvore filogenética de <i>Thoropa</i> grupo <i>miliaris</i> .....	19
Figura 6	Mapa de distribuição dos clados de <i>Thoropa</i> grupo <i>miliaris</i> .....	20
Figura 7	Comparação das topologias encontradas nas análises.....	21
Figura 8	Árvore e distribuição de <i>Thoropa megatympanum</i> (clado B).....	25
Figura 9	Rede de haplótipos e distribuição de <i>Thoropa megatympanum</i> (clado B).....	26
Figura 10	Árvore, rede de haplótipos e distribuição de <i>Thoropa saxatilis</i> (clado A).....	27
Figura 11	Árvore, rede de haplótipos e distribuição de <i>Thoropa miliaris</i> (clado E).....	29
Figura 12	Árvore, rede de haplótipos e distribuição de <i>Thoropa miliaris</i> (clado C).....	30
Figura 13	Árvore e distribuição de <i>Thoropa miliaris</i> (clado D).....	32
Figura 14	Rede de haplótipos e distribuição de <i>Thoropa miliaris</i> (clado D).....	33
Figura 15	Árvore, rede de haplótipos e distribuição de <i>Thoropa miliaris</i> (clado F).....	34
Figura 16	Árvore e distribuição de <i>Thoropa miliaris</i> (clado G).....	36
Figura 17	Rede de haplótipos e distribuição de <i>Thoropa miliaris</i> (clado G).....	37
Figura 18	Árvore e distribuição de <i>Thoropa taophora</i> (clado H).....	38
Figura 19	Rede de haplótipos e distribuição de <i>Thoropa taophora</i> (clado H).....	39
Figura 20	Tempos dos ancestrais comuns mais recentes de <i>Thoropa</i> grupo <i>miliaris</i> .....	41
Figura 21	Distribuição dos clados de <i>Thoropa</i> grupo <i>miliaris</i> e falhas neotectônicas.....	46

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	“Primers” utilizados nos sequenciamentos genéticos.....	10
Tabela 2	Modelos de substituição nucleotídica.....	15
Tabela 3	Estatísticas sumárias de diversidade genética.....	22
Tabela 4	Distâncias genéticas intra e intercalados.....	23
Tabela 5	Tempos de divergência calculados por distância genética.....	40

## INTRODUÇÃO

Filogeografia é um termo criado há 25 anos por Avise et al. (1987) para definir uma área das ciências naturais que trata das relações entre a genealogia e a distribuição geográfica das espécies biológicas. Análises filogeográficas baseiam-se, geralmente, na caracterização dos padrões e processos envolvidos na formação das linhagens genéticas e suas distribuições no espaço e no tempo, delineando a história evolutiva das espécies de interesse (Avise 2000).

Para estudar filogeografia, utiliza-se qualquer caráter (morfológico, fisiológico, comportamental e/ou molecular) dos organismos capaz de fornecer diagramas (e.g. árvores filogenéticas, redes de haplótipos) que facilitem a visualização dos padrões de relacionamento entre esses organismos e também inferir e testar hipóteses sobre diversificação das linhagens. Atualmente, a ferramenta mais usada nos estudos de filogeografia são as sequências de DNA, que têm a vantagem de fornecer informações robustas sobre a evolução das linhagens, já que a diversidade morfológica não necessariamente acompanha a diversidade genética (Miyaki 2009). Conhecer a história evolutiva das linhagens é importante para delimitar espécies (estudos de sistemática e taxonomia), explicar e quantificar diversidade biológica, entender a história das paisagens e biomas, e conseqüentemente importante para fundamentar projetos de conservação da biodiversidade.

A região Neotropical apresenta uma das maiores biodiversidades do mundo, sendo a Mata Atlântica um dos principais biomas da região. Originalmente a Mata Atlântica ocupava quase 150 milhões de hectares (Ribeiro et al. 2009) do extremo nordeste litoral brasileiro até Misiones na Argentina e leste do Paraguai (Galindo-Leal & Câmara 2005). A Mata Atlântica forma uma ilha de floresta pluvial, cercada pela diagonal seca (Caatinga + Cerrado + Pantanal + Chaco) e o Oceano Atlântico (Ribeiro et al. 2009). Devido ao aumento das pressões antrópicas iniciadas no século XVI, a área do bioma foi muito reduzida (Galindo-Leal & Câmara 2005), restando cerca de 12% da cobertura original, distribuídos em fragmentos florestais (Ribeiro et al. 2009). Por ser um bioma ameaçado e possuir alta diversidade biológica, a Mata Atlântica é considerada um “hotspot” para a conservação da biodiversidade mundial (ver Myers et al. 2000).

A diversificação das espécies nos neotrópicos é comumente associada com eventos tectônicos e climáticos que ocorreram do final do Eoceno/início do Oligoceno até o período Quaternário (Rull 2008). Existem mais de 50 estudos que focam na diversificação na Mata Atlântica (Turchetto-Zolet et al. 2012), utilizando os mais variados grupos como modelo,

como eudicotiledônias (e.g. Lorenz-Lemke et al. 2005; Ramos et al. 2009; Ribeiro et al. 2011), monocotiledônias (e.g. Pinheiro et al. 2011), insetos (e.g. Brito et al. 2002; Moraes et al. 2009), peixes (e.g. Torres & Ribeiro 2009), mamíferos (e.g. Costa 2003; Moraes-Barros et al. 2006; Lara-Ruiz et al. 2009; Colombi et al. 2010; Martins et al. 2011), aves (e.g. Aleixo 2002; Cabanne et al. 2007; Cabanne et al. 2008; d'Horta et al. 2011), répteis (e.g. Puerto et al. 2001; Wüster et al. 2005; Pellegrino et al. 2005; Grazziotin et al. 2006), e anfíbios (e.g. Carnaval 2002; Carnaval & Bates 2007; Carnaval et al. 2009; Fitzpatrick et al. 2009; Brunes et al. 2010; Thomé et al. 2010; Bell et al. 2012). Esses estudos associam a diversificação do bioma a quatro teorias principais: teoria dos refúgios, teoria das barreiras geográficas, teoria dos gradientes ecológicos e neotectonismo.

Uma das teorias mais discutidas é a teoria dos refúgios proposta por Haffer (1969) e Vanzolini & Williams (1970) para a Amazônia, e atualmente testada em vários estudos na Mata Atlântica. Carnaval & Moritz (2008) fizeram modelagens climáticas para o final do período Quaternário e testaram se os modelos correspondiam aos estudos palinológicos existentes para o bioma (e.g. Behling & Licht 1997; Ledru et al. 1998; Behling & Negrelle 2001) e aos padrões de distribuição de espécies já conhecidos para alguns animais e vegetais. Os autores identificaram duas regiões de estabilidade climática no bioma: uma grande área no corredor central da Mata Atlântica, entre a margem sul do rio Doce e a margem sul do rio São Francisco, e outra menor ao norte do rio São Francisco (Carnaval & Mortiz 2008). Em um estudo posterior, Carnaval et al. (2009) testaram essas hipóteses de refúgio para três espécies de anfíbios anuros e encontraram um terceiro suposto refúgio no estado de São Paulo.

Outra hipótese de diversificação é a de que barreiras geográficas (e.g. rios, montanhas) teriam separado populações de espécies e induzido a diversificação genética e consequente especiação. Isso foi sugerido, por exemplo, em um estudo com lagartos do complexo de espécies de *Gymnodactylus darwini* na Mata Atlântica (Pellegrino et al. 2005), em que os autores indicam rios costeiros como possíveis barreiras ao fluxo gênico entre as populações.

Uma terceira hipótese é a teoria dos gradientes ecológicos, proposta inicialmente por Smith et al. (1997; 2001) para ecótonos entre biomas africanos. De acordo com essa teoria, diferentes pressões seletivas em ambientes próximos estimulam a especiação em parapatria. Na Mata Atlântica, é possível ocorrer esse tipo de especiação, visto que esse bioma possui diversos tipos de vegetação (e.g. formações abertas, mistas, fechadas). Esta teoria foi recentemente testada e corroborada por Cabanne et al. (2011) com aves da Mata Atlântica e diagonal seca. A última hipótese de diversificação é de que a atividade geotectônica durante o

Quaternário (chamada de neotectonismo) possa ter criado barreiras ao fluxo gênico, levando a diversificação alopátrica de algumas espécies (Batalha-Filho et al. 2010; Brunes et al. 2010; Thomé et al. 2010).

As quatro hipóteses têm sido comumente abordadas nos recentes estudos de filogeografia na Mata Atlântica e, apesar de estarem crescendo em volume, ainda são escassas diante da diversidade do bioma (Batalha-Filho et al. 2012). Para anfíbios, as hipóteses mais aceitas de diversificação são a teoria dos refúgios (Carnaval et al. 2009; Fitzpatrick et al. 2009), a teoria de barreiras geográficas (Fitzpatrick et al. 2009; Brunes et al. 2010) e as atividades neotectônicas (Brunes et al. 2010; Thomé et al. 2010).

Devido a sua ampla distribuição na Mata Atlântica, o gênero *Thoropa* Cope, 1865 (Anura: Cycloramphidae) representa um modelo interessante para o estudo da diversificação no bioma. O gênero contém seis espécies válidas divididas em dois grupos: *T. grupo petropolitana*, com as espécies *T. petropolitana* (Wandolleck 1907) e *T. lutzi* Cochran 1938; e *T. grupo miliaris*, com *T. saxatilis* Cocroft & Heyer 1988, *T. megatympanum* Caramaschi & Sazima 1984, *T. miliaris* (Spix 1824), e *T. taophora* (Miranda-Ribeiro 1923) (Feio 2002; Frost 2013; Figura 1). Todas as espécies ocorrem principalmente na Mata Atlântica, e também em ecótonos Cerrado-Mata Atlântica e em campos rupestres de Cerrado (Feio 2002).

As duas espécies de *Thoropa* grupo *petropolitana* não são encontradas facilmente na natureza. *Thoropa petropolitana* ocorre nas regiões serranas dos estados do Rio de Janeiro, mas há mais de 30 anos nenhum exemplar é registrado (Feio 2002). *Thoropa lutzi* é conhecida também para as serras dos estados do Rio de Janeiro e Espírito Santo e seu registro também é raro (Feio 2002).

No entanto as espécies de *Thoropa* grupo *miliaris* são comumente encontradas. *Thoropa megatympanum* ocorre na Cadeia do Espinhaço, no estado de Minas Gerais e sul da Bahia (Caramaschi & Sazima 1984; Feio 2002). *Thoropa miliaris* e *T. taophora* ocorrem na Mata Atlântica do sudeste do país, desde costões rochosos no nível do mar até 1500 m de altitude. *Thoropa miliaris* apresenta distribuição mais ampla, ocorrendo nos estados do Rio de Janeiro, Espírito Santo, Minas Gerais e centro-sul da Bahia (Feio 2002), enquanto que *T. taophora* apresenta distribuição restrita a Serra do Mar do estado de São Paulo (Feio 2002; Feio et al. 2006). *Thoropa saxatilis* possui distribuição restrita ao sul do Brasil, nas encostas da Serra Geral, desde Santa Catarina até o Rio Grande do Sul (Cocroft & Heyer 1988, Feio 2002).



**Figura 1:** Espécies do gênero *Thoropa*. (A) *T. lutzi*; (B) *T. petropolitana*; (C) *T. taophora*; (D) *T. miliaris*; (E) *T. megalympanum*; (F) *T. saxatilis*.

Quanto à sua biologia, as espécies de *Thoropa* são encontradas em formações rochosas úmidas, cachoeiras e quedas d'água, e sobre pedras em riachos de vazão baixa (Caramaschi & Sazima 1984; Cocroft & Heyer 1988; Feio 2002; Feio et al. 2006) (Figura 2). As fêmeas depositam os ovos nos filmes de água sobre as rochas, onde os girinos exotróficos eclodem e alimentam-se até a metamorfose (Barth 1956; Rocha et al. 2002; Feio 2002)

(Figura 2). Os machos adultos são territoriais e cuidam da desova (Feio 2002; Giaretta & Facure 2004) (Figura 2). Abe & Bicudo (1991), mostraram que populações de *T. taophora* de costões rochosos apresentam maior tolerância à salinidade do que populações de interior de mata. A alimentação do grupo foi estudada para *T. miliaris* (Siqueira et al. 2006) e *T. taophora* (Sazima 1971; Brasileiro et al. 2010) e os autores encontraram diversos grupos de invertebrados (inclusive invertebrados marinhos), sendo as formigas o item alimentar mais abundante das espécies.

*Thoropa miliaris* e *T. taophora* foram estudadas por Fitzpatrick et al. (2009), quanto às relações filogenéticas e distribuição da diversidade genética. Nesse estudo, *T. taophora* mostrou-se uma espécie monofilética e *T. miliaris* uma espécie parafilética (Fitzpatrick et al. 2009). Uma das linhagens de *T. taophora* (clado da Juréia) mostrou-se muito divergente das outras linhagens da espécie, levantando a hipótese de que esse clado pudesse ser uma espécie diferente (Fitzpatrick et al. 2009). Os autores alegam, entretanto, que a amostragem de *T. miliaris* foi falha, bem como a de *T. taophora* no sul do estado de São Paulo, concluindo que para refinar as análises filogeográficas do grupo seria preciso ampliar a amostragem (Fitzpatrick et al. 2009).

Nesse contexto, o objetivo principal desse estudo é conhecer a diversidade genética das espécies do grupo de *Thoropa miliaris*, incluindo as quatro espécies reconhecidas: *T. miliaris*, *T. taophora*, *T. megatympanum* e *T. saxatilis*. Como objetivos específicos, pretendo: (i) esclarecer a história evolutiva de *T. miliaris*; (ii) conhecer a estrutura genética das populações de *T. megatympanum* e *T. saxatilis* e (iii) entender como se relacionam filogeneticamente as espécies de *T. grupo miliaris*. Além disso, pretendo avaliar algumas hipóteses propostas por Fitzpatrick et al. (2009): (a) a hipótese de que a diversificação de *T. grupo miliaris* teria ocorrido de norte para sul e (b) e que a linhagem de *T. taophora* da Juréia é uma espécie endêmica da região.



**Figura 2:** (A) macho de *Thoropa taophora* próximo a uma desova (Praia do Prumirim, Ubatuba, SP); (B) girino de *Thoropa saxatilis* (Cachoeira da Rocinha, Timbé do Sul, SC).

## MATERIAL E MÉTODOS

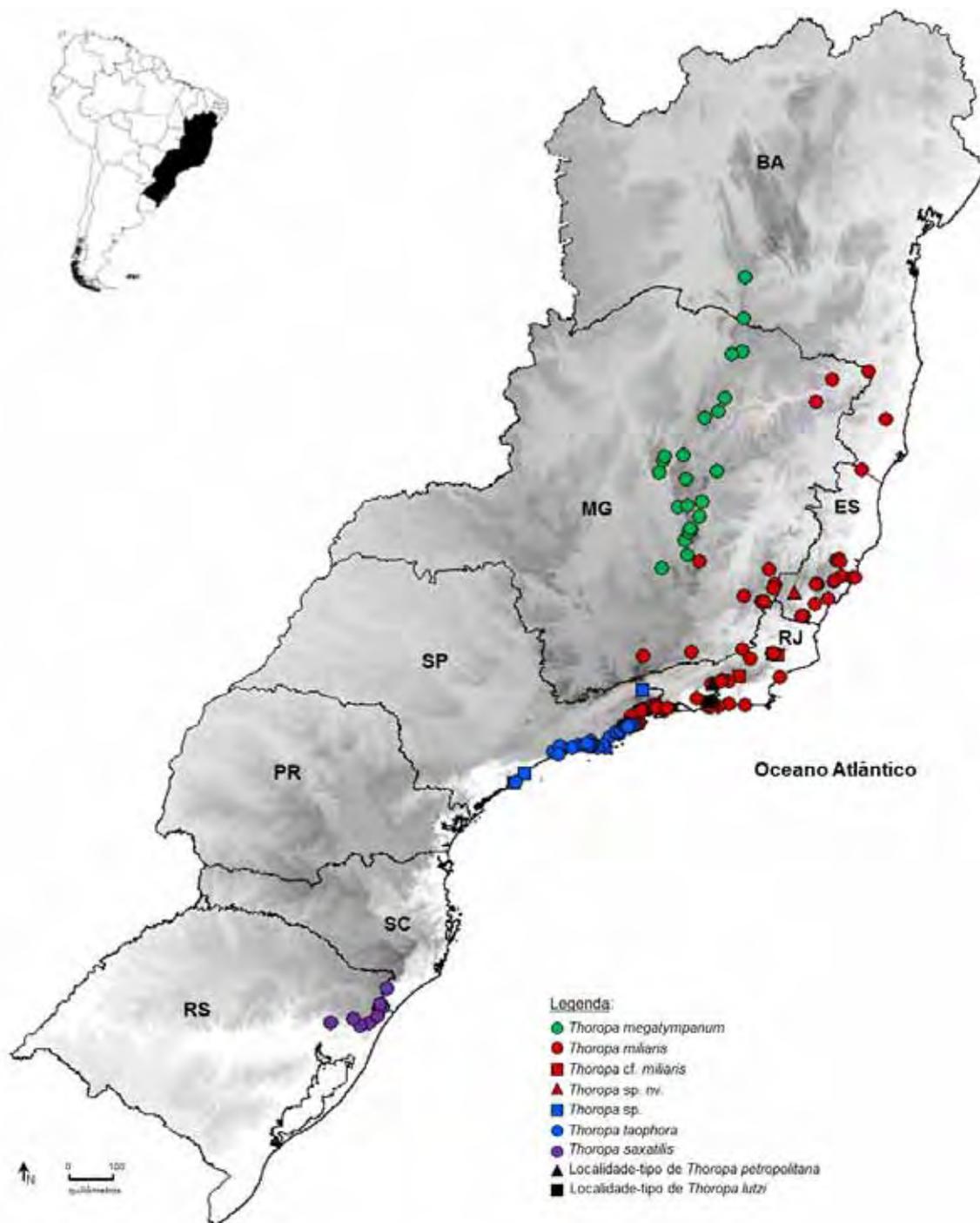
### 1. Amostragem

Para este trabalho, obtive 287 amostras de tecidos (fígado ou músculo, preservados em etanol absoluto) por meio de doações de coleções biológicas (citadas abaixo) e 76 amostras em coletas de campo (Autorização SISBIO nº 30181-1/2011). Essas coletas foram feitas em campanhas no litoral sudeste do estado do Rio de Janeiro, no litoral central do estado de São Paulo, e no estado do Rio Grande do Sul. Depositei todas as amostras coletadas em campo na Coleção de Anfíbios Célio Fernando Baptista Haddad do Departamento de Zoologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” *campus* Rio Claro-SP (CFBH).

Obtive 363 indivíduos das espécies de *Thoropa* do grupo *miliaris* de 123 pontos amostrais, cada ponto com uma a 18 amostras (Apêndice 1), abrangendo grande parte da distribuição geográfica do grupo. Obtive também 12 táxons para serem utilizados como grupos externos nas análises filogenéticas (Apêndice 2). Os exemplares de referência das amostras obtidas encontram-se depositados na Coleção de Anfíbios Célio Fernando Baptista Haddad do Departamento de Zoologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” *campus* Rio Claro-SP (CFBH); Museu Nacional, Rio de Janeiro (MNRJ); Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP); Museu de Zoologia João Moojen da Universidade Federal de Viçosa (MZUFV); Coleção de Anfíbios da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG-A); e Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (MCP). Além disso, incluí na amostragem 124 indivíduos com dados moleculares já publicados por Fitzpatrick et al. (2009), correspondendo a 14 indivíduos de *Thoropa miliaris* e 110 indivíduos de *T. taophora* (Apêndice 1). A distribuição das localidades amostradas encontra-se na Figura 3.

No total, utilizei 487 amostras, das quais 34 estão registradas como *Thoropa saxatilis*, 59 como *T. megatympanum*, dez como *Thoropa* sp. nv., dez como *T. cf. miliaris*, 212 como *T. miliaris*, dez como *Thoropa* sp. e 152 como *T. taophora* (Apêndice 1). Dentre essas amostras, estão incluídos os topótipos de *T. megatympanum*, *T. miliaris* e *T. taophora*.

Para escolher as espécies a serem utilizadas como grupo externo nas análises, baseei-me nas alocações de *Thoropa* e grupos próximos encontrados em diferentes trabalhos (Frost et al. 2006; Grant et al 2006; Pyron & Wiens 2011). A situação filogenética do gênero *Thoropa* tem sido muito discutida, resultando em diferentes



**Figura 3:** Distribuição das localidades amostradas de *Thoropa* grupo *miliaris* e localidades-tipo de *T. petropolitana* e *T. lutzi*, ao longo da Mata Atlântica, Brasil. Altitudes mostradas em cinza variam em gradiente, a partir de branco (intervalo de 0 a 100 m acima do nível do mar) até preto (de 2900 a 3000 m acima do nível do mar).

propostas. Frost et al. (2006) coloca o gênero na família Thoropidae (monotípica) como táxon irmão de Dendrobatidae. Grant et al. (2006) sinonimiza Thoropidae com Cycloramphidae mas ainda como táxon irmão de Dendrobatidae + Aromobatidae. Por último Pyron & Wiens (2011) mantém *Thoropa* na família Cycloramphidae, mas como táxon irmão de Hylodidae + Alsodidae. Portanto utilizei *Dendrobates tinctorius*, *Physalaemus olfersii*, *Cycloramphus dubius*, *C. boraceiensis*, *C. eleutherodactylus*, *Rupirana cardosoi*, *Macrogenioglottus alipioi*, *Limnomedusa macroglossa*, *Odontophrynus americanus*, *Proceratophrys boiei* e *P. cristiceps* como grupos externos (Apêndice 2).

## 2. Extração de DNA, amplificação e sequenciamento

Para a extração do DNA total, utilizei o kit de extração de DNA genômico DNeasy® (Qiagen Inc.), seguindo o protocolo fornecido pelo fabricante. O DNA extraído foi usado diretamente nas reações de amplificação ou diluído em uma parte do extrato para nove partes de água Mili-Q® autoclavada.

Amplifiquei três fragmentos mitocondriais: parte 5' final do gene ribossomal 16S rRNA (~580 pb; 16S), parte do gene de NADH desidrogenase subunidade 2 (~1020 pb; ND2), e região 5' do gene da Citocromo C oxidase subunidade 1 (~690 pb; COI). Fiz o fragmento de 16S para todos os indivíduos (totalizando 362 indivíduos), e os fragmentos de ND2 e COI para um subconjunto do total, respectivamente, 202 indivíduos para ND2 e 143 indivíduos para COI.

Amplifiquei cada gene alvo através de reações em cadeia da polimerase (PCR) utilizando “primers” específicos (Tabela 1). As condições das reações de 16S e ND2 incluíam uma desnaturação inicial a 94°C por três minutos; 35 ciclos com uma desnaturação a 94°C por 30 segundos, seguida de uma hibridação a 50-54°C por 30 segundos (Tabela 1), e extensão a 60°C por 1-1,5 minuto; e uma extensão final de 60°C por sete minutos. Para o fragmento COI, as condições de reação incluíam uma desnaturação inicial a 94°C; cinco ciclos com desnaturação a 94°C por 20 segundos, seguida de hibridação a 46,5°C por 20 segundos e extensão a 60°C por um minuto e 20 segundos; 31 ciclos com desnaturação a 94°C por 20 segundos, seguida de hibridação a 50°C por 20 segundos e extensão a 60°C por um minuto e 20 segundos; e uma extensão final por três minutos a 60°C (Tabela 1). Conferi os resultados das reações de PCR através de eletroforese em gel de agarose a 1,0%.

**Tabela 1:** “Primers” utilizados para amplificação dos fragmentos genéticos (Frag.) de interesse de *Thoropa* grupo *miliaris*, com respectivas sequências, temperaturas de hibridação ( $t_{hib}$ ) e referências.

Frag.	“Primer”	Sequência	Referência	$t_{hib}$
16S	16SAR (F)	CGCCTGTTTATCAAAAACAT	Palumbi et al. 1991	50°C
16S	16SBR (R)	CCGGTCTGAACTCAGATCACGT	Palumbi et al. 1991	50°C
ND2	L4437 (F)	AAGCTTTCGGGCCCATACC	Macey et al. 1997	54°C
ND2	L4646 (F)	ATTGAAGCCGCCACAAAATA	Austin & Zamudio 2008	54°C
ND2	H5616 (R)	TAAAGGGCCTGAGTTGCATT	Austin & Zamudio 2008	54°C
ND2	H5934 (R)	ARGGTGCCAATGTCTTTGTGRTT	Macey et al. 1997	54°C
COI	AnF1 (F)	ACHAAYCAYAAAGAYATYGG	M. L. Lyra (dados não publicados)	46,5-50°C
COI	AnR1 (R)	CCRAARAATCARAADARRTGTTG	M. L. Lyra (dados não publicados)	46,5-50°C
COI	AntRNAW (R)	AGACCAARRGCCTTCAAAG	M. L. Lyra (dados não publicados)	46,5-50°C

Os fragmentos amplificados foram purificados e sequenciados bidirecionalmente com o kit de sequenciamento BigDye v.3.1® (Applied Biosystems) pela empresa MacroGen Inc (Seoul, Coréia do Sul), no Centro de Estudos de Insetos Sociais na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” em Rio Claro, SP, e no laboratório da Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Kelly Zamudio na Universidade de Cornell, EUA.

As sequências dos indivíduos utilizados como grupo externo foram cedidas como cortesia por Mariana L. Lyra (MLL) e Vanessa R. Marcelino (VRM) e obtidas no GenBank (NCBI) (Apêndice 2 para detalhes).

Conferi e limpei os eletroferogramas no programa Sequencher v.4.5© (GeneCodes) e montei uma única sequência consenso (“contig”) com as sequências diretas e reversas de cada gene. Alinhei as sequências consenso de cada fragmento individual no programa ClustalW (Thompson et al. 1994; Larkin et al. 2007) implementado no MEGA v.5 (Tamura et al. 2011), utilizando parâmetros padrão e conferi os alinhamentos visualmente.

### 3. Inferências filogenéticas

Primeiramente realizei uma análise fenética apenas com as sequências que obtive para o fragmento 16S e com as sequências de 16S de Fitzpatrick et al. (2009). Para tanto, utilizei o método de Neighbor-Joining (NJ), com distância- $p$  e reamostragem com “bootstrap” em 100 réplicas no programa MEGA v.5 (Tamura et al. 2011). Como grupo externo, usei fragmentos de 16S de três espécies de *Cycloramphus*: *C. boraceiensis*, *C. dubius* e *C. eleutherodactylus* (Ver resultados; ver Apêndice 2 para detalhes). Para verificar diferenças nos padrões de agrupamento de cada fragmento entre os indivíduos, realizei no MEGA v.5 (Tamura et al. 2011) a análise preliminar anteriormente descrita também para as

sequências obtidas de ND2 e COI (NJ, com distância- $p$  e reamostragem com “bootstrap” em 100 réplicas).

Para inferir as relações filogenéticas entre todos os indivíduos, concatenei os alinhamentos dos três fragmentos genéticos no programa Mesquite v.2.75 (Maddison & Maddison 2011), e determinei os “haplótipos” únicos da matriz mitocondrial resultante (aqui chamados de terminais) com o programa DnaSP v.5 (Librado & Rozas 2009).

Com a matriz mitocondrial concatenada, utilizei os métodos de Máxima Parcimônia (MP), Máxima Verossimilhança (MV) e Inferência Bayesiana (IB). Todas as análises fornecem topologia. Fiz as análises de MP no programa TNT 1.1 (Goloboff et al. 2008), utilizando “new technology search” (“sect. search” e “tree fusing”; “initial level” = 50 e “find. min. length” = 15) e reamostragem com “bootstrap” padrão, frequências absolutas e 1000 réplicas. Para a MV, utilizei o programa RAxML (Stamatakis 2006) na interface GUI v.1.1 (Silvestro & Michalak 2011) com Máxima Verossimilhança, “bootstrap” rápido (Stamatakis et al. 2008) com o modelo evolutivo GTRGAMMA e 1000 réplicas.

Para a IB, estimei os modelos de evolução nucleotídica que melhor se ajustam a cada fragmento utilizando o “Akaike Information Criterion” (AIC; Akaike 1974) no programa jModelTest 2 (Guindon & Gascuel 2003; Darriba et al. 2012). Particionei os fragmentos codificantes (ND2 e COI) a fim de obter os modelos separados para cada códon, enquanto para o fragmento de 16S, apenas um modelo foi estimado. Os modelos obtidos para as partições foram usados para a IB, que fiz no programa MrBayes v.3.2.1 (Ronquist et al. 2011), utilizando métodos de Monte Carlo via Cadeia de Markov (sigla em inglês: MCMC; Larget & Simon 1999). Realizei análises com 50 milhões de gerações, todas consistindo de duas corridas, quatro cadeias de Markov e demais parâmetros padrão. As árvores foram amostradas a cada 1000 gerações e os primeiros 25% das árvores geradas foram descartadas como “burn-in”. Para diagnosticar a convergência da análise, usei o desvio padrão das frequências “split” como sendo ideal se  $<0,01$  (Ronquist et al. 2011).

Para enraizar as árvores, utilizei *Dendrobates tinctorius* como grupo mais externo. As árvores resultantes foram editadas no FigTree v1.3.1 (<http://tree.bio.ed.ac.uk>). Considerei os valores de “bootstrap” acima de 75% para MP e MV e as probabilidades “a posteriori” acima de 95% para IB, como sendo valores de suporte alto para os nós (Hillis & Bull 1993; Alfaro et al. 2003; Erixon et al. 2003).

#### **4. Distribuição da diversidade genética dentro dos clados**

A fim de estimar a diversidade genética, usei o programa DnaSP v.5 (Librado & Rozas 2009) para calcular a diversidade de haplótipos ( $h$ ) e a diversidade nucleotídica ( $\pi$ ), para o fragmento de 16S, por clados e para todos os indivíduos. Adicionalmente, no programa MEGA v.5 (Tamura et al. 2011), calculei as distâncias genéticas para os fragmentos de 16S, ND2 e COI, intra e interclados, utilizando distância- $p$ , com o método Neighbor-joining, “bootstrap” e deleção par-a-par.

Também determinei os haplótipos das sequências de 16S com o programa DnaSP v.5 (Librado & Rozas 2009), desconsiderando os sítios com “gaps” e dados faltantes. Com esses haplótipos, construí redes de haplótipos para cada clado no programa para inferir as relações genealógicas dentro dos clados. Utilizei, para tanto, o programa TCS v.1.21 (Templeton et al. 1992) com um limite de 25 passos mutacionais.

## 5. Estimativas de tempo

Utilizando o fragmento de ND2 de 128 indivíduos representantes dos grandes grupos e *Dendrobates tinctorius* como grupo externo, estimei com o programa BEAST v.1.6.1 (Drummond et al. 2012) os tempos de divergência para os ancestrais comuns mais recentes (sigla em inglês:  $t_{MRC}$ ) e os respectivos intervalos de confiança (95%) para os nós de interesse, utilizando um relógio molecular relaxado lognormal não-correlacionado (Drummond et al. 2006), com o modelo SRD06 (Shapiro et al. 2006) com três partições para as posições nos códons dos fragmentos. Utilizei também uma árvore preliminar feita considerando processos de especiação de Yule (1925). Devido à ausência de dados para calibração da árvore (e.g. fósseis datados, eventos biogeográficos conhecidos ou estudos paleoclimáticos) para a família Cycloramphidae, optei por utilizar a taxa de mutação descrita na literatura para o gene ND2 (0, 957% por linhagem por milhão de anos) baseada na calibração feita para anuros do gênero *Eleutherodactylus* (Crawford 2003). Como parâmetros, utilizei distribuição gamma, quatro corridas de 60 milhões de gerações com amostragem a cada 6000 gerações, das quais descartei 10% como “burn-in”. Os arquivos de entrada foram elaborados com o utilitário BEAUti v.1.6.1 (Drummond et al. 2012) incluso no pacote do programa. Para conferir a eficácia da análise utilizei o programa Tracer v.1.4 (Rambaut & Drummond 2007). Para combinar e visualizar os arquivos de saída do BEAST v.1.6.1., utilizei os programas LogCombiner v.1.6.1 (Drummond et al. 2012) e TreeAnnotator v.1.6.1 (Drummond et al. 2012), ambos disponíveis no pacote do programa BEAST v.1.6.1.

Além do  $t_{\text{MRCA}}$ , estimei também os tempos de divergência entre os clados, utilizando o  $d_A$  (Nei 1987) calculado pelo programa DnaSP v.5 (Librado & Rozas 2009), e o dobro da taxa citada acima conhecida para o fragmento de ND2 (0,957% por linhagem por milhões de anos; Crawford 2003).

## RESULTADOS

### 1. Inferências filogenéticas

Para o fragmento de 16S (N = 486, sendo 362 desse trabalho + 124 de Fitzpatrick et al. 2009), encontrei 94 haplótipos, 45 únicos, 17 compartilhados entre indivíduos de mesmo ponto amostral e 32 compartilhados entre indivíduos de pontos amostrais diferentes; para o fragmento ND2 (N = 326, sendo 202 desse trabalho + 124 de Fitzpatrick et al. 2009), encontrei 139 haplótipos, 83 únicos, 23 compartilhados entre indivíduos de mesmo ponto amostral e 33 compartilhados entre indivíduos de pontos amostrais diferentes; e para o fragmento COI (N = 143), encontrei 132 haplótipos, 123 únicos, um haplótipo compartilhado entre indivíduos de mesmo ponto amostral e oito compartilhados entre indivíduos de pontos amostrais diferentes.

Considerando somente posições nucleotídicas comuns a todos os indivíduos utilizados (i.e. desconsiderando sítios com ausência de dados), encontrei 94 sítios polimórficos para o fragmento 16S (473 pb), dos quais 15 são autapomórficos e 79 são informativos. Para o fragmento ND2 (474 pb), encontrei 216 sítios polimórficos, sendo 17 autapomórficos e 199 informativos. E para o fragmento COI (266 pb) encontrei 93 sítios polimórficos, sendo sete autapomórficos e 86 informativos. O alinhamento de 16S foi o único que necessitou da inserção de “gaps” (18 “gaps”).

O alinhamento concatenado de *Thoropa* grupo *miliaris* + grupo externo, cotinha 577 pb para o fragmento de 16S (486 indivíduos de *T. grupo miliaris* e dez indivíduos no grupo externo), 1020 pb para o fragmento de ND2 (326 indivíduos de *T. grupo miliaris* e três indivíduos no grupo externo) e 693 pb para o fragmento de COI (143 indivíduos de *T. grupo miliaris* e 11 indivíduos no grupo externo). Os modelos de substituição nucleotídica encontrados para o fragmento de 16S e para as partições dos fragmentos ND2 e COI através do AIC (Akaike 1974) encontram-se na Tabela 2.

As árvores resultantes das análises de NJ de cada fragmento por separado mostram oito agrupamentos principais (Figuras 4a, 4b e 4c): A, que inclui os indivíduos de *Thoropa saxatilis*; B, que inclui os indivíduos de *T. megatympanum*; C, D, E, F e G que correspondem aos indivíduos considerados como *T. miliaris*; e H dos indivíduos de *T. taophora* (Figura 4a, 4b e 4c). As árvores resultantes dos três métodos de análise filogenética (MP, MV e IB) ficaram semelhantes entre si e através delas é possível notar que os agrupamentos encontrados nas análises de NJ formam clados, também nomeados de A a H (Figura 5).

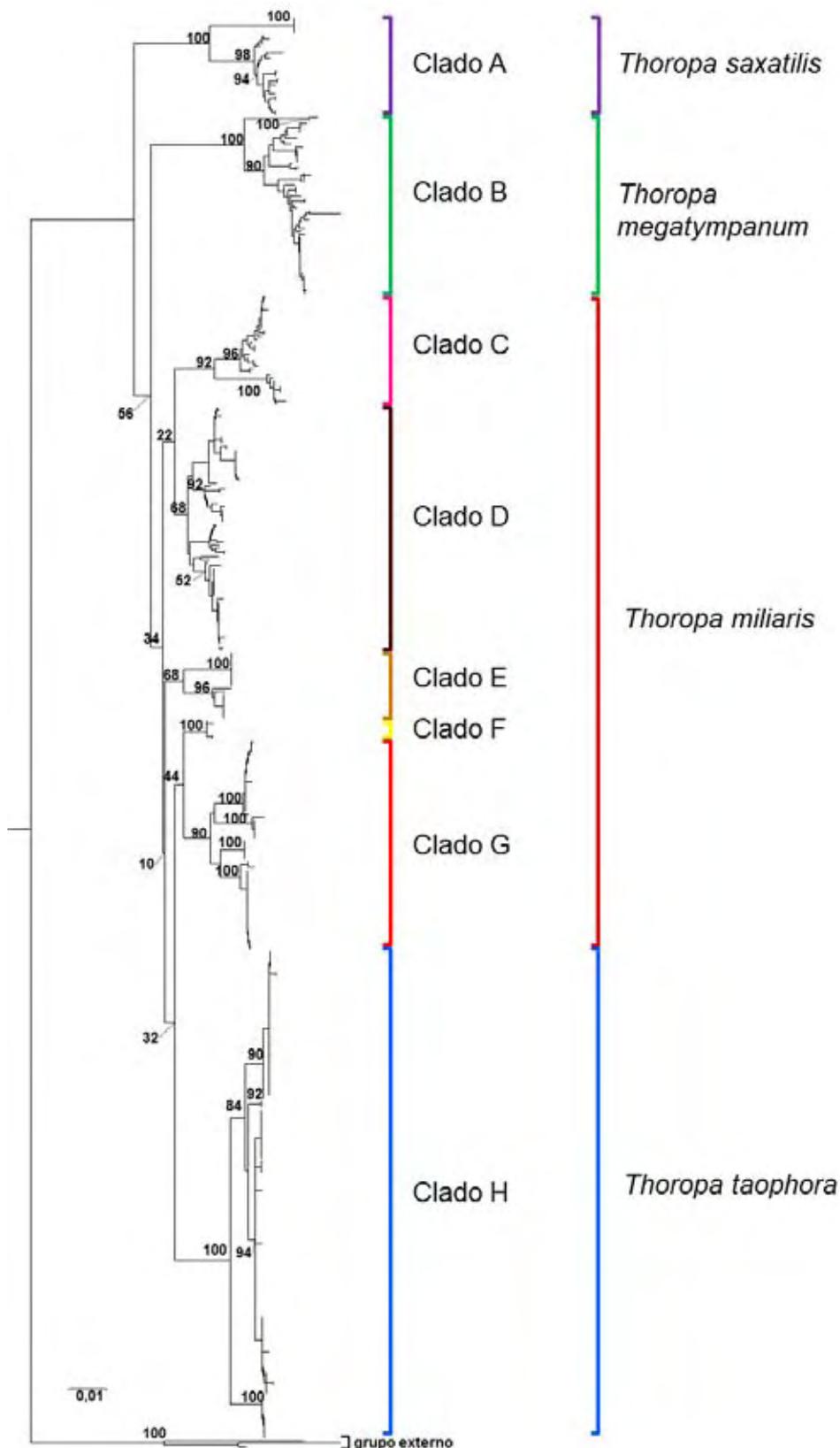
**Tabela 2:** Modelos de substituição nucleotídica de cada fragmento e posição nucleotídica (para fragmentos codificantes) das sequências genéticas de *Thoropa* grupo *miliaris*, obtidos através do programa jModelTest 2 (Guindon & Gascuel 2003; Darriba et al. 2012).

<b>Fragmento (posição do nucleotídeo)</b>	<b>Modelo</b>
16S (-)	GTR + G
ND2 (1 <sup>a</sup> posição)	HKI + G
ND2 (2 <sup>a</sup> posição)	TIM2 + G
ND2 (3 <sup>a</sup> posição)	TIM2 + I + G
COI (1 <sup>a</sup> posição)	TIM3ef + G
COI (2 <sup>a</sup> posição)	F81
COI (3 <sup>a</sup> posição)	TIM2 + I + G

O clado A é composto por indivíduos da Serra Geral no sul do Brasil de *Thoropa saxatilis* (nordeste do Rio Grande do Sul e sudeste de Santa Catarina), enquanto o clado B apresenta indivíduos de *T. megalympanum* da Serra do Espinhaço (estados de Minas Gerais e Bahia). Nos clados C, D, E, F e G estão os indivíduos identificados inicialmente como *T. miliaris* e *T. sp. nv.* Os clados C e E incluem indivíduos do Espírito Santo, sendo que o clado C ocorre do centro ao sul do estado e o clado E ocorre em localidades do sul do estado. O clado D é composto por indivíduos do sudeste da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro. O clado F inclui populações do centro-norte do estado do Rio de Janeiro enquanto o clado G abrange principalmente os indivíduos das regiões litorâneas do estado do Rio de Janeiro e nordeste do estado de São Paulo. Por fim, o clado H é composto pelos indivíduos identificados como *T. taophora* e *T. sp.* e inclui populações do extremo sudeste do estado do Rio de Janeiro e do litoral do estado de São Paulo (Figura 6).

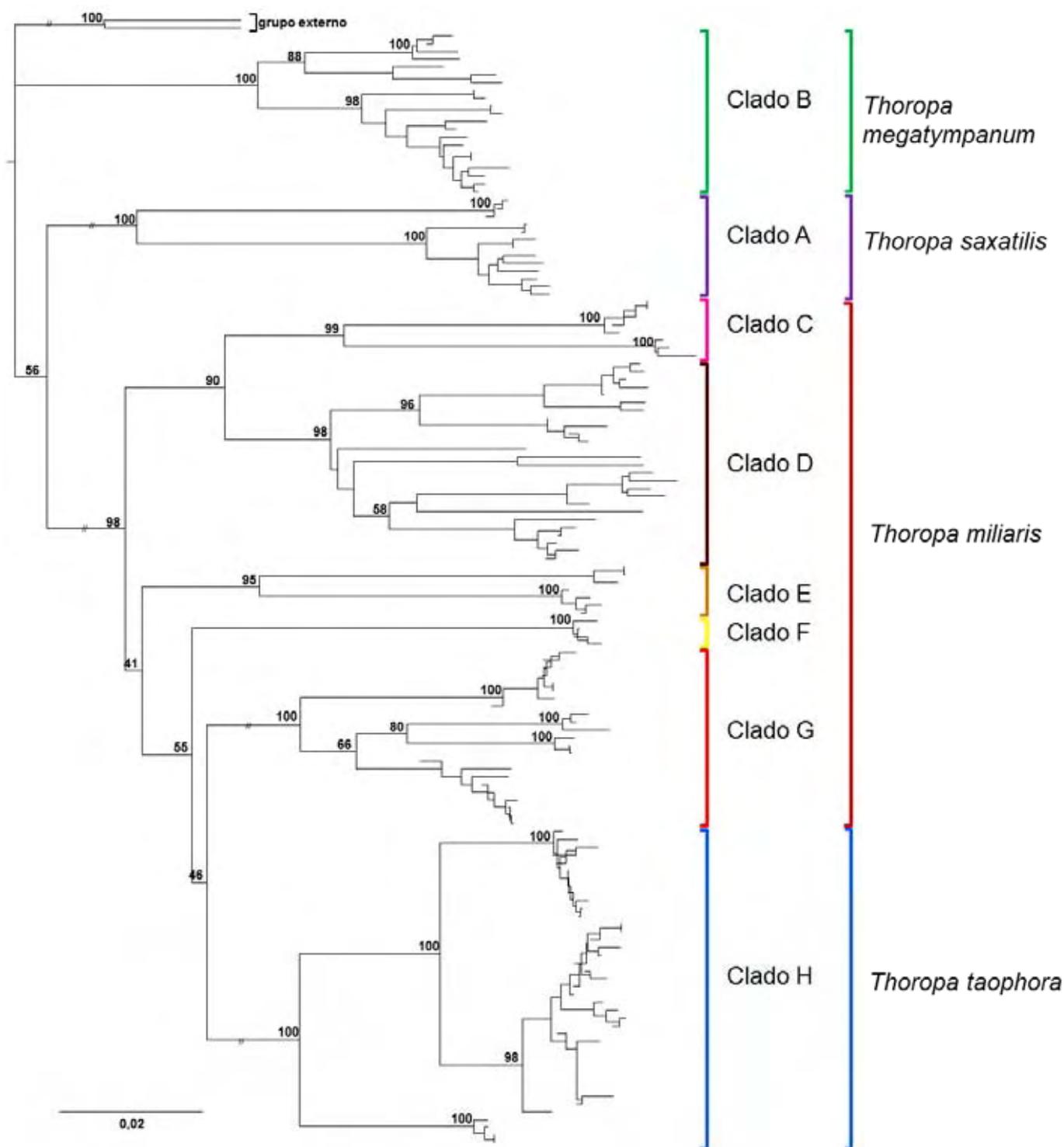
Apesar dos grupos encontrados utilizando métodos diferentes terem sido semelhantes, a relação entre eles não ficou definida e variou entre as análises (Figura 7). Na análise de NJ do fragmento de 16S (na qual baseei-me para nomear os clados), é possível notar um agrupamento formado pelos clados C e D (de *Thoropa miliaris*, chamado de I) e um agrupamento formado pelos clados F e G (também de *T. miliaris*, chamado de H) e um terceiro grupo, formado por F + G + H (*T. miliaris* e *T. taophora* chamado de K).

Para as análises de NJ de 16S e ND2 e a análise com MP da matriz concatenada, o clado A (*Thoropa saxatilis*) é irmão de todos os outros e B é irmão de C + D + E + F + G +

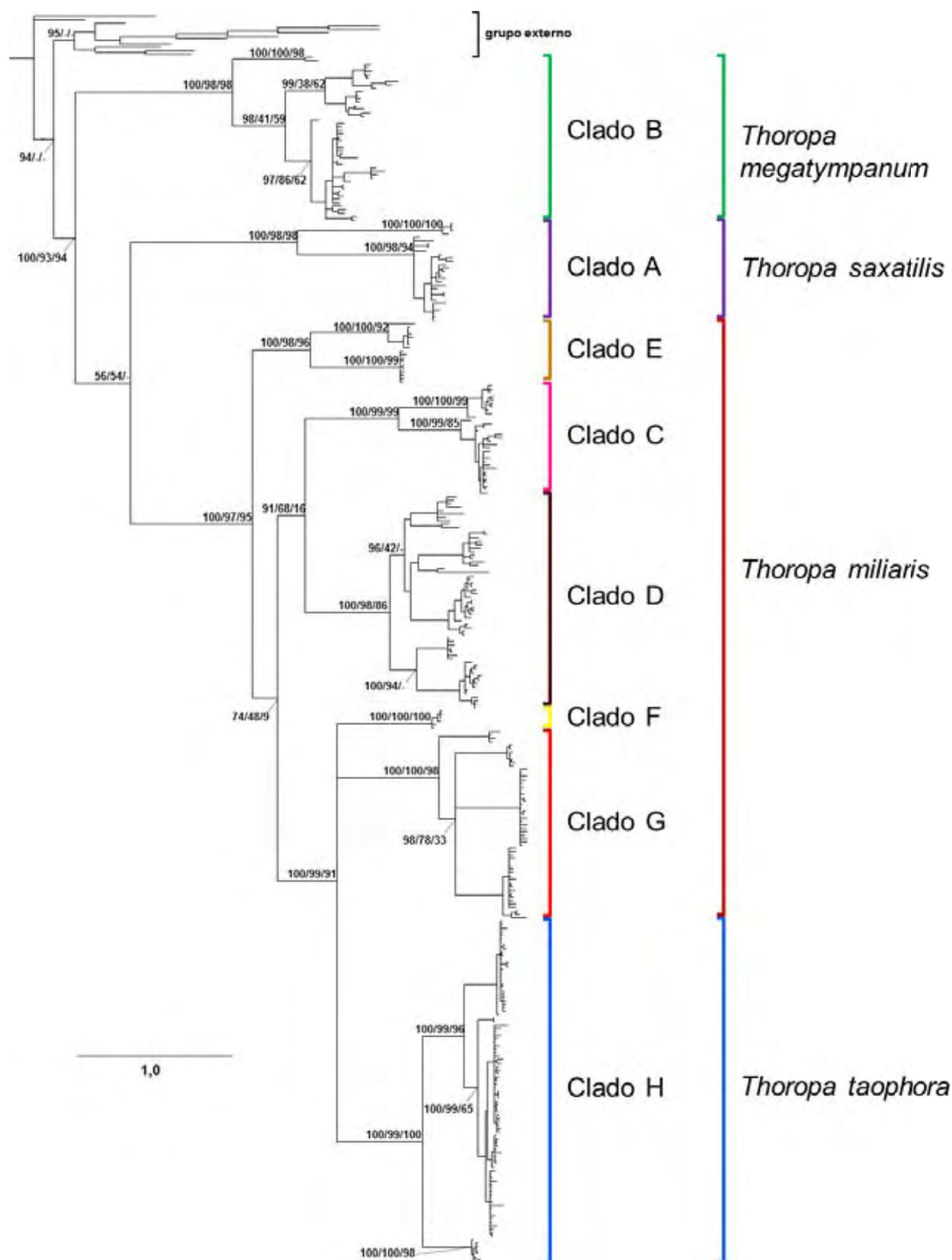


**Figura 4a:** Análise de Neighbor-Joining e distância- $p$  do fragmento de 16S. Nos terminais estão os indivíduos analisados para o fragmento (N= 486). Os valores de “bootstrap” estão acima ou próximos aos nós. A barra de escala dos ramos indica o número esperado de substituições nucleotídicas por sítio.

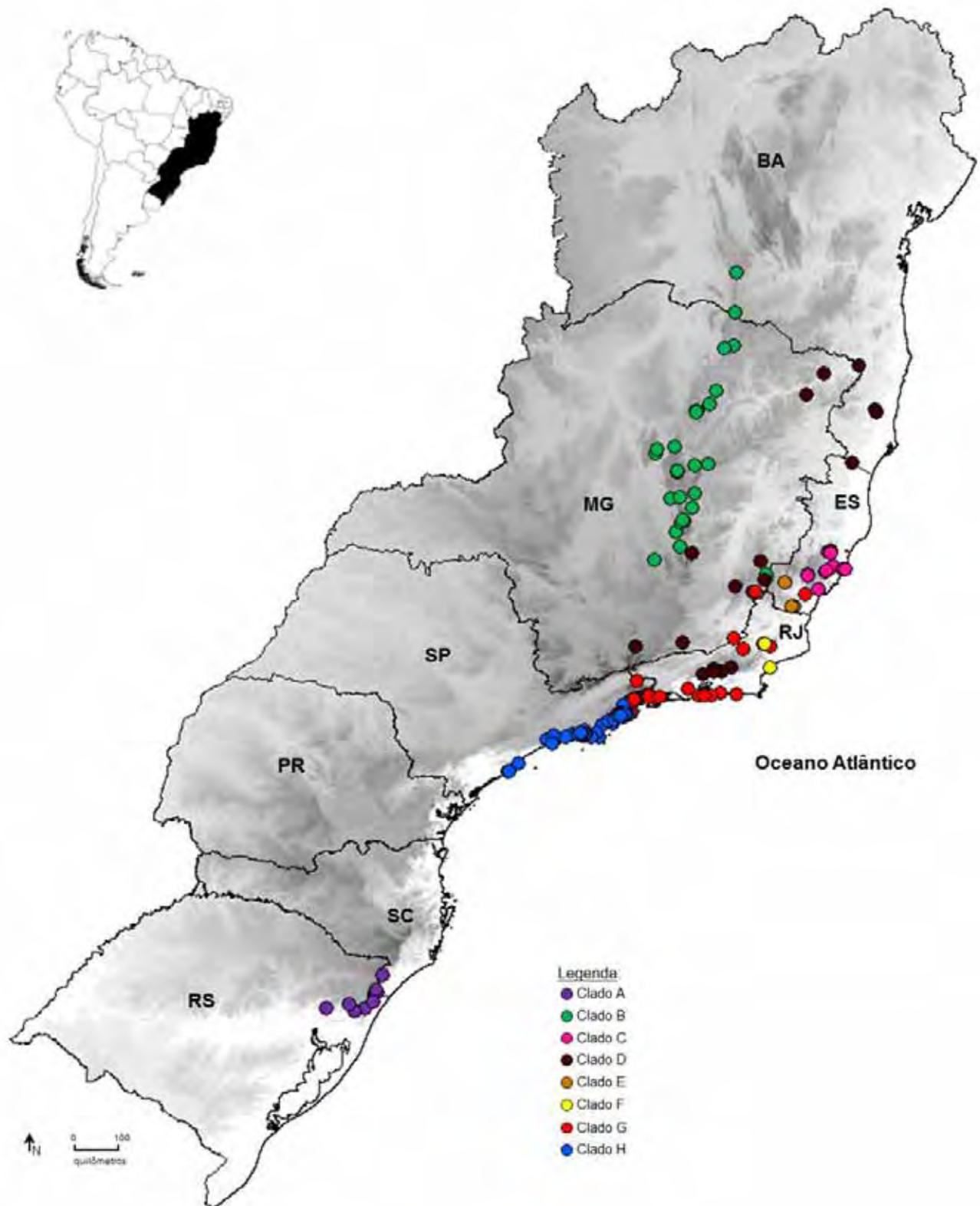




**Figura 4c:** Análise de Neighbor-Joining e distância- $p$  do fragmento de COI. Nos terminais estão os indivíduos analisados para o fragmento (N = 143). Os valores de “bootstrap” estão acima ou próximos aos nós. A barra de escala dos ramos indica o número esperado de substituições nucleotídicas por sítio.



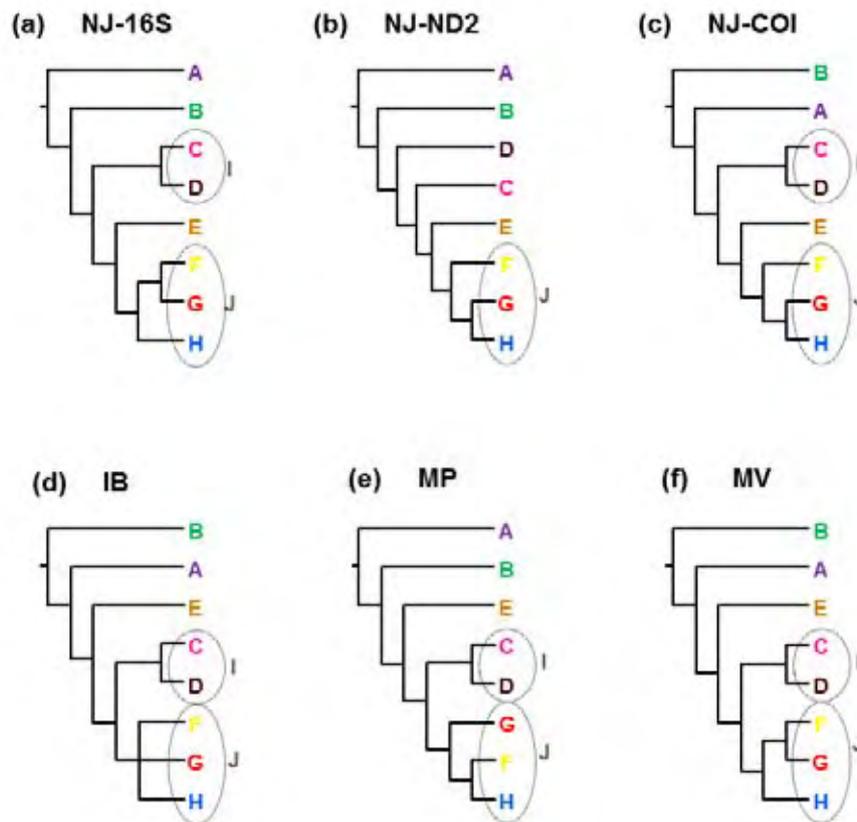
**Figura 5:** Árvore resultante da análise sob Inferência Bayesiana (IB) para as espécies de *Thoropa* grupo *miliaris*. Comprimentos dos ramos dos grupos externos são irrealis. Valores acima ou próximo aos nós, separados por “/”, indicam respectivamente: probabilidades a posteriori, “bootstrap” para Máxima Verossimilhança (MV) e “bootstrap” para Máxima Parcimônia (MP). O sinal “-” indica valores de suporte não fornecidos pela análise. A barra de escala dos ramos indica o número esperado de substituições nucleotídicas por sítio.



**Figura 6:** Distribuição dos grandes clados encontrados nas análises de Neighbor-Joining e distância- $p$  do fragmento de 16S para as espécies de *Thoropa grupo miliaris*. Altitudes mostradas em cinza variam em gradiente, a partir de branco (intervalo de 0 a 100 m acima do nível do mar) e indo até preto (de 2900 a 3000 m acima do nível do mar).

H. Entretanto, na análise de NJ de COI e nas análises de MV e IB feitas para a matriz concatenada, o clado B é grupo irmão de todos os outros e A é irmão de C + D + E + F + G + H.

Outra diferença é quanto ao agrupamento de alguns clados. O agrupamento I (C + D) aparece em todas as análises, exceto na análise de NJ de ND2. O agrupamento J (F + G) aparece apenas na análise de NJ de 16S e na análise por MV da matriz concatenada. O clado E aparece irmão de K nas análises de NJ e irmão de I + K nas análises por IB, MP e MV.



**Figura 7:** Análise de sensibilidade das topologias encontradas para as espécies de *Thoropa* grupo *miliaris*. (a) Neighbor-Joining para 16S; (b) Neighbor-Joining para ND2; (c) Neighbor-Joining para COI; (d) análise por Inferência Bayesiana; (e) análise com Máxima Parcimônia; e (f) análise com Máxima Verossimilhança. Clados de A a H e agrupamentos I e J seguem a descrição do texto.

## 2. Distribuição da diversidade genética dentro dos clados

As diversidades genéticas encontradas para o fragmento de 16S considerando cada clado separado e todos os indivíduos juntos encontram-se na Tabela 3. As distâncias intraclados e interclados, calculadas por distância-*p*, encontram-se na Tabela 4. As redes de haplótipos, calculadas com o programa TCS V.1.21 (Templeton et al. 1992) para cada clado estão descritas a seguir.

**Tabela 3:** Estatísticas sumárias de diversidade genética para os clados encontrados de *Thoropa* grupo *miliaris* e para todos os indivíduos juntos, para o fragmento de 16S, sendo N o número de sequências consideradas, H o número de haplótipos, Hd a diversidade haplotípica,  $\pi$  a diversidade nucleotídica e  $\sigma$  o desvio padrão.

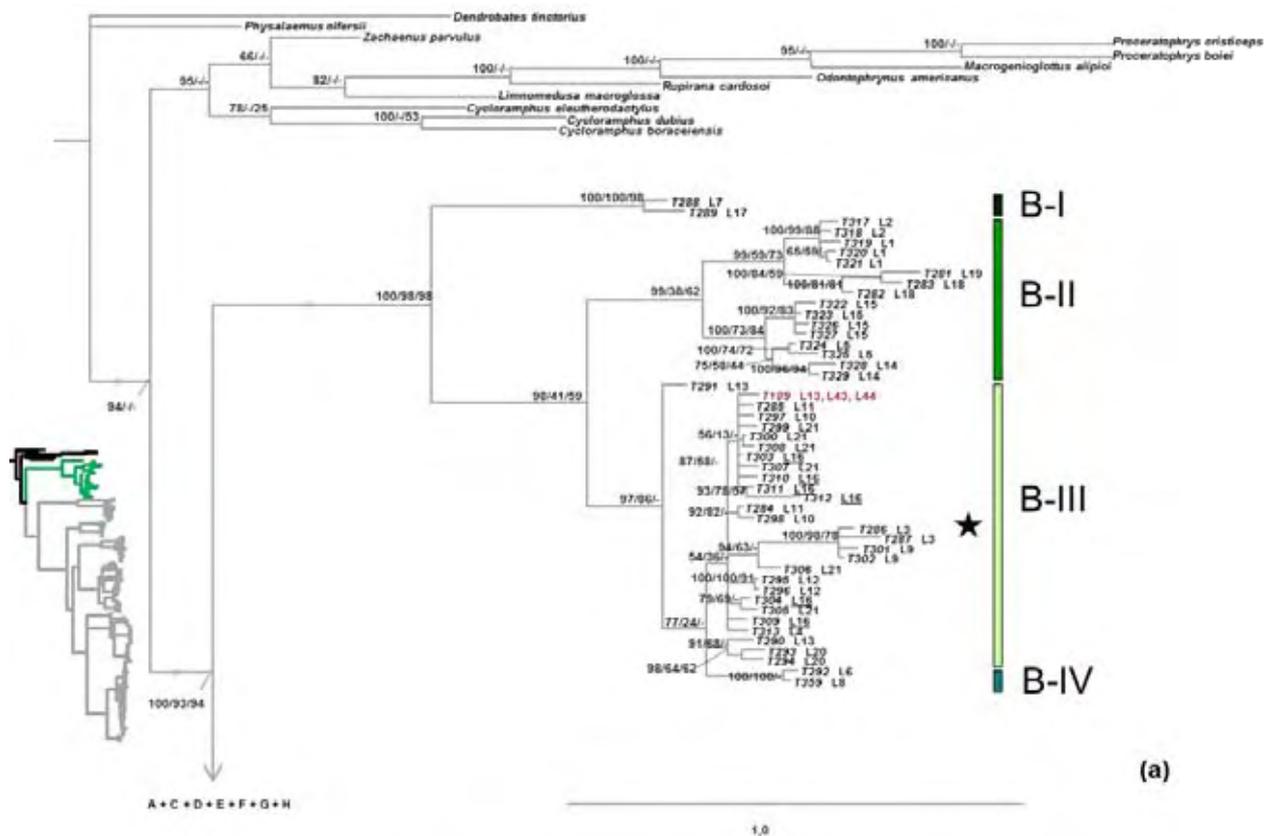
Clado	16S			
	N	H	Hd ( $\sigma$ )	$\pi$ ( $\sigma$ )
A	34	13	0,898 (0,025)	0,01429 (0,00279)
B	61	26	0,878 (0,035)	0,01118 (0,00141)
C	38	16	0,878 (0,041)	0,01434 (0,00154)
D	87	27	0,926 (0,013)	0,01573 (0,00207)
E	23	4	0,597 (0,063)	0,01270 (0,00090)
F	7	3	0,667 (0,160)	0,00136 (0,00042)
G	72	9	0,727 (0,032)	0,01126 (0,00070)
H	167	13	0,804 (0,015)	0,00814 (0,00050)
Todos	486	94	0,963 (0,003)	0,04142 (0,00086)



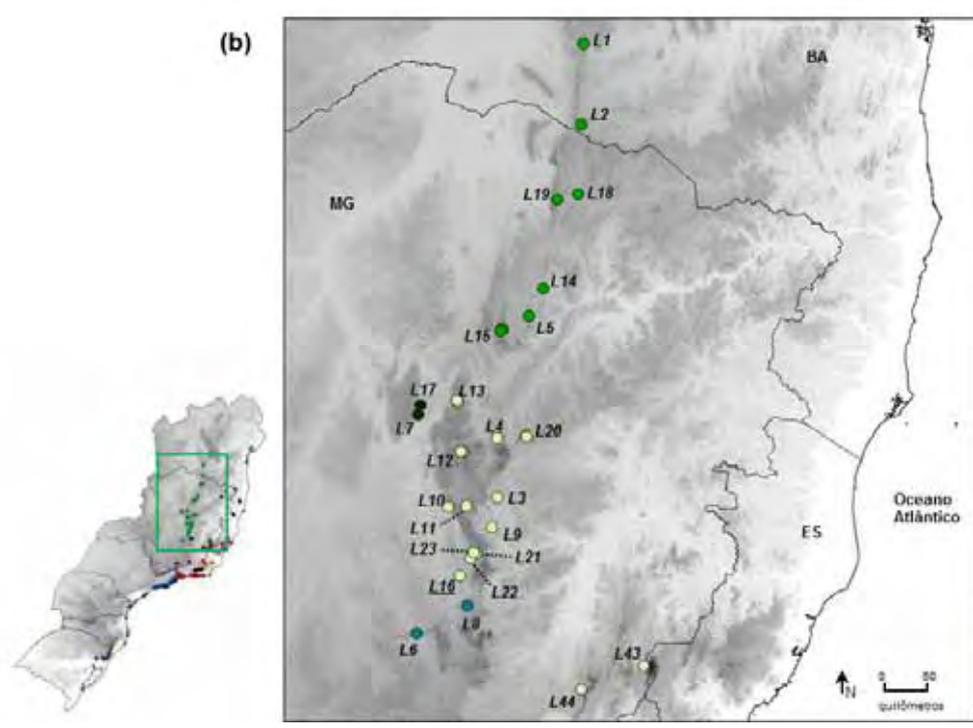
O clado B (*Thoropa megatympanum*) possui alta diversidade genética (Tabela 3) e é muito divergente dos cladogramas A, C, D, E, F, G e H (Tabela 4). Considerando a topologia resultante da análise por Inferência Bayesiana (Figura 5), o clado B é estruturado, com quatro grupos internos (aqui chamados de haplogrupos): B-I, B-II, B-III e B-IV (Figura 8), todos distribuídos ao longo da Cadeia do Espinhaço (estados de Minas Gerais e Bahia). O haplogrupo B-I possui apenas dois terminais, de Joaquim Felício-MG (L17) e Buenópolis-MG (L7), na Serra do Cabral, a oeste do Espinhaço. O haplogrupo B-II distribuiu-se na região norte do Espinhaço (Espinhaço Setentrional) e está estruturado em dois outros grupos internos: um com indivíduos de Caetité-BA (L1), Jacaraci-BA (L2) e Rio Pardo de Minas-MG (L18-19) e outro com Augusto de Lima-MG (L4), Grão Mogol-MG (L14) e Itacambira-MG (L15). O haplogrupo B-III é o grupo mais amplo. Inclui topótipos de *T. megatympanum* (Jaboticatubas-MG) e abrange principalmente a porção sul da Cadeia do Espinhaço (Espinhaço Meridional), nas localidades de Alvorada de Minas-MG (L3), Augusto de Lima-MG (L4), Conceição do Mato Dentro-MG (L9-10), Congonhas do Norte-MG (L11), Diamantina-MG (L12-13), Jaboticatubas-MG (L16), Rio Vermelho-MG (L20), Santana do Riacho-MG (L21-23). Além disso, esse haplogrupo inclui também duas localidades fora do Espinhaço: Alto Caparaó-MG (L43) e Araçuaia-MG (L44), ambas localizadas nas Serras da Mantiqueira/Caparaó. O haplogrupo B-IV possui dois terminais, das localidades de Brumadinho-MG (L6) e Caeté-MG (L8), ambos localizados nas Serras do Quadrilátero Ferrífero.

Na rede de haplótipos do clado B, os haplogrupos B-I e B-IV aparecem bem distantes dos outros dois grupos (mais de dez passos mutacionais) (Figura 9). O haplogrupo B-II possui dez haplótipos únicos e dois haplótipos compartilhados, relativamente distantes entre si, mostrando uma estruturação forte. Por outro lado, o haplogrupo B-III apresentou dois haplótipos compartilhados, sendo um deles compartilhado por indivíduos de sete localidades.

O grande clado de *Thoropa saxatilis* (clado A) também possui alta diversidade interna (Tabela 3) e é altamente divergente dos demais cladogramas (Tabela 4). Ele está estruturado em dois haplogrupos: A-I e A-II, distribuídos pela encosta da Serra Geral (estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul – Figura 10) nas proximidades com o Planalto das Araucárias. A-I corresponde apenas a localidade de Timbé do Sul-SC (L135), a localidade mais a norte da amostragem. O haplogrupo A-II tem pouca estrutura interna e abrange a parte sul da distribuição da amostragem, nas localidades de Praia Grande-SC (L133-134), Maquiné-RS (L136), Riozinho-RS (L137), São Francisco de Paula-RS (L138), Sapiranga-RS (L139) e Três Forquilhas-RS (L140). Um dos grupos internos de A-II é formado por terminais de

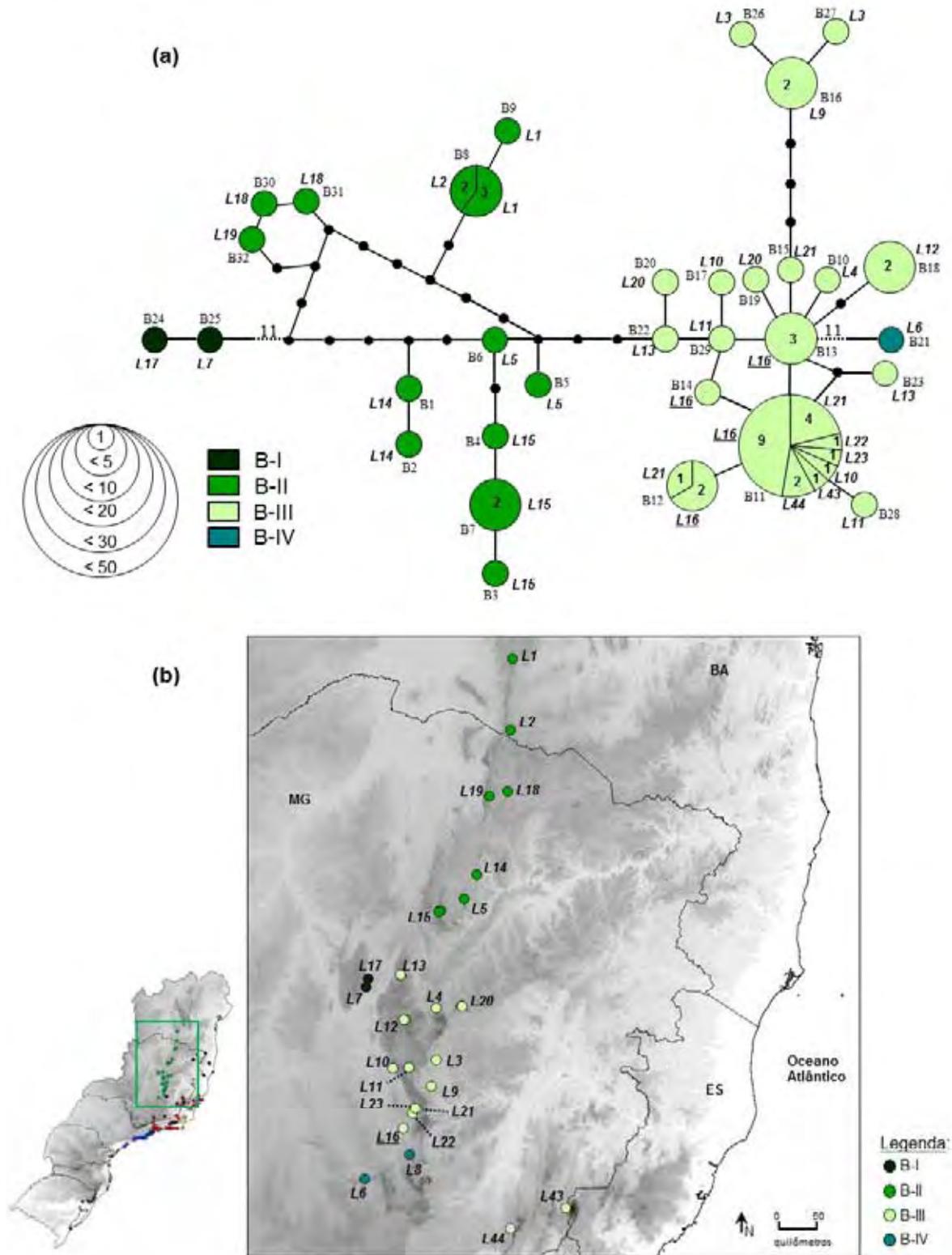


(a)

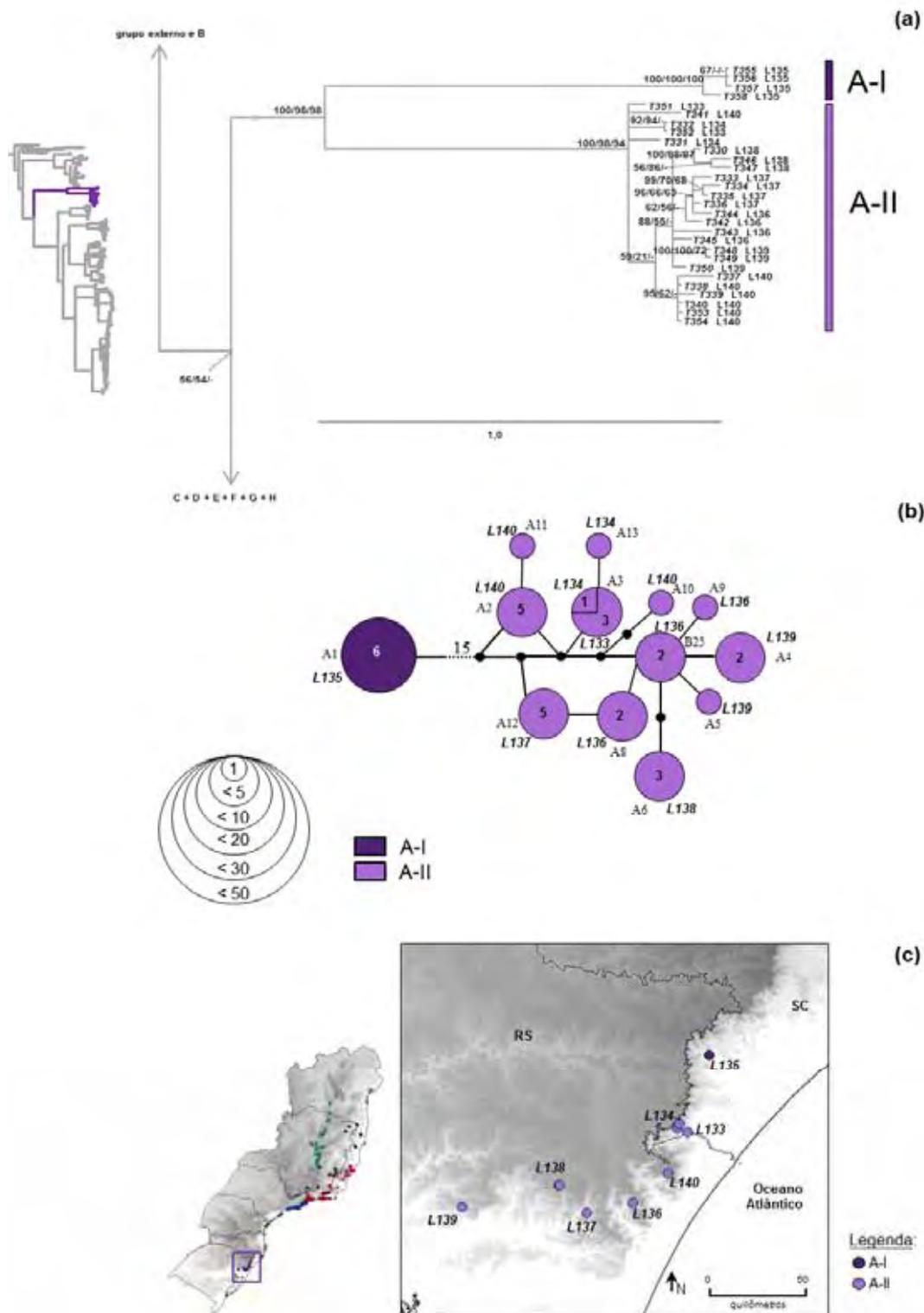


(b)

**Figura 8:** Clado B (*Thoropa megatympanum*). (a) topologia derivada da análise sob IB: comprimentos dos ramos dos grupos externos são irreais; valores acima ou próximo aos nós, separados por “/”, indicam respectivamente: probabilidades a posteriori, “bootstrap” para MV e “bootstrap” para MP; sinal “-” indica valores de suporte não fornecidos pela a análise; barra de escala dos ramos indica o número esperado de substituições nucleotídicas por sítio; terminais em vermelho são compartilhados entre indivíduos de localidades diferentes; estrela preta indica posição dos topótipos. (b) mapa de distribuição dos grupos internos encontrados para o clado, com códigos das localidades. Localidade-tipo encontra-se sublinhada.



**Figura 9:** Clado B (*Thoropa megatympanum*). (a) rede de haplótipos do fragmento de 16S: códigos das localidades e números dos haplótipos encontram-se próximos aos círculos; números dentro dos círculos indicam número de indivíduos que compartilham o haplótipo, exceto para haplótipos únicos. (b) mapa de distribuição dos grupos internos encontrados para o clado, com códigos das localidades. Localidade-tipo encontra-se sublinhada.



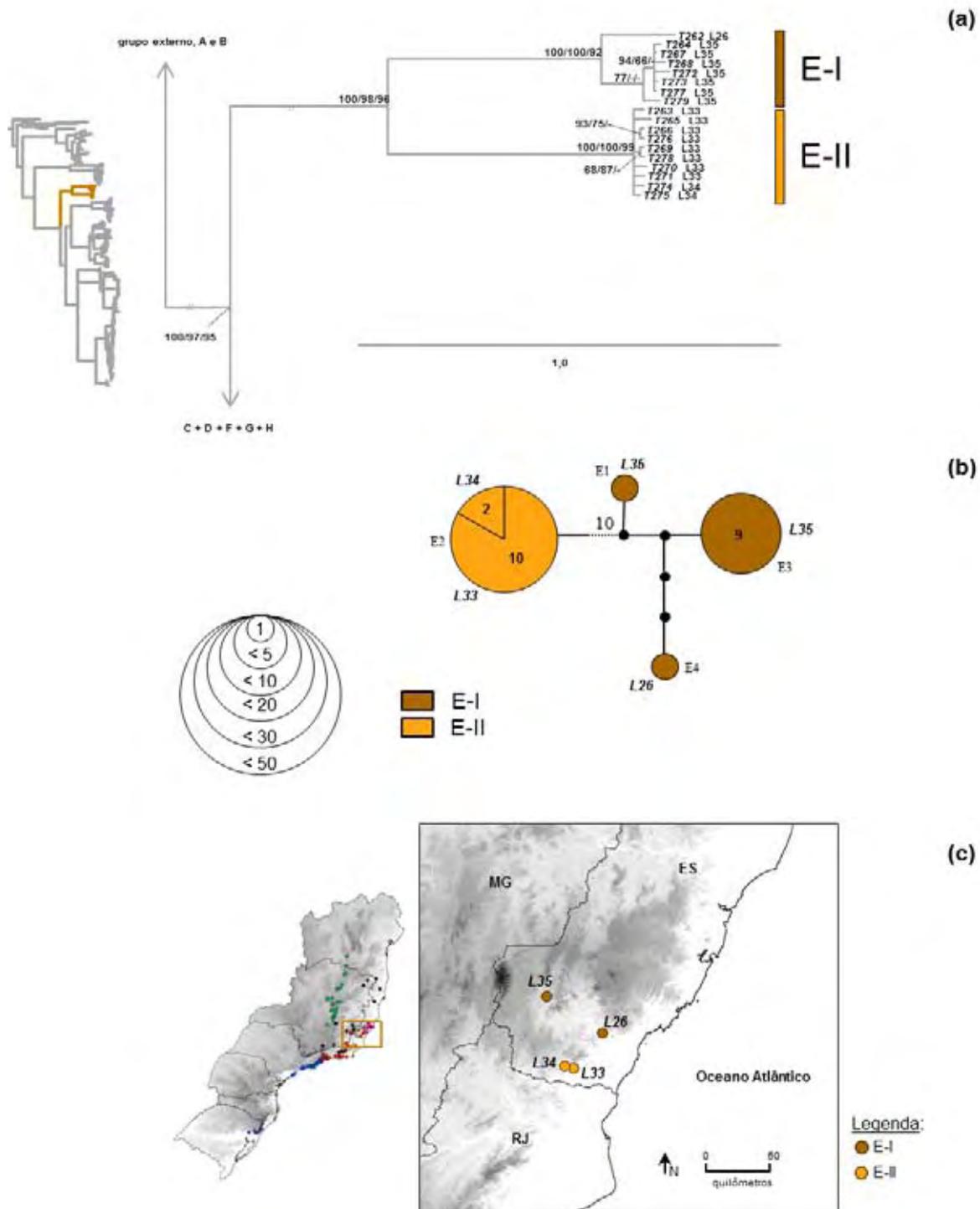
**Figura 10:** Clado A (*Thoropa saxatilis*). (a) topologia derivada da análise sob IB: valores acima ou próximo aos nós, separados por “/”, indicam respectivamente: probabilidades a posteriori, “bootstrap” para MV e “bootstrap” para MP; sinal “-” indica valores de suporte não fornecidos pela a análise; barra de escala dos ramos indica o número esperado de substituições nucleotídicas por sítio. (b) rede de haplótipos do fragmento de 16S: códigos das localidades e números dos haplótipos encontram-se próximos aos círculos; números dentro dos círculos indicam número de indivíduos que compartilham o haplótipo, exceto para haplótipos únicos. (c) mapa de distribuição dos grupos internos encontrados para o clado, com códigos das localidades.

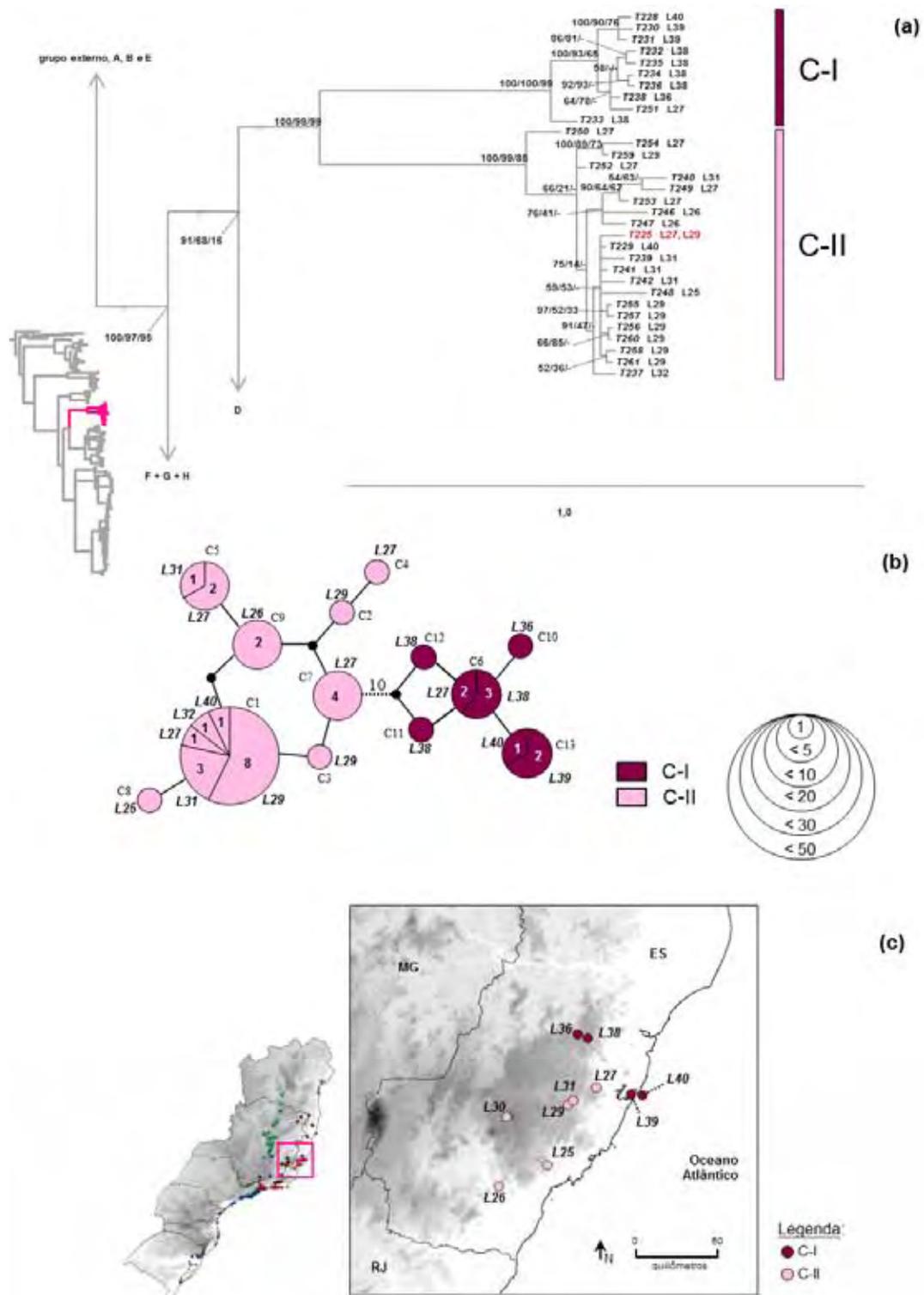
Maquiné-RS (L136), Riozinho-RS (L137), São Francisco de Paula-RS (L138) e Sapiranga-RS (L139). E o outro grupo interno de A-II é formado por alguns indivíduos de Três Forquilhas-RS (L140). A rede de haplótipos do clado A (Figura 10) mostra o haplogrupo A-I representado como um único haplótipo e separado do de A-II por mais de 15 passos mutacionais. A rede do haplogrupo A-II possui haplótipos compartilhados entre vários indivíduos, porém apenas um haplótipo compartilhado entre mais de uma localidade.

O clado E de *Thoropa miliaris* é um clado endêmico das localidades de Muniz Freire-ES (L35; indivíduos registrados como *T. sp. nv.*), Mimoso do Sul-ES (L33-34) e Cachoeiro de Itapemirim-ES (L26), e apresentou dois haplogrupos: E-I formado pelos indivíduos de Muniz Freire-ES (L35) e Cachoeiro de Itapemirim-ES (L26) e E-II formado pelos indivíduos de Mimoso do Sul-ES (L33-34) (Figura 11). Dessas localidades, a única que não é exclusiva do clado E é Cachoeiro de Itapemirim-ES (L26). O clado E localiza-se na Serra do Castelo (parte das Serras da Mantiqueira/Caparaó). Apesar de bastante divergentes entre si, os haplogrupos E-I e E-II têm baixa diversidade interna. Na rede de haplótipos, E-I diferencia-se de E-II em mais de dez passos mutacionais (Figura 11). A rede de E-I possui três haplótipos, sendo um deles compartilhado por vários indivíduos e a rede de E-II possui um único haplótipo, compartilhado por todos os indivíduos.

O clado C de *Thoropa miliaris* distribuiu-se na metade sul do estado do Espírito Santo (Figura 12), também na Serra do Castelo (Serras da Mantiqueira/Caparaó). Está estruturado em dois subclados: C-I e C-II, bastante divergentes entre si, porém com maiores diversidades internas quando comparados aos haplogrupos E-I e E-II. O haplogrupo C-I tem uma relativa estrutura interna, com um pequeno grupo formado por indivíduos de Vitória-ES (L39-40) e outro grupo formado por indivíduos de Cariacica-ES (L27), Santa Leopoldina-ES (L36) e Santa Teresa-ES (L38). C-II tem pouca estrutura interna, e inclui indivíduos de Anchieta-ES (L25), Cachoeiro de Itapemirim-ES (L26), Cariacica-ES (L27), Domingos Martins-ES (L29, L31-32) e Vitória-ES (L40). Os haplogrupos C-I e C-II são muito divergentes entre si e mostram maior diversidade interna quando comparado com os haplogrupos do clado E. Nas redes de haplótipos, os haplogrupos C-I e C-II apresentaram-se diferentes em mais de dez passos mutacionais (Figura 12). C-I possui poucos haplótipos, alguns únicos e alguns compartilhados entre diferentes localidades C-II tem mais haplótipos do que C-I, sendo um deles compartilhado entre cinco localidades.

O clado D de *Thoropa miliaris* é um clado predominantemente composto por indivíduos de regiões montanhosas, dos estados da Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo e Rio de Janeiro (Figura 13). É o clado que possui maiores diversidades genéticas entre todos os oito clados (Tabela 3) e está estruturado em quatro grupos principais: D-I, D-II, D-III e D-IV.



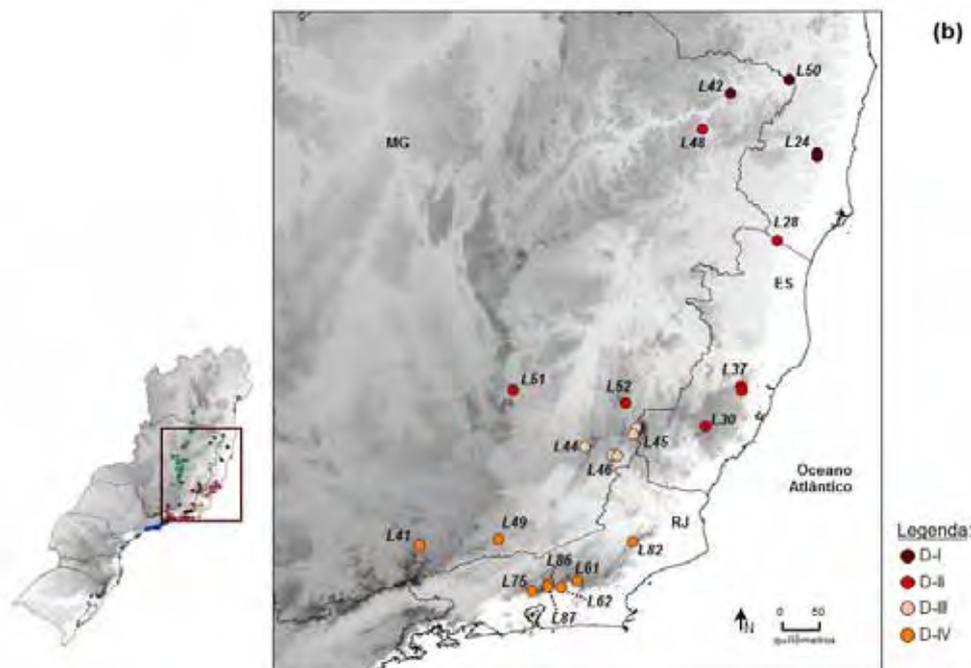
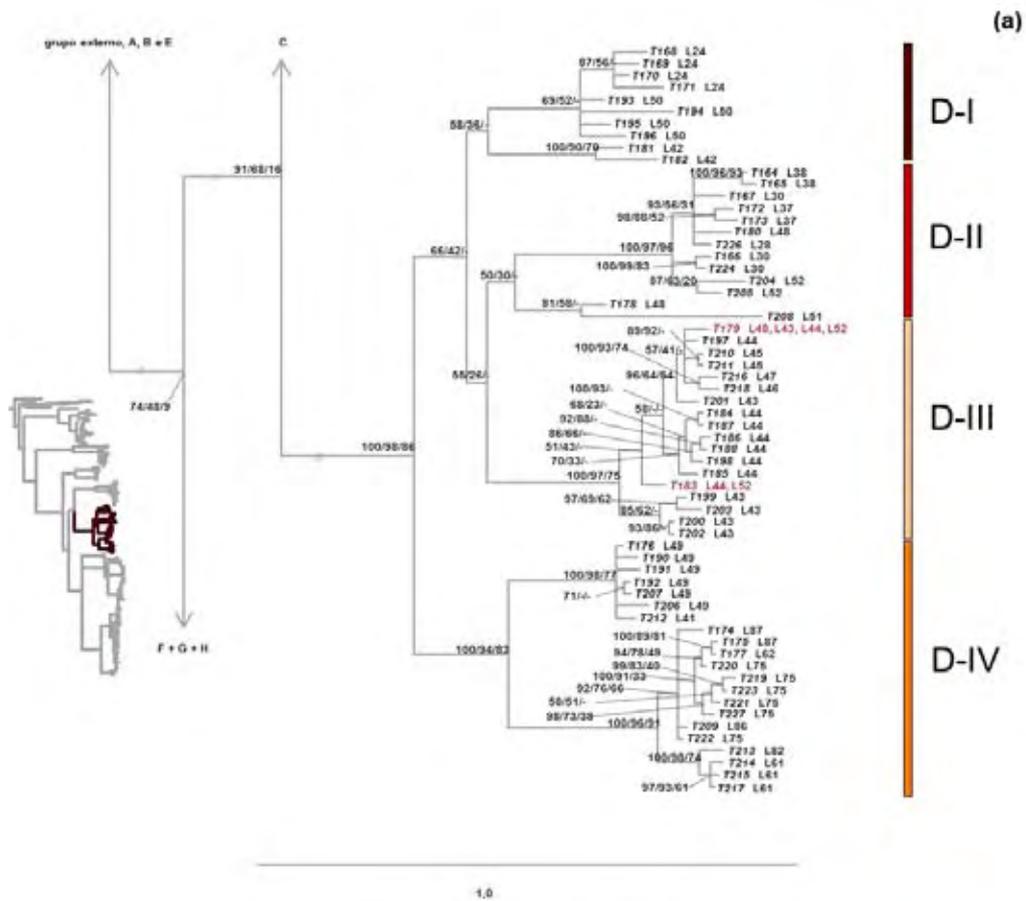


**Figura 12:** Clado C (*Thoropa miliaris*). (a) topologia derivada da análise sob IB: valores acima ou próximo aos nós, separados por “/”, indicam respectivamente: probabilidades a posteriori, “bootstrap” para MV e “bootstrap” para MP; sinal “-” indica valores de suporte não fornecidos pela a análise; barra de escala dos ramos indica o número esperado de substituições nucleotídicas por sítio; terminais em vermelho indicam terminais compartilhados entre indivíduos de localidades diferentes. (b) rede de haplótipos do fragmento de 16S: códigos das localidades e números dos haplótipos encontram-se próximos aos círculos; números dentro dos círculos indicam número de indivíduos que compartilham o haplótipo, exceto para haplótipos únicos; (c) mapa de distribuição dos grupos internos encontrados para o clado, com códigos das localidades.

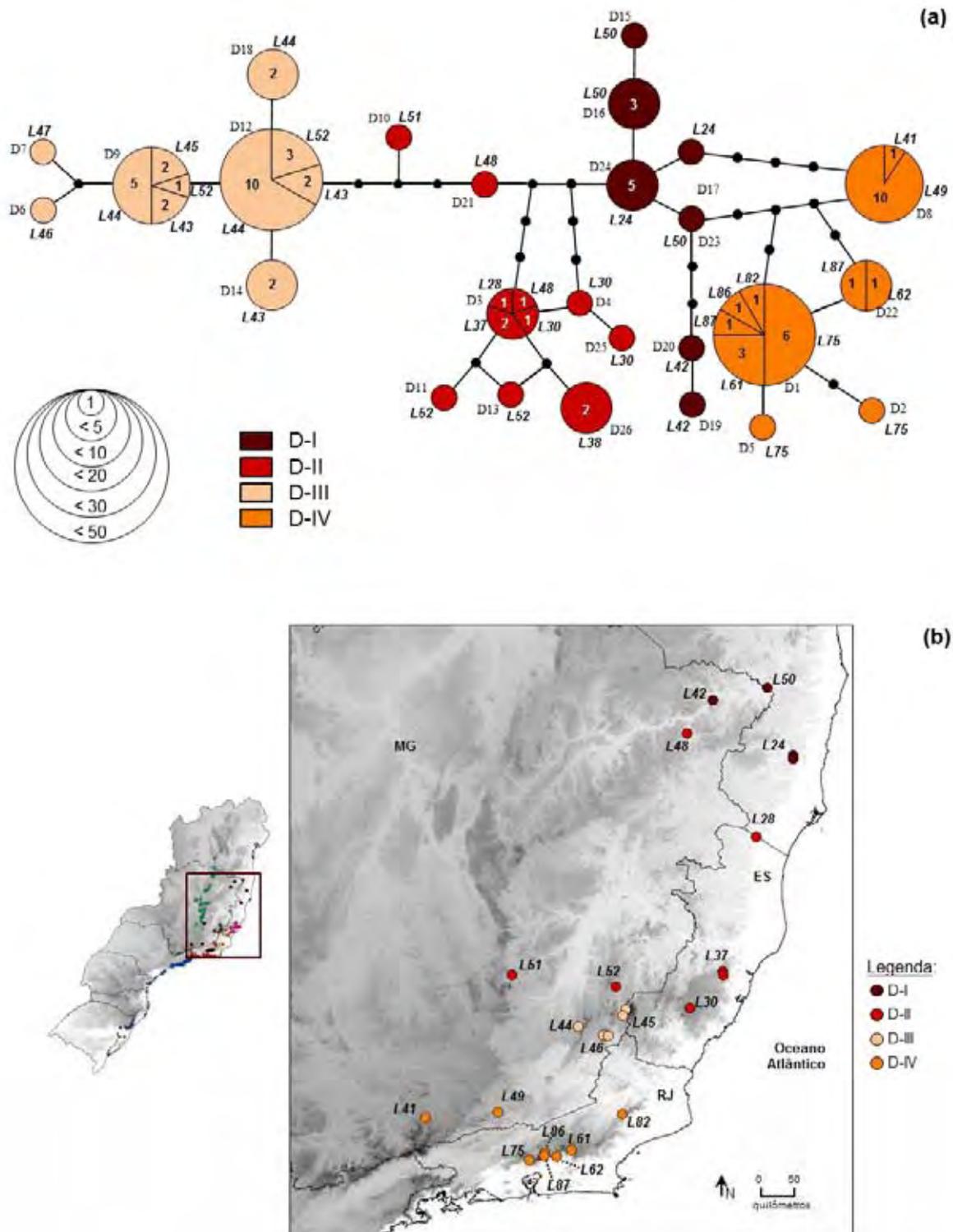
O haplogrupo D-I possui pouca estrutura interna, e inclui as localidades de Itamaraju-BA (L24), Almenara-MG (L42) e Salto da Divisa-MG (L50), localizadas nas encostas da Depressão dos Rios Jequitinhonha e Pardo, e nos Patamares e Planalto dos Rios Jequitinhonha e Mucuri. O haplogrupo D-II é um pouco mais estruturado que o D-I e inclui indivíduos de Pedro Canário-ES (L28), Domingos Martins-ES (L30), Santa Teresa-ES (L37-38), Joáima-MG (L48) e Simonésia-MG (L52) (Serras da Mantiqueira/Caparaó) e um indivíduo em Santa Bárbara-MG (L51) (Serra do Espinhaço Meridional). D-III é o haplogrupo com maior estrutura interna dos haplogrupos do clado D e é exclusivo da Serra do Caparaó, distribuindo-se por Alto Caparaó-MG (L43), Araponga-MG (L44), Caparaó-MG (L45), Carangola-MG (L46-47), Joáima-MG (L48) e Simonésia-MG (L52). Por fim, o haplogrupo D-IV abrange indivíduos da Serra dos Órgãos e da Serra da Mantiqueira/Itatiaia, nas localidades de Aiuruoca-MG (L41), Lima Duarte-MG (L49), Cachoeiras de Macacu-RJ (L61-L62), Petrópolis-RJ (L75), Santa Maria Madalena-RJ (L82) e Teresópolis-RJ (L86-87). As redes de haplótipos encontradas para o haplogrupo D mostram poucas diferenças quanto ao número de passos mutacionais entre os grupos internos do clado (Figura 14). D-I possui alguns haplótipos únicos e dois haplótipos compartilhados entre indivíduos de mesma localidade. D-II possui vários haplótipos únicos, um haplótipo compartilhado com indivíduos de mesma localidade e um haplótipo compartilhado entre indivíduos de diferentes localidades. D-III possui poucos haplótipos, sendo que dois deles são compartilhados com indivíduos de localidades diferentes. E D-IV possui, assim como D-III, poucos haplótipos, sendo dois comuns a indivíduos de diferentes pontos amostrais.

O clado F é o menor clado de *Thoropa miliaris*, sendo também o menos diverso geneticamente (Tabela 3). Apesar disso, é bastante divergente dos cladros A, B C, D, E, G e H (Tabela 4). Inclui, em sua maioria, indivíduos do Parque Estadual do Desengano em Santa Maria Madalena-RJ (L80, L83-84) e Macaé-RJ (L64) (Figura 15). Na rede de haplótipos, esse clado mostrou apenas três haplótipos, sendo um deles haplótipo único (de Macaé-RJ) e os outros dois haplótipos compartilhados (de Santa Maria Madalena-RJ) (Figura 15).

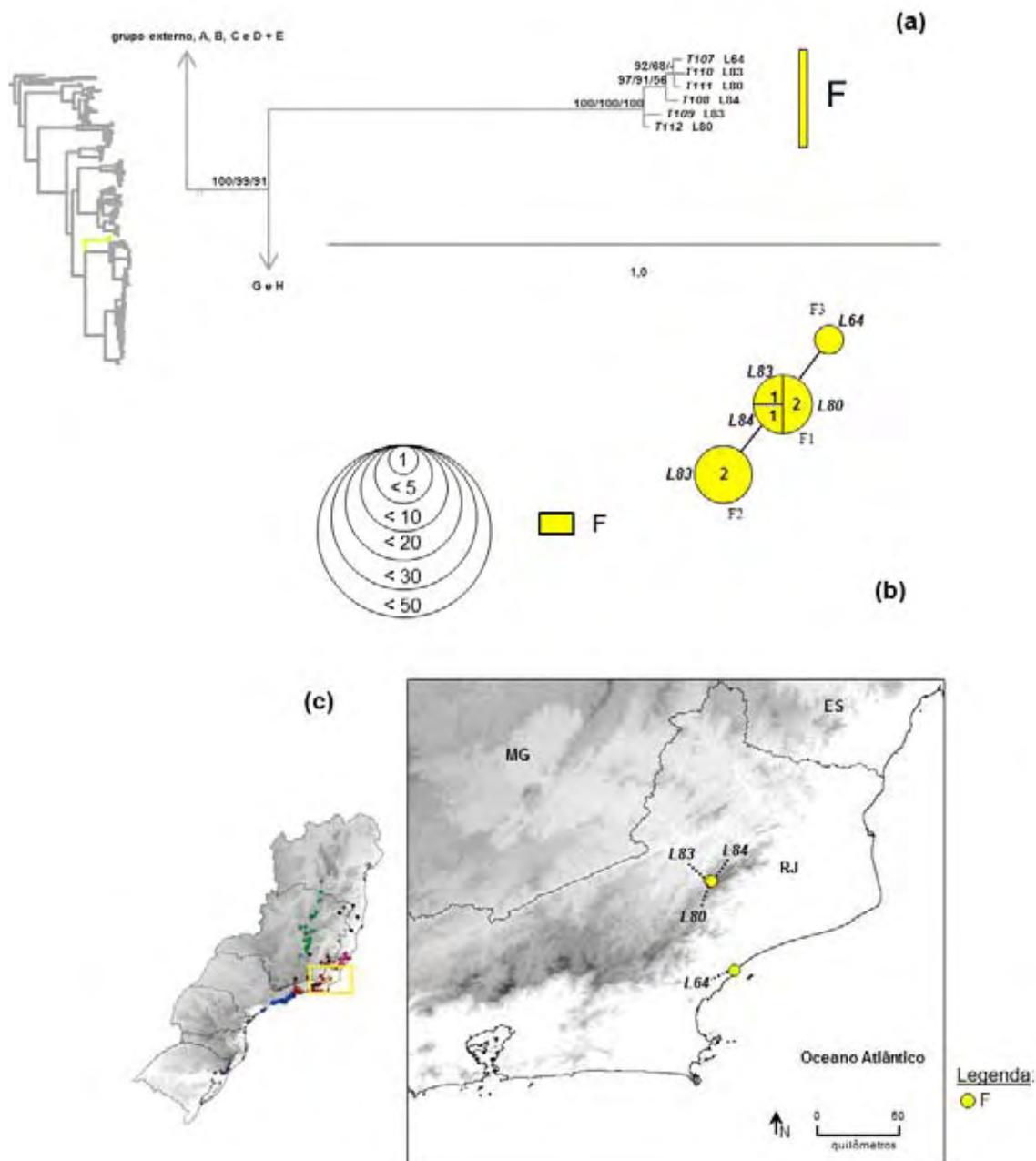
O clado G inclui os topótipos de *Thoropa miliaris* (Praia Vermelha, Urca, Rio de Janeiro-RJ) e está distribuído principalmente por regiões litorâneas do estado do Rio de Janeiro (Figura 16). O clado G possui baixa diversidade genética (Tabela 3) e está estruturado em quatro subgrupos (G-I, G-II, G-III e G-IV). O haplogrupo G-I é o mais bem estruturado dos quatro grupos, distribui-se na Serra da Mantiqueira/Caparaó e na Serra da Mantiqueira/Itatiaia, nas localidades de Carangola-MG (L47) e de Volta Grande-MG (L53). O haplogrupo G-II é da Serra dos Órgãos, e inclui as localidades de Cantagalo-RJ (L63) e de



**Figura 13:** Clado D (*Thoropa miliaris*). (a) topologia derivada da análise sob IB: valores acima ou próximo aos nós, separados por “/”, indicam respectivamente: probabilidades a posteriori, “bootstrap” para MV e “bootstrap” para MP; sinal “-” indica valores de suporte não fornecidos pela a análise; barra de escala dos ramos indica o número esperado de substituições nucleotídicas por sítio; terminais em vermelho são compartilhados entre indivíduos de localidades diferentes. (b) mapa de distribuição dos grupos internos encontrados para o clado, com códigos das localidades.



**Figura 14:** Clado D (*Thoropa miliaris*). (a) rede de haplótipos do fragmento de 16S: códigos das localidades e números dos haplótipos encontram-se próximos aos círculos; números dentro dos círculos indicam número de indivíduos que compartilham o haplótipo, exceto para haplótipos únicos. (b) mapa de distribuição dos grupos internos encontrados para o clado, com códigos das localidades.

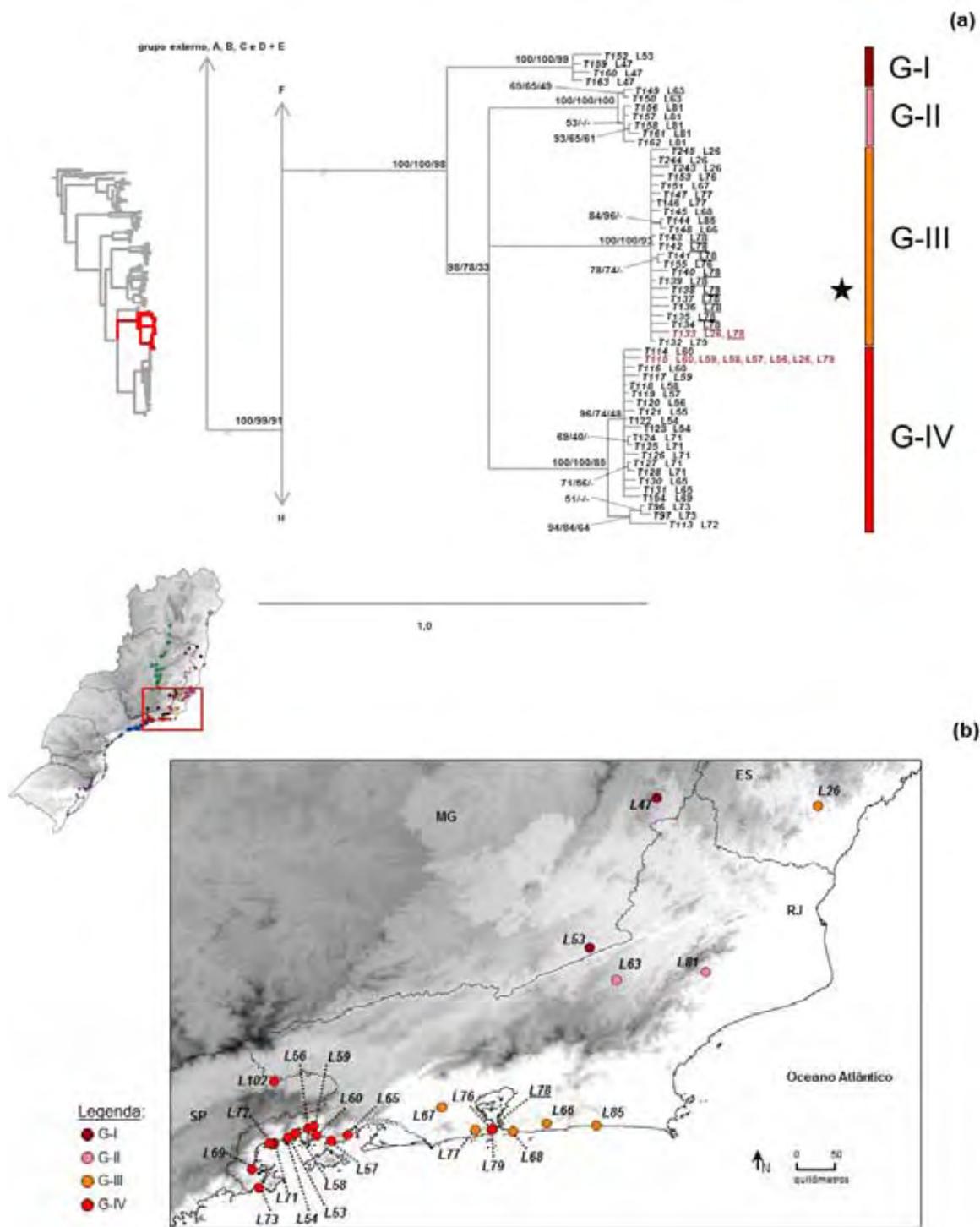


**Figura 15:** Clado F (*Thoropa miliaris*). (a) topologia derivada da análise sob IB: valores acima ou próximo aos nós, separados por “/”, indicam respectivamente: probabilidades a posteriori, “bootstrap” para MV e “bootstrap” para MP; sinal “-” indica valores de suporte não fornecidos pela a análise; barra de escala dos ramos indica o número esperado de substituições nucleotídicas por sítio. (b) rede de haplótipos do fragmento de 16S: códigos das localidades e números dos haplótipos encontram-se próximos aos círculos; números dentro dos círculos indicam número de indivíduos que compartilham o haplótipo, exceto para haplótipos únicos; (c) mapa de distribuição dos grupos internos encontrados para o clado, com códigos das localidades.

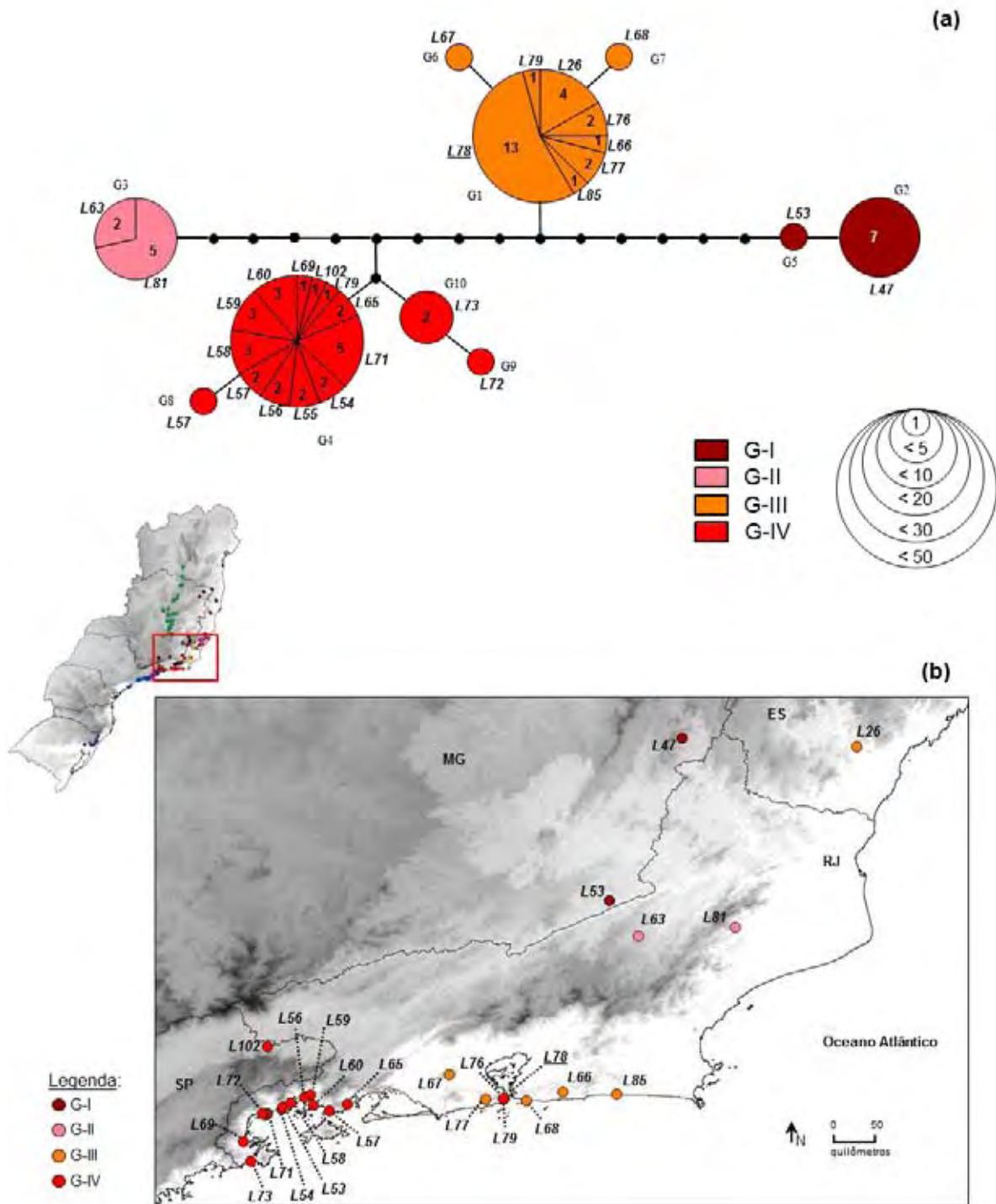
Santa Maria Madalena-RJ (L81). G-III distribui-se por Planícies Marinhas do Rio de Janeiro em Maricá-RJ (L66), Mesquita-RJ (L67), Niterói-RJ (L68), Rio de Janeiro-RJ (L76-79) e Saquarema-RJ (L85) e inclui também indivíduos de Cachoeiro de Itapemirim-ES (L26) (Serra do Castelo – Serra da Mantiqueira/Caparaó). O haplogrupo G-IV inclui indivíduos do

Rio de Janeiro-RJ (L79), Mangaratiba-RJ (L65), Angra dos Reis-RJ (L54-60), Paraty-RJ (L69, L71-73) e São José do Barreiro-SP (L102) (Serra da Bocaina). As redes de haplótipos do clado G são relativamente diferentes entre si considerando quantidades de passos mutacionais (Figura 17). G-I tem apenas dois haplótipos, sendo um único e um compartilhado entre indivíduos de mesma localidade. G-II tem apenas um haplótipo compartilhado entre as duas localidades do grupo. G-III tem três haplótipos, sendo dois únicos e um compartilhado entre indivíduos de sete localidades diferentes. E G-IV tem quatro haplótipos, sendo que um deles é compartilhado entre indivíduos de 11 localidades.

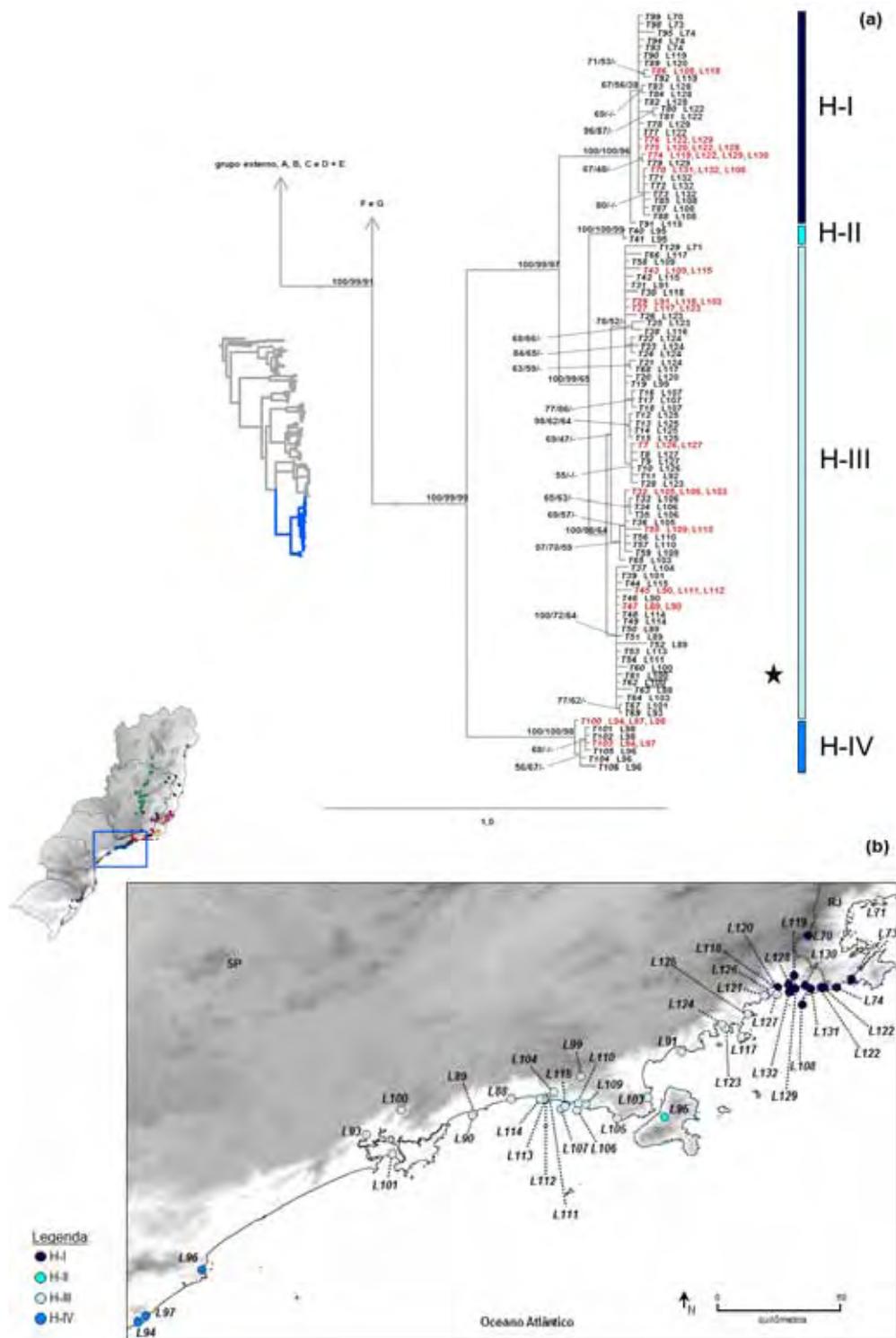
Por fim, o clado H é o clado de *Thoropa taophora* (Figura 18), predominantemente litorâneo. É um clado muito amplo e bastante divergente dos outros clados de *T. grupo miliaris* (A, B, C, D, E, F, G), porém com pouca diversidade interna (Tabela 3) e pouca estrutura interna. Está dividido em quatro haplogrupos principais: H-I, H-II, H-III e H-IV. O haplogrupo H-I é um grupo principalmente do nordeste litoral do estado de São Paulo, e abrange Paraty-RJ (L70, L73-74), Ubatuba-SP (L118-122, L128-132) e São Sebastião-SP (L108). H-II é um grupo pequeno, endêmico de Ilhabela-SP (L95). O haplogrupo H-III é o maior grupo de *T. taophora* e inclui os topótipos da espécie (Santo André-SP) do Planalto de Paranapiacaba. Ele abrange o município de Paraty-RJ (L71), Bertioga-SP (L88-90), Caraguatatuba-SP (L91-92), Cubatão-SP (L93), Salesópolis-SP (L99), Santo André-SP (L100), Santos-SP (L101), São Sebastião-SP (L103-107, L109-116) e Ubatuba-SP (L117-118, L120-121, L123-127). E finalmente, o haplogrupo H-IV é um grupo endêmico da região da Estação Ecológica Juréia-Itatins, nas localidades de Iguape-SP (L94; indivíduos registrados como *T. sp.*) e Peruíbe-SP (L96-98; alguns indivíduos registrados como *T. sp.*). As redes de haplótipos do clado H mostram um padrão semelhante ao padrão das redes do clado G, porém com haplótipos compartilhados entre muitas localidades e poucos passos mutacionais de diferenças entre os grupos H-I, H-II, H-III e H-IV (Figura 19). O haplogrupo H-I tem apenas três haplótipos, sendo um deles compartilhado entre indivíduos de 13 localidades diferentes. H-II possui um único haplótipo compartilhado entre todos os indivíduos da localidade. H-III possui poucos haplótipos, sendo que um deles é compartilhado por indivíduos de 15 localidades diferentes, um compartilhado entre indivíduos de cinco localidades diferentes e outro compartilhado por indivíduos de 12 localidades diferentes. E por fim, o haplogrupo H-IV apresentou apenas um haplótipo, compartilhado entre todos os pontos amostrais do clado.



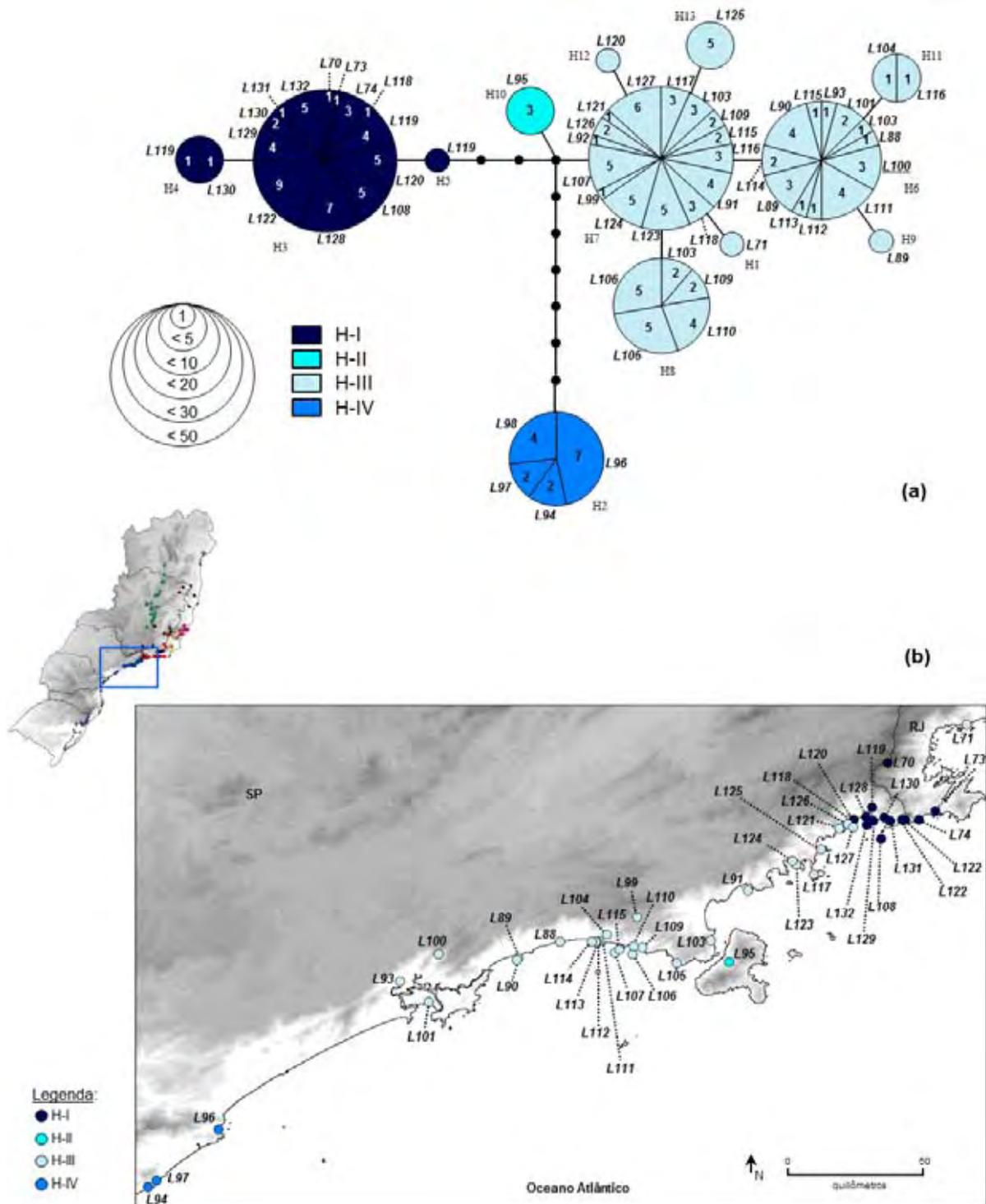
**Figura 16:** Clado G (*Thoropa miliaris*). (a) topologia derivada da análise sob IB: valores acima ou próximo aos nós, separados por “/”, indicam respectivamente: probabilidades a posteriori, “bootstrap” para MV e “bootstrap” para MP; sinal “-” indica valores de suporte não fornecidos pela a análise; barra de escala dos ramos indica o número esperado de substituições nucleotídicas por sítio; terminais em vermelho são compartilhados entre indivíduos de localidades diferentes; estrela preta indica posição dos topótipos. (b) mapa de distribuição dos grupos internos encontrados para o clado, com códigos das localidades. Localidade-tipo encontra-se sublinhada.



**Figura 17:** Clado G (*Thoropa miliaris*). (a) rede de haplótipos do fragmento de 16S: códigos das localidades e números dos haplótipos encontram-se próximos aos círculos; números dentro dos círculos indicam número de indivíduos que compartilham o haplótipo, exceto para haplótipos únicos. (b) mapa de distribuição dos grupos internos encontrados para o clado, com códigos das localidades. Localidade-tipo encontra-se sublinhada.



**Figura 18:** Clado H (*Thoropa taophora*). (a) topologia derivada da análise sob IB: valores acima ou próximo aos nós, separados por “/”, indicam respectivamente: probabilidades a posteriori, “bootstrap” para MV e “bootstrap” para MP; sinal “-” indica valores de suporte não fornecidos pela a análise; barra de escala dos ramos indica o número esperado de substituições nucleotídicas por sítio; terminais em vermelho são compartilhados entre indivíduos de localidades diferentes; estrela preta indica posição dos topótipos. (b) mapa de distribuição dos grupos internos encontrados para o clado, com códigos das localidades. Localidade-tipo encontra-se sublinhada.



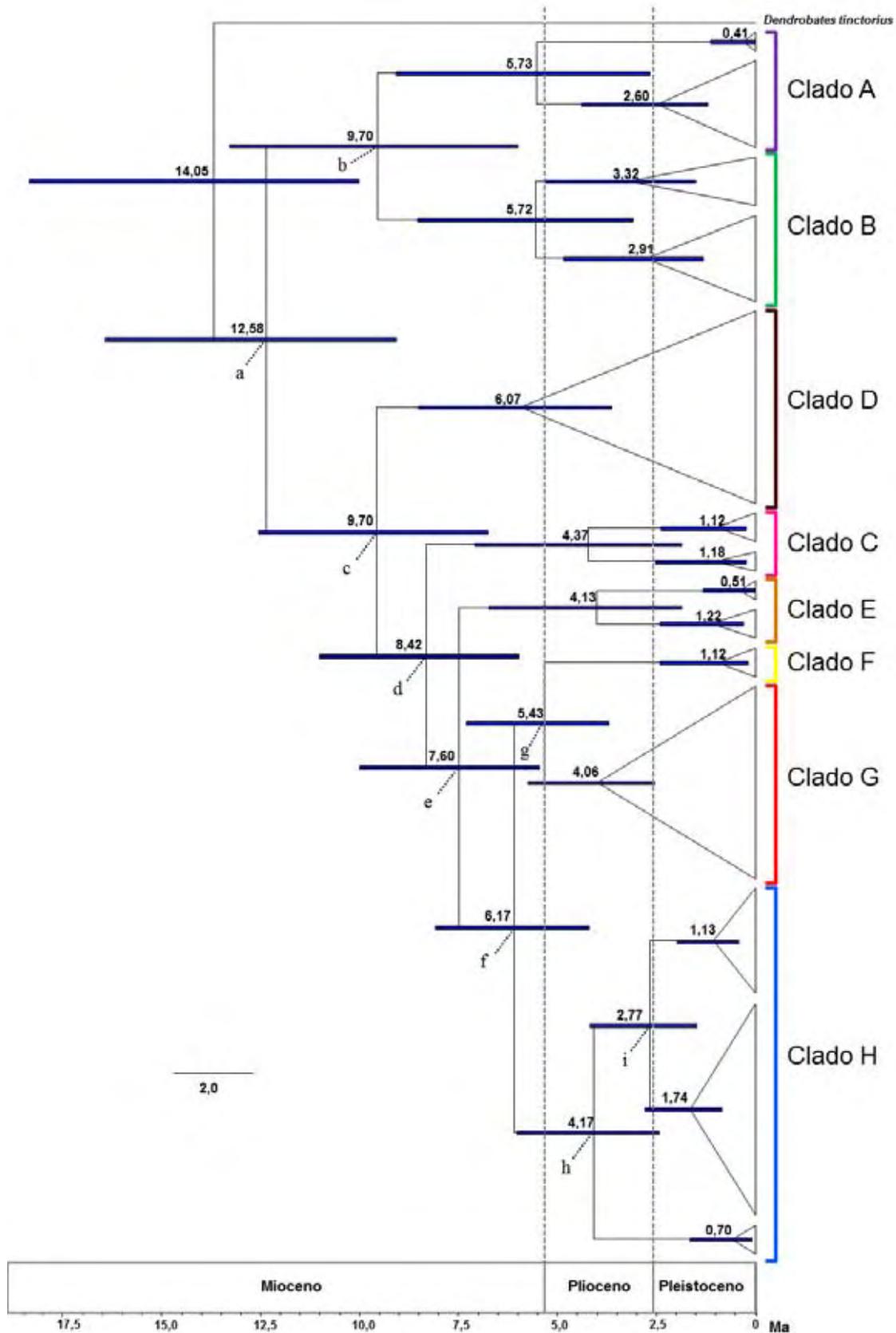
**Figura 19:** Clado H (*Thoropa taophora*). (a) rede de haplótipos do fragmento de 16S: códigos das localidades e números dos haplótipos encontram-se próximos aos círculos; números dentro dos círculos indicam número de indivíduos que compartilham o haplótipo, exceto para haplótipos únicos. (b) mapa de distribuição dos grupos internos encontrados para o clado, com códigos das localidades. Localidade-tipo encontra-se sublinhada.

#### 4. Estimativas de tempo

Os tempos dos ancestrais comuns mais recentes estimados para as linhagens de *Thoropa* grupo *miliaris* correspondem às épocas do Mioceno, Plioceno e Pleistoceno (Figura 20). O ancestral comum mais recente de todas as linhagens (nó a) data de cerca de 12,58 milhões de anos (Ma), no Mioceno. Segundo a topologia encontrada pelo BEAST v.1.6.1 (Drummond et al. 2012), os clados A (*T. saxatilis*) e B (*T. megatympanum*) formariam um grupo monofilético, cujo ancestral comum mais recente (nó b) data de cerca de 9,7 Ma (Mioceno). O nó c, que é o ancestral comum mais recente entre o clado D de *T. miliaris* e o agrupamento C + E + F + G + H também data de cerca de 9,7 Ma (Mioceno). O nó d data de cerca de 8,42 Ma e o nó e data de cerca de 7,6 Ma, ambos do Mioceno. O ancestral comum mais recente entre os clados F + G de *T. miliaris* e o clado H de *T. taophora* (nó f) data de cerca de 6,17 Ma (final do Mioceno e início do Plioceno). O nó g (ancestral comum mais recente entre os clados F e G) data de cerca de 5,43 Ma (final do Mioceno e início do Plioceno). O nó h data de cerca de 4,17 Ma (Plioceno) e o nó i data de cerca de 2,77 Ma (final do Plioceno e início do Pleistoceno). Os valores de tempos de divergência entre os clados calculados a partir do  $d_A$  (Nei 1987) encontram-se na Tabela 5.

**Tabela 5:** Tempos ( $t$ ) de divergência, em milhões de anos (Ma), e valores de  $d_A$  (Nei 1987), em porcentagem decimal, entre os clados de *Thoropa* grupo *miliaris*, com respectivos desvios padrão ( $\sigma$ ). Códigos dos nós seguem a Figura 20.

Entre os clados	$t$ ( $\sigma$ )	$d_A$ ( $\sigma$ )
(A+B) x (D+C+E+F+G+H)	4,5663 (0,4179)	0,0874 (0,0080)
A x B	8,5370 (1,0026)	0,1634 (0,0192)
D x (C+E+F+G+H)	3,8454 (0,2863)	0,0736 (0,0055)
C x (E+F+G+H)	4,7503 (0,4572)	0,0909 (0,0087)
E x (F+G+H)	3,9242 (0,4362)	0,0751 (0,0083)
(F+G) x H	3,7617 (0,4054)	0,0720 (0,0078)
F x G	5,3510 (0,8317)	0,1024 (0,0159)



**Figura 20:** Topologia encontrada na análise de  $t_{MRCAs}$  para *Thoropa* grupo *miliaris*. Números acima dos ramos indicam os valores estimados para o  $t_{MRCAs}$  (em milhões de anos – Ma); as barras azuis indicam os desvios padrão; barra de escala dos ramos indica a quantidade esperada de milhões de anos.

## DISCUSSÃO

As espécies de *Thoropa* grupo *miliaris* formam um grupo monofilético em relação aos grupos externos, com altos valores de suporte para todas as análises. O grupo apresentou oito cladogramas distintos, sendo um de *Thoropa saxatilis* (clado A), um de *T. megatympanum* (clado B), cinco de *T. miliaris* (clados: C no “centro-sul do Espírito Santo”, D de “montanhas”, E no “sul do Espírito Santo”, F no “PE Desengano” e G do “litoral do Rio de Janeiro”) e um de *Thoropa taophora* (clado H).

Em todas as análises, a formação dos oito cladogramas é igual, mas a relação entre eles não ficou clara, visto que na maioria dos casos não foi possível definir grupos-irmãos, o que pode ser notado pelos baixos valores de suporte em alguns ramos e pelas diferenças de agrupamento entre as árvores geradas pelos diferentes métodos. De acordo com a análise de MP, *Thoropa saxatilis* teria sido o primeiro grupo a divergir, seguido de *T. megatympanum*, e em seguida os cladogramas de *T. miliaris* e *T. taophora*, sendo os cladogramas de *T. miliaris* parafiléticos em relação ao clado de *T. taophora*. Nas análises de IB e MV, entretanto, o primeiro clado a divergir teria sido *T. megatympanum*, seguido de *T. saxatilis*, e em seguida os cladogramas de *T. miliaris* e *T. taophora*, sendo também os cladogramas de *T. miliaris* parafiléticos em relação ao clado de *T. taophora*. As três análises (IB, MV e MP) coincidiram em alguns aspectos: o clado E de *Thoropa miliaris* é sempre o terceiro clado a divergir; o agrupamento J (clados F + G + H) foi o último a divergir, e *Thoropa taophora* foi o último clado a divergir.

As divergências genéticas encontradas entre os cladogramas variaram de 2,4 a 7,8% para o fragmento de 16S e de 11,7 até 17,3% para o fragmento de COI. Vences et al. (2005a; 2005b) considera que linhagens com divergências genéticas altas (maiores do que 5% para o fragmento 16S e maiores do que 10% para o fragmento COI), podem representar espécies-candidatas, e não necessariamente polimorfismos intraespecíficos. Em *Thoropa* grupo *miliaris*, nem todas as divergências encontradas para o fragmento de 16S ultrapassam 5% e todas as divergências encontradas para o fragmento de COI ultrapassam 10%. Apesar desses valores de divergências para o fragmento de COI serem indicativos de que a diversidade do grupo possa estar subestimada, a amostragem utilizada para COI nesse estudo foi um subconjunto representativo do total, o que possivelmente enviesou as análises de diversidade genética para o fragmento. Além disso, não foram avaliadas as diferenças entre os cladogramas quanto aos genes nucleares, morfologia, canto e aspectos ecológicos, o que dificulta qualquer conclusão sobre possíveis espécies candidatas.

O clado B (*Thoropa megatympanum*) separa-se dos clados C, D, E, F, G (*T. miliaris*) provavelmente pelo Planalto do Rio Jequitinhonha/Mucuri a norte, e Planalto dos Campos das Vertentes a sul, ambos no leste do estado de Minas Gerais. *Thoropa miliaris* é a espécie com estrutura mais complexa. Parte dos indivíduos do clado de montanhas D (D-I) separa-se do restante do clado e dos clados C, E, F e G pela Depressão do Rio Doce, no norte do estado do Espírito Santo. Os clados C (centro-sul do Espírito Santo) e E (sul do Espírito Santo), assim como alguns indivíduos dos clados D e G que ocorrem na Serra da Mantiqueira/Caparaó, estão separados dos indivíduos que ocorrem no estado do Rio de Janeiro (clados D, F e G) pela Depressão do Rio Paraíba do Sul. Por fim, o clado A (*T. saxatilis*) está separado de todos outros clados (B, C, D, F, G e H), pela parte sul da Serra do Mar, pelo Planalto das Araucárias, pela parte norte da Serra Geral e pelas Serras do Leste Catarinense (do sul do estado de São Paulo até proximidades do sul de Santa Catarina), ao sul do Rio Ribeira de Iguape.

Os quatro clados internos de *Thoropa megatympanum* separam-se claramente um do outro pelos planaltos e vales existentes entre as serras que ocupam. B-I (Serra do Cabral) separa-se das Serras do Espinhaço pela Depressão do Alto-Médio Rio São Francisco. A Serra do Espinhaço Setentrional (onde se distribui B-II) está separada da Serra do Espinhaço Meridional (onde distribui-se B-III) pela Chapada do Rio Jequitinhonha e pelo Planalto dos Rios Jequitinhonha/Mucuri. E B-IV (Serras do Quadrilátero Ferrífero) separa-se da Serra do Espinhaço pela Depressão de Belo Horizonte. Apesar dessas separações por vales e planaltos serem claras em *T. megatympanum*, não existe explicação geográfica clara sobre o porquê dois indivíduos do haplogrupo B-III localizam-se da Serra do Caparaó (L43-44), co-existindo com indivíduos dos clados de *T. miliaris*.

O clado A (*Thoropa saxatilis*) distribui-se nas encostas da Serra Geral, próximo ao Planalto das Araucárias, mas também não existe nenhuma separação geográfica clara entre A-I e A-II. Apesar de não terem sido encontrados topótipos de *T. saxatilis*, sabe-se que a localidade-tipo (Lauro Müller-SC – ver Cocroft & Heyer 1988) localiza-se a norte de Timbé do Sul-SC, e que, portanto, a julgar por proximidade geográfica, os topótipos poderiam estar no haplogrupo A-I. As populações amostradas do clado A são restritas a cachoeiras, distantes pelo menos 20 km entre si, o que provavelmente explica o não compartilhamento de haplótipos entre as localidades, e a pouca diversidade interna das populações. Entretanto, essa região de *T. saxatilis* precisaria de uma melhor amostragem para entender a estrutura interna do clado.

Os clados de *Thoropa miliaris* (C, D, E, F, G) são muito divergentes entre si, mesmo havendo localidades compartilhadas entre mais de um clado (e.g. Cachoeiro de Itapemirim-ES, Santa Teresa-ES, Domingos Martins-ES, entre outros). Aparentemente o clado D corresponde a uma espécie ainda não descrita. Análises morfológicas e do canto destas populações poderão auxiliar em uma melhor definição da taxonomia destas populações. Além disso, algumas diferenças morfológicas (e.g. diferenças no tamanho do tímpano) entre indivíduos de *Thoropa* da população de Santa Teresa foram comentadas por Feio (2002)

Dentro dos clados de *Thoropa miliaris*, algumas divergências podem ser explicadas por separações geográficas, a exemplo de *T. megatympanum*. Os haplogrupos de E (E-I e E-II), estão visivelmente separados pelo vale do Rio Itapemirim. Para os haplogrupos de C (C-I e C-II) não existe separação geográfica clara. Entre os grupos internos de D (D-I, D-II, D-III, D-IV), não são notadas possíveis barreiras físicas além da distância geográfica (e.g. D-I distante de D-IV). As populações do clado G que se distribuem na Serra dos Órgãos (haplogrupos G-I e G-II) estão separadas das populações da Serra da Mantiqueira/Caparaó (G-III) e Serra da Mantiqueira/Itatiaia (G-I) pela Depressão do Rio Paraíba do Sul.

O agrupamento politômico J (clados F, G e H) pode ser explicado por proximidade geográfica já que o clado G inclui populações de Santa Maria Madalena-RJ (L81) e de outras regiões próximas montanhosas como Carangola-MG (L47), Volta Grande-MG (L53) e Cantagalo-RJ (L63). Os clados G e H possivelmente agrupam-se devido a proximidade geográfica e semelhanças nas preferências ambientais, já que ambos são clados que ocorrem em litoral. Além disso, o clado F possui um indivíduo litorâneo (Macaé-RJ, L64), o que pode justificar a proximidade desse clado com os dois clados litorâneos (G e H) na árvore. Além disso, os clados G de *Thoropa miliaris* e H de *Thoropa taophora* também se assemelham quanto a distribuição dos haplótipos de 16S. Ambas as redes mostram uma expansão rápida e recente da distribuição dos haplótipos, já que possuem poucos haplótipos, compartilhados entre muitas localidades.

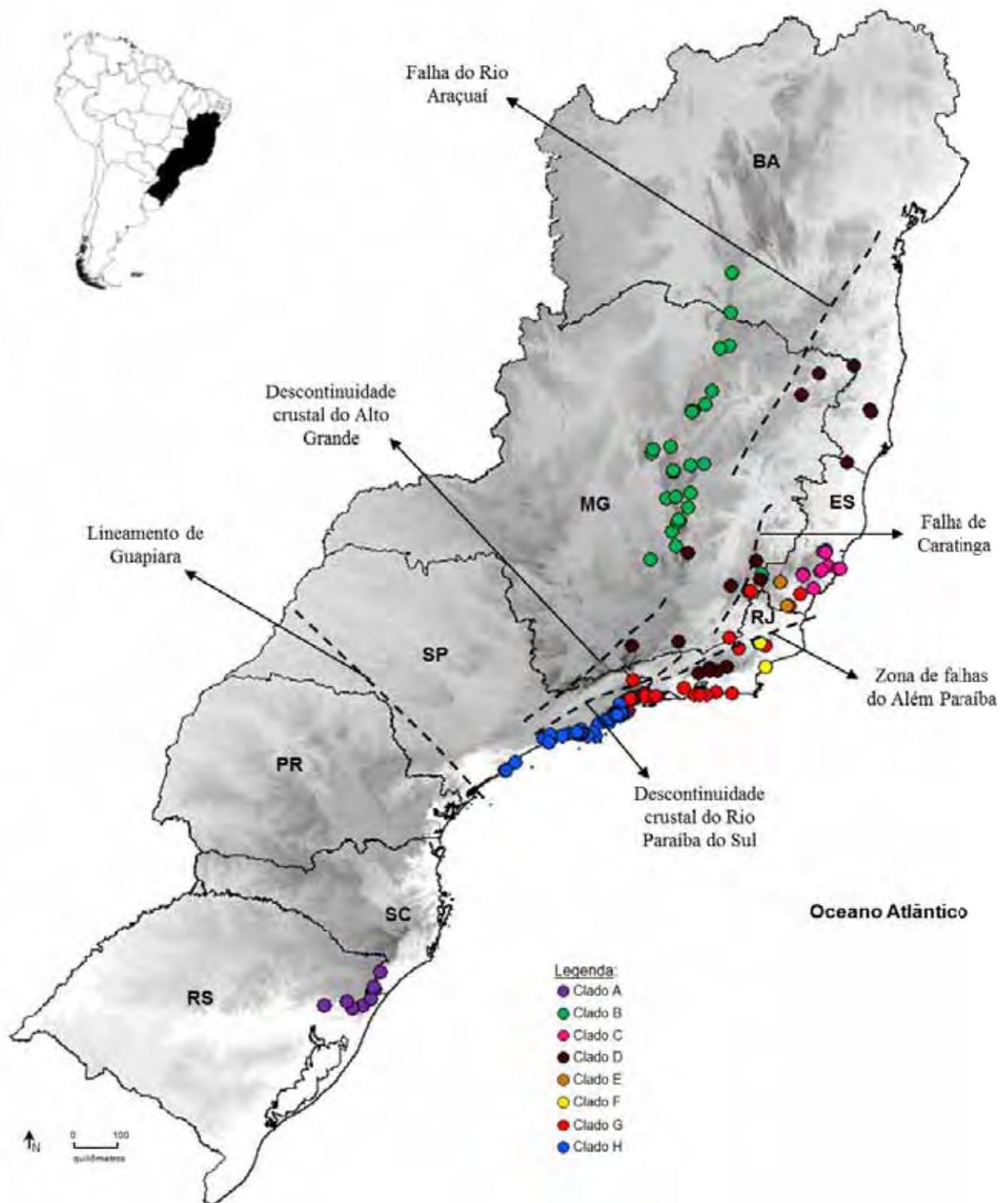
Entre os haplogrupos H-II e H-III (*Thoropa taophora*) não existe barreiras geográficas visíveis. Entretanto, tanto o haplogrupo H-II quanto o H-IV estão claramente separados dos outros: H-II endêmico de Ilhabela-SP e H-IV relativamente distante dos outros clados. O clado H, o último clado a divergir, possui divergências altas quando comparado com os outros clados de *T. grupo miliaris*, tanto para o fragmento de 16S (3,3 – 7,3%) quanto para o fragmento de COI (12,3 – 17,3%). Esses valores são, na maioria, maiores do que as divergências consideradas por Vences et al. (2005a, 2005b) para separar espécies, reforçando *T. taophora* como espécie (Feio et al. 2006; Fitzpatrick et al. 2009). A separação genética

entre os grupos internos de *T. taophora* (H) encontrados na topologia coincide com os resultados de Fitzpatrick et al. (2009), inclusive a grande divergência entre o haplogrupo H-IV (população da EE Juréia-Itatins) e os outros haplogrupos da espécie. Outro resultado interessante sobre *T. taophora* é quanto à distribuição da espécie, que até então era conhecida até Ubatuba-SP. Alguns indivíduos de *T. miliaris* do litoral do Rio de Janeiro (clado G, haplogrupo G-IV) são sintópicos a indivíduos de *T. taophora* (haplogrupo H-I) em Paraty-RJ (Tarituba – L71; Praia das Laranjeiras – L73), indicando que essas espécies podem co-existir em algumas localidades.

A distribuição dos clados coincide com regiões de clima temperado (*Thoropa saxatilis*) e clima tropical Brasil central (*T. megatympanum*, *T. miliaris* e *T. taophora*), sendo que todos os clados encontram-se em regiões semi-úmida, úmida ou super úmida. Todas as espécies do gênero têm preferência por rochas úmidas ou com fluxo baixo de água (Caramaschi & Sazima 1984; Cocroft & Heyer 1988; Feio 2002; Feio et al. 2006). *Thoropa megatympanum* (B) é também um clado com preferências por locais com umidades relativas mais baixas, inclusive ocorrendo em regiões próximas à transição do Cerrado-Caatinga.

Considerando posição geográfica de falhas e lineamentos neotectônicos (Saadi et al. 2002), algumas quebras genéticas de *Thoropa grupo miliaris* coincidem com a Falha do Rio Araçuaí, a Falha de Caratinga, a Descontinuidade crustal do Alto Grande, a Zona de falhas do além Paraíba, a Descontinuidade crustal do Rio Paraíba do Sul e o Lineamento de Guapiara (Figura 21). Todas essas falhas e lineamentos foram identificadas como possíveis explicações para a diversificação em anuros do grupo de *Rhinella crucifer* (Thomé et al. 2010) e o Lineamento de Guapiara possivelmente separou linhagens da abelha *Melipona quadrifasciata* (Batalha-Filho et al. 2010).

A maioria dos estudos de filogeografia e diversificação na Mata Atlântica encontram quebras genéticas em três regiões principais, coincidentes com as regiões de refúgios putativos encontrados por Carnaval & Moritz (2008) e Carnaval et al. (2009): uma ao sul do estado de Pernambuco; uma na região do rio Doce no estado Espírito Santo; e uma no estado de São Paulo (Batalha-Filho & Miyaki 2011). Os clados encontrados de *Thoropa grupo miliaris* mostram coincidência com duas dessas quebras: a quebra do estado de São Paulo e a quebra do rio Doce no Espírito Santo. A quebra de São Paulo também foi encontrada para serpentes (Grazziotin et al. 2006), aves (Cabanne et al. 2007; Cabanne et al. 2008; d'Horta et al. 2011), morcegos (Martins et al. 2009), abelhas (Batalha-Filho et al. 2010) e anfíbios (Carnaval et al. 2009; Fitzpatrick et al. 2009; Brunet et al. 2010; Thomé et al. 2010). A quebra do rio Doce foi citada como importante para a diversificação de aves (Cabanne et al. 2007);



**Figura 21:** Distribuição dos grandes clados encontrados para *Thoropa grupo miliaris*, e localização aproximada de falhas e lineamentos quaternários (*sensu* Saadi et al. 2002). Altitudes mostradas em cinza variam em gradiente, a partir de branco (intervalo de 0 a 100 m acima do nível do mar) e indo até preto (de 2900 a 3000 m acima do nível do mar).

Cabanne et al. 2008; d'Horta et al. 2011); e anfíbios (Carnaval et al. 2009; Fitzpatrick et al. 2009; Brunes et al. 2010; Thomé et al. 2010).

Embora seja possível estimar tempos de divergência e tempos dos ancestrais comuns mais recentes de linhagens a partir de sequências de DNA, não existe uma concordância universal sobre como usar as diferenças moleculares nessas estimativas (Lara & Patton 2000). Os resultados obtidos com o  $t_{\text{MRCA}}$  indicam que a maioria dos ancestrais comuns mais recentes datam possivelmente do Mioceno e Plioceno, e alguns no Pleistoceno. Os tempos de divergência calculados com o  $d_A$ , por outro lado, datam na maioria do Plioceno. Esses resultados são condizentes com os resultados geralmente encontrados para anfíbios e répteis da Mata Atlântica, em que os tempos de divergência são geralmente estimados para o Mioceno e Plioceno (e.g. Pellegrino et al. 2005; Graziotin et al. 2006; Fitzpatrick et al. 2009; Brunes et al. 2010; Thomé et al. 2010) e geralmente mais antigos do que outros grupos animais, como peixes, insetos, aves e mamíferos (mais detalhes em Turchetto-Zolet et al. 2012).

Os tempos dos ancestrais comuns mais recentes de *Thoropa miliaris* e *T. taophora* foram também estimados para o Mioceno, o Plioceno e o Pleistoceno em Fitzpatrick et al. (2009). Além disso, os valores de  $t_{\text{MRCA}}$  encontrados em Fitzpatrick et al. (2009) para *T. taophora* assemelham-se aos valores desse estudo: 0,5-1,1 Ma para o clado equivalente a H-II + H-III, 0,2-0,3 Ma para o clado equivalente a H-I, e 0,2 Ma para o clado equivalente a H-IV.

Apesar de *Thoropa grupo miliaris* ter linhagens em regiões montanhosas, e de existirem datações para o surgimento de algumas montanhas da Mata Atlântica, como a Serra do Mar, Serra da Mantiqueira e Serra do Espinhaço (estima-se que o surgimento dessas cadeias tenha se iniciado no período Cretáceo e prosseguido até provavelmente 20 000 anos atrás - Petri & Fúlvaro 1983; Mello et al. 1985; Riccomini et al. 1989), relacionar o surgimento das linhagens com a formação dessas cadeias de montanhas necessitaria de maiores estudos sobre a dispersão e vicariância das populações.

## CONCLUSÕES

Esse é o primeiro estudo de filogeografia e filogenia do gênero *Thoropa* que utiliza uma amostragem ampla de todas as espécies do gênero passíveis de terem fragmentos de DNA sequenciados. Quanto ao objetivo (i) (esclarecer a história evolutiva de *Thoropa miliaris*), encontrei que a espécie é composta por pelo menos cinco clados claramente definidos, parafiléticos em relação a *T. taophora*. Este complexo deve ser estudado com maior ênfase tanto em bases moleculares quanto morfológicas e acústicas, pois aparentemente há pelo menos mais duas espécies não descritas (população da Juréia e as populações das altas montanhas do Espírito Santo e Rio de Janeiro). A história evolutiva ainda não foi bem esclarecida neste estudo, devido sua complexidade.

Quanto ao objetivo (ii) (conhecer a estrutura genética das populações de *Thoropa megatympanum* e *T. saxatilis*), conclui-se que as duas espécies são monofiléticas, com clados estruturados. *Thoropa megatympanum* distribui-se pela Cadeia do Espinhaço e serras próximas, em uma região com clima pouco úmido. E *T. saxatilis* distribui-se pela Serra Geral do sul do Brasil, em locais de clima temperado.

Quanto ao objetivo (iii) (entender como se relacionam filogeneticamente as espécies de *Thoropa* grupo *miliaris*), conclui-se que *Thoropa* grupo *miliaris* inclui oito clados, porém a relação entre os clados não ficou clara. Possivelmente, *T. megatympanum* e *T. saxatilis* são as espécies mais basais do grupo. *Thoropa miliaris* é uma espécie formada por cinco clados geneticamente distintos e parafiléticos em relação a *T. taophora*. *Thoropa taophora* é um grupo monofilético e foi o último clado a divergir. Além disso, a maioria das diversificações ocorridas no grupo data do Mioceno e Plioceno.

Em se tratando de uma das hipóteses que intencionei testar (a; sobre o sentido norte-sul da diversificação do grupo) pode-se concluir que, considerando os mesmos clados analisados por Fitzpatrick et al. (2009), a diversificação possivelmente ocorreu do norte para sul, visto que *Thoropa taophora* (estado de São Paulo) foi o último clado a divergir, e *T. miliaris* do litoral do Rio de Janeiro e Serra dos Órgãos foi o penúltimo clado a divergir. Quanto à outra hipótese (b; se a linhagem de *Thoropa taophora* da Juréia é uma espécie endêmica da região), pode-se concluir, corroborado mesmo com o aumento da amostragem na região da Estação Ecológica Juréia-Itatins, que o clado interno de *Thoropa taophora* que corresponde à linhagem da Juréia continuou mostrando-se como um clado divergente, podendo ser essa linhagem uma espécie endêmica da região.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, A.S.; BICUDO, J. Adaptations to salinity and osmoregulation in the frog *Thoropa miliaris* (Amphibia, Leptodactylidae). **Zoologischer Anzeiger**, v. 227, p. 313-318, 1991.

AKAIKE, H. A new look at the statistical model identification. **IEEE Transactions on automatic Control**, v. AC-19, n. 6, p. 716-723, 1974.

ALEIXO, A. Molecular systematics and the role of the “várzea”-“terra-firme” ecotone in the diversification of *Xiphorhynchus* woodcreepers (Aves: Dendrocolaptidae). **The American Ornithologists' Union**, v. 119, n. 3, p. 621-640, 2002.

ALFARO, M.E.; ZOLLER, S.; LUTZONI, F. Bayes or Bootstrap? A simulation study comparing the performance of Bayesian Markov Chain Monte Carlo sampling and bootstrapping in assessing phylogenetic confidence. **Molecular Biology and Evolution**, v. 20, n. 2, p. 255-266, 2003.

AUSTIN, J.D.; ZAMUDIO, K.R. Incongruence in the pattern and timing of intra-specific diversification in bronze frogs and bullfrogs (Ranidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 48, p. 1041-1053, 2008.

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 DNA bridge between population genetics and systematics. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 18, p. 489-522, 1987.

AVISE, J.C. Phylogeography: the history and formation of species. Harvard University Press, Cambridge, 447 pp, 2000.

BARTH, R. Observações anatômicas sobre a larva de *Thoropa miliaris* (Amphibia, Leptodactylidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 54, n. 3, p. 489-497, 1956.

BATALHA-FILHO, H.; WALDSCHMIDT, A.M.; CAMPOS, L.A.O.; TAVARES, M.G.; FERNANDES-SALOMÃO, T.M. Phylogeography and historical demography of the neotropical stingless bee *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera, Apidae): incongruence between morphology and mitochondrial DNA. **Apidologie**, v. 41, p. 534-547, 2010.

BATALHA-FILHO, H.; MIYAKI, C.Y. Filogeografia da Mata Atlântica. **Revista da Biologia**, v. Esp. Biogeografia, p. 31-34, 2011.

BATALHA-FILHO, H.; CABANNE, G.S.; MIYAKI, C.Y. Phylogeography of an Atlantic forest passerine reveals demographic stability through the last glacial maximum. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 65, p. 892-902, 2012.

BEHLING, H.; LICHTER, M. Evidence of dry and cold climatic conditions at glacial times in tropical Southeastern Brazil. **Quaternary Research**, v. 48, p. 348-358, 1997.

BEHLING, H.; NEGRELLE, R.R.B. Tropical rain forest and climate dynamics of the Atlantic lowland, Southern Brazil, during the Late Quaternary. **Quaternary Research**, v. 56, p. 383-389, 2001.

BELL, R.C.; BRASILEIRO, C.A.; HADDAD, C.F.B.; ZAMUDIO, K.R. Evolutionary history of *Scinax* treefrogs on land-bridge islands in south-eastern Brazil. **Journal of Biogeography**, v. 39, n. 9, p. 1733-1742, 2012.

BRASILEIRO, C.A.; MARTINS, M.; SAZIMA, I. Feeding ecology of *Thoropa taophora* (Anura: Cycloramphidae) on a rocky seashore in Southeastern Brazil. **South American Journal of Herpetology**, v. 5, n. 3, p. 181-188, 2010.

BRITO, R.A.; MANFRIN, M.H.; SENE, F.M. Mitochondrial DNA phylogeography of Brazilian populations of *Drosophila buzzatii*. **Genetics and Molecular Biology**, v. 25, n. 2, p. 161-171, 2002.

BRUNES, T.O.; SEQUEIRA, F.; HADDAD, C.F.B.; ALEXANDRINO, J. Gene and species trees of a Neotropical group of treefrogs: genetic diversification in the Brazilian Atlantic Forest and the origin of a polyploidy species. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 57, p. 1120-1133, 2010.

CABANNE, G.S.; SANTOS, F.R.; MIYAKI, C.Y. Phylogeography of *Xiphorhynchus fuscus* (Passeriformes, Dendrocolaptidae): vicariance and recent demographic expansion in Southern Atlantic Forest. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 91, p. 73-84, 2007.

CABANNE, G.S.; D'HORTA, F.M.; SARI, E.H.R.; SANTOS, F.R.; MIYAKI, C.Y. Nuclear and mitochondrial phylogeography of the Atlantic forest endemic *Xiphorhynchus fuscus* (Aves: Dendrocolaptidae): Biogeography and systematics implications. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 49, p. 760-773, 2008.

CABANNE, G.S.; D'HORTA, F.M.; MEYER, D.; SILVA, J.M.C.; MIYAKI, C.Y. Evolution of *Dendrocolaptes platyrostris* (Aves: Furnariidae) between the South American open vegetation corridor and the Atlantic forest. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 103, p. 801-820, 2011.

CARAMASCHI, U.; SAZIMA, I. Uma nova espécie de *Thoropa* da Serra do Cipó, Minas Gerais, Brasil (Amphibia, Leptodactylidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 2, n. 3, p. 139-146, 1984.

CARNAVAL, A.C.O.Q. Phylogeography of four frog species in forest fragments of Northeastern Brazil – A preliminary study. **Integrative and Comparative Biology**, v. 42, p. 913-921, 2002.

CARNAVAL, A.C.; BATES, J.M. Amphibian DNA shows marked genetic structure and tracks Pleistocene climate change in Northeastern Brazil. **Evolution**, v.61, n. 12, p. 2942-2957, 2007.

CARNAVAL, A.C.; MORITZ, C. Historical climate modelling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic Forest. **Journal of Biogeography**, v. 35, p. 1187-1201, 2008.

CARNAVAL, A.C.; HICKERSON, M.J.; HADDAD, C.F.B.; RODRIGUES, M.T.; MORITZ, C. Stability predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic Forest hotspot. **Science**, v. 323, p. 785-789, 2009.

COCROFT, R.B.; HEYER, W.R. Notes on the frog genus *Thoropa* (Amphibia, Leptodactylidae) with a description of a new species (*Thoropa saxatilis*). **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v. 101, n. 1, p. 209-220, 1988.

COLOMBI, V.H.; LOPES, S.R.; FAGUNDES, V. Testing the Rio Doce as a riverine barrier in shaping the Atlantic rainforest population divergence in the rodent *Akodon cursor*. **Genetics and Molecular Biology**, v. 33, n. 4, p. 785-789, 2010.

COSTA, L.P. The historical bridge between the Amazon and the Atlantic Forest of Brazil: a study of molecular phylogeography with small mammals. **Journal of Biogeography**, v. 30, p. 71-86, 2003.

CRAWFORD, A.J. Huge populations and old species of Costa Rican and Panamanian dirt frogs inferred from mitochondrial and nuclear gene sequences. **Molecular Ecology**, v. 12, p. 2525-2540, 2003.

DARRIBA, D.; TABOADA, G.L.; DOALLO, R.; POSADA, D. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. **Nature Methods**, v. 9, p. 772, 2012.

D'HORTA, F.M.; CABANNE, G.S.; MEYER, D.; MIYAKI, C.Y. The genetic effects of Late Quaternary climatic changes over a tropical latitudinal gradient: diversification of an Atlantic Forest passerine. **Molecular Ecology**, v. 20, p. 1923-1935, 2011.

DRUMMOND, A.J.; HO, S.Y.W.; PHILLIPS, M.J.; RAMBAUT, A. Relaxed phylogenetics and dating with confidence. **PLoS Biology**, v. 5, n. 5, p. 699-710, 2006.

DRUMMOND, A.J.; SUCHARD, M.A.; XIE, D.; RAMBAUT, A. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. **Molecular Biology and Evolution**. 2012.

ERIXON, P.; SVENNBLAD, B.; BRITTON, T.; OXELMAN, B. Reliability of Bayesian posterior probabilities and bootstrap frequencies in Phylogenetics. **Systematic Biology**, v. 52, n. 5, p. 665-673, 2003.

FEIO, R. N. Revisão taxonômica do gênero *Thoropa* Cope, 1865 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). Tese apresentada ao Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro, 217 pp, 2002.

FEIO, R.N.; NAPOLI, M.F.; CARAMASCHI, U. Considerações taxonômicas sobre *Thoropa miliaris* (Spix, 1824) com revalidação e redescrição de *Thoropa taophora* (Miranda-Ribeiro,

1923) (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). **Arquivos do Museu Nacional**, v. 64, n. 1, p. 41-60, 2006.

FITZPATRICK, S.W.; BRASILEIRO, C.A.; HADDAD, C.F.B.; ZAMUDIO, K.R. Geographical variation in genetic structure of an Atlantic Coastal Forest frog reveals regional differences in habitat stability. **Molecular Ecology**, v.18, p.2877-2896, 2009.

FROST, D.R.; GRANT, T.; FAIVOVICH, J.; BAIN, R.H.; HAAS, A.; HADDAD, C.F.B.; SÁ, R.O.; CHANNING, A.; MARK, W.; DONNELLAN, S.C.; RAXWORTHY, C.J.; CAMPBELL, J.A.; BLOTTO, B.L.; MOLER, P.; DREWES, R.C. The amphibian tree of life. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, n. 297, 370 pp., 2006.

FROST, D.R. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Versão 5.6. 2013. Disponível em: <<http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>>. Acesso em 10 de fevereiro de 2013.

GALINDO-LEAL, C.; CÂMARA, I.G. Mata Atlântica: biodiversidade, ameaças e perspectivas. Fundação SOS Mata Atlântica e Conservação Internacional, 472 pp, 2005.

GENE CODES CORPORATION. Sequencher v.4.5. Disponível em: <<http://genecodes.com/>>. Acesso em: 10 de fevereiro de 2013.

GIARETTA, A.A.; FACURE, K.G. Reproductive ecology and behavior of *Thoropa miliaris* (Spix, 1824) (Anura, Leptodactylidae, Telmatobiinae). **Biota Neotropica**, v. 4, n. 2, 2004.

GOLOBOFF, P.A.; FARRIS, J.S.; NIXON, K.C. TNT, a free program for phylogenetic analysis. **Cladistics**, v. 24, n. 5, p. 774-786, 2008.

GRANT, T.; FROST, D.R.; CALDWELL, J.P.; GAGLIARDO, R.; HADDAD, C.F.B.; KOK, P.J.R.; MEANS, D.B.; NOONAN, B.P.; SCHARGEL, W.E.; WHEELER, W.C. Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Amphibia: Athesphatanura: Dendrobatidae). **Bulletin of the American Museum of Natural History**, n. 299, 262 pp., 2006.

GRAZZIOTIN, F.G.; MONZEL, M.; ECHEVERRIGARAY, S.; BONATTO, S.L. Phylogeography of the *Bothrops jararaca* complex (Serpentes: Viperidae): past fragmentation and island colonization in the Brazilian Atlantic Forest. **Molecular Ecology**, v. 15, p. 3969-3982, 2006.

GUINDON, S.; GASCUEL, O. A simple, fast and accurate method to estimate large phylogenies by maximum-likelihood. **Systematic Biology**, v. 52, p. 696-704, 2003

HAFFER, J. Speciation in Amazonian forest birds. **Science**, v. 165, n. 3889, p. 131-137, 1969.

HILLIS, D.M.; BULL, J.J. An empirical test of bootstrapping as a measure of assessing confidence in phylogenetic analysis. **Systematic Biology**, v. 42, p. 182-192, 1993.

LARA, M.C.; PATTON, J.L. Evolutionary diversification of spiny rats (genus *Trinomys*, Rodentia: Echimyidae) in the Atlantic Forest of Brazil. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 130, p. 661-686, 2000.

LARA-RUIZ, P.; CHIARELLO, A.G.; SANTOS, F.R. Extreme population divergence and conservation implications for the rare endangered Atlantic Forest sloth, *Bradypus torquatus* (Pilosa: Bradypodidae). **Biological Conservation**, v. 141, p. 1332-1342, 2008.

LARGET, B. & SIMON, D.L. Markov Chain Monte Carlo algorithms for the Bayesian analysis of phylogenetic trees. **Molecular Biology and Evolution**, v. 16, n. 6, p. 750-759, 1999.

LARKIN, M.A.; BLACKSHIELDS, G.; BROWN, N.P.; CHENNA, R.; MCGETTIGAN, P.A.; MCWILLIAM, H.; VALENTIN, F. WALLACE, I.M.; WILM, A.; LOPEZ, R.; THOMPSON, J.D.; GIBSON, T.J.; HIGGINS, D.G. Clustal W and Clustal X version 2.0. **Bioinformatics**, v. 23, n. 21, p. 2947-2948, 2007.

LIBRADO, P.; ROZAS, J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. **Bioinformatics**, v. 25, n. 11, p. 1451-1452, 2009.

LEDRU, M.P.; SALGADO-LABOURIAU, M.L.; LORSCHREITER, M.L. Vegetation dynamics in southern and central Brazil during the last 10 000 yr B.P. **Review of Palaeobotany and Palynology**, v. 99, p. 131-142, 1998.

LORENZ-LEMKE, A.P.; MUSCHNER, V.C.; BONATTO, S.L.; CERVI, A.C.; SALZANO, F.M.; FREITAS, L.B. Phylogeographic inferences concerning evolution of Brazilian *Passiflora actinia* and *P. elegans* (Passifloraceae) based on ITS (mrDNA) variation. **Annals of Botany**, v. 95, p. 799-806, 2005.

MACEY, J.R.; LARSON, A.; ANANJEVA, N.B.; FANG, Z.; PAPENFUSS, T.J. Two novel gene orders and the role of light-strand replication in rearrangement of the vertebrate mitochondrial genome. **Molecular Biology and Evolution**, v. 14, n. 1, p. 91-104, 1997.

MADDISON, W.P.; MADDISON, D.R. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Versão 2.75. Disponível em: <<http://mesquiteproject.org>>. Acesso em 10 de fevereiro de 2013.

MARTINS, F.M.; GIFALLI-IUGHETTI, C.; KOIFFMAN, C.P.; HARRIS, E.E. Coalescent analysis of mtDNA indicates Pleistocene divergence among three species of howler monkey (*Alouatta* spp.) and population subdivision within the Atlantic Coastal Forest species, *A. guariba*. **Primates**, v. 52, p. 77-87, 2011.

MELLO, M.S.; RICCOMINI, C.; HASUI, Y.; ALMEIDA, F.F.M.; COIMBRA, A.M. Geologia e evolução do sistema de bacias tafrogênicas continentais do sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Geociências**, v. 15, n. 3, p. 193-201, 1985.

MIYAKI, C.Y. Filogeografia e a descrição da diversidade genética da fauna brasileira. **Megadiversidade**, v. 5, n. 1-2, p. 96-100, 2009.

MORAES, E.M.; YOTOKO, K.S.C.; MANFRIN, M.H.; SOLFERINI, V.N.; SENE, F.M. Phylogeography of the cactophilic species *Drosophila gouveai*: demographic events and divergence timing in dry vegetation enclaves in eastern Brazil. **Journal of Biogeography**, v. 36, p. 2136-2147, 2009.

MORAES-BARROS, N.; SILVA, J.A.B.; MIYAKI, C.Y.; MORGANTE, J.S. Comparative phylogeography of the Atlantic forest endemic sloth (*Bradypus torquatus*) and the widespread three-toed sloth (*Bradypus variegatus*) (Bradypodidae, Xenarthra). **Genetica**, v. 126, p. 189-198, 2006.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R.A.; MITTERMEIER, C.G.; FONSECA, G.A.B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853-858, 2000.

NEI, M. Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press, New York, 1987

PALUMBI, S.R.; MARTIN, A.; ROMANO, S.; MCMILLAN, W.O.; STICE, L.; GRABOWSKI, G. The simple gool's guide to PCR, Versão 2.0. Departamento de Zoologia, Universidade do Hawaii, Honolulu, HI, EUA, 1991

PELLEGRINO, K.C.M.; RODRIGUES, M.T.; WAITE, A.N.; MORANDO, M.; YASSUDA, Y.Y.; SITES JR., J.W. Phylogeography and species limits in the *Gymnodactylus darwini* complex (Gekkonidae, Squamata): genetic structure coincides with river systems in the Brazilian Atlantic Forest. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 85, p. 13-26, 2005.

PETRI, S.; FÚLVARO, V.J. Geologia do Brasil. Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1983.

PINHEIRO, F.; BARROS, F.; PALMA-SILVA, C.; FAY, M.F.; LEXER, C.; COZZOLINO, S. Phylogeography and genetic differentiation along the distributional range of the orchid *Epidendrum fulgens*: a Neotropical coastal species not restricted to glacial refugia. **Journal of Biogeography**, v. 38, p. 1923-1935, 2011.

PUORTO, G.; SALOMÃO, M.G.; THEAKSTON, R.D.G.; THORPE, R.S.; WARRELL, D.A.; WÜSTER, W. Combining mitochondrial DNA sequences and morphological data to infer species boundaries: phylogeography of lanceheaded pitvipers in the Brazilian Atlantic forest, and the status of *Bothrops pradoi* (Squamata: Serpentes: Viperidae). **Journal of Evolutionary Biology**, v. 14, p. 527-538, 2001.

PYRON, R.A.; WIENS, J.J. A large-scale phylogeny of Amphibia including over 2800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders, and caecilians. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 61, p. 543-583, 2011.

RAMBAUT, A.; DRUMMOND, A.J. Tracer v.1.4. Disponível em: <<http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>>. Acesso em: 10 de fevereiro de 2013.

RAMOS, A.C.S.; LEMOS-FILHO, J.P.; LOVATO, M.B. Phylogeographical structure of the Neotropical Forest tree *Hymenaea courbaril* (Leguminosae: Caesalpinioideae) **Journal of Heredity**, v. 100, n. 2, p. 206-216, 2009.

RIBEIRO, M.C.; METZGER, J.P.; MARTENSEN, A.C.; PONZONI, F.J.; HIROTA, M.M. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, v. 142, p. 1141-1153, 2009.

RIBEIRO, R.A.; LEMOS-FILHO, J.P.; RAMOS, A.C.S.; LOVATO, M.B. Phylogeography of the endangered rosewood *Dalbergia nigra* (Fabaceae): insights into the evolutionary history and conservation of the Brazilian Atlantic Forest. **Heredity**, v. 106, p. 46-57, 2011.

RICCOMINI, C.; PELOGGIA, A.U.G.; SALONI, J.C.L.; KOHNKE, M.K.; FIGUEIRA, R.M. Neotectonic activity in the Serra do Mar rift system (southeastern Brazil). **Journal of South American Earth Sciences**, v. 2, n. 2, p. 191-197, 1989.

ROCHA, C.F.D.; VAN SLUYS, M.; BERGALLO, H.G.; ALVES, M.A.S. Microhabitat use and orientation to water flow direction by tadpoles of the leptodactylid frog *Thoropa miliaris* in Southeastern Brazil. **Journal of Herpetology**, v. 36, n. 1, p. 98-100, 2002.

RONQUIST, F.; HUELSENBECK, J.; TESLENKO, M. Draft MrBayes version 3.2 Manual: Tutorials and Model Summaries. 2011.

RULL, V. Speciation timing and neotropical biodiversity: the Tertiary-Quaternary debate in the light of molecular phylogenetic evidence. **Molecular Ecology**, v. 17, p. 2722-2729, 2008.

SAADI, A.; MACHETTE, M.N.; HALLER, K.M.; DART, R.L.; BRADLEY, L.; SOUZA, A.M.P.D. Map and database of Quaternary faults and lineaments in Brazil. **United States Geological Survey**, 63 pp., 2002.

SABAJ PÉREZ, M.H. Standard symbolic codes for institutional resource collections in herpetology and ichthyology: an online reference. Version 1.5. **American Society of Ichthyologists and Herpetologists**, Washington, DC. 2010. Disponível em: <<http://www.asih.org/>>. Acesso em: 23 de dezembro de 2012.

SAZIMA, I. The occurrence of marine invertebrates in the stomach contents of the frog *Thoropa miliaris*. **Ciência e Cultura**, v. 23, p. 647-648, 1971.

SHAPIRO, B.; RAMBAUT, A.; DRUMMOND, A.J. Choosing appropriate substitution models for the phylogenetic analysis of protein-coding sequences. **Molecular Biology and Evolution**, v. 23, n. 1, p. 7-9, 2006.

STAMATAKIS, A. RAxML-VI-HPC: a maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. **Bioinformatics**, v. 22, n. 21, p. 2688-2690, 2006.

STAMATAKIS, A.; HOOVER, P.; ROUGEMONT, J. A rapid bootstrap algorithm for the RAxML Web Servers. **Systematic Biology**, v. 57, n. 5, p. 758-771, 2008.

SILVESTRO, D.; MICHALAK, I. raxmlGUI: a graphical front-end for RAxML. **Organisms, Diversity and Evolution**. 2011.

SIQUEIRA, C.C.; VAN SLUYS, M.; ARIANI, C.V.; ROCHA, C.F.D. Feeding ecology of *Thoropa miliaris* (Anura, Cycloramphidae) in four areas of Atlantic Rain Forest, Southeastern Brazil. **Journal of Herpetology**, v. 40, n. 4, p. 520-525, 2006.

SMITH, T.B.; WAYNE, R.K.; GIRMAN, D.J.; BRUFORD, M.W. A role for ecotones in generating rainforest biodiversity. **Science**, v. 276, p. 1855-1857, 1997.

SMITH, T.B.; SCHNEIDER, C.J.; HOLDER, K. Refugial isolation versus ecological gradients. **Genetica**, v. 112-113, p. 383-398, 2001.

TAMURA, K.; PETERSON, D.; PERTERSON, N.; STECHER, G.; NEI, M.; KUMAR, S. Mega5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. **Molecular Biology and Evolution**, v. 28, n. 10, p. 2731-2739, 2011.

TEMPLETON, A.R.; CRANDALL, K.A.; SING, C.F. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data: III. Cladogram estimation. **Genetics**, v. 132, p. 619-633, 1992.

THOMÉ, .M.T.C.; ZAMUDIO, K.R.; GIOVANELLI, J.G.R.; HADDAD, C.F.B.; BALDISSERA JR., F.A.; ALEXANDRINO, J. Phylogeography of endemic toads and post-Pliocene persistence of the Brazilian Atlantic Forest. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 55, p. 1018-1031, 2010.

THOMPSON, J.D.; HIGGINS, D.G.; GIBSON, T.J. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**, v. 22, n. 22, p. 4673-4680, 1994.

TORRES, R.A.; RIBEIRO, J. The remarkable species complex *Mimagoniates microlepis* (Characiformes: Glandulocaudinae) from the Southern Atlantic Rain forest (Brazil) as revealed by molecular systematic and population genetic analyses. **Hydrobiologia**, v. 617, p. 157-170, 2009.

TURCHETTO-ZOLET, A.C.; PINHEIRO, F.; SALGUEIRO, F.; PALMA-SILVA, C. Phylogeographical patterns shed light on evolutionary process in South America. **Molecular Ecology**, 2012.

VANZOLINI, P.E.; WILLIAMS, E.E. South American Anoles: the geographic differentiation and evolution of the *Anolis chrysolepis* species group (Sauria, Iguanidae). **Arquivos de Zoologia**, v. 19, n. 1-2, p. 1-124, 1970.

VENCES, M.; THOMAS, M.; VAN DER MEIJDEN, ARIE; CHIARI, Y.; VIEITES, D.R. Comparative performance of the 16S rRNA gene in DNA barcoding of amphibians. **Frontiers in Zoology**, v. 2, n. 5, 2005.

VENCES, M.; THOMAS, M.; BONETT, R.M.; VIEITES, D.R. Deciphering amphibian diversity through DNA barcoding: chances and challenges. **Philosophical Transactions of The Royal Society**, v. 360, p. 1859-1868, 2005

WÜSTER, W.; FERGUSON, J.E.; QUIJADA-MASCAREÑAS, A.; POOK, C.E.; SALOMÃO, M.G.; THORPE, R.S. Tracing na invasion: landbridges, refugia, and the phylogeography of the Neotropical rattlesnake (Serpentes: Viperidae: *Crotalus durissus*). **Molecular Ecology**, v. 14, p. 1095-1108, 2005.

YULE, G.U. A mathematical theory of evolution, based on the conclusions of Dr. J. C. Willis, F. R. S. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B, Containing Papers of a Biological Character**, v. 213, p. 21-87, 1925.

## APÊNDICES

**Apêndice 1:** Indivíduos de *Thoropa* grupo *miliaris* utilizados neste trabalho, com as respectivas localidades e municípios, código do haplótipo de 16S (H), código da localidade (L), código do terminal (T), número de registro do exemplar (siglas seguem Sabaj Pérez 2010) e fragmentos sequenciados. Fragmentos de 16S e ND2 dos indivíduos com \* foram publicados em Fitzpatrick et al. 2009 (números de acesso NCBI-GenBank: GQ174521-GQ175057).

Espécie	T	Localidade e Município	UF	Latitude	Longitude	L	Registro do exemplar	Fragmentos	H
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T319	Caetité	BA	-14,064800	-42,486183	L1	UFMG-A 5856	16S	B8
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T321	Caetité	BA	-14,064800	-42,486183	L1	UFMG-T 269	16S, ND2	B8
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T320	Caetité	BA	-14,064800	-42,486183	L1	UFMG-A 5857	16S, ND2, COI	B9
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T319	Caetité	BA	-14,064800	-42,486183	L1	UFMG-T 271	16S	B8
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T318	Morro do Chapéu, Jacaraci	BA	-14,896550	-42,516851	L2	UFMG-A 4765	16S, ND2	B8
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T317	Morro do Chapéu, Jacaraci	BA	-14,896550	-42,516851	L2	UFMG-A 4766	16S, COI	B8
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T287	Alvorada de Minas	MG	-18,718719	-43,368139	L3	UFMG-A 4006	16S	B26
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T286	Alvorada de Minas	MG	-18,718719	-43,368139	L3	UFMG-A 4007	16S, COI	B27
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T313	Fazenda Santa Bárbara, Augusto de Lima	MG	-18,111648	-43,368139	L4	RF 47	16S, ND2, COI	B10
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T325	Serra de Botumirim, Botumirim	MG	-16,848186	-43,042217	L5	UFMG-A 11512	16S, ND2, COI	B5
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T324	Serra de Botumirim, Botumirim	MG	-16,848186	-43,042217	L5	UFMG-A 11516	16S, ND2	B6
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T292	Cachoeira da Ostra, Brumadinho	MG	-20,099470	-44,191090	L6	UFMG-A 11049	16S, COI	B21
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T288	Buenópolis	MG	-17,869777	-44,172827	L7	UFMG-A 7305	16S	B25
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T359	Santuário Nossa Senhora da Piedade, Caetité	MG	-19,821528	-43,672944	L8	CFBH 30757	ND2, COI	-
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T302	Conceição do Mato Dentro	MG	-19,020000	-43,420000	L9	UFMG-T 100b	16S, COI	B16
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T301	Conceição do Mato Dentro	MG	-19,020000	-43,420000	L9	UFMG-T 101b	16S	B16
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T298	Fechados, Conceição do Mato Dentro	MG	-18,816667	-43,866667	L10	UFMG-A 9439	16S, ND2, COI	B17
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T297	Fechados, Conceição do Mato Dentro	MG	-18,816667	-43,866667	L10	UFMG-A 9441	16S, ND2, COI	B11
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T285	Congonhas do Norte	MG	-18,810000	-43,680000	L11	UFMG-A 4029	16S, ND2, COI	B28
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T284	Congonhas do Norte	MG	-18,810000	-43,680000	L11	UFMG-A 6674	16S, ND2	B29
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T296	Serra D'anta, Diamantina	MG	-18,251739	-43,717183	L12	UFMG-A 10734	16S, ND2	B18
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T295	Serra D'anta, Diamantina	MG	-18,246897	-43,738664	L12	UFMG-A 10743	16S, ND2, COI	B18
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T291	PARNA das Sempre Vivas, Diamantina	MG	-17,745040	-43,768090	L13	UFMG-A 11535	16S	B22
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T290	PARNA das Sempre Vivas, Diamantina	MG	-17,729290	-43,777300	L13	UFMG-A 11542	16S, ND2, COI	B23
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T329	Grão Mogol	MG	-16,570000	-42,900000	L14	CFBH 10199	16S, ND2, COI	B1
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T328	Grão Mogol	MG	-16,570000	-42,900000	L14	CFBH 10198	16S, ND2	B2
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T327	Itacambira	MG	-16,988417	-43,322222	L15	UFMG-A 9349	16S, ND2	B3
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T326	Itacambira	MG	-16,988417	-43,322222	L15	UFMG-A 9351	16S, ND2, COI	B4
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T323	Vila de Tamandua, Itacambira	MG	-16,990790	-43,312670	L15	UFMG-A 11308	16S, ND2, COI	B7
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T322	Vila de Tamandua, Itacambira	MG	-17,000710	-43,336200	L15	UFMG-A 11348	16S	B7
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T189	Serra do Cipó, Jaboticatubas	MG	-19,514000	-43,746102	L16	MZUFV 4114	16S	B11
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T189	Serra do Cipó, Jaboticatubas	MG	-19,514000	-43,746102	L16	RF 61	16S	B11
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T312	Serra do Cipó, Jaboticatubas	MG	-19,514000	-43,746102	L16	RF 62	16S, ND2	B12
<i>Thoropa megatympnamum</i>	T189	Serra do Cipó, Jaboticatubas	MG	-19,514000	-43,746102	L16	RF 63	16S	B11

Espécie	T	Localidade e Município	UF	Latitude	Longitude	L	Registro do exemplar	Fragmentos	H
<i>Thoropa megalatympanum</i>	T189	Serra do Cipó, Jaboticatubas	MG	-19,514000	-43,746102	L16	RF 64	16S	B11
<i>Thoropa megalatympanum</i>	T189	Serra do Cipó, Jaboticatubas	MG	-19,514000	-43,746102	L16	RF 65	16S	B11
<i>Thoropa megalatympanum</i>	T189	Serra do Cipó, Jaboticatubas	MG	-19,514000	-43,746102	L16	RF 66	16S	B11
<i>Thoropa megalatympanum</i>	T311	Serra do Cipó, Jaboticatubas	MG	-19,514000	-43,746102	L16	RF 67	16S, ND2, COI	B12
<i>Thoropa megalatympanum</i>	T309	Serra do Cipó, Jaboticatubas	MG	-19,514000	-43,746102	L16	RF 68	16S	B13
<i>Thoropa megalatympanum</i>	T310	Serra do Cipó, Jaboticatubas	MG	-19,514000	-43,746102	L16	RF 69	16S	B14
<i>Thoropa megalatympanum</i>	T309	Serra do Cipó, Jaboticatubas	MG	-19,514000	-43,746102	L16	RF 70	16S	B13
<i>Thoropa megalatympanum</i>	T189	Serra do Cipó, Jaboticatubas	MG	-19,514000	-43,746102	L16	RF 71	16S	B11
<i>Thoropa megalatympanum</i>	T189	Serra do Cipó, Jaboticatubas	MG	-19,514000	-43,746102	L16	RF 72	16S	B11
<i>Thoropa megalatympanum</i>	T304	Serra do Cipó, Jaboticatubas	MG	-19,514000	-43,746102	L16	MZUFV 3906	16S, ND2, COI	B13
<i>Thoropa megalatympanum</i>	T303	Serra do Cipó, Jaboticatubas	MG	-19,514000	-43,746102	L16	MZUFV 3907	16S, ND2	B11
<i>Thoropa megalatympanum</i>	T289	Joaquim Felício	MG	-17,779655	-44,146349	L17	UFMG-A 7301	16S	B24
<i>Thoropa megalatympanum</i>	T283	Rio Pardo de Minas	MG	-15,600874	-42,544365	L18	UFMG-A 6031	16S	B30
<i>Thoropa megalatympanum</i>	T282	Rio Pardo de Minas	MG	-15,600874	-42,544365	L18	UFMG-A 6883	16S, ND2, COI	B31
<i>Thoropa megalatympanum</i>	T281	PE Serra Nova, Rio Pardo de Minas	MG	-15,655095	-42,756975	L19	UFMG-A 6885	16S	B32
<i>Thoropa megalatympanum</i>	T294	Serra do Ambrósio, Rio Vermelho	MG	-18,087650	-43,075310	L20	UFMG-A 10878	16S, ND2	B19
<i>Thoropa megalatympanum</i>	T293	Serra do Ambrósio, Rio Vermelho	MG	-18,095480	-43,070130	L20	UFMG-A 11014	16S, ND2, COI	B20
<i>Thoropa megalatympanum</i>	T308	Serra do Cipó, Santana do Riacho	MG	-19,286833	-43,582467	L21	CFBH-T 14465	16S, ND2	B11
<i>Thoropa megalatympanum</i>	T305	Serra do Cipó, Santana do Riacho	MG	-19,286833	-43,582467	L21	CFBH-T 14471	16S	B12
<i>Thoropa megalatympanum</i>	T299	Serra do Cipó, Santana do Riacho	MG	-19,287067	-43,582133	L21	CFBH-T 14467	16S	B11
<i>Thoropa megalatympanum</i>	T299	Serra do Cipó, Santana do Riacho	MG	-19,286867	-43,582817	L21	CFBH-T 14468	16S	B11
<i>Thoropa megalatympanum</i>	T307	Serra do Cipó, Santana do Riacho	MG	-19,286817	-43,583017	L21	CFBH-T 14469	16S	B11
<i>Thoropa megalatympanum</i>	T306	Serra do Cipó, Santana do Riacho	MG	-19,287367	-43,583750	L21	CFBH-T 14470	16S	B15
<i>Thoropa megalatympanum</i>	T300	Fazenda Monjolos, Santana do Riacho	MG	-19,341389	-43,643333	L22	CFBH 30892	16S, ND2	B11
<i>Thoropa megalatympanum</i>	T299	Fazenda do Geraldinho, Santana do Riacho	MG	-19,280417	-43,609222	L23	CFBH-T 15579	16S	B11
<i>Thoropa militaris</i>	T171	Monte do Pescoço, Itamaraju	BA	-16,948766	-39,600266	L24	CFBH 32133	16S	D23
<i>Thoropa militaris</i>	T170	Serra Grande, Itamaraju	BA	-16,993250	-39,594500	L24	--	16S, ND2	D24
<i>Thoropa militaris</i>	T169	Serra Grande, Itamaraju	BA	-16,993250	-39,594500	L24	--	16S	D24
<i>Thoropa militaris</i>	T169	Serra Grande, Itamaraju	BA	-16,993250	-39,594500	L24	--	16S	D24
<i>Thoropa militaris</i>	T169	Serra Grande, Itamaraju	BA	-16,993250	-39,594500	L24	--	16S	D24
<i>Thoropa militaris</i>	T168	Serra Grande, Itamaraju	BA	-16,993250	-39,594500	L24	--	16S	D24
<i>Thoropa militaris</i>	T248	Anchieta	ES	-20,720687	-40,782044	L25	MZUSP 135145	16S, COI	D24
<i>Thoropa militaris</i>	T247	PM Pico do Itabira, Cachoeiro de Itapemirim	ES	-20,848906	-41,067800	L26	MNRJ 25984	16S	C8
<i>Thoropa militaris</i>	T262	PM Pico do Itabira, Cachoeiro de Itapemirim	ES	-20,848906	-41,067800	L26	MNRJ 25985	16S	C9
<i>Thoropa militaris</i>	T246	PM Pico do Itabira, Cachoeiro de Itapemirim	ES	-20,848906	-41,067800	L26	MNRJ 25986	16S	E4
<i>Thoropa militaris</i>	T245	PM Pico do Itabira, Cachoeiro de Itapemirim	ES	-20,848906	-41,067800	L26	MNRJ 25988	16S	C9
<i>Thoropa militaris</i>	T244	PM Pico do Itabira, Cachoeiro de Itapemirim	ES	-20,848906	-41,067800	L26	MNRJ 25989	16S, ND2, COI	G1
<i>Thoropa militaris</i>	T133	PM Pico do Itabira, Cachoeiro de Itapemirim	ES	-20,848906	-41,067800	L26	MNRJ 25990	16S	G1
<i>Thoropa militaris</i>	T243	PM Pico do Itabira, Cachoeiro de Itapemirim	ES	-20,848906	-41,067800	L26	MNRJ 25991	16S	G1
<i>Thoropa militaris</i>	T254	REBIO Duas Bocas, Cariacica	ES	-20,259897	-40,490353	L27	MNRJ 25134	16S, ND2	C4
<i>Thoropa militaris</i>	T253	REBIO Duas Bocas, Cariacica	ES	-20,259897	-40,490353	L27	MNRJ 25135	16S, ND2, COI	C5
<i>Thoropa militaris</i>	T251	REBIO Duas Bocas, Cariacica	ES	-20,259897	-40,490353	L27	MNRJ 25136	16S	C6

Espécie	T	Localidade e Município	UF	Latitude	Longitude	L	Registro do exemplar	Fragmentos	H
<i>Thoropa miliaris</i>	T252	REBIO Duas Bocas, Cariacica	ES	-20,259897	-40,490353	L27	MNRJ 25137	16S, ND2	C7
<i>Thoropa miliaris</i>	T251	REBIO Duas Bocas, Cariacica	ES	-20,259897	-40,490353	L27	MNRJ 25138	16S	C6
<i>Thoropa miliaris</i>	T250	REBIO Duas Bocas, Cariacica	ES	-20,259897	-40,490353	L27	MNRJ 25139	16S	C7
<i>Thoropa miliaris</i>	T250	REBIO Duas Bocas, Cariacica	ES	-20,259897	-40,490353	L27	MNRJ 25140	16S	C7
<i>Thoropa miliaris</i>	T225	REBIO Duas Bocas, Cariacica	ES	-20,259897	-40,490353	L27	MNRJ 25141	16S	C7
<i>Thoropa miliaris</i>	T249	REBIO Duas Bocas, Cariacica	ES	-20,259897	-40,490353	L27	MNRJ 25142	16S	C1
<i>Thoropa miliaris</i>	T226	Cristal do Norte, Pedro Canário	ES	-18,067778	-40,101667	L28	CFBH-T 6721	16S, ND2, COI	D3
<i>Thoropa miliaris</i>	T261	Domingos Martins	ES	-20,362786	-40,658705	L29	CFBH-T 3730	16S, ND2, COI	C1
<i>Thoropa miliaris</i>	T256	Domingos Martins	ES	-20,362786	-40,658705	L29	CFBH-T 3731	16S, ND2	C1
<i>Thoropa miliaris</i>	T260	Domingos Martins	ES	-20,362786	-40,658705	L29	CFBH-T 13222	16S, ND2, COI	C1
<i>Thoropa miliaris</i>	T259	Domingos Martins	ES	-20,362786	-40,658705	L29	CFBH-T 13223	16S, ND2	C2
<i>Thoropa miliaris</i>	T258	Domingos Martins	ES	-20,362786	-40,658705	L29	CFBH-T 13224	16S, ND2	C3
<i>Thoropa miliaris</i>	T225	Domingos Martins	ES	-20,362786	-40,658705	L29	CFBH-T 13225	16S	C1
<i>Thoropa miliaris</i>	T256	Domingos Martins	ES	-20,362786	-40,658705	L29	CFBH-T 13226	16S, ND2	C1
<i>Thoropa miliaris</i>	T257	Domingos Martins	ES	-20,362786	-40,658705	L29	CFBH-T 13227	16S, ND2, COI	C1
<i>Thoropa miliaris</i>	T256	Domingos Martins	ES	-20,362786	-40,658705	L29	CFBH-T 13228	16S, ND2	C1
<i>Thoropa miliaris</i>	T255	Domingos Martins	ES	-20,362786	-40,658705	L29	CFBH-T 13229	16S, ND2	C1
<i>Thoropa miliaris</i>	T224	Pedra Azul, Domingos Martins	ES	-20,419664	-41,003300	L30	CFBH-T 9097	16S, ND2, COI	D4
<i>Thoropa miliaris</i> *	T167	Pedra Azul, Domingos Martins	ES	-20,419664	-41,003300	L30	CFBH 18430	16S, ND2	D3
<i>Thoropa miliaris</i> *	T166	Pedra Azul, Domingos Martins	ES	-20,419664	-41,003300	L30	CFBH 18432	16S, ND2	D25
<i>Thoropa miliaris</i>	T242	Panelas, Domingos Martins	ES	-20,335556	-40,628056	L31	CFBH 29316	16S	C1
<i>Thoropa miliaris</i>	T241	Panelas, Domingos Martins	ES	-20,335556	-40,628056	L31	CFBH 29317	16S, COI	C1
<i>Thoropa miliaris</i>	T240	Panelas, Domingos Martins	ES	-20,335556	-40,628056	L31	CFBH 29318	16S	C5
<i>Thoropa miliaris</i>	T239	Panelas, Domingos Martins	ES	-20,335556	-40,628056	L31	CFBH 30488	16S	C1
<i>Thoropa miliaris</i> *	T237	Sítio de Roberto Kautsky Filho, Domingos Martins	ES	-20,435333	-41,021500	L32	CFBH 11329	16S, ND2	D1
<i>Thoropa miliaris</i>	T278	Barra Pontões, Mimoso do Sul	ES	-21,102901	-41,278592	L33	CFBH-T 12695	16S, ND2, COI	E2
<i>Thoropa miliaris</i>	T269	Barra Pontões, Mimoso do Sul	ES	-21,102901	-41,278592	L33	CFBH 25472	16S, ND2	E2
<i>Thoropa miliaris</i>	T276	Barra Pontões, Mimoso do Sul	ES	-21,102901	-41,278592	L33	CFBH 25473	16S, ND2, COI	E2
<i>Thoropa miliaris</i>	T271	Barra Pontões, Mimoso do Sul	ES	-21,102901	-41,278592	L33	CFBH 25474	16S, ND2, COI	E2
<i>Thoropa miliaris</i>	T269	Barra Pontões, Mimoso do Sul	ES	-21,102901	-41,278592	L33	CFBH 25475	16S, ND2	E2
<i>Thoropa miliaris</i>	T270	Barra Pontões, Mimoso do Sul	ES	-21,102901	-41,278592	L33	CFBH 25476	16S, ND2	E2
<i>Thoropa miliaris</i>	T269	Barra Pontões, Mimoso do Sul	ES	-21,102901	-41,278592	L33	CFBH 25477	16S, ND2	E2
<i>Thoropa miliaris</i>	T266	Barra Pontões, Mimoso do Sul	ES	-21,102901	-41,278592	L33	CFBH 25478	16S, ND2	E2
<i>Thoropa miliaris</i>	T265	Barra Pontões, Mimoso do Sul	ES	-21,102901	-41,278592	L33	CFBH 25479	16S	E2
<i>Thoropa miliaris</i>	T263	Barra Pontões, Mimoso do Sul	ES	-21,102901	-41,278592	L33	CFBH 25480	16S, ND2	E2
<i>Thoropa miliaris</i>	T275	Fazenda Bandarra, Mimoso do Sul	ES	-21,088596	-41,341997	L34	CFBH 25510	16S, ND2	E2
<i>Thoropa miliaris</i>	T274	Fazenda Bandarra, Mimoso do Sul	ES	-21,088596	-41,341997	L34	CFBH 25511	16S, ND2, COI	E2
<i>Thoropa</i> sp. nv.	T279	Sítio Recanto da Mata, Muniz Freire	ES	-20,582222	-41,473611	L35	CFBH-T 10806	16S, ND2, COI	E1
<i>Thoropa</i> sp. nv.	T277	Sítio Recanto da Mata, Muniz Freire	ES	-20,582222	-41,473611	L35	CFBH-T 10807	16S, ND2, COI	E3
<i>Thoropa</i> sp. nv.	T268	Sítio Recanto da Mata, Muniz Freire	ES	-20,582222	-41,473611	L35	CFBH-T 10808	16S, ND2	E3
<i>Thoropa</i> sp. nv.	T268	Sítio Recanto da Mata, Muniz Freire	ES	-20,582222	-41,473611	L35	CFBH-T 10809	16S, ND2	E3

Espécie	T	Localidade e Município	UF	Latitude	Longitude	L	Registro do exemplar	Fragmentos	H
<i>Thoropa sp. nv.</i>	T268	Sítio Recanto da Mata, Muniz Freire	ES	-20,582222	-41,473611	L35	CFBH-T 10810	16S, ND2	E3
<i>Thoropa sp. nv.</i>	T273	Sítio Recanto da Mata, Muniz Freire	ES	-20,582222	-41,473611	L35	CFBH-T 10811	16S, ND2	E3
<i>Thoropa sp. nv.</i>	T272	Sítio Recanto da Mata, Muniz Freire	ES	-20,582222	-41,473611	L35	CFBH-T 10812	16S, ND2	E3
<i>Thoropa sp. nv.</i>	T268	Sítio Recanto da Mata, Muniz Freire	ES	-20,582222	-41,473611	L35	CFBH-T 10813	16S, ND2	E3
<i>Thoropa sp. nv.</i>	T267	Sítio Recanto da Mata, Muniz Freire	ES	-20,582222	-41,473611	L35	CFBH-T 10814	16S, ND2, COI	E3
<i>Thoropa sp. nv.</i>	T264	Sítio Recanto da Mata, Muniz Freire	ES	-20,582222	-41,473611	L35	CFBH-T 10815	16S, ND2	E3
<i>Thoropa miliaris</i>	T238	Pousada Vila Suíça, Santa Leopoldina	ES	-19,936033	-40,600561	L36	CFBH 17998	16S, ND2, COI	C10
<i>Thoropa miliaris</i>	T173	Reserva Augusto Ruschii, Santa Teresa	ES	-19,911944	-40,549444	L37	CFBH 30706	16S, ND2	D3
<i>Thoropa miliaris</i>	T172	Reserva Augusto Ruschii, Santa Teresa	ES	-19,911944	-40,549444	L37	CFBH 30707	16S, ND2, COI	D3
<i>Thoropa miliaris*</i>	T236	REBIO Santa Lúcia, Santa Teresa	ES	-19,959139	-40,540083	L38	CFBH 14975	16S, ND2	C6
<i>Thoropa miliaris*</i>	T235	REBIO Santa Lúcia, Santa Teresa	ES	-19,959139	-40,540083	L38	CFBH 14976	16S, ND2	C11
<i>Thoropa miliaris*</i>	T165	REBIO Santa Lúcia, Santa Teresa	ES	-19,959139	-40,540083	L38	CFBH 14977	16S, ND2	D26
<i>Thoropa miliaris*</i>	T234	REBIO Santa Lúcia, Santa Teresa	ES	-19,959139	-40,540083	L38	CFBH 18013	16S, ND2, COI	C6
<i>Thoropa miliaris*</i>	T164	REBIO Santa Lúcia, Santa Teresa	ES	-19,959139	-40,540083	L38	CFBH 18014	16S, ND2	D26
<i>Thoropa miliaris*</i>	T233	REBIO Santa Lúcia, Santa Teresa	ES	-19,959139	-40,540083	L38	CFBH 18448	16S, ND2	C12
<i>Thoropa miliaris*</i>	T232	REBIO Santa Lúcia, Santa Teresa	ES	-19,959139	-40,540083	L38	CFBH 18449	16S, ND2	C6
<i>Thoropa miliaris*</i>	T231	Morro do Cruzeiro, Vitória	ES	-20,300358	-40,284519	L39	CFBH 18437	16S, ND2	C13
<i>Thoropa miliaris*</i>	T230	Morro do Cruzeiro, Vitória	ES	-20,300358	-40,284519	L39	CFBH 18439	16S, ND2	C13
<i>Thoropa miliaris*</i>	T229	Morro da Gamela, Vitória	ES	-20,302083	-40,218333	L40	CFBH 18442	16S, ND2	C1
<i>Thoropa miliaris*</i>	T228	Morro da Gamela, Vitória	ES	-20,302083	-40,218333	L40	CFBH 18446	16S, ND2, COI	C13
<i>Thoropa miliaris</i>	T182	Rio Aiuruoca, Aiuruoca	MG	-21,926521	-44,590148	L41	RF 30	16S, ND2, COI	D8
<i>Thoropa miliaris</i>	T181	Fazenda Limoeiro, Almenara	MG	-16,188682	-40,687973	L42	MZUFV 4148	16S, ND2, COI	D19
<i>Thoropa miliaris</i>	T180	Fazenda Limoeiro, Almenara	MG	-16,188682	-40,687973	L42	MZUFV 4149	16S	D20
<i>Thoropa miliaris</i>	T203	PARNA Caparaó, Alto Caparaó	MG	-20,433066	-41,874666	L43	MZUFV 3920	16S	D14
<i>Thoropa miliaris</i>	T179	PARNA Caparaó, Alto Caparaó	MG	-20,433066	-41,874666	L43	MZUFV 3919	16S	D9
<i>Thoropa miliaris</i>	T202	PARNA Caparaó, Alto Caparaó	MG	-20,433066	-41,874666	L43	MZUFV 3923	16S, ND2	D12
<i>Thoropa miliaris</i>	T201	PARNA Caparaó, Alto Caparaó	MG	-20,433066	-41,874666	L43	MZUFV 3924	16S, ND2	D9
<i>Thoropa miliaris</i>	T200	PARNA Caparaó, Alto Caparaó	MG	-20,433066	-41,874666	L43	MZUFV 3922	16S, ND2	D12
<i>Thoropa miliaris</i>	T199	PARNA Caparaó, Alto Caparaó	MG	-20,433066	-41,874666	L43	MZUFV 3918	16S, ND2, COI	D14
<i>Thoropa miliaris</i>	T189	PARNA Caparaó, Alto Caparaó	MG	-20,433066	-41,874666	L43	MZUFV 3921	16S	B11
<i>Thoropa miliaris</i>	T198	Fazenda Neblina, Araponga	MG	-20,670618	-42,513096	L44	MZUFV 3931	16S, ND2, COI	D12
<i>Thoropa miliaris</i>	T183	Fazenda Neblina, Araponga	MG	-20,670618	-42,513096	L44	MZUFV 3932	16S	D12
<i>Thoropa miliaris</i>	T197	Fazenda Neblina, Araponga	MG	-20,670618	-42,513096	L44	MZUFV 3934	16S, ND2, COI	D9
<i>Thoropa miliaris</i>	T179	Fazenda Neblina, Araponga	MG	-20,670618	-42,513096	L44	MZUFV 3935	16S	D9
<i>Thoropa miliaris</i>	T183	Fazenda Neblina, Araponga	MG	-20,670618	-42,513096	L44	MZUFV 3267	16S	D12
<i>Thoropa miliaris</i>	T189	Fazenda Neblina, Araponga	MG	-20,670618	-42,513096	L44	MZUFV 3268	16S	B11
<i>Thoropa miliaris</i>	T189	Fazenda Neblina, Araponga	MG	-20,670618	-42,513096	L44	MZUFV 3269	16S	B11
<i>Thoropa miliaris</i>	T183	Fazenda Neblina, Araponga	MG	-20,670618	-42,513096	L44	MZUFV 3231	16S	D12
<i>Thoropa miliaris</i>	T179	Fazenda Neblina, Araponga	MG	-20,670618	-42,513096	L44	MZUFV 3232	16S, ND2	D12
<i>Thoropa miliaris</i>	T177	Fazenda Neblina, Araponga	MG	-20,670618	-42,513096	L44	MZUFV 3233	16S	D9
<i>Thoropa miliaris</i>	T187	Fazenda Neblina, Araponga	MG	-20,670618	-42,513096	L44	MZUFV 3234	16S, ND2	D18
<i>Thoropa miliaris</i>	T186	Fazenda Neblina, Araponga	MG	-20,670618	-42,513096	L44	MZUFV 3235	16S, ND2	D12

Espécie	T	Localidade e Município	UF	Latitude	Longitude	L	Registro do exemplar	Fragmentos	H
<i>Thoropa miliaris</i>	T185	Fazenda Neblina, Araponga	MG	-20,670618	-42,513096	L44	MZUFV 3236	16S, ND2	D12
<i>Thoropa miliaris</i>	T179	Fazenda Neblina, Araponga	MG	-20,670618	-42,513096	L44	MZUFV 3237	16S	D9
<i>Thoropa miliaris</i>	T184	Fazenda Neblina, Araponga	MG	-20,670618	-42,513096	L44	MZUFV 3902	16S, ND2, COI	D18
<i>Thoropa miliaris</i>	T183	Fazenda Neblina, Araponga	MG	-20,670618	-42,513096	L44	MZUFV 3903	16S	D12
<i>Thoropa miliaris</i>	T183	Fazenda Neblina, Araponga	MG	-20,670618	-42,513096	L44	MZUFV 3904	16S	D12
<i>Thoropa miliaris</i>	T183	Fazenda Neblina, Araponga	MG	-20,670618	-42,513096	L44	MZUFV 3905	16S	D12
<i>Thoropa miliaris</i>	T211	Caparaó	MG	-20,521349	-41,907085	L45	MNRJ 42088	16S, ND2	D9
<i>Thoropa miliaris</i>	T210	Caparaó	MG	-20,521349	-41,907085	L45	MNRJ 42089	16S, ND2, COI	D9
<i>Thoropa miliaris</i>	T218	Fazenda Pedra Dourada, Carangola	MG	-20,791850	-42,171583	L46	CFBH 27278	16S, ND2	D6
<i>Thoropa miliaris</i>	T160	Caminho da Luz, Carangola	MG	-20,796000	-42,105633	L47	CFBH 27285	16S	H2
<i>Thoropa miliaris</i>	T163	Caminho da Luz, Carangola	MG	-20,796000	-42,105633	L47	CFBH 27286	16S, COI	H2
<i>Thoropa miliaris</i>	T160	Caminho da Luz, Carangola	MG	-20,796000	-42,105633	L47	CFBH 27287	16S	H2
<i>Thoropa miliaris</i>	T160	Caminho da Luz, Carangola	MG	-20,796000	-42,105633	L47	CFBH 27288	16S	H2
<i>Thoropa miliaris</i>	T160	Caminho da Luz, Carangola	MG	-20,796000	-42,105633	L47	CFBH 27289	16S	H2
<i>Thoropa miliaris</i>	T216	Caminho da Luz, Carangola	MG	-20,796000	-42,105633	L47	CFBH 27290	16S, ND2, COI	D7
<i>Thoropa miliaris</i>	T160	Caminho da Luz, Carangola	MG	-20,796000	-42,105633	L47	CFBH 27291	16S	H2
<i>Thoropa miliaris</i>	T159	Caminho da Luz, Carangola	MG	-20,796000	-42,105633	L47	CFBH 27292	16S, ND2, COI	H2
<i>Thoropa miliaris</i>	T180	Fazenda Ramaiana, Joáima	MG	-16,645274	-41,032413	L48	MZUFV	16S, COI	D3
<i>Thoropa miliaris</i>	T179	Fazenda Ramaiana, Joáima	MG	-16,645274	-41,032413	L48	MZUFV	16S	D9
<i>Thoropa miliaris</i>	T178	Fazenda Ramaiana, Joáima	MG	-16,645274	-41,032413	L48	MZUFV	16S	D21
<i>Thoropa miliaris</i>	T207	PE do Ibitipoca, Lima Duarte	MG	-21,848352	-43,607533	L49	MNRJ 24811	16S, ND2, COI	D8
<i>Thoropa miliaris</i>	T206	PE do Ibitipoca, Lima Duarte	MG	-21,848352	-43,607533	L49	RF 16	16S, ND2, COI	D8
<i>Thoropa miliaris</i>	T190	PE do Ibitipoca, Lima Duarte	MG	-21,848352	-43,607533	L49	MZUFV 4094	16S	D8
<i>Thoropa miliaris</i>	T192	PE do Ibitipoca, Lima Duarte	MG	-21,848352	-43,607533	L49	MZUFV 4095	16S, ND2	D8
<i>Thoropa miliaris</i>	T190	PE do Ibitipoca, Lima Duarte	MG	-21,848352	-43,607533	L49	MZUFV 4096	16S	D8
<i>Thoropa miliaris</i>	T190	PE do Ibitipoca, Lima Duarte	MG	-21,848352	-43,607533	L49	MZUFV 4097	16S	D8
<i>Thoropa miliaris</i>	T190	PE do Ibitipoca, Lima Duarte	MG	-21,848352	-43,607533	L49	MZUFV 4098	16S	D8
<i>Thoropa miliaris</i>	T191	PE do Ibitipoca, Lima Duarte	MG	-21,848352	-43,607533	L49	MZUFV 4099	16S	D8
<i>Thoropa miliaris</i>	T190	PE do Ibitipoca, Lima Duarte	MG	-21,848352	-43,607533	L49	MZUFV 4100	16S	D8
<i>Thoropa miliaris</i>	T176	PE do Ibitipoca, Lima Duarte	MG	-21,848352	-43,607533	L49	UFMG-T 1069b	16S	D8
<i>Thoropa miliaris</i>	T196	Fazenda Alto Cariri, Salto da Divisa	MG	-16,015991	-39,948102	L50	MZUFV 39	16S	D15
<i>Thoropa miliaris</i>	T195	Fazenda Alto Cariri, Salto da Divisa	MG	-16,015991	-39,948102	L50	MZUFV 39	16S, ND2	D16
<i>Thoropa miliaris</i>	T193	Fazenda Alto Cariri, Salto da Divisa	MG	-16,015991	-39,948102	L50	MZUFV 39	16S	D16
<i>Thoropa miliaris</i>	T194	Fazenda Alto Cariri, Salto da Divisa	MG	-16,015991	-39,948102	L50	MZUFV 39	16S, ND2, COI	D17
<i>Thoropa miliaris</i>	T193	Fazenda Alto Cariri, Salto da Divisa	MG	-16,015991	-39,948102	L50	MZUFV 39	16S	D16
<i>Thoropa miliaris</i>	T208	Santa Bárbara	MG	-19,962481	-43,417067	L51	MNRJ 72832	16S, ND2, COI	D10
<i>Thoropa miliaris</i>	T205	Mata do Sossego, Simonésia	MG	-20,126242	-42,000310	L52	MNRJ 23593	16S	D11
<i>Thoropa miliaris</i>	T183	Mata do Sossego, Simonésia	MG	-20,126242	-42,000310	L52	MNRJ 23594	16S	D12
<i>Thoropa miliaris</i>	T183	Mata do Sossego, Simonésia	MG	-20,126242	-42,000310	L52	MNRJ 23595	16S	D12
<i>Thoropa miliaris</i>	T183	Mata do Sossego, Simonésia	MG	-20,126242	-42,000310	L52	MNRJ 23596	16S	D12
<i>Thoropa miliaris</i>	T179	Mata do Sossego, Simonésia	MG	-20,126242	-42,000310	L52	MNRJ 23597	16S	D9
<i>Thoropa miliaris</i>	T204	Mata do Sossego, Simonésia	MG	-20,126242	-42,000310	L52	MNRJ 23598	16S, ND2	D13

Espécie	T	Localidade e Município	UF	Latitude	Longitude	L	Registro do exemplar	Fragmentos	H
<i>Thoropa miliaris</i>	T152	Volta Grande	MG	-21,770786	-42,540548	L53	MNRJ 43663	16S, ND2, COI	G5
<i>Thoropa miliaris</i>	T123	BR-101 km 521, Angra dos Reis	RJ	-23,018603	-44,490197	L54	CFBH-T 15481	16S	G4
<i>Thoropa miliaris</i>	T122	BR-101 km 521, Angra dos Reis	RJ	-23,018603	-44,490197	L54	CFBH-T 15482	16S, ND2, COI	G4
<i>Thoropa miliaris</i>	T115	BR-101 mirante Praia Brava, Angra dos Reis	RJ	-23,010378	-44,485562	L55	CFBH-T 15486	16S	G4
<i>Thoropa miliaris</i>	T121	BR-101 mirante Praia Brava, Angra dos Reis	RJ	-23,010378	-44,485562	L55	CFBH-T 15487	16S, COI	G4
<i>Thoropa miliaris</i>	T115	Praia do Armando, Angra dos Reis	RJ	-22,949680	-44,354025	L56	CFBH-T 15488	16S	G4
<i>Thoropa miliaris</i>	T120	Praia do Armando, Angra dos Reis	RJ	-22,949680	-44,354025	L56	CFBH-T 15490	16S, ND2, COI	G4
<i>Thoropa miliaris</i>	T119	BR-101 km 89, Angra dos Reis	RJ	-23,030815	-44,205900	L57	CFBH-T 15491	16S, ND2, COI	G8
<i>Thoropa miliaris</i>	T115	BR-101 km 89, Angra dos Reis	RJ	-23,030815	-44,205900	L57	CFBH-T 15492	16S	G4
<i>Thoropa miliaris</i>	T115	BR-101 km 89, Angra dos Reis	RJ	-23,030815	-44,205900	L57	CFBH-T 15493	16S	G4
<i>Thoropa miliaris</i>	T115	BR-101 km 487, Angra dos Reis	RJ	-22,981302	-44,436654	L58	CFBH-T 15494	16S	G4
<i>Thoropa miliaris</i>	T118	BR-101 km 487, Angra dos Reis	RJ	-22,981302	-44,436654	L58	CFBH-T 15495	16S, ND2, COI	G4
<i>Thoropa miliaris</i>	T115	BR-101 km 487, Angra dos Reis	RJ	-22,981302	-44,436654	L58	CFBH-T 15496	16S	G4
<i>Thoropa miliaris</i>	T115	BR-101 km 491, Angra dos Reis	RJ	-22,935073	-44,318274	L59	CFBH-T 15500	16S	G4
<i>Thoropa miliaris</i>	T117	BR-101 km 491, Angra dos Reis	RJ	-22,935073	-44,318274	L59	CFBH-T 15501	16S, ND2	G4
<i>Thoropa miliaris</i>	T115	BR-101 km 491, Angra dos Reis	RJ	-22,935073	-44,318274	L59	CFBH-T 15502	16S	G4
<i>Thoropa miliaris</i>	T116	BR-101 CIN, Angra dos Reis	RJ	-22,996473	-44,301496	L60	CFBH-T 15506	16S, ND2	G4
<i>Thoropa miliaris</i>	T115	BR-101 CIN, Angra dos Reis	RJ	-22,996473	-44,301496	L60	CFBH-T 15507	16S	G4
<i>Thoropa miliaris</i>	T114	BR-101 CIN, Angra dos Reis	RJ	-22,996473	-44,301496	L60	CFBH-T 15508	16S	G4
<i>Thoropa cf. miliaris</i>	T217	PE dos Três Picos, Cachoeiras de Macacu	RJ	-22,375417	-42,607567	L61	CFBH 27399	16S, ND2, COI	D1
<i>Thoropa cf. miliaris</i>	T215	PE dos Três Picos, Cachoeiras de Macacu	RJ	-22,375417	-42,607567	L61	CFBH 27400	16S, ND2	D1
<i>Thoropa cf. miliaris</i>	T214	PE dos Três Picos, Cachoeiras de Macacu	RJ	-22,375417	-42,607567	L61	CFBH 27401	16S, ND2	D1
<i>Thoropa miliaris</i>	T177	REGUA, Cachoeiras de Macacu	RJ	-22,454511	-42,808653	L62	CFBH 30765	16S, ND2, COI	D22
<i>Thoropa miliaris</i>	T150	Cantagalo	RJ	-21,982039	-42,367882	L63	MNRJ 59036	16S, ND2, COI	G3
<i>Thoropa miliaris</i>	T149	Cantagalo	RJ	-21,982039	-42,367882	L63	MNRJ 59037	16S, ND2	G3
<i>Thoropa miliaris</i>	T107	Macaré	RJ	-22,371722	-41,785728	L64	MNRJ 70701	16S, ND2, COI	F3
<i>Thoropa miliaris</i>	T131	Reserva Rio das Pedras, Mangaratiba	RJ	-22,991389	-44,100278	L65	UNIRIO 4608	16S	G4
<i>Thoropa miliaris</i>	T130	Reserva Rio das Pedras, Mangaratiba	RJ	-22,991389	-44,100278	L65	UNIRIO 4609	16S, ND2, COI	G4
<i>Thoropa miliaris</i>	T148	Maricá	RJ	-22,919092	-42,818285	L66	MNRJ 73080	16S, ND2, COI	G1
<i>Thoropa miliaris</i>	T151	Serra do Mendanha, Mesquita	RJ	-22,813889	-43,493611	L67	MNRJ 58145	16S, ND2, COI	G6
<i>Thoropa miliaris</i>	T145	Itacoatiara, Niterói	RJ	-22,971319	-43,031617	L68	MNRJ 74658	16S, ND2, COI	G7
<i>Thoropa miliaris</i>	T154	Paraty	RJ	-23,216708	-44,717938	L69	MNRJ 43385	16S	G4
<i>Thoropa miliaris</i>	T99	Estrada Parati-Cunha, Paraty	RJ	-23,171853	-44,834814	L70	RF 4	16S, ND2, COI	H3
<i>Thoropa miliaris</i>	T129	BR-101 Tarituba, Paraty	RJ	-23,047222	-44,577028	L71	CFBH 30616	16S	H1
<i>Thoropa miliaris</i>	T128	BR-101 Tarituba, Paraty	RJ	-23,047222	-44,577028	L71	CFBH 30617	16S, ND2	G4
<i>Thoropa miliaris</i>	T127	BR-101 Tarituba, Paraty	RJ	-23,053417	-44,579667	L71	CFBH 30622	16S, ND2, COI	G4
<i>Thoropa miliaris</i>	T126	BR-101 Tarituba, Paraty	RJ	-23,053417	-44,579667	L71	CFBH 30623	16S, ND2	G4
<i>Thoropa miliaris</i>	T124	BR-101 Tarituba, Paraty	RJ	-23,046944	-44,601639	L71	CFBH 30634	16S, ND2, COI	G4
<i>Thoropa miliaris</i>	T125	BR-101 Tarituba, Paraty	RJ	-23,046944	-44,601639	L71	CFBH 30633	16S, ND2	G4
<i>Thoropa miliaris</i>	T113	BR-101 km 559, Paraty	RJ	-23,047829	-44,606778	L72	CFBH-T 15510	16S	G9
<i>Thoropa miliaris</i>	T98	Trilha para a praia das Laranjeiras, Trindade, Paraty	RJ	-23,332247	-44,679728	L73	CFBH 31102	16S, ND2, COI	H3
<i>Thoropa miliaris</i>	T97	Praia das Laranjeiras, Trindade, Paraty	RJ	-23,334416	-44,676563	L73	CFBH 31104	16S, ND2	G10

Espécie	T	Localidade e Município	UF	Latitude	Longitude	L	Registro do exemplar	Fragmentos	H
<i>Thoropa miliaris</i>	T96	Praia das Laranjeiras, Trindade, Paraty	RJ	-23,334416	-44,676563	L73	CFBH 31105	16S, ND2, COI	G10
<i>Thoropa miliaris</i>	T95	Praia do Cachadaço, Trindade, Paraty	RJ	-23,359145	-44,732224	L74	CFBH-T 15511	16S	H3
<i>Thoropa miliaris</i>	T94	Praia do Cachadaço, Trindade, Paraty	RJ	-23,359145	-44,732224	L74	CFBH-T 15512	16S, ND2, COI	H3
<i>Thoropa miliaris</i>	T93	Praia do Cachadaço, Trindade, Paraty	RJ	-23,359145	-44,732224	L74	CFBH-T 15513	16S, ND2, COI	H3
<i>Thoropa miliaris</i>	T227	Petrópolis	RJ	-22,504639	-43,182329	L75	CFBH 10125	16S, ND2, COI	D2
<i>Thoropa miliaris</i>	T220	Petrópolis	RJ	-22,504639	-43,182329	L75	CFBH-T 2853	16S, ND2	D1
<i>Thoropa miliaris</i>	T223	Petrópolis	RJ	-22,504639	-43,182329	L75	CFBH-T 2854	16S, ND2	D1
<i>Thoropa miliaris</i>	T223	Petrópolis	RJ	-22,504639	-43,182329	L75	CFBH-T 2855	16S, ND2	D1
<i>Thoropa miliaris</i>	T222	Petrópolis	RJ	-22,504639	-43,182329	L75	CFBH-T 2856	16S, ND2	D1
<i>Thoropa miliaris</i>	T221	Petrópolis	RJ	-22,504639	-43,182329	L75	CFBH-T 2857	16S, ND2	D1
<i>Thoropa miliaris</i>	T220	Petrópolis	RJ	-22,504639	-43,182329	L75	CFBH-T 2858	16S, ND2	D1
<i>Thoropa miliaris</i>	T219	Petrópolis	RJ	-22,504639	-43,182329	L75	CFBH-T 2859	16S, ND2	D5
<i>Thoropa miliaris</i>	T155	Urca, Rio de Janeiro	RJ	-22,954769	-43,166558	L76	MNRJ 40642	16S, ND2, COI	G1
<i>Thoropa miliaris</i>	T153	Urca, Rio de Janeiro	RJ	-22,954769	-43,166558	L76	MNRJ 43617	16S, ND2	G1
<i>Thoropa miliaris</i>	T147	PARNA da Tijuca, Rio de Janeiro	RJ	-22,961328	-43,274472	L77	MNRJ 74077	16S, ND2	G1
<i>Thoropa miliaris</i>	T146	PARNA da Tijuca, Rio de Janeiro	RJ	-22,961328	-43,274472	L77	MNRJ 74078	16S, ND2, COI	G1
<i>Thoropa miliaris</i>	T143	Praia Vermelha, Rio de Janeiro	RJ	-22,955278	-43,164722	L78	MNRJ 24969	16S, ND2	G1
<i>Thoropa miliaris</i>	T142	Praia Vermelha, Rio de Janeiro	RJ	-22,955278	-43,164722	L78	MNRJ 24970	16S, ND2	G1
<i>Thoropa miliaris</i>	T141	Praia Vermelha, Rio de Janeiro	RJ	-22,955278	-43,164722	L78	MNRJ 24971	16S, ND2	G1
<i>Thoropa miliaris</i>	T133	Praia Vermelha, Rio de Janeiro	RJ	-22,955278	-43,164722	L78	MNRJ 26428	16S	G1
<i>Thoropa miliaris</i>	T140	Praia Vermelha, Rio de Janeiro	RJ	-22,955278	-43,164722	L78	MNRJ 26429	16S	G1
<i>Thoropa miliaris</i>	T139	Praia Vermelha, Rio de Janeiro	RJ	-22,955278	-43,164722	L78	MNRJ 26430	16S, ND2	G1
<i>Thoropa miliaris</i>	T138	Praia Vermelha, Rio de Janeiro	RJ	-22,955278	-43,164722	L78	MNRJ 26431	16S	G1
<i>Thoropa miliaris</i>	T137	Praia Vermelha, Rio de Janeiro	RJ	-22,955278	-43,164722	L78	MNRJ 26432	16S	G1
<i>Thoropa miliaris</i>	T136	Praia Vermelha, Rio de Janeiro	RJ	-22,955278	-43,164722	L78	MNRJ 26433	16S	G1
<i>Thoropa miliaris</i>	T134	Praia Vermelha, Rio de Janeiro	RJ	-22,955278	-43,164722	L78	MNRJ 26434	16S	G1
<i>Thoropa miliaris</i>	T135	Praia Vermelha, Rio de Janeiro	RJ	-22,955278	-43,164722	L78	MNRJ 26435	16S, ND2	G1
<i>Thoropa miliaris</i>	T134	Praia Vermelha, Rio de Janeiro	RJ	-22,955278	-43,164722	L78	MNRJ 26436	16S	G1
<i>Thoropa miliaris</i>	T133	Praia Vermelha, Rio de Janeiro	RJ	-22,955278	-43,164722	L78	MNRJ 26437	16S	G1
<i>Thoropa miliaris</i>	T132	Morro da Babilônia, Rio de Janeiro	RJ	-22,957089	-43,170478	L79	UNIRIO 4550	16S, ND2, COI	G1
<i>Thoropa cf. miliaris</i>	T115	Morro da Babilônia, Rio de Janeiro	RJ	-22,957089	-43,170478	L79	UNIRIO 4550	16S	G4
<i>Thoropa cf. miliaris</i>	T112	PE do Desengano, casa da Magdala, Santa Maria Madalena	RJ	-21,879250	-41,918617	L80	CFBH 27350	16S, ND2, COI	F1
<i>Thoropa cf. miliaris</i>	T111	PE do Desengano, casa da Magdala, Santa Maria Madalena	RJ	-21,879250	-41,918617	L80	CFBH 27351	16S, ND2	F1
<i>Thoropa cf. miliaris</i>	T162	PE do Desengano, Sossego do Imbé, Santa Maria Madalena	RJ	-21,930467	-41,792500	L81	CFBH 27364	16S, ND2	G3
<i>Thoropa cf. miliaris</i>	T161	PE do Desengano, Sossego do Imbé, Santa Maria Madalena	RJ	-21,930467	-41,792500	L81	CFBH 27365	16S, ND2	G3
<i>Thoropa cf. miliaris</i>	T158	PE do Desengano, Sossego do Imbé, Santa Maria Madalena	RJ	-21,930467	-41,792500	L81	CFBH 27366	16S, ND2, COI	G3
<i>Thoropa cf. miliaris</i>	T157	PE do Desengano, Sossego do Imbé, Santa Maria Madalena	RJ	-21,930467	-41,792500	L81	CFBH 27367	16S, ND2, COI	G3
<i>Thoropa cf. miliaris</i>	T156	PE do Desengano, Sossego do Imbé, Santa Maria Madalena	RJ	-21,930467	-41,792500	L81	CFBH 27368	16S, ND2	G3
<i>Thoropa miliaris</i>	T213	PE do Desengano, pico do Desengano, Santa Maria Madalena	RJ	-21,880310	-41,916910	L82	CFBH 28054	16S, ND2, COI	D1
<i>Thoropa miliaris</i>	T109	PE do Desengano, poço do padre, Santa Maria Madalena	RJ	-21,873560	-41,926100	L83	CFBH 28070	16S, ND2	F2
<i>Thoropa miliaris</i>	T110	PE do Desengano, poço do padre, Santa Maria Madalena	RJ	-21,873560	-41,926100	L83	CFBH 28069	16S, ND2, COI	F1
<i>Thoropa miliaris</i>	T109	PE do Desengano, poço do padre, Santa Maria Madalena	RJ	-21,873560	-41,926100	L83	CFBH 28071	16S, ND2	F2

Espécie	T	Localidade e Município	UF	Latitude	Longitude	L	Registro do exemplar	Fragmentos	H
<i>Thoropa miliaris</i>	T108	PE do Desengano, casa de pesquisa, Santa Maria Madalena	RJ	-21,876630	-41,915860	L84	CFBH 28065	16S, ND2, COI	F1
<i>Thoropa miliaris</i>	T144	Saquarema	RJ	-22,931002	-42,496440	L85	MINRJ 74743	16S, ND2, COI	G1
<i>Thoropa miliaris</i>	T209	Vale da Revolta, Teresópolis	RJ	-22,412324	-42,966432	L86	MINRJ 44566	16S, ND2, COI	D1
<i>Thoropa miliaris</i>	T175	PARNA da Serra dos Órgãos, Teresópolis	RJ	-22,448561	-42,983517	L87	--	16S, ND2, COI	D22
<i>Thoropa miliaris</i>	T174	PARNA da Serra dos Órgãos, Teresópolis	RJ	-22,448561	-42,983517	L87	CFBH 18818	16S, COI	D1
<i>Thoropa taophora</i>	T63	Praia Guaratuba, Bertioga	SP	-23,765447	-45,903317	L88	MZUSP 139288	16S	H6
<i>Thoropa taophora</i>	T52	Praia de São Lourenço, Bertioga	SP	-23,818825	-46,039461	L89	CFBH-T 14835	16S	H9
<i>Thoropa taophora</i>	T51	Praia de São Lourenço, Bertioga	SP	-23,818825	-46,039461	L89	CFBH 30295	16S, ND2	H6
<i>Thoropa taophora</i>	T47	Praia de São Lourenço, Bertioga	SP	-23,818825	-46,039461	L89	CFBH 30296	16S, ND2	H6
<i>Thoropa taophora</i>	T50	Praia de São Lourenço, Bertioga	SP	-23,818825	-46,039461	L89	CFBH 30297	16S, ND2, COI	H6
<i>Thoropa taophora</i>	T47	Praia de Indaiá, Bertioga	SP	-23,824786	-46,044039	L90	CFBH 30305	16S, ND2	H6
<i>Thoropa taophora</i>	T46	Praia de Indaiá, Bertioga	SP	-23,824786	-46,044039	L90	CFBH 30306	16S, ND2	H6
<i>Thoropa taophora</i>	T45	Praia de Indaiá, Bertioga	SP	-23,824786	-46,044039	L90	CFBH 30307	16S	H6
<i>Thoropa taophora</i>	T45	Praia de Indaiá, Bertioga	SP	-23,824786	-46,044039	L90	CFBH 30308	16S	H6
<i>Thoropa taophora*</i>	T29	Ilha Tamandú, Caraguatatuba	SP	-23,594167	-45,291111	L91	CFBH 12612	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora*</i>	T29	Ilha Tamandú, Caraguatatuba	SP	-23,594167	-45,291111	L91	CFBH 19715	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora*</i>	T31	Ilha Tamandú, Caraguatatuba	SP	-23,594167	-45,291111	L91	CFBH 20168	16S, ND2, COI	H7
<i>Thoropa taophora*</i>	T29	Ilha Tamandú, Caraguatatuba	SP	-23,594167	-45,291111	L91	CFBH 20169	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora*</i>	T11	PE da Serra do Mar, Núcleo Caraguatatuba, Trilha Mococa, Caraguatatuba	SP	-23,594167	-45,291111	L92	CFBH 12142	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora</i>	T69	Cubatão	SP	-23,895560	-46,425633	L93	CFBH-T 9002	16S, ND2, COI	H6
<i>Thoropa sp.</i>	T103	Cachoeira do Pocinho, Iguape	SP	-24,571933	-47,248519	L94	--	16S, ND2	H2
<i>Thoropa sp.</i>	T100	Cachoeira do Pocinho, Iguape	SP	-24,571933	-47,248519	L94	--	16S, ND2	H2
<i>Thoropa taophora*</i>	T41	Ilha de São Sebastião, Ilhabela	SP	-23,831111	-45,352778	L95	CFBH 15323	16S, ND2	H10
<i>Thoropa taophora*</i>	T41	Ilha de São Sebastião, Ilhabela	SP	-23,831111	-45,352778	L95	CFBH 15324	16S, ND2	H10
<i>Thoropa taophora*</i>	T40	Ilha de São Sebastião, Ilhabela	SP	-23,831111	-45,352778	L95	CFBH 15325	16S, ND2, COI	H10
<i>Thoropa sp.</i>	T106	EE Juréia-Itatins, Núcleo Arpoador, Peruíbe	SP	-24,382886	-47,018247	L96	CFBH 29706	16S	H2
<i>Thoropa sp.</i>	T106	EE Juréia-Itatins, Núcleo Arpoador, Peruíbe	SP	-24,382886	-47,018247	L96	CFBH 29707	16S	H2
<i>Thoropa sp.</i>	T106	EE Juréia-Itatins, Núcleo Arpoador, Peruíbe	SP	-24,382886	-47,018247	L96	CFBH 29708	16S	H2
<i>Thoropa sp.</i>	T106	EE Juréia-Itatins, Núcleo Arpoador, Peruíbe	SP	-24,382886	-47,018247	L96	CFBH 29709	16S	H2
<i>Thoropa sp.</i>	T106	EE Juréia-Itatins, Núcleo Arpoador, Peruíbe	SP	-24,382886	-47,018247	L96	CFBH 29710	16S	H2
<i>Thoropa sp.</i>	T105	EE Juréia-Itatins, Núcleo Arpoador, Peruíbe	SP	-24,382886	-47,018247	L96	CFBH 29711	16S, ND2, COI	H2
<i>Thoropa sp.</i>	T104	EE Juréia-Itatins, Núcleo Arpoador, Peruíbe	SP	-24,382886	-47,018247	L96	--	16S, ND2, COI	H2
<i>Thoropa taophora*</i>	T100	EE Juréia-Itatins, Rio Verde, Peruíbe	SP	-24,550000	-47,221111	L97	CFBH 13796	16S, ND2	H2
<i>Thoropa taophora*</i>	T103	EE Juréia-Itatins, Rio Verde, Peruíbe	SP	-24,550000	-47,221111	L97	CFBH 13798	16S, ND2	H2
<i>Thoropa taophora*</i>	T102	EE Juréia-Itatins, trilha, Rio Verde, Peruíbe	SP	-24,550000	-47,221111	L98	CFBH 10916	16S, ND2, COI	H2
<i>Thoropa taophora*</i>	T102	EE Juréia-Itatins, trilha, Rio Verde, Peruíbe	SP	-24,550000	-47,221111	L98	CFBH 10911	16S, ND2, COI	H2
<i>Thoropa taophora*</i>	T101	EE Juréia-Itatins, trilha, Rio Verde, Peruíbe	SP	-24,550000	-47,221111	L98	CFBH 10914	16S, ND2	H2
<i>Thoropa taophora*</i>	T100	EE Juréia-Itatins, trilha, Rio Verde, Peruíbe	SP	-24,550000	-47,221111	L98	CFBH 10917	16S, ND2	H2
<i>Thoropa taophora*</i>	T19	PE da Serra do Mar, Núcleo Caraguatatuba, trilha Petrobrás, Salesópolis	SP	-23,684250	-45,651992	L99	CFBH 12894	16S, ND2, COI	H7
<i>Thoropa taophora</i>	T62	Parque Natural Municipal Nascentes de Paranapiacaba, Santo André	SP	-23,804944	-46,301000	L100	CTMZ 7229	16S, ND2	H6
<i>Thoropa taophora</i>	T61	Parque Natural Municipal Nascentes de Paranapiacaba, Santo André	SP	-23,804944	-46,301000	L100	CTMZ 7232	16S, ND2, COI	H6
<i>Thoropa taophora</i>	T60	Parque Natural Municipal Nascentes de Paranapiacaba, Santo André	SP	-23,804944	-46,301000	L100	CTMZ 7230	16S	H6

Espécie	T	Localidade e Município	UF	Latitude	Longitude	L	Registro do exemplar	Fragmentos	H
<i>Thoropa taophora</i>	T67	Santos	SP	-23,961836	-46,332247	L101	CFBH 23930	16S, ND2, COI	H6
<i>Thoropa taophora</i> *	T39	Santos	SP	-23,961836	-46,332247	L101	MTR 9371	16S, ND2, COI	H6
<i>Thoropa</i> sp.	T115	Serra da Bocaina, São José do Barreiro	SP	-22,645186	-44,576908	L102	CFBH-T 14343	16S	G4
<i>Thoropa taophora</i>	T65	Praia de Toque-Toque Grande, São Sebastião	SP	-23,831944	-45,514722	L103	CFBH 24588	16S, ND2, COI	H8
<i>Thoropa taophora</i>	T32	Praia de Toque-Toque Grande, São Sebastião	SP	-23,831944	-45,514722	L103	CFBH 24589	16S, ND2	H8
<i>Thoropa taophora</i>	T29	Praia de Toque-Toque Grande, São Sebastião	SP	-23,831944	-45,514722	L103	CFBH 24590	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora</i>	T29	Praia de Toque-Toque Grande, São Sebastião	SP	-23,831944	-45,514722	L103	CFBH 24591	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora</i>	T29	Praia de Toque-Toque Grande, São Sebastião	SP	-23,831944	-45,514722	L103	CFBH 24592	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora</i>	T64	Praia de Toque-Toque Grande, São Sebastião	SP	-23,831944	-45,514722	L103	CFBH 24593	16S, ND2, COI	H6
<i>Thoropa taophora</i> *	T37	PE da Serra do Mar, trilha Água Branca, Núcleo São Sebastião, São Sebastião	SP	-23,740833	-45,750278	L104	CFBH 12109	16S, ND2	H11
<i>Thoropa taophora</i> *	T32	Ilha de Toque-Toque, São Sebastião	SP	-23,834444	-45,521944	L105	CFBH 15707	16S, ND2	H8
<i>Thoropa taophora</i> *	T36	Ilha de Toque-Toque, São Sebastião	SP	-23,834444	-45,521944	L105	CFBH 15585	16S, ND2, COI	H8
<i>Thoropa taophora</i> *	T32	Ilha de Toque-Toque, São Sebastião	SP	-23,834444	-45,521944	L105	CFBH 15708	16S, ND2	H8
<i>Thoropa taophora</i> *	T32	Ilha de Toque-Toque, São Sebastião	SP	-23,834444	-45,521944	L105	CFBH 15590	16S, ND2	H8
<i>Thoropa taophora</i> *	T32	Ilha de Toque-Toque, São Sebastião	SP	-23,834444	-45,521944	L105	CFBH 15589	16S, ND2	H8
<i>Thoropa taophora</i> *	T35	Ilha dos Gatos, São Sebastião	SP	-23,804444	-45,668056	L106	CFBH 20170	16S, ND2	H8
<i>Thoropa taophora</i> *	T34	Ilha dos Gatos, São Sebastião	SP	-23,804444	-45,668056	L106	CFBH 15694	16S, ND2, COI	H8
<i>Thoropa taophora</i> *	T32	Ilha dos Gatos, São Sebastião	SP	-23,804444	-45,668056	L106	CFBH 15685	16S, ND2	H8
<i>Thoropa taophora</i> *	T33	Ilha dos Gatos, São Sebastião	SP	-23,804444	-45,668056	L106	CFBH 15687	16S, ND2	H8
<i>Thoropa taophora</i> *	T32	Ilha dos Gatos, São Sebastião	SP	-23,804444	-45,668056	L106	CFBH 15696	16S, ND2	H8
<i>Thoropa taophora</i> *	T16	Ilha das Couves Sul, São Sebastião	SP	-23,801944	-45,725556	L107	CFBH 15605	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora</i> *	T18	Ilha das Couves Sul, São Sebastião	SP	-23,801944	-45,725556	L107	CFBH 15606	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora</i> *	T17	Ilha das Couves Sul, São Sebastião	SP	-23,801944	-45,725556	L107	CFBH 15609	16S, ND2, COI	H7
<i>Thoropa taophora</i> *	T16	Ilha das Couves Sul, São Sebastião	SP	-23,801944	-45,725556	L107	CFBH 15607	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora</i> *	T16	Ilha das Couves Sul, São Sebastião	SP	-23,801944	-45,725556	L107	CFBH 15701	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora</i> *	T88	Ilha das Couves Norte, São Sebastião	SP	-23,423056	-44,855278	L108	CFBH 12607	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora</i> *	T87	Ilha das Couves Norte, São Sebastião	SP	-23,423056	-44,855278	L108	CFBH 12616	16S, ND2, COI	H3
<i>Thoropa taophora</i> *	T86	Ilha das Couves Norte, São Sebastião	SP	-23,423056	-44,855278	L108	CFBH 12617	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora</i> *	T70	Ilha das Couves Norte, São Sebastião	SP	-23,423056	-44,855278	L108	CFBH 12618	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora</i> *	T85	Ilha das Couves Norte, São Sebastião	SP	-23,423056	-44,855278	L108	CFBH 12619	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora</i>	T55	Praia de Boiçucanga, São Sebastião	SP	-23,783083	-45,636164	L109	CFBH 30274	16S	H8
<i>Thoropa taophora</i>	T59	Praia de Boiçucanga, São Sebastião	SP	-23,783083	-45,636164	L109	CFBH 30275	16S, ND2	H8
<i>Thoropa taophora</i>	T58	Praia de Boiçucanga, São Sebastião	SP	-23,783083	-45,636164	L109	CFBH 30276	16S, ND2, COI	H7
<i>Thoropa taophora</i>	T43	Praia de Boiçucanga, São Sebastião	SP	-23,783083	-45,636164	L109	CFBH 30277	16S	H7
<i>Thoropa taophora</i>	T57	Praia da Baleia, São Sebastião	SP	-23,780011	-45,663831	L110	CFBH 30282	16S, ND2	H8
<i>Thoropa taophora</i>	T56	Praia da Baleia, São Sebastião	SP	-23,780011	-45,663831	L110	CFBH 30283	16S, ND2, COI	H8
<i>Thoropa taophora</i>	T55	Praia da Baleia, São Sebastião	SP	-23,780011	-45,663831	L110	CFBH 30284	16S	H8
<i>Thoropa taophora</i>	T55	Praia da Baleia, São Sebastião	SP	-23,780011	-45,663831	L110	CFBH 30285	16S	H8
<i>Thoropa taophora</i>	T54	Praia de Barra do Una, São Sebastião	SP	-23,762569	-45,776461	L111	CFBH-T 14822	16S, ND2, COI	H6
<i>Thoropa taophora</i>	T45	Praia de Barra do Una, São Sebastião	SP	-23,762569	-45,776461	L111	CFBH-T 14823	16S	H6
<i>Thoropa taophora</i>	T45	Praia de Barra do Una, São Sebastião	SP	-23,762569	-45,776461	L111	CFBH-T 14824	16S	H6
<i>Thoropa taophora</i>	T45	Praia de Barra do Una, São Sebastião	SP	-23,762569	-45,776461	L111	CFBH-T 14825	16S	H6

Espécie	T	Localidade e Município	UF	Latitude	Longitude	L	Registro do exemplar	Fragmentos	H
<i>Thoropa taophora</i>	T45	Praia do Engenho, São Sebastião	SP	-23,764542	-45,784375	L112	CFBH 30290	16S	H6
<i>Thoropa taophora</i>	T53	Praia da Juréia, São Sebastião	SP	-23,765333	-45,785683	L113	CFBH 30291	16S, COI	H6
<i>Thoropa taophora</i>	T49	Praia de Bora-Bora, São Sebastião	SP	-23,764258	-45,800219	L114	CFBH 30293	16S, ND2	H6
<i>Thoropa taophora</i>	T48	Praia de Bora-Bora, São Sebastião	SP	-23,764258	-45,800219	L114	CFBH 30294	16S, ND2	H6
<i>Thoropa taophora</i>	T44	Ilha das Ilhas, São Sebastião	SP	-23,789444	-45,710314	L115	CFBH 15700	16S, ND2, COI	H6
<i>Thoropa taophora</i>	T43	Ilha das Ilhas, São Sebastião	SP	-23,789444	-45,710314	L115	CFBH 15698	16S	H7
<i>Thoropa taophora</i>	T42	Ilha das Ilhas, São Sebastião	SP	-23,789444	-45,710314	L115	CFBH 20171	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora*</i>	T37	Tuim Parque, trilha Poções, São Sebastião	SP	-23,740833	-45,750278	L116	CFBH 10933	16S, ND2	H11
<i>Thoropa taophora*</i>	T38	Tuim Parque, trilha Poções, São Sebastião	SP	-23,740833	-45,750278	L116	CFBH 10920	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora*</i>	T38	Tuim Parque, trilha Poções, São Sebastião	SP	-23,740833	-45,750278	L116	CFBH 10931	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora*</i>	T38	Tuim Parque, trilha Poções, São Sebastião	SP	-23,740833	-45,750278	L116	CFBH 10929	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora</i>	T68	Ilha Anchieta, Ubatuba	SP	-23,541367	-45,074647	L117	CFBH-T 11610	16S, ND2, COI	H7
<i>Thoropa taophora</i>	T66	Ilha Anchieta, Ubatuba	SP	-23,541367	-45,074647	L117	CFBH 19921	16S	H7
<i>Thoropa taophora</i>	T27	Ilha Anchieta, Ubatuba	SP	-23,541367	-45,074647	L117	CFBH 19922	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora*</i>	T30	BR-101 km 27, riacho, PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba	SP	-23,362500	-44,953056	L118	CFBH 7941	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora*</i>	T29	BR-101 km 27, riacho, PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba	SP	-23,362500	-44,953056	L118	CFBH 7945	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora*</i>	T86	BR-101 km 27, riacho, PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba	SP	-23,362500	-44,953056	L118	CFBH 7946	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora*</i>	T29	BR-101 km 27, riacho, PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba	SP	-23,362500	-44,953056	L118	CFBH 7947	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora*</i>	T73	BR-101 km 16,9, PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba	SP	-23,320556	-44,886389	L119	w1	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora*</i>	T92	BR-101 km 16,9, PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba	SP	-23,320556	-44,886389	L119	w3	16S, ND2	H4
<i>Thoropa taophora*</i>	T91	BR-101 km 16,9, PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba	SP	-23,320556	-44,886389	L119	w4	16S, ND2	H5
<i>Thoropa taophora*</i>	T74	BR-101 km 16,9, PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba	SP	-23,320556	-44,886389	L119	w5	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora*</i>	T90	BR-101 km 16,9, PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba	SP	-23,320556	-44,886389	L119	w6	16S, ND2, COI	H3
<i>Thoropa taophora*</i>	T73	BR-101 km 16,9, PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba	SP	-23,320556	-44,886389	L119	w7	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora*</i>	T75	BR-101 km 19,2, PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba	SP	-23,359444	-44,945000	L120	w8	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora*</i>	T75	BR-101 km 19,2, PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba	SP	-23,359444	-44,945000	L120	w9	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora*</i>	T20	BR-101 km 19,2, PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba	SP	-23,359444	-44,945000	L120	w10	16S, ND2	H12
<i>Thoropa taophora*</i>	T75	BR-101 km 19,2, PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba	SP	-23,359444	-44,945000	L120	w11	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora*</i>	T75	BR-101 km 19,2, PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba	SP	-23,359444	-44,945000	L120	w12	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora*</i>	T89	BR-101 km 19,2, PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba	SP	-23,359444	-44,945000	L120	w13	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora*</i>	T7	BR-101 km 34,5, riacho, PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba	SP	-23,389167	-44,991389	L121	CFBH 7948	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora*</i>	T76	BR-101 km 3, riacho, PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba	SP	-23,360000	-44,783056	L122	tmi050	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora*</i>	T74	BR-101 km 3, riacho, PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba	SP	-23,360000	-44,783056	L122	tmi051	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora*</i>	T81	BR-101 km 3, riacho, PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba	SP	-23,360000	-44,783056	L122	tmi052	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora*</i>	T80	BR-101 km 3, riacho, PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba	SP	-23,360000	-44,783056	L122	CFBH 7980	16S, ND2, COI	H3
<i>Thoropa taophora*</i>	T76	BR-101 km 3, PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba	SP	-23,360278	-44,776944	L122	tmi022	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora*</i>	T77	BR-101 km 3, PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba	SP	-23,360278	-44,776944	L122	tmi023	16S, ND2, COI	H3
<i>Thoropa taophora*</i>	T76	BR-101 km 3, PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba	SP	-23,360278	-44,776944	L122	tmi025	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora*</i>	T76	BR-101 km 3, PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba	SP	-23,360278	-44,776944	L122	tmi026	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora*</i>	T75	BR-101 km 3,5, riacho, PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba	SP	-23,360972	-44,786694	L122	tmi066	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora*</i>	T28	Praia da Sununga, Ubatuba	SP	-23,509667	-45,131806	L123	s1	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora*</i>	T25	Praia da Sununga, Ubatuba	SP	-23,509667	-45,131806	L123	s3	16S, ND2	H7

Espécie	T	Localidade e Município	UF	Latitude	Longitude	L	Registro do exemplar	Fragmentos	H
<i>Thoropa taophora</i> *	T27	Praia da Sununga, Ubatuba	SP	-23,509667	-45,131806	L123	s6	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora</i> *	T26	Praia da Sununga, Ubatuba	SP	-23,509667	-45,131806	L123	s7	16S, ND2, COI	H7
<i>Thoropa taophora</i> *	T25	Praia da Sununga, Ubatuba	SP	-23,509667	-45,131806	L123	s9	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora</i> *	T24	Praia Domingas Dias, Ubatuba	SP	-23,496389	-45,146111	L124	kz1214a	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora</i> *	T22	Praia Domingas Dias, Ubatuba	SP	-23,496389	-45,146111	L124	kz1214b	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora</i> *	T23	Praia Domingas Dias, Ubatuba	SP	-23,496389	-45,146111	L124	kz1214c	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora</i> *	T22	Praia Domingas Dias, Ubatuba	SP	-23,496389	-45,146111	L124	kz1214d	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora</i> *	T21	Praia Domingas Dias, Ubatuba	SP	-23,496389	-45,146111	L124	kz1214e	16S, ND2, COI	H7
<i>Thoropa taophora</i> *	T15	Itaguá, Ubatuba	SP	-23,457278	-45,051861	L125	ks101	16S, ND2	H13
<i>Thoropa taophora</i> *	T14	Itaguá, Ubatuba	SP	-23,457278	-45,051861	L125	ks102	16S, ND2, COI	H13
<i>Thoropa taophora</i> *	T13	Itaguá, Ubatuba	SP	-23,457278	-45,051861	L125	ks103	16S, ND2	H13
<i>Thoropa taophora</i> *	T12	Itaguá, Ubatuba	SP	-23,457278	-45,051861	L125	ks201	16S, ND2	H13
<i>Thoropa taophora</i> *	T12	Itaguá, Ubatuba	SP	-23,457278	-45,051861	L125	ks202	16S, ND2	H13
<i>Thoropa taophora</i> *	T7	Cachoeira Prumirim, Ubatuba	SP	-23,375000	-44,965278	L126	CFBH 7942	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora</i> *	T10	Cachoeira Prumirim, Ubatuba	SP	-23,375000	-44,965278	L126	CFBH 7943	16S, ND2, COI	H7
<i>Thoropa taophora</i> *	T9	Ilha Prumirim, Ubatuba	SP	-23,384722	-44,946944	L127	CFBH 10466	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora</i> *	T7	Ilha Prumirim, Ubatuba	SP	-23,384722	-44,946944	L127	CFBH 15661	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora</i> *	T8	Ilha Prumirim, Ubatuba	SP	-23,384722	-44,946944	L127	CFBH 15662	16S, ND2, COI	H7
<i>Thoropa taophora</i> *	T7	Ilha Prumirim, Ubatuba	SP	-23,384722	-44,946944	L127	CFBH 15658	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora</i> *	T7	Ilha Prumirim, Ubatuba	SP	-23,384722	-44,946944	L127	CFBH 12635	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora</i> *	T7	Ilha Prumirim, Ubatuba	SP	-23,384722	-44,946944	L127	CFBH 10469	16S, ND2	H7
<i>Thoropa taophora</i> *	T75	Ilha Redonda, Ubatuba	SP	-23,351944	-44,904444	L128	CFBH 10474	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora</i> *	T75	Ilha Redonda, Ubatuba	SP	-23,351944	-44,904444	L128	CFBH 10479	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora</i> *	T75	Ilha Redonda, Ubatuba	SP	-23,351944	-44,904444	L128	CFBH 15647	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora</i> *	T84	Ilha Redonda, Ubatuba	SP	-23,351944	-44,904444	L128	CFBH 10472	16S, ND2, COI	H3
<i>Thoropa taophora</i> *	T83	Ilha Redonda, Ubatuba	SP	-23,351944	-44,904444	L128	CFBH 10476	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora</i> *	T75	Ilha Redonda, Ubatuba	SP	-23,351944	-44,904444	L128	CFBH 15654	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora</i> *	T82	Ilha Redonda, Ubatuba	SP	-23,351944	-44,904444	L128	CFBH 15602	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora</i> *	T76	Praia Brava da Almada, Ubatuba	SP	-23,363333	-44,882222	L129	pb1	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora</i> *	T79	Praia Brava da Almada, Ubatuba	SP	-23,363333	-44,882222	L129	pb2	16S, ND2, COI	H3
<i>Thoropa taophora</i> *	T74	Praia Brava da Almada, Ubatuba	SP	-23,363333	-44,882222	L129	pb3	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora</i> *	T78	Praia Brava da Almada, Ubatuba	SP	-23,363333	-44,882222	L129	pb4	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora</i> *	T74	PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, trilha Vietnam, Ubatuba	SP	-23,353333	-44,845833	L130	v2	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora</i> *	T74	PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, trilha Vietnam, Ubatuba	SP	-23,353333	-44,845833	L130	v3	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora</i> *	T73	PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, trilha Vietnam, Ubatuba	SP	-23,353333	-44,845833	L130	v5	16S, ND2, COI	H4
<i>Thoropa taophora</i> *	T70	PE da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, sede, Ubatuba	SP	-23,364444	-44,825083	L131	sm1	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora</i> *	T70	Ilha de Porcos Pequena, Ubatuba	SP	-23,376389	-44,901944	L132	CFBH 10940	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora</i> *	T72	Ilha de Porcos Pequena, Ubatuba	SP	-23,376389	-44,901944	L132	CFBH 10949	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora</i> *	T71	Ilha de Porcos Pequena, Ubatuba	SP	-23,376389	-44,901944	L132	CFBH 10944	16S, ND2, COI	H3
<i>Thoropa taophora</i> *	T70	Ilha de Porcos Pequena, Ubatuba	SP	-23,376389	-44,901944	L132	CFBH 7644	16S, ND2	H3
<i>Thoropa taophora</i> *	T70	Ilha de Porcos Pequena, Ubatuba	SP	-23,376389	-44,901944	L132	CFBH 7645	16S, ND2	H3
<i>Thoropa saxatilis</i>	T351	Praia Grande	SC	-29,181894	-49,999339	L133	RF 48	16S	A3

Espécie	T	Localidade e Município	UF	Latitude	Longitude	L	Registro do exemplar	Fragmentos	H
<i>Thoropa saxatilis</i>	T352	Praia Grande	SC	-29,181894	-49,999339	L133	RF 49	16S, ND2, COI	A3
<i>Thoropa saxatilis</i>	T351	Praia Grande	SC	-29,198506	-49,950350	L133	MZUSP 135284	16S	A3
<i>Thoropa saxatilis</i>	T332	Cachoeira da Onça, Praia Grande	SC	-29,160000	-49,988333	L134	-	16S, ND2, COI	A3
<i>Thoropa saxatilis</i>	T331	Cachoeira da Onça, Praia Grande	SC	-29,160000	-49,988333	L134	-	16S	A13
<i>Thoropa saxatilis</i>	T358	Cascata da Cortina, Timbé do Sul	SC	-28,831933	-49,849338	L135	MCP 11913	16S	A1
<i>Thoropa saxatilis</i>	T358	Cascata da Cortina, Timbé do Sul	SC	-28,831933	-49,849338	L135	MCP 11914	16S	A1
<i>Thoropa saxatilis</i>	T358	Cascata da Cortina, Timbé do Sul	SC	-28,831933	-49,849338	L135	MCP 11915	16S	A1
<i>Thoropa saxatilis</i>	T357	Cascata da Cortina, Timbé do Sul	SC	-28,831933	-49,849338	L135	MCP 11916	16S, ND2, COI	A1
<i>Thoropa saxatilis</i>	T356	Cascata da Cortina, Timbé do Sul	SC	-28,831933	-49,849338	L135	MCP 11917	16S, ND2, COI	A1
<i>Thoropa saxatilis</i>	T355	Cascata da Cortina, Timbé do Sul	SC	-28,831933	-49,849338	L135	MCP 11918	16S, ND2, COI	A1
<i>Thoropa saxatilis</i>	T345	Cascata da Forqueta, Maquiné	RS	-29,533231	-50,210544	L136	CFBH 30377	16S	A7
<i>Thoropa saxatilis</i>	T344	Cascata da Forqueta, Maquiné	RS	-29,533231	-50,210544	L136	CFBH 30378	16S	A8
<i>Thoropa saxatilis</i>	T344	Cascata da Forqueta, Maquiné	RS	-29,533231	-50,210544	L136	CFBH 30379	16S	A8
<i>Thoropa saxatilis</i>	T343	Cascata da Forqueta, Maquiné	RS	-29,533231	-50,210544	L136	CFBH 30380	16S	A9
<i>Thoropa saxatilis</i>	T342	Cascata da Forqueta, Maquiné	RS	-29,533231	-50,210544	L136	CFBH 30381	16S, ND2, COI	A7
<i>Thoropa saxatilis</i>	T336	Cascata do Chuvisqueiro, Riozinho	RS	-29,582175	-50,426411	L137	CFBH 30396	16S, ND2, COI	A12
<i>Thoropa saxatilis</i>	T335	Cascata do Chuvisqueiro, Riozinho	RS	-29,582175	-50,426411	L137	CFBH 30397	16S, ND2, COI	A12
<i>Thoropa saxatilis</i>	T333	Cascata do Chuvisqueiro, Riozinho	RS	-29,582175	-50,426411	L137	CFBH-T 15064	16S	A12
<i>Thoropa saxatilis</i>	T334	Cascata do Chuvisqueiro, Riozinho	RS	-29,582175	-50,426411	L137	CFBH 30399	16S	A12
<i>Thoropa saxatilis</i>	T333	Cascata do Chuvisqueiro, Riozinho	RS	-29,582175	-50,426411	L137	CFBH 30400	16S	A12
<i>Thoropa saxatilis</i>	T347	Cachoeira do Remanso, São Francisco de Paula	RS	-29,451072	-50,557708	L138	CFBH-T 15015	16S	A6
<i>Thoropa saxatilis</i>	T330	Cachoeira do Remanso, São Francisco de Paula	RS	-29,451072	-50,557708	L138	CFBH-T 15017	16S, ND2, COI	A6
<i>Thoropa saxatilis</i>	T346	Cachoeira Escondida, São Francisco de Paula	RS	-29,451886	-50,554878	L138	CFBH 30375	16S	A6
<i>Thoropa saxatilis</i>	T350	Reserva da Família Lima, Sapiroanga	RS	-29,552869	-51,016900	L139	CFBH 30311	16S, ND2, COI	A4
<i>Thoropa saxatilis</i>	T349	Reserva da Família Lima, Sapiroanga	RS	-29,552869	-51,016900	L139	CFBH 30312	16S, ND2	A5
<i>Thoropa saxatilis</i>	T348	Reserva da Família Lima, Sapiroanga	RS	-29,552869	-51,016900	L139	CFBH 30313	16S, ND2, COI	A5
<i>Thoropa saxatilis</i>	T354	Cachoeira Pedras Brancas, Três Forquilhas	RS	-29,394872	-50,042408	L140	MCP 10691	16S, ND2	A2
<i>Thoropa saxatilis</i>	T353	Cachoeira Pedras Brancas, Três Forquilhas	RS	-29,394872	-50,042408	L140	MCP 10706	16S, ND2, COI	A2
<i>Thoropa saxatilis</i>	T341	Cachoeira Pedras Brancas, Três Forquilhas	RS	-29,394872	-50,042408	L140	CFBH-T 15057	16S	A10
<i>Thoropa saxatilis</i>	T340	Cachoeira Pedras Brancas, Três Forquilhas	RS	-29,394872	-50,042408	L140	CFBH 30392	16S, ND2	A2
<i>Thoropa saxatilis</i>	T339	Cachoeira Pedras Brancas, Três Forquilhas	RS	-29,394872	-50,042408	L140	CFBH 30393	16S	A2
<i>Thoropa saxatilis</i>	T338	Cachoeira Pedras Brancas, Três Forquilhas	RS	-29,394872	-50,042408	L140	CFBH 30394	16S, ND2, COI	A2
<i>Thoropa saxatilis</i>	T337	Cachoeira Pedras Brancas, Três Forquilhas	RS	-29,394872	-50,042408	L140	CFBH-T 15061	16S	A11

**Apêndice 2:** Indivíduos utilizados como grupo externo nas análises filogenéticas de *Thoropa* grupo *militaris*, Fragmentos com \* foram cedidos por Mariana L, Lyra, fragmentos com \*\* foram cedidos por Vanessa R, Marcelino, fragmentos com \*\*\* foram cedidos por Sarah Fitzpatrick e Kelly R, Zamudio, Número de registro do exemplar apenas para fragmentos não obtidos no GenBank,

Espécie	Registro do exemplar	NCBI - GenBank	Fragmentos
<i>Cycloramphus boraceiensis</i>	CFBH 15188	-	16S*, COI*
<i>Cycloramphus dubius</i>	CAB 628	GQ174585.1	16S, ND2***
<i>Cycloramphus eleutherodactylus</i>	CFBH 17658	-	16S*, COI*
<i>Dendrobates tinctorius</i>	-	HQ290991.1	16S, ND2, COI
<i>Limnomedusa macroglossa</i>	CFBH-T 2298	-	16S*, COI*
<i>Macrogenioglottus alipioi</i>	CFBH 6901	-	16S*, COI*
<i>Odontophrynus americanus</i>	CFBH 8101	-	16S*, COI*
<i>Physalaemus olfersii</i>	CFBH-T 10357	-	ND2**, COI**
<i>Proceratophrys boiei</i>	CFBH 5817	EU017781.	16S*, ND2, COI*
<i>Proceratophrys cristiceps</i>	CFBH-T 5352	-	16S*, COI*
<i>Rupirana cardosoi</i>	CFBH-T 4954	-	COI*
<i>Zachaeus parvulus</i>	CFBH 10120	-	16S*, COI*