

Universidade Estadual Paulista
Instituto de Biociências de Botucatu

Mahmoud Nagib Mehanna

ANÁLISE MOLECULAR E MORFOLÓGICA DE EXEMPLARES DE *Trichomycterus*
VALENCIENNES, 1832 DA CHAPADA DOS GUIMARÃES (BACIA DO PARAGUAI) E
ENSAIO SOBRE O COMPLEXO DE ESPÉCIES *Trichomycterus brasiliensis* LÜTKEN, 1874

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências da Universidade Estadual
Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Campus
Botucatu, como parte dos requisitos para
obtenção do título de Mestre em Ciências
Biológicas - Zoologia

Orientador: Prof. Dr. Claudio de Oliveira

Co-orientador: Prof. Dr. Flávio Alicino Bockmann

Botucatu – SP

2010

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: Selma Maria de Jesus

Mehanna, Mahmoud Nagib.

Análise molecular e morfológica de exemplares de *Trichomycterus valenciennes*, 1832 da chapada dos Guimarães (Bacia do Paraguai) e ensaio sobre o complexo de espécies *Trichomycterus brasiliensis* Lütken, 1874 / Mahmoud Nagib Mehanna. – Botucatu : [s.n.], 2010.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Botucatu, 2010

Orientador: Cláudio de Oliveira

Co-orientador: Flávio Alcino Bockmann

Assunto CAPES: 20200008

1. Peixe - Genética 2. Biologia molecular

Palavras-chave: Cerrado; Descrição; Riachos; Taxonomia; Trichomycteridae

Dedico esse trabalho as três mulheres de minha vida...

À minha mãe, Aida, pela paciência com este ilustre filho insano...

À minha esposa, Adelina, pelo apoio quando se fez necessário...

À minha filha, Ananda, pelas deliciosas gargalhadas nos momentos mais precisos de minha vida

Agradecimento

Quero expressar aqui meus sinceros agradecimentos a todos que contribuíram ao longo do desenvolvimento deste trabalho:

Agradeço ao CNPq, Conselho Nacional de Pesquisa e Tecnologia, pela bolsa concedida (Processo 134632 / 2008/7), que sem a mesma, como muitos pós graduandos, seria muito mais difícil executar o mestrado.

Ao Programa de Pós Graduação e a toda sua equipe, pelas incontáveis ajudas nestes dois anos.

Ao Prof. Dr. Claudio de Oliveira, pelo desafio de orientar-me, e pelos inúmeros ensinamentos em relação Filogenia Molecular de Peixes, agradeço neste contexto também, ao amigo Claudio de Oliveira, pelas inúmeras conversas, risadas e discussões, que com certeza fez muito ao meu crescimento pessoal e profissional.

Ao Prof. Dr. Fausto Foresti, por tantas coisas, que inúmera-las seriam extremamente extenso, e provavelmente me falharia a memória ao colocá-las neste texto, uma pessoa com tamanho conhecimento quanto ao seu imenso coração.

Ao meu Co-orientador Prof. Dr. Flávio Alicino Bockmann, que por seu intermédio, fez com que viesse a entra no mestrado.

A Luiz Henrique Garcia Pereira, por dois fatos: ter me ensinado a rotina do laboratório de molecular, e por ter fornecidos as duas sequencias que faltaram do complexo Brasiliensis para a conclusão deste trabalho.

A Kelly, Gleisy e ao Luiz, por colocarem as amostras no seqüenciador e em diversos momentos a enviarem por e-mail quando estava em viagem.

A Guilherme José da Costa e Silva (Varvito), pela sua ajuda nas últimas extrações de DNA, que sem estas, a conclusão das espécies de Chapada dos Guimarães seriam incompletas.

A minha mãe, Dona Aida, que ao longo deste mestrado, teve a paciência de com minhas “visitas” a trabalho, e de sua forma, queixar-se de “não ver seu filho direito”.

A minha esposa, Adelina Ferreira, pela compreensão e pelo apoio nos momentos mais devidos, e pela filha magnífica que me presenteou (o pai te ama Amanda!).

Aos inúmeros colegas de laboratório, pelo companherismo nestes dois anos.

Muito obrigado!

“Procure uma coisa que não tem nome.

*Lá a encontrei na água de algumas corredeiras, no topo e nas encostas de certas
montanhas, nas nuvens de alguns ares, no mato fechados que guardam alguns vales.*

Lá a encontrei vezes e vezes – só não sei seu nome...

Vestarei a água, ao ar, a terra, vestarei até descobrir...”

(Autor desconhecido)

Resumo

O objetivo deste trabalho é analisar as espécies do gênero *Trichomycterus* presentes na sub bacia do rio Cuiabá, drenagem do rio Paraguai, através de análises morfológicas e moleculares, e um breve ensaio sobre o complexo de espécies *T. brasiliensis* através de análises moleculares. Os resultados obtidos foram divididos em duas partes: na primeira parte são apresentados os resultados das análises morfológicas e moleculares dos exemplares de *Trichomycterus*, e uma análise da morfologia externa de *T. johnsoni*; e na segunda parte são apresentadas as análises moleculares de alguns espécimes que pertencem ao complexo de espécies *T. brasiliensis*. Foram identificadas quatro novas espécies, *T. sp. n1*, *T. sp. n2*, *T. sp. n3*, *T. sp. n4* que divergem entre elas pelo seguintes conjuntos de caracteres, respectivamente: Número de odontóideos na placa pré-opercular (9 *versus* 20-22 *versus* 17-18 *versus* 14); número de odontóideos na placa inter-opercular (16-17 *versus* 27-31 *versus* 21-25 *versus* 22-25); *T. sp. n1* diverge de seus congêneres pelo número de raios na nadadeira peitoral (i+6 *versus* i+5). O número de raios da nadadeira anal permite diferenciar *T. sp. n1* (ii+4) de *T. sp. n2* (ii+5) e *T. sp. n3* (ii+5) e *T. sp. n4* (ii+6), sendo essa caráter compartilhado entre *T. sp. n2* e *T. sp. n3*. As espécies compartilham o número de raios da nadadeira dorsal (ii+7), o número de raios da nadadeira caudal (i+11+i), e o número de raios na nadadeira pélvica. Com relação aos canais laterosensoriais, *T. sp. n1* e *T. sp. n3* apresentaram a ausência do canal infra-orbital i1 e i3. Nas análises osteológicas, a única variação encontrada entre as espécies citadas (com exceção de *T. sp. n4*) foi a formação da nadadeira pélvica, em relação a estruturas dos ossos pélvicos e do processo mesial. Nas análises moleculares foi amplificado e sequenciado parte do gene mitocondrial Citocromo Oxidase sub-unidade I, e foi elaborada uma matriz com 634 pb. Foi gerado um dendograma obtido pelo método UPGMA com o modelo de substituição nucleotídica Kimura-2-parâmetros para cálculo das distâncias genéticas. A divergência entre as espécies variaram de 8,0 a 10,2% enquanto a divergência intra-específica variou de 0,15% a 3,38% para *T. sp. n1*; 0,79% a 3,22% para *T. sp. n2* e 1,27% a 5,90% para *T. sp. n3*, e divergiram entre 12,16% a 21,18% de *T. brasiliensis*. Com relação ao complexo de espécies, foi gerado um dendograma obtido pelo método UPGMA com o modelo de substituição nucleotídica Kimura-2-parâmetros para cálculo das distâncias genéticas, testado pelo método de *bootstrap* com 1000 pseudo-réplicas. Foram observados dois clados: o primeiro composto por pelas espécies da drenagem da bacia do Grande + bacia do São Francisco + bacia do Ribeira do Iguape; e o segundo da bacia do Paranapanema e bacia do Tietê. As análises morfológicas e moleculares corroboraram as distinções das espécies, com exceção de *Trichomycterus sp. n4*. A inferência com relação ao *status* de complexo de espécies de *T. brasiliensis* se mantém dúvida, necessitando de um amplo estudo com relação a diversidade, distribuição e biogeografia do grupo

Palavras-chave: Riachos; Cerrado; Trichomycteridae; Taxonomia; Descrição

Abstract

The objective of this work is analyze the *Trichomycterus* species presents in the Cuiabá river sub basin, Paraguay river drainage, through morphologic and molecular analyze, and make a briefing essay species complex of *T. brasiliensis* with molecular analyses. The results had been divided in two parts: in the first part are presented the results of the morphologic and molecular analyses of *Trichomycterus*, and an analysis of the external morphology of *T. johnsoni*; e in the second part is presented the molecular analyses of some specimens that comprise to the species complex of *T. brasiliensis*. The species had been identified to four new species, *T. sp. n1*, *T. sp. n2*, *T. sp. n3* and *T. sp. n4*, that they diverge between them for the following characters: Number of odontodes in the opercular plate (9 versus 20-22 versus 17-18 versus 14); number of odontodes in the Interopercular plate (16-17 versus 27-31 versus 21-25 versus 22-25); *T. sp. n1* diverge of all species for the number of rays in the pectoral fins (i+6 versus i+5). The number of rays of the anal fins allows diferente in *T. sp. n1* (ii+4) of *T. sp. n2* (ii+5) and *T. sp. n3* (ii+5) and *T. sp. n4* (ii+6), being this character shared between *T. sp. n2* and *T. sp. n3*. All species share the number of rays of the dorsal fins (ii+7), the number of caudal fins rays (i+11+i), and the number of the pelvic fins rays. With regard to the laterosensory canals, *T. sp. n1* and *T. sp. n3* had presented the absence of the infra-orbital canals i1 and i3. In the osteology analyses, the only variation of all species cited (with exception of *T. sp. n4*) was the pelvic fins, where the variation of the pelvic bones structures and the mesial process diverge between them. In the molecular analyses it was amplified and sequence part of the mitochondrial gene Citocromo Oxidase I sub-unit, and was elaborated a matrix with 634 pb. The dendogram with method UPGMA with the model of nucleotíc substitution was generated for Kimura-2-parameters for calculation of the genetic distances. The divergence between had varied of 8,0% to 10.2%, when the intra-specific divergence varied of 0,15% to 3.38% for *T. sp. n1*; 0.79% to 3.22% for *T. sp. n2* and 1.27% to 5.90% for *T. sp. n3*, and divergence between 12,16% to 21.18% of *T. brasiliensis*. With relationship to the species complex of *T. brasiliensis*, the dendogram was generated for method UPGMA with the model of nucleotíde substitution Kimura-2-parameters for calculation of the genetic distances, tested for the method of bootstrap with 1000 pseudo-reply. Had been observed two clades: the first composition for the species of the Grande basin drainege + São Francisco basin + Ribeira do Iguape basin; and the second clade of the Paranapanema basin and the Tietê basin. The morphologic and molecular analyses had corroborated the distinctions of the species, with exception of *Trichomycterus sp. n4*, for without samples for molecular analyzes. The inference with to the *status* of species complex of *T. brasiliensis* keeps dubious, being necessary an ample study with the diversity, distribution and biogeography of the group.

Key words: Streams; Cerrado; Trichomycteridae; Taxonomy; Description

Lista de Ilustrações

Figura 1.	Modelo de variáveis morfométricas	Pág. 64
Figura 2.	<i>Trichomycterus johnsoni</i>	Pág. 65
Figura 3.	<i>Trichomycterus sp. n1</i>	Pág. 66
Figura 4.	<i>Trichomycterus sp. n2</i>	Pág. 67
Figura 5.	<i>Trichomycterus sp. n3</i>	Pág. 68
Figura 6.	<i>Trichomycterus sp. n4</i>	Pág. 69
Figura 7.	Mapa da área de estudo e localidade exemplares de <i>Trichomycterus</i>	Pág. 70
Figura 8.	Diagrama dos canais laterosensoriais	Pág. 71
Figura 9.	Nadadeira pélvica e estruturas associadas	Pág. 72
Figura 10.	Dendograma das distâncias genéticas das espécies de Chapada dos Guimarães	Pág. 73
Figura 11.	Dendograma das distâncias genéticas de espécies do complexo <i>Brasiliensis</i>	Pág. 74

Lista de Tabelas

Tabela 1.	Dados merísticos e morfométricos de <i>Trichomycterus</i> sp. n1 (mm)	Pág. 75
Tabela 2.	Dados merísticos e morfométricos de <i>Trichomycterus</i> sp. n2 (mm)	Pág. 77
Tabela 3.	Dados merísticos e morfométricos de <i>Trichomycterus</i> sp. n3 (mm)	Pág. 80
Tabela 4.	Dados merísticos e morfométricos de <i>Trichomycterus</i> sp. n4 (mm)	Pág. 85
Tabela 5.	A divergência genética entre as espécies de Chapada dos Guimarães e de <i>Trichomycterus brasiliensis</i> .	Pág. 86

Sumário

1 – Introdução	pág. 1
1.1 – Sistemática e taxonomia de peixes neotropicais	pág. 5
1.2 – Ordem Siluriformes e superfamília Loricarioidea	pág. 7
1.3 – A família Trichomycteridae	pág. 7
1.4 – Histórico da família Trichomycteridae e do gênero <i>Trichomycterus</i>	pág. 11
1.5 – Distribuição do gênero <i>Trichomycterus</i> na Bacia do Paraguai	pág. 12
1.6 – Notas sobre o complexo de espécies <i>Trichomycterus brasiliensis</i>	pág. 14
1.7 – O DNA Mitocondrial e um breve ensaio sobre Filogenia Molecular	pág. 23
2 – Objetivos	pág. 25
3 – Material e Métodos	pág. 26
3.1 – Caracterização da área de Estudo de Chapada dos Guimarães	pág. 26
3.2 – Material	pág. 27
3.3 – Métodos Morfológicos	pág. 27
3.4 – Métodos Moleculares	pág. 29
4 – Resultados	pág. 30
4.1 – Análise morfológica	pág. 30
4.2 – Análises moleculares das espécies de Chapada dos Guimarães	pág. 40
4.3 – Análise molecular do complexo de espécie de <i>Trichomycterus brasiliensis</i>	pág. 41
5 – Discussão	pág. 42
6 – Conclusão	pág. 46
7 – Referências bibliográficas	pág. 48
8 – Apêndice	pág. 63

Introdução

*"Qualquer um pode ser solidário com o sofrimento
de um amigo. Alegar-se com seus êxitos, no
entanto, requer uma natureza muito especial."*

- Oscar Wilde -

1 – Introdução

A Superordem Ostariophysi, composta pelas ordens Gonorynchiformes, Cypriniformes (carpas), Characiformes (curimbas, lambaris, piaus), Gymnotiformes (poraquês, sarapós, tuiuiús) e Siluriformes (bagres, cascudos, jundiás), constitui o mais diversificado grupo de peixes de água doce no planeta (Rosen e Greenwood, 1970; Fink e Fink, 1981, 1996; Nelson, 2006).

Das ordens que compõem a superordem Ostariophysi, a mais especiosa de todas é a ordem Siluriformes, com cerca de 1800 espécies, e com a mais ampla distribuição geográfica, ocupando quase todos os continentes (Nelson, 2006; Ferraris, 2007).

Dentro da ordem Siluriformes a superfamília Loricarioidea é considerada um grupo monofilético, cujo relacionamento é considerado bem determinado (Arratia, 1987; 1990a; 1990b; 1998; de Pinna, 1992; 1998). Fazem parte da superfamília Loricarioidea as famílias Loricariidae, Astroblepidae, Scoloplacidae, Callichthyidae, Trichomycteridae e Nematogenyidae (Schaefer, 1990; de Pinna, 1998). Enquanto as famílias Astroblepidae, Scoloplacidae e Nematogenyidae são monotípicas ou formadas por um número pequeno de espécies, as famílias Loricariidae, Callichthyidae e Trichomycteridae apresentam um grande número de espécies e estão divididas em várias subfamílias (Nelson, 2006).

As espécies da superfamília Loricarioidea estão distribuídas unicamente na região Neotropical, ocorrendo numa grande variedade de habitats, incluindo corredeiras em riachos a 3.000 metros de altitude até ambientes lênticos como em lagos. A sua composição é primordialmente de ordem primária (Helfman *et al.*, 1997; Nelson, 2006). Apesar dos membros da superfamília Loricarioidea terem ampla distribuição, muitas espécies são características por formarem populações restritas a pequenas áreas. Isto provavelmente faz com que esta superfamília apresente uma das maiores diversidades de formas de todos os peixes.

1.1 - Sistemática e taxonomia de peixes neotropicais

A ictiofauna da região Neotropical é a mais diversificada no mundo, com aproximadamente 5.000 espécies descritas (Reis *et al.*, 2003). Entretanto, as estimativas atuais para esse número de espécies tendem a aumentar pela ampla diversidade de ambientes presentes e razões que envolvem fatores históricos e ecológicos na América do Sul (Schaefer, 1998; Vari e Malabarba, 1998). Assim, Schaefer (1998), em uma avaliação das tendências históricas de descrição de espécies entre as

Famílias Characidae e Loricariidae, calculou que poderiam existir cerca de 8.000 espécies de peixes de água doce neotropicais correspondendo a 25% de todas as espécies de peixes do mundo.

O registro de espécies desconhecidas de peixes ainda é mais comum em regiões de cabeceiras (Vari e Malabarba, 1998), que geralmente são menos exploradas. Além disso, regiões de cabeceiras são caracterizadas pelo elevado grau de endemismo, conceituado por Böhlke *et al.* (1978) como o processo de evolução histórica das espécies em áreas que se mantiveram geomorfologicamente isoladas das demais bacias hidrográficas.

Os riachos de cabeceiras apresentam ictiofauna pouco conhecida e extremamente ameaçada por ações antrópicas, de forma que é urgente o estudo de sua composição taxonômica (Castro, 1999). Além disso, regiões de cabeceiras são caracterizadas pelo alto grau de endemismo, que possivelmente possa estar relacionado ao isolamento dos grupos ali presentes (Buckup, 1999).

No início do “século da extinção” (Dubois 2003), a ciência da biologia está enfrentando um novo paradigma, resultado da combinação de dois fatos diferentes: a crise da biodiversidade e o chamado “impedimento taxonômico” (Dubois, 2008).

Segundo Margules e Pressey (2000) “Só se pode conservar o que se conhece”, por isso, a primeira etapa para conservar a biodiversidade é descrevê-la e mapeá-la, onde fundamentalmente o trabalho do taxonomista é essencial.

Em contraponto à necessidade cada vez mais urgente do taxonomista, há um declínio do número destes profissionais em uma escala mundial (e.g., Hopkins e Freckleton, 2002). Este processo foi denominado de “impedimento taxonômico”, ou seja, a impossibilidade de cumprir a tarefa de descrever a biodiversidade devido ao baixo número de taxonomistas (Carvalho *et al.*, 2005).

Desde a segunda metade da década de 70 do século XX, a sistemática filogenética (ou cladística), tornou-se o paradigma para o estabelecimento de relações entre os organismos (de Pinna, 1991). Desde muito cedo, antes da cladística, e mesmo da teoria evolutiva, a noção de homologia é vista como uma peça fundamental para o conhecimento das relações entre as partes (Rieppel, 1988; de Pinna, 1991). Com advento da cladística, dois estágios epistemológicos podem ser identificados no processo de descoberta da homologia: a homologia primária, que corresponde à fase inicial, hipotética, baseada simplesmente no conceito de correspondência entre as partes de diferentes organismos (*i.e.* a etapa de construção da matriz de dados), e a homologia secundária, que corresponde à fase subsequente, testada através de uma análise de congruência (parcimônia) com

outros caracteres (*i.e.* outras hipóteses de homologia primária), equivalendo, na cladística, ao conceito de sinapomorfia (Patterson, 1982; de Pinna, 1991).

Com o aprimoramento das técnicas de análises no que diz respeito aos peixes de água doce, a Biologia Molecular tem disponibilizado diversas ferramentas capazes de acessar a variação genética existente nesses grupos e identificar os possíveis grupos monofiléticos (*e.g.* Alves-Gomes *et al.*, 1995; Moyer *et al.*, 2004; Hardman, 2005; Chiachio *et al.*, 2008; Cardoso e Montoya-Burgos, 2009).

Os principais genes seqüenciados são os presentes nas mitocôndrias. O genoma mitocondrial apresenta tamanhos bastante variáveis, apresentando valores em torno de 16 quilobases (kb) nos vertebrados até 570 kb em algumas espécies de plantas (Lewin, 1994).

O interesse de estudos em relação ao DNA mitocondrial é relacionado ao fato de que os genes presentes nesse DNA apresentam uma série de particularidades importantes como sua herança materna e sua presença nos organismos em número haplóide, o que torna muito raros os eventos de recombinação (Kocher e Stepien, 1997).

Segundo Lewin (1994) considerando que as condições nas organelas são diferentes daquelas encontradas no núcleo das células, as taxas de evolução dos genes em cada compartimento celular são independentes.

A introdução da técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) facilitou, grandemente, a obtenção de dados de seqüências de nucleotídeos e tem permitido uma análise filogenética mais apurada (Kocher e Stepien, 1997).

Para peixes, segundo Kocher e Stepien (1997) a possibilidade de utilização de seqüências de nucleotídeos para construção de filogenias torna possível não só uma melhor interpretação da história evolutiva das espécies em si, como também permite a análise simultânea dos padrões evolutivos seguidos por outros caracteres, que por sua vez apresentam menor possibilidade de interpretação filogenética.

A elaboração de filogenias moleculares permite também testar hipóteses de relacionamento construídas com base em outros caracteres como os caracteres morfológicos (*e.g.* Alves-Gomes *et al.*, 1995; Lydeard *et al.*, 1995; Moyer *et al.*, 2004; Hardman, 2005; Chiachio *et al.*, 2008; Cardoso e Montoya-Burgos, 2009), a união destas duas ferramentas podem ser a resposta a inúmeras dúvidas da sistemática de peixes neotropicais.

1.2 – Ordem Siluriformes e superfamília Loricarioidea

Estudos relacionados à ordem Siluriformes progridem desde sua designação primária, feita por Rafinesque em 1815, porém, os estudos sempre foram direcionados para as relações das famílias que compõem a ordem, consistindo entre estes estudos o de Cuvier (1817), Bleeker (1862, 1863), Günther (1864), Gill (1872), Eigenmann e Eigenmann (1890) Bridge e Haddon (1893) Boulenger (1904), Goodrich (1909), Regan (1911) e Chardon (1968).

O número de estudos relacionados à ordem Siluriformes aumentou consideravelmente nas últimas três décadas devido ao advento da Sistemática Filogenética ou Cladística, utilizada desde a metade do século passado para famílias (*e.g.*, Lundberg, 1970, 1982: Ictaluridae; Bornbusch, 1991: Siluridae; Chen e Lundberg, 1994: Amblycipitidae; Bockmann, 1998: Heptapterinae; Reis, 1998: Callichthyidae; Baskin, 1973; Wosiacki, 2002: Trichomycteridae) ou para alguns grupos de famílias (*e.g.*, Baskin, 1973; Howes, 1983; Schaefer, 1990: Loricarioidea; de Pinna, 1996: Sisoroidea). Entretanto, em nenhum desses estudos tentou-se esclarecer as relações dessas famílias ou grupos dentro da ordem como um todo. A maioria dos trabalhos direcionada a esse tema focalizou quase exclusivamente a família Diplomystidae, reconhecida como o táxon mais basal de Siluriformes (*e.g.*, Regan, 1911; Chardon, 1968; Grande, 1987; Arratia, 1987, 1992).

De fato, apesar de sua importância evidente, muitos autores do período “pré cladístico” (veja definição em De Pinna, 1998) conduziram seus estudos ao tratar os relacionamentos dos siluriformes, de uma forma altamente desconcertantes, agrupando determinados táxons devido à presença de caracteres plesiomórficos e altamente homoplásticos, ou simplesmente sem a menor explicação consistente para sua sustentabilidade (Diogo, 2004).

Conseqüentemente, para uma explicação mais objetiva e coerente, as conclusões de todos estes estudos, precedidos destes métodos “pré-cladísticos” resultaram em filogenias sem a aplicabilidade de uma visão evolutiva direta, porém com riquezas de detalhes que aplicados aos métodos cladísticos, forneceram bases para a taxonomia e para a classificação corrente da ordem Siluriformes (de Pinna, 1998).

Os trabalhos, utilizando a metodologia cladísticas, que apresentaram cladogramas com as relações entre as famílias da ordem (ou partes das famílias) foram os de: Howes (1983: Loricarioidea), Grande (1987: redescricao de †*Hypsidoris farsonensis*), Schaefer (1990: Scoloplacidae), Mo (1991: Bagridae), Arratia (1992: desenvolvimento e variacao do *suspensorium*),

De Pinna (1992: Copionodontinae , 1996: Sisoridae, 1998: Siluriformes neotropicais), Lundberg (1993: Siluriformes africanos e da America do sul) e o de He *et al.* (1999: Amphiliidae).

Os trabalhos mais recentes foram o de Britto (2002) e o de Diogo (2004), que fizeram uma análise sistemática de representantes de todos os principais grupos dessa ordem, sugerindo que algumas famílias formam agrupamentos polifiléticos enquanto vários grupos tradicionais tiveram seu monofiletismo confirmado.

Dentro da ordem Siluriformes a superfamília Loricarioidea é considerada um grupo monofilético, cujo relacionamento é considerado bem determinado (Arratia, 1987; 1990a; 1998; de Pinna, 1992; 1998). Fazem parte da superfamília Loricarioidea as famílias Loricariidae, Astroblepidae, Scoloplacidae, Callichthyidae, Trichomycteridae e Nematogenyidae (Schaefer, 1990; de Pinna, 1998). Enquanto as famílias Astroblepidae, Scoloplacidae e Nematogenyidae são monotípicas ou formadas por um número pequeno de espécies, as famílias Loricariidae, Callichthyidae e Trichomycteridae apresentam um grande número de espécies e estão divididas em várias subfamílias (Nelson, 2006).

Segundo Grande (1987), esclarecer as relações entre os diversos grupos de Siluriformes constituirá um dos mais desafiadores e intrigantes problemas em Ictiologia. Da mesma maneira, a compreensão das relações de um grande grupo monofilético que inclui três de suas famílias neotropicais mais especiosas, Loricariidae (cerca de 660 espécies), Trichomycteridae (cerca de 210 espécies) e Callichthyidae (cerca de 160 espécies), além de Astroblepidae (aproximadamente 40 espécies), Scoloplacidae (quatro espécies) e Nematogenyidae (uma espécie), representa uma das mais relevantes questões da Sistemática de Siluriformes (Schaefer, 1990; de Pinna, 1998; Nelson, 2006).

As espécies da superfamília Loricarioidea estão distribuídas unicamente na região Neotropical, ocorrendo numa grande variedade de habitats, incluindo corredeiras em riachos a 3.000 metros de altitude até ambientes lênticos como em lagos. A sua composição é primordialmente de ordem primária (Helfman *et al.*, 1997; Nelson, 2006). Apesar dos membros da superfamília Loricarioidea terem ampla distribuição, muitas espécies são caracterizadas por formarem populações restritas a pequenas áreas. Isto provavelmente faz com que esta superfamília apresente uma das maiores diversidades de formas de todos os peixes, sendo a família Trichomycteridae um dos principais componentes taxonômicos que contribui para o incremento dessa diversidade de espécies neotropicais.

1.3 – A família Trichomycteridae

A família Trichomycteridae representa um dos mais importantes componentes taxonômicos de Loricarioidea. Com cerca de 210 espécies conhecidas (Ferraris, 2007) e numerosas formas ainda não descritas, está dividida em oito subfamílias: Copionodontinae, Glanapteryginae, Sarcoglanidinae, Stegophilinae (incluindo Pareiodontinae), Trichogeninae, Trichomycterinae, Tridentinae e Vandelliinae de acordo com de Pinna (1998). Uma hipótese de relacionamento entre essas famílias foi apresentada e discutida por de Pinna (1998). Nessa hipótese os gêneros *Scleronema* e *Ituglanis* não são assinalados para nenhuma subfamília conhecida e as subfamílias Copionodontinae e Trichogeninae formam uma tricotomia com os demais membros da família Trichomycteridae.

Apesar de seu monofiletismo ter sido corroborado, seu grupo familiar mais inclusivo, Trichomycterinae, permanece polifilético, sendo que *Trichomycterus* seu respectivo gênero mais especioso, complexo e amplamente distribuído, não constitui um grupo natural (de Pinna e Wosiacki, 2003). Alguns estudos com dados morfológicos vêm sendo realizados na tentativa de elucidar as relações entre espécies de *Trichomycterus* (e. g. Costa, 1992; Barbosa e Costa, 2003), mas sua enorme diversidade aliada à ausência de sinapomorfias intragenéricas inequívocas dificultam muito a proposição de hipóteses de relacionamento confiáveis (Bockmann e Sazima, 2004). Segundo de Pinna (1998) o problema mais formidável presente na sistemática da família Trichomycteridae é o gênero *Trichomycterus*, fundamentalmente em relação ao nível de espécie, a diversidade presente dentro do gênero, e a abrangência de sua distribuição (de Pinna, 1989; 1992; de Pinna e Wosiacki, 2003; Wosiacki e Garavello, 2004; Wosiacki e de Pinna, 2007), que favorece a constituição de populações geograficamente restritas, na maioria das vezes em cabeceiras de riachos, resultando no elevado grau de endemismo de suas espécies (de Pinna, 1992; Barbosa e Costa, 2003).

Nas águas continentais brasileiras, são válidas mais de 50 espécies nominais de *Trichomycterus* (de Pinna e Wosiacki, 2003, Wosiacki e de Pinna, 2007) e, para a Bacia do Paraguai, apenas uma espécie, *Trichomycterus jonhsoni* (Fowler, 1932), foi assinalada, sendo as demais pertencentes a outros grupos como ao gênero *Ituglanis*, conforme Costa e Bockmann (1993).

1.4 - Histórico da família Trichomycteridae e do gênero *Trichomycterus*

Tanto Trichomycteridae como o próprio gênero *Trichomycterus* apresentam uma longa e obscura história taxonômica. Valenciennes (1832) faz uma clara descrição ao constituir esse novo

gênero com base em um único exemplar proveniente das regiões costeiras de Santa Catarina, *Trichomycterus nigricans*, coletado por Saint Hilaire. Enfatizando uma relação próxima ao gênero *Eremophilus mutisii* descrito por Humboldt, 1805.

Trichomycterus precede de uma variação de *Thrichomycterus* proposto inicialmente por Humboldt (1805) nome este (*Thrichomycterus*) criado como uma alternativa para a descrição de novas espécies diferentes do gênero *Eremophilus*, porém a pequena alteração na grafia feita por Valenciennes, implicou em que *Eremophilus*, por ser designado primeiramente como o nome de um táxon, fosse sinônimo sênior de ***Thrichomycterus*** (com mesmo ano de publicação, 1805 feita por Humboldt), este em questão sendo invalidado, prevalecendo assim *Trichomycterus*, mesmo baseado na publicação de uma espécie diferente da espécie tipo de *Eremophilus*.

Em 1890, Eigenmann e Eigenmann, refutaram o nome *Trichomycterus* e defenderam o nome *Pygidium* descrito por Meyen em 1834. Estes autores argumentaram que o nome *Trichomycterus*, por ser muito similar a ***Thrichomycterus***, dificilmente seria considerado distinto, principalmente pelo relato de Valenciennes (in Humboldt e Valenciennes, 1832) inferir que o nome primariamente foi criado por Humboldt, como citado a cima.

Todavia, a origem do nome *Pygidium* é mais complexa do que o nome *Trichomycterus*. *Pygidium* foi descrito por Meyen (1834) a partir de um único exemplar encontrado morto em um rio desconhecido do Peru (Tchernavin, 1944). Sendo sua espécie tipo *Pygidium fuscum*. A diagnose feita por Meyen é a seguinte: ausência da nadadeira dorsal, ausência de barbilhão nasal, presença de nadadeira adiposa, dentes no palatino e abertura branquial estreita. Meyen também relacionou uma leve similaridade ao gênero *Malapterus*. A diagnose feita por Meyen, mostra que o peixe por ele encontrado, não se assimila em nenhum momento com as diagnoses relatadas ao gênero *Trichomycterus*.

Em 1835, Wiegmann, examinou a espécie tipo de *Pygidium fuscum*, e apresentou uma nova diagnose, totalmente contraria a inferida por Meyen: presença de barbilhões nasais, presença de nadadeira dorsal, odontóideos opérculares e inter-operculares e ausência de dentes no vômer e de nadadeira adiposa. Mostrando assim muito mais similaridades com a diagnose para o gênero *Trichomycterus* e extremamente distinta da feita inicialmente por Meyen para *Pygidium*.

Em 1845, Tschudi teve acesso ao espécime analisado por Wiegmann em 1835, que seria a espécie tipo de *Pygidium fuscum*. Nesta nova análise, Tschudi apresenta resultados idênticos aos de

Wiegmann, com ressalvas apenas em relação a ausência de dentes no palatino e no vômer. Segundo a descrição de Tschudi o espécime em questão é distinto de *Trichomycterus*, e ressaltou que Valenciennes nunca teve em mão um espécime de *Pygidium* (Tschudi, 1845; Tchernavin, 1944).

Após o exposto acima, pode-se inferir que o gênero *Pygidium* é válido, porém, o fato em questão é que tanto Wiegmann quanto Tschudi analisaram espécies particularmente distintas de Trichomycteridae (em relação a descrição de ambos os trabalhos: presença de dente no vômer *versus* ausência de dentes no vômer) provenientes da coleção de Meyen (Tchernavin, 1944), e o possível holótipo de *Pygidium fuscum* é distintamente diferente dos relatos supracitados, como exemplo a descrição de *Trichomycterus nigricans*. Além disso, hoje o holótipo de *Pygidium fuscum* está aparentemente perdido (Tchernavin, 1944). Com base nos relatos citados, é possível admitir que *Trichomycterus* é um nome válido, quando referente a grupos de indivíduos que compartilham caracteres com base em sua espécie tipo, *T. nigricans* Valenciennes, 1832; e *Pygidium* torna-se um nome em aberto, porém com a perda de seu holótipo, o mesmo colocado numa posição dúbia.

Em 1872, Gill em seu trabalho “*Arrangement of the families of fishes, or classes Pisces, Marsipobranchii, and Leptocardi*” foi o primeiro a reconhecer a família Trichomycteridae, incluso na Ordem Nematognathi, que caracterizava a ordem pela fusão de diversos elementos do neurocrânio e da cintura peitoral. Porém o maior trabalho inicial envolvendo os Siluriformes neotropicais apareceu com a publicação de Eigenmann e Eigenmann (1890) do trabalho “*A revision of the South American Nematognathi*” com uma revisão taxonômica das famílias conhecidas até o momento para região. Por outro lado, os autores utilizaram o nome Pygiidae (=Trichomycteridae), onde estavam incluso os gêneros *Hemicetopsis*, *Cetopsis* e *Pseudocetopsis*. Posteriormente ao trabalho de Eigenmann e Eigenmann (1890), Regan (1911) publicou o trabalho “*The classification of the teleostean fishes of the order Ostariophysi*” onde considerou novamente a família Trichomycteridae, alocando na mesma os gêneros *Nematogenys*, *Trichomycterus*, *Eremophilus*, *Pareiodon*, *Stegophilus*, *Vandellia*, *Tridens* e *Miuroglanis*.

O maior estudo com relação à família Trichomycteridae foi o de Eigenmann (1918) “*The Pygiidae, a family of South American Catfishes*”, ainda com o nome Pygiidae, onde transcreveu as descrições originais das espécies e acrescentou novas espécies. Neste trabalho Eigenmann subdividiu Trichomycteridae (=Pygiidae) em seis subfamílias: Nematogeninae, Pygiinae, Pareiodontinae, Stegophilinae, Vandellinae e Tridentinae. Eigenmann conclui seu trabalho inferindo

que *Cetopsis* pertence a uma família diferente, mas não determina qual diagnose foi utilizada para tal inferência.

Dois últimos trabalhos com relação a Siluriformes, e envolvendo a complexa família Trichomycteridae, foram os de Peyer (1922) com relação aos odontódeos de loricarioidea, onde exclui desta superfamília o gênero *Cetopsis* (=Cetopsidae) pela ausência deste caráter, e o trabalho de Berg (1940) onde revalida Trichomycteridae, e inclui a família Cetopsidae como mais basal de Siluriformes (ver detalhes em de Pinna, 1998).

Tchernavin (1944), fez uma análise dos materiais de Trichomycterinae do Bristish Museum of Natural History, revisou a questão nomenclatural e sinonizou Pygiidae como Trichomycteridae, e transcreve a descrição feita por Meyen (1834):

“Pygidium Char. Gen. Corpus elongatum, caudum versus compressum. Cirri maxillares 4, nasales nulli. Pinnae pectorales ut pinnaeabdominales dua cum pinna anali circa anum positae. Pinna adiposa parva.”

Pygidium fuscum. Corpore nudo longit 5-6 pollic. Coloris fusci. Maxillis labialis, maxilla superiori majori. Pinnis pectoralibus radiis – 9, pinnis caudalibus radiis -12”

Com suas análises, Tchernavin conclui todo o impasse com relação à regra nomenclatural e a validade de Trichomycteridae, e com o mesmo trabalho expõem os principais caracteres fundamentais para análises sistemáticas do gênero *Trichomycterus*.

Em 1973, Baskin fez um detalhado trabalho em sua tese “*Structure and relationships of the Trichomycteridae*” (não publicada) das relações filogenéticas da subfamília Trichomycterinae, porém não conseguiu comprovar o monofiletismo da mesma, que posteriormente foi testado por de Pinna (1989) que apontou para um possível polifiletismo do grupo. Cabe ressaltar que os trabalhos de Eigenmann (1918) e de Baskin (1973) são as duas maiores obras com relação à subfamília Trichomycterinae, efetuadas no século XX.

A partir da década de 90 do século passado, apenas quatro trabalhos diretamente relacionados a subfamília Trichomycterinae tiveram real importância para os estudos sistemáticos deste grupo: Arratia (1990b), Costa e Bockmann (1993), Arratia (1998) e Wosiacki (2002), este ultimo não publicado.

Arratia (1990) propôs quatro sinapomorfias para Trichomycterinae, onde a subfamília seria composta pelos gêneros *Eremophilus*, *Rhizosomichthys*, *Scleronema* e *Trychomycterus*. Todavia, também deixou claro que estabelecer os limites de Trichomycterinae e de *Trichomycterus* requereria uma análise completa de todas as espécies de subfamília.

Em 1993, Costa e Bockmann descrevem o gênero *Ituglanis*, sem uma subfamília definida, mais sugerindo ser esse grupo irmão de Tridentinae, Stegophilinae, Vandellinae, Sacorglanidinae e Glanapteriginae. Com esta nova descrição um novo passo na tentativa da elucidação da problemática da família é feito.

Com a descrição de *Silvinichthys*, Arratia (1998) fragmenta novamente as alocações dentro de Trichomycterinae, sua nova descrição é feita para a locação de *Trichomycterus mendozensis*, e tentando inferir o possível monofiletismo de Trichomycterinae, porém falha ao utilizar um conjunto de autapomorfias de uma única espécie (ver detalhes em Arratia, 1998).

Wosiacki (2002) estudando 205 caracteres morfológicos de 74 espécies de Trichomycteridae encontrou quatro árvores igualmente parcimoniosas para a família que quando resumidas em um cladograma de consenso estrito resultou na identificação de 70 clados. Para uma correta organização das espécies, frente aos resultados obtidos, Wosiacki (2002), propõe a criação de 14 novos gêneros e 14 novas subfamílias. No estudo citado foi confirmado o polifiletismo de Trichomycterinae, já apontado por outros autores, como de Pinna (1998).

1.5 – Distribuição do gênero *Trichomycterus* na Bacia do Paraguai

Nas águas continentais brasileiras, são válidas mais de 50 espécies nominais do gênero *Trichomycterus* (de Pinna e Wosiacki, 2003, Wosiacki e de Pinna, 2007) e, para a bacia do Paraguai, apenas uma espécie, *Trichomycterus jonhsoni* (Fowler, 1932). Britski *et al.* (2007) mantiveram como válida a denominação *Trichomycterus brasiliensis*, como presente na bacia do Paraguai. Em virtude de seu trabalho ter abrangido apenas as áreas dos grandes rios da formação da bacia do Paraguai, é compreensível a lacuna com relação aos riachos que compõem as formações menores (sub-bacias) que estruturam esse grande sistema, que segundo Böhlke *et al.* (1978) “O conhecimento dos peixes do grande sistema Paraná-Paraguai é muito limitado em relação ao tamanho e a complexidade de sua fauna”.

Recentemente Mehanna e Penha (2010, submetido.) relatam a presença de possíveis espécies novas para o gênero *Trichomycterus*, considerando que a única espécie de *Trichomycterus* descrita para a região da bacia do Paraguai, e da sub-bacia do rio Cuiabá, é *T. johnsoni*, que não corresponde às amostras coletadas nos riacho da sub-bacia do rio Cuiabá.

1.6 – Notas sobre o complexo de espécies *Trichomycterus brasiliensis*

O elevado endemismo das regiões de cabeceira tem sido atribuído ao isolamento dos grupos de peixes nelas presentes (Buckup, 1999). Isso provavelmente contribuiu para que também as populações de *Trichomycterus* se diversificassem isoladamente nessas regiões ao longo da história evolutiva do grupo, caracterizando um elevado número de formas endêmicas recentes. É nesse cenário que se insere o grupo de peixes que constituirá o complexo de espécies identificado como *Trichomycterus brasiliensis*.

Trichomycterus brasiliensis foi originalmente descrita da foz do rio das Velhas, bacia do rio São Francisco, estado de Minas Gerais. Sua distribuição é assinalada para o alto rio São Francisco no estado de Minas Gerais e pequenas bacias adjacentes no sudeste do Brasil (de Pinna e Wosiacki, 2003). No entanto, nos últimos anos essa espécie tem sido registrada sistematicamente em diversas outras localidades da região sudeste do país, indicando que pode se tratar de um complexo de espécies. Adicionalmente, de acordo com Britski *et al.* (1988) e Cassati e Castro (1998), espécies como *T. brasiliensis*, que apresentam ampla distribuição e estão presentes em diversos habitats, constituem provavelmente intrincados complexos de espécies, uma tendência comum dentro do gênero *Trichomycterus* (de Pinna, 1998).

Segundo Nelson (1999) um complexo de espécies consiste de duas ou mais espécies biológicas, porém os limites dos componentes diagnósticos destas espécies são atualmente impossíveis de identificar durante toda sua escala evolutiva. No caso de ocorrências múltiplas de espécies que alinham-se onde é pouco prático ou impossível tratar a espécie no contexto da taxonomia Linneana utilizando caracteres morfológicos.

De acordo com Bockmann e Sazima (2004), o complexo de espécies *Trichomycterus brasiliensis*, como ficou conhecido, inclui até o momento seis espécies válidas (*T. brasiliensis*, *T. iheringi*, *T. maracaya*, *T. mimonha*, *T. potschi* e *T. vermiculatus*), além de várias outras formas ainda não descritas, aparentemente endêmicas das principais bacias que drenam o Escudo Brasileiro. Os

autores indicam que todas essas espécies são assinaladas ao complexo *T. brasiliensis* por compartilharem os seguintes caracteres apomórficos exclusivos para o grupo: a) quatro fileiras longitudinais de manchas bem definidas, formadas pela densa concentração de cromatóforos escuros situados profundamente no tegumento e b) nadadeira peitoral com I + 5 - 6 raios. De maneira geral, constituem também caracteres diagnósticos para esse agrupamento o arranjo dos odontódeos operculares (dispostos obliquamente) e o padrão de colorido (pintas aglutinadas sobre a cabeça e o flanco). No entanto, grandes variações nesses caracteres têm dificultado bastante o trabalho de identificação correta das espécies e a descrição de novas formas, muito similares entre si. Quando essas descrições não são baseadas em uma gama de dados consistentes, muitas vezes em função da natureza dos caracteres utilizados, diversos problemas surgem. A ausência desses caracteres pode levar à descrição errônea de muitas espécies, no caso da diferenciação das formas eventualmente analisadas ser, por exemplo, devida apenas a uma variação geográfica intraespecífica (Mayr e Ashlock, 1991). É possível acontecer também de dados pouco consistentes não sejam capazes de discriminar uma variação interespecífica estatisticamente significativa, o que acarretaria o não reconhecimento de espécies novas, subestimando-se uma real diversidade já estabelecida (Gould 1979; Wilson 1992).

A distribuição de um organismo não pode ser considerada estática, de forma que o mesmo pode ampliar ou reduzir os seus limites geográficos (Mayr, 1977). Assim, definir com exatidão a amplitude de distribuição de uma espécie, ou grupo de espécies não é uma tarefa trivial. O padrão de distribuição geográfica de muitas espécies dificulta ainda a compreensão de suas relações com as congêneres, como no caso de *Trichomycterus brasiliensis*. Considerando as localidades-tipo das espécies formalmente assinaladas ao complexo *T. brasiliensis*, percebemos que sua ampla distribuição pode ser considerada um dos principais fatores que apontam para a necessidade de estudos sistemáticos mais apurados incluindo seus membros. Essas espécies foram descritas para as principais áreas de endemismo ictiofaunístico do país e todas elas são muito similares entre si, com diferenças pouco expressivas (v. Bockmann e Sazima, 2004), sendo que *T. brasiliensis* é descrita da bacia do alto rio São Francisco, *T. iheringi* e *T. maracaya* Bockmann são descritas da bacia do alto rio Paraná, *T. mimonha* e *T. vermiculatus* são descritas da bacia do rio Paraíba do Sul e *T. potschi* Barbosa e Costa é descrita de bacias costeiras no estado do Rio de Janeiro (Reis *et al.*, 2003; Buckup *et al.*, 2007).

1.7 - O DNA Mitocondrial e um breve ensaio sobre Filogenia Molecular

O DNA mitocondrial é uma molécula linear em muitas plantas e fungos, mas em metazoários é uma molécula circular, haplóide, de herança materna, que em geral não sofre recombinação (Scheffler, 1999; Avise, 2004). O fato de essa molécula ser haplóide e herdada uniparentalmente faz com que o tempo médio de coalescência dessa molécula como um todo seja quatro vezes superior quando comparada a genes nucleares (Avise, 2004). Diferentes genes da molécula apresentam taxas de evolução distintas, refletindo assim as restrições específicas a que estão submetidos (Scheffler, 1999).

É importante a utilização de marcadores que segregam de forma independente, como é o caso do uso em conjunto de seqüências mitocondriais e nucleares, para se testar se as topologias sugeridas por cada um destes marcadores são congruentes, e em caso negativo tentar entender quais processos estariam envolvidos na resolução diferencial entre ambos (Avise, 2004).

O desenvolvimento de métodos de seqüenciamento de DNA (Maxam e Gilbert, 1977; Sanger *et al.*, 1977; Saiki *et al.*, 1985) permitiu a análise de genes ao nível dos seus nucleotídeos constituintes. Por esta razão, tal ferramenta tem sido utilizada em muitas áreas de pesquisa (*i.e.* Graur e Li, 2000; Nei e Kumar, 2000; Felsenstein, 2003; Avise, 2004; Hedrick, 2005).

Até o desenvolvimento da “*Polymerase Chain Reaction*” (PCR) (Saiki *et al.*, 1985), o uso de seqüência dos genes para a análise filogenéticas eram raramente feitas por causa do enorme investimento exigido em clonar genes homólogos provenientes de amostras múltiplas. A introdução das primeiras seqüências com uso de “primers” com de utilização para inferências filogenéticas (“universal primers”; *e.g.* Kocher *et al.* 1989) permitido assim a obtenção rápida de seqüências provenientes de segmentos particulares de um grande número de amostras, permitiu uma explosão de estudos usando seqüências de DNA para tentar elucidar inúmeras perguntas filogenéticas.

Este método simula *in vitro* a replicação que ocorre naturalmente em células vivas; a partir de DNA genômico total, do uso de oligonucleotídeos iniciadores que flanqueiam a região de interesse (primers), da presença dos desoxirribonucleotídeos, e de uma DNA polimerase especial capaz de resistir a altas temperaturas (Taq polimerase), são geradas cópias da região-alvo em ritmo exponencial, a partir de ciclos sucessivos de desnaturação do DNA, hibridação dos primers, e extensão da nova fita de DNA. Após 25-40 ciclos, são obtidas cópias em grande número, de maneira a ser possível a checagem do sucesso da reação pela presença de uma banda em um gel de

agarose ou poliacrilamida submetido a um diferencial de potencial elétrico (Saiki *et al.*, 1988; Scharf *et al.*, 1986; Mullis e Faloona, 1987).

As informações de sequência moleculares têm um número de vantagens inerentes em relação a outros tipos de dados. Primeiramente, o fornecimento de um número essencialmente ilimitado de caracteres, onde cada sequência é potencialmente informativa para a análise filogenética. Em segundo, estes caracteres são úteis para estudar relacionamentos entre diversos grupos relacionados. Cada gene, assim como cada *locus* individuais dentro de um gene, evolui em uma taxa específica em função de sua variação relacionada ao seu confinamento funcional, podendo assim ser úteis para distinguir relacionamentos entre grupos altamente divergentes (Hillis *et al.*, 1992; Scheffler, 1999; Avise, 2004).

As áreas mais rápidas em desenvolvimento, tais como a região de controle do DNA mitocondrial, podem ser úteis para inferir relacionamentos sistemáticos entre populações e espécie. Em regiões de codificação, a variação em seqüências do DNA pode ser avaliada entre diversas regiões do códon, com o intuito de aumentar o potencial filogenético a um nível sistemático mais elevado (Scheffler, 1999; Avise, 2004).

As regiões do DNA Mitocondrial são constantemente estudadas em peixes, e com o conhecimento de seqüências de "*Primers universais*" (Kocher *et al.*, 1989; Meyer *et al.*, 1990, Simon *et al.*, 2004; Palumbi, 1996) as amplificação e a obtenção de seqüências tornaram-se acessíveis.

O uso de diferentes segmentos gênicos, torna-se um fator fundamental no estudo aplicado a filogenia molecular, porque a história evolutiva de um único gene pode ser diferente da história média de um genoma inteiro (Avise, 2004), tal cuidado deve ser primariamente usado em interpretar árvores geradas com o uso de genes mitocondriais com o intuito de refletir a história das populações em estudo (Kocher e Stepien, 1997).

Há duas linhas de pensamento entre os sistematas a respeito da combinação de dados morfológicos e moleculares. A primeira é a aproximação por "*total evidence*" (Mickey e Johnson, 1976; Kluge e Wolf, 1993) que consiste na análise simultânea de todos os conjuntos de dados, usando assim toda a evidência possível. A hipótese nula para esta aproximação é que não há nenhuma diferença ou divisão significativa dentro da série de dados, isto é, que há somente uma história evolutiva para o clado em questão. Huelsenbeck (1995) sugerem que a evidência total leva a um menor erro do que com análises separadas de dados baseados em poucos caracteres.

Preconiza-se que os testes totais da evidência devem examinar se os diversos dados têm sinais significativamente diferentes e estas separações devem ser testadas a fim de encontrar à série combinante (de Queiroz, 1993; Bull *et al.* 1993; Ballard, 1996).

Outra linha de pensamento sugere que as séries de dados devem ser analisadas separadamente (Bull *et al.* 1993; Miyamoto e Fitch, 1995). Com o intuito de relacionar que diferentes taxas que são congruentes em análises separadas, informarão resultados suportados fortemente em seus cladogramas, desta forma, as congruências dos dados, a partir de análises separadas, usando genes diferentes, ou entre séries de dados morfológicas e moleculares, indicaram a sustentação máxima dos relacionamentos filogenéticos e assim serão provavelmente condizentes com a história evolutiva (Bull *et al.* 1993; Miyamoto e Fitch, 1995). Miyamoto e Fitch (1995) sugerem que os relacionamentos entre os taxa que são suportados por séries de dados independentes sejam particularmente robustos, equivalendo à verificação independente de uma hipótese experimental proveniente de uma hipótese empírica diferente. Este tipo independente de verificação pode ser perdido em combinar diferentes séries de dados para inferências filogenéticas.

A Máxima Parcimônia tem suas origens nos conceitos de Hennig (1966), e também numa sugestão de Edwards e Cavalli-Sforza (1963) acerca das propriedades que um critério filogenético analítico deva possuir. O conceito fundamental de Hennig é que táxons que compartilham estados derivados (apomórficos) devem ser descendentes de um ancestral comum que apresentava estados mais primitivos (plesiomorfias), que teriam sofrido mutações até adquirirem os estados atuais nos descendentes.

De forma geral, o princípio de máxima parcimônia no contexto filogenético estabelece que o número de mudanças de estados numa dada filogenia deve ser o menor possível dada a observação dos estados atuais nos táxons analisados. Assim sendo, a Máxima Parcimônia pode ser interpretada como um tipo de derivação, dentro do ramo da biologia evolutiva, do princípio filosófico da navalha de Ockham, formulado pelo filósofo inglês William de Ockham (Graur e Li, 2000). Tal princípio rege que a explicação mais provável para um determinado conjunto de observações deve ser a mais simples, envolvendo o menor número possível de premissas. Edwards e Cavalli-Sforza (1963) também sugeriram que a melhor estimativa de relações de parentesco deve ser aquela que envolva a menor quantidade total de evolução.

Camin e Sokal (1965) foram os primeiros a atribuir a palavra “parcimônia” a um método de reconstrução filogenética baseada em estados discretos. A primeira aplicação do método para seqüências moleculares foi com o uso de proteínas (Eck e Dayhoff, 1966); posteriormente (Fitch, 1977) a Máxima Parcimônia passou a ser inferida também a partir de nucleotídeos. De acordo com este método, para cada topologia possível relacionada a um determinado número de táxons, a evolução mais parcimoniosa para cada caráter é inferida através de um algoritmo que minimiza o número de passos necessários para explicar os estados observados nos ramos terminais (Fitch, 1971), e este processo é então realizado para todas as posições do alinhamento. Ao final, a árvore com menor número de passos dos caracteres como um todo é escolhida como árvore mais parcimoniosa. Este método tem premissas simples, é intuitivo e é computacionalmente mais rápido que métodos baseados em probabilidades. Entretanto, a reconstrução topológica por Máxima Parcimônia pode não representar de maneira adequada o modo de evolução de seqüências: o método assume implicitamente que a taxa de evolução é homogênea ao longo de toda a seqüência; ramos longos (ou seja, porções da árvore que acumularam um número de substituições maior que outros ramos) podem se atrair uns aos outros devido a paralelismos e convergências (Felsenstein, 1978; Hendy e Penny, 1989; Bergsten, 2005); similaridade de composição nucleotídica em algumas das seqüências analisadas pode fazer com estas se atraiam; o número de substituições inferidas é sempre uma estimativa do valor real para seqüências que divergiram há um tempo relativamente longo (Jukes e Cantor, 1969; Kimura, 1980); a inferência do número de substituições em cada ramo da árvore pode ser ambígua em muitos casos (Felsenstein, 2003); e o método não oferece tratabilidade estatística, ou seja, não há uma maneira direta de se obter relações matemáticas e variâncias a partir do número mínimo de passos (Nei e Kumar, 2000; Felsenstein, 2003).

O uso de modelos evolutivos é uma das características da reconstrução filogenética por Máxima Parcimônia é a estimativa do número de passos evolutivos, sendo a magnitude do desvio proporcional ao tempo de separação entre duas linhagens, o que pode acarretar em problemas não só quanto ao cálculo de tamanhos de ramo, como também em relação à própria topologia em si (Felsenstein, 2003). Jukes e Cantor (1969) desenvolveram um modelo envolvendo a “*correção de Poisson*” para corrigir este problema. Entretanto, esse modelo não engloba uma série de premissas provenientes das observações de padrões de evolução molecular, como, por exemplo diferenças nas taxas entre transições (mudanças entre purinas - A e G - ou entre pirimidinas - C e T) e transversões

(transformações entre uma purina e uma pirimidina). Tais diferenças foram abordadas no modelo proposto por Kimura (1980), onde há um parâmetro que define a taxa de transição, e outro a de transversão. Outro modelo postulado posteriormente (Felsenstein, 1981; Hasegawa *et al.*, 1985) foi a quantidade diferencial de cada uma das bases, que até então eram assumidas como tendo frequências equivalentes e constantes ao longo da topologia. Com o tempo, modelos com cada vez mais parâmetros foram sendo descritos (Liò e Goldman, 1998; Felsenstein, 2003), sendo inclusive abordado o uso de funções que contabilizam a variação de taxas ao longo da cadeia de seqüenciamento (Golding, 1983; Nei e Gojobori, 1986; Jin e Nei, 1990; Yang, 1994; Yang e Kumar, 1996).

Uma forma mais apropriada de se tratar a evolução de uma seqüência é através do uso de matrizes que englobam todos os parâmetros mencionados acima. Um pressuposto na utilização dessas matrizes é a “*propriedade de Markov*”, em que a probabilidade de um nucleotídeo ser posicionado em um determinado estado ao longo de sua evolução dependerá apenas do seu estado atual, e portanto elas são denominadas “*matrizes de Markov*” (Liò e Goldman, 1998). Usualmente, essas matrizes assumem que o processo evolutivo é homogêneo, onde as taxas dos diferentes tipos de substituições são constantes em todos os ramos de uma topologia ao longo do tempo, e as frequências de cada base se encontram em equilíbrio, e são passíveis de reversão, onde a chance de uma determinada base mudar para outra é a mesma que a ocorrência em sentido oposto (Liò e Goldman, 1998; Jayaswal *et al.*, 2005). A ocorrência de irreversibilidade, assim como outros fatores, pode ser implementada nesse modelo geral (Barry e Hartigan, 1987; Jayaswal *et al.*, 2005).

Embora existam questões delicadas quanto ao tratamento matemático (Felsenstein, 2003), diversos pressupostos assumidos por essa classe de matrizes, e assim estendidas aos métodos de reconstrução filogenética que condizem desses modelos, a evolução de cada posição nucleotídica é independente das outras, e que todos os demais caracteres são provenientes de uma mesma distribuição subjacente (Felsenstein, 1981; 2003), suposições estas que podem também ser flexíveis com o uso de um maior número de parâmetros nas matrizes de Markov.

A Máxima Verossimilhança é uma adaptação proposta por Edwards e Cavalli-Sforza (1963) aplicada ao campo da filogenia molecular, de um método estatístico geral desenvolvido por Fisher (1922, 1956). O princípio da Máxima Verossimilhança para calcular uma árvore a partir de dados de frequência gênica foi adaptada por Felsenstein (1981) para estimativas filogenéticas baseadas em

sítios individuais, dado um alinhamento prévio, desta forma assumindo que a probabilidades das hipóteses *a priori*, no entanto, é motivo de controvérsias (Fisher, 1922; Felsenstein, 2003); porém, à medida que a amostragem de dados aumenta, a probabilidade *a priori* tende a perder peso na equação, tornando uma correlação menos dependente do valor inicial. A denominação de verossimilhança é importante para ressaltar que esta grandeza não equivale a um valor de probabilidade propriamente dito (Fisher, 1922). A razão para essa diferenciação decorre do seguinte aspecto: quando se varia os valores dos parâmetros da hipótese a ser testada, obtêm um gráfico de valores de probabilidade para quantidades diferentes; esse gráfico, no entanto, não representa uma distribuição, já que nas distribuições estatísticas o que varia são justamente os dados, e estima-se a probabilidade de se obtê-los fixando-se os valores dos parâmetros da distribuição, na verossimilhança ocorre o inverso: o conjunto de dados é fixo, sendo aplicadas as probabilidades do mesmo para diferentes valores dos parâmetros da hipótese; portanto esse gráfico não indica as probabilidades de se obter dados mutuamente exclusivos, agindo da mesma forma como ocorre com distribuições probabilísticas (Felsenstein, 2003).

A verossimilhança de uma dada topologia é calculada da seguinte maneira: para cada posição do alinhamento, calculam-se as probabilidades de cada um dos 4 nucleotídeos (ou estados) ocuparem os nós internos, multiplicada pela probabilidade de cada uma dessas bases sofrer mutação através de um ramo com determinado comprimento e gerar cada um dos 4 estados na outra ponta do ramo (sempre assumindo reversibilidade); esse passo é repetido sucessivamente através de todos os ramos da filogenia, até que se atinja um nucleotídeo observado de um ramo terminal, e esse procedimento é realizado até que todas as probabilidades de transição “*markovianas*”, para todos os ramos internos e externos, tenham sido calculadas. Esse algoritmo é repetido para todas as posições do alinhamento, assumindo-se os pressupostos de independência e distribuição idênticas em cada sítio, e para todos os ramos da topologia. Os logaritmos das verossimilhanças dos sítios individuais são então somados para uma mesma árvore. Os tamanhos de ramo são otimizados para cada árvore examinada. O processo, deve ser reiterado algumas vezes, até que haja estabilização dos tamanhos de ramo na árvore (Felsenstein, 1981). Os valores das probabilidades de transição “*markovianas*” relativas ao modelo escolhido podem ser estipuladas pela máxima verossimilhança em conjunto com a otimização de tamanhos de ramos (Felsenstein, 1981).

Um grande atrativo que a Máxima Verossimilhança incorpora é o uso de modelos evolutivos, onde por incorporar diferentes parâmetros explicitamente, esse método pode refletir uma aproximação do verdadeiro processo molecular gerador do padrão filogenético a ser estimado, durante a evolução do grupo (Liò e Goldman, 1998).

Do ponto de vista das aplicações estatísticas em geral, estimativas utilizando o princípio da máxima verossimilhança são consistentes, robustas e eficientes (Fisher, 1956). Sob determinadas condições, está demonstrado que essas mesmas características se aplicam à Máxima Verossimilhança enquanto base fundamental para estimar árvores filogenéticas (Felsenstein, 2003).

Entretanto, as premissas para o uso de Máxima Verossimilhança em análises filogenética molecular nem sempre são garantidas, baseando que alguns sítios evoluem independentemente, precedidos assim de uma distribuição heterogênea, faz com que o uso deste modelo um fator minimamente adequado, inferindo assim em tamanhos de ramo imprecisos (Felsenstein, 2003; Jayaswal *et al.*, 2005).

A análise bayesiana busca a probabilidade da hipótese, dadas as verossimilhanças das diferentes árvores e suas respectivas probabilidades a priori. É de fato a estimativa que se deseja obter ao analisarem os dados. Há, entretanto, muita discussão quanto ao uso de probabilidades a priori (Fisher, 1922; Holder e Lewis, 2003; Beaumont e Rannala, 2004), embora o peso destas seja cada vez menor à medida que a quantidade de dados aumenta. A implementação da análise bayesiana se dá, na prática, pelo método denominado “*Markov-chain Monte Carlo*”, baseada no trabalho de Metropolis *et al.* (1953), e mais tarde modificada por Hastings (1970). O algoritmo Metropolis-Hastings, aplicado à análise bayesiana, usa matrizes Markoviana como mecanismo de ligação entre os estados atuais e novos estados propostos, sendo os valores de probabilidades a priori desses parâmetros obtidos por números aleatórios sorteados a partir de distribuições previamente estipuladas.

Dessa forma, a chance de uma árvore proposta ser aceita é proporcional à diferença de cada probabilidade gerada; se uma determinada árvore tem probabilidade alta, ela tenderá a ser “visitada” mais vezes, e topologias com baixa probabilidade serão “visitadas” menos; isto indica que as probabilidades posteriores das topologias podem ser estimadas a partir da frequência com que tais estados são aceitos (Felsenstein, 2003; Huelsenbeck e Ronquist, 2005). Entretanto, para que essa aproximação seja aceitável, a amostragem dos estados deve ser realizada na região de equilíbrio

estacionário, condizentes com as regiões do espaço amostral multi-paramétricos, onde a chance de se chegar a um determinado estado a partir de um outro estado específico seja a mesma que no sentido oposto, mas não há uma maneira de se dizer com certeza se o ponto de equilíbrio em questão é um ótimo global ou uma região sub-ótima (Felsenstein, 2003; Holder e Lewis, 2003; Beaumont e Rannala, 2004; Huelsenbeck e Ronquist, 2005).

Huelsenbeck et al. (2001) e Huelsenbeck e Ronquist (2005) acreditam que a frequência de amostragem de uma dada árvore analisada por ‘*Markov-chain Monte Carlo*’ seja realmente equivalente à sua probabilidade posterior, e que portanto esse valor representa a chance daquela topologia ser correta. Entretanto, outros trabalhos mostram que os valores de suporte bayesiano para ramos individuais são superiores aos gerados por outros índices, sendo a magnitude da superestimação maior que as subestimativas observadas para outros índices, como bootstrap (Suzuki et al., 2002; Simmons et al., 2004). Assim, deve-se encarar com cautela estimativas de probabilidade posterior, ao menos com relação ao suporte de ramos.

É extremamente leviano inferir qual dos três métodos acima descritos estima com maior precisão a topologia baseada num conjunto de dados; Huelsenbeck (1995) comparou o desempenho de diferentes métodos filogenéticos analisando simulações em uma topologia não-enraizada de quatro táxons, onde os tamanhos de ramos variavam consideravelmente, e apresentou variações peculiares com sua topologia (v. detalhes em Huelsenbeck, 1995). Outros estudos (Hillis et al., 1992; Sanson et al., 2002) mostraram, através da evolução *in vitro* de seqüências nucleotídicas, que para divergências relativamente baixas, todos métodos inferem a verdadeira topologia com alta precisão.

O fato de alinhamentos de forma geral envolver a presença de *indels* (inserção ou deleção) em maior ou menor grau torna importante a consideração de posições do alinhamento que apresentem lacunas (*gaps*) para alguns táxons (Giribet e Wheeler, 1999). A partir do momento em que se determina um alinhamento como sendo o mais correto, pode-se admitir que os *gaps* presentes sejam resultado do processo evolutivo que gerou as seqüências observadas. Partindo desse pressuposto, *gaps* podem constituir uma informação filogenética, e segundo Giribet e Wheeler (1999) métodos que não os incluam nas análises podem vir a reconstituir a árvore filogenética com menor fidelidade, já que eles deixam de lado parte da informação histórica. Nos métodos supracitados, entre a exclusão das posições nucleotídicas em que apareça um *gap* para todos os táxons, ou então considerar a presença de *gaps* como “*missing data*” (falta de resolução na determinação da base) o

uso da máxima parcimônia condiz como o método de reconstrução mais eficiente, que nestes casos tende a resgatar a verdadeira topologia com maior probabilidade (Yang, 1996, 1997; Siddall, 1998; Giribet e Wheeler, 1999).

Objetivos

*"O sábio não é o homem que
fornece as verdadeiras respostas, é aquele
que faz as verdadeiras perguntas."*

- Claude Lévi-Strauss -

2 – Objetivos

Considerando o exposto acima, o objetivo primordial deste trabalho é testar a hipótese de que os exemplares de *Trichomycterus* coletados nos riachos formadores do rio Cuiabá, na Chapada dos Guimarães, correspondem a uma ou mais espécies ainda não descritas para sub-bacia do rio Cuiabá (bacia do Paraguai), e propor, a partir de análises moleculares, novas hipóteses sobre o complexo de espécie *Trichomycterus brasiliensis* (*sensu* Bockmann e Sazima, 2004).

Material e Métodos

"Quando todos pensam da mesma maneira, ninguém pensa grande coisa."

- Carl Sandburg -

3 – Material e Métodos

3.1 – Caracterização área de Estudo de Chapada dos Guimarães

Um dos principais divisores de águas no Estado do Mato Grosso, localizado na região centro-sul do estado, é o planalto dos Guimarães (Chapada dos Guimarães), que serve como divisor de águas entre os rios que correm para a bacia do rio Paraguai (rio Cuiabá, Coxipó e Manso) e para a bacia do Tocantins (rio das Mortes). O planalto dos Guimarães abrange uma área de aproximadamente 1.560 km², englobando em seu contexto os territórios dos municípios de Chapada dos Guimarães, Nobres, Rosário Oeste, Nova Brasilândia, Planalto da Serra, Santa Rita do Trivelato (Ministério das Minas e Energias, 1982; Schwenk, 2005). Na região de Chapada dos Guimarães estão presentes os riachos formadores da sub-bacia do rio Cuiabá, bem como o rio Manso e seus afluentes (rios da Casca e Quilombo), que correm em uma região de cerrado *stricto sensu* (Maitelli, 2005; Schwenk, 2005).

3.2 – Material

O material estudado foi coletado em afluentes do rio Cuiabá (Mato Grosso). A metodologia de coleta aplicada foi a de métodos ativos de coleta (redes de mão, puçás e peneiras) onde as capturas por esse método são altamente dependentes da habilidade do coletor (Uieda & Castro, 1999). Em função da necessidade de realizar levantamentos faunísticos com maior precisão e de forma rápida, este método foi escolhido por sua maior eficiência por unidade de tempo, e em função que, a coleta de peixes de cabeceira é particularmente difícil em função da elevada correnteza e transparência, fatores característicos desses corpos d'água (Uieda & Castro, 1999).

Foram considerados os levantamentos prévios já realizados na região por Mehanna e Penha (2010, Submetido) e foram escolhidos os pontos, onde foi constatada a presença de espécimes de *Trichomycterus*. Para efeito de comparação foram também analisados exemplares de *T. johnsoni* obtidos do Museu de La Plata, e de outras espécies similares de outras localidades da bacia do Paraguai. Deve-se ressaltar o uso, para análises, de todos os exemplares coletados por Mehanna e Penha (2010, submetido) depositados no Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro (105 exemplares); do Núcleo de Pesquisas Limnológicas (30 exemplares) e mais 93 exemplares depositados Laboratório de Biologia e Genética de Peixes – UNESP, campus de Botucatu.

Para as análises moleculares foram utilizados 88 amostras para estudos moleculares. Para análises moleculares, em relação ao complexo de espécies de *Trichomycterus brasiliensis*, foram seqüenciados 54 exemplares provenientes das localidades-tipo, ou adjacências, de representantes de todas as espécies formalmente assinaladas ao complexo *T. brasiliensis* (com exceção de *T. postch* e *T. iheringe*) que se encontravam depositadas no Laboratório de Biologia e Genética de Peixes – Unesp, campus de Botucatu.

3.3 – Métodos Morfológicos

Os dados morfológicos e merísticos foram mensurados conforme Tchernavin (1944), Ringuet *et al.* (1967) e de Pinna (1992). As medidas foram feitas em relação ao lado esquerdo de cada espécime com paquímetro de calibre digital sob um microscópio binocular, com exceção do comprimento dos barbilhões (Figura 1). A preparação osteológica procedeu de acordo com o método de diafanização de Potthoff (1984) e Taylor e Van Dyke (1985), e a terminologia osteológica segundo Baskin (1973) e de Pinna (1989; 1998) e as definições para língua portuguesa segundo Castro e Castro (1987). A terminologia dos canais laterosensoriais foram de acordo com Northcutt (1989).

3.4 – Métodos Moleculares

O DNA genômico foi obtido a partir de amostras de diferentes tecidos, utilizando o protocolo descrito por Aljanabi e Martinez (1997) modificado no presente trabalho:

1. Colocar em um tubo de microcentrífuga (1,5 ml): 290 µl de tampão de extração (descrito abaixo), 10 µl de proteinase K (10 mg/ml) e um pedaço de tecido;
2. Colocar em banho-maria à 55°C por 2-3 horas;
3. Adicionar 100 µl de NaCl 5 M e inverter o tubo de microcentrífuga vagarosamente para homogeneizar o material;
4. Centrifugar a 10.000 rpm por 10 minutos à temperatura ambiente;
5. Remover 300 µl de sobrenadante e transferir para um novo tubo de microcentrífuga (1,5 ml);
5. Adicionar 600 µl de etanol 100 % gelado;
6. Deixar no freezer -70°C por 20 minutos;
7. Centrifugar a 12000 rpm por 40 minutos à 4°C;
8. Descartar o Etanol;
9. Secar a 45°C por 30 minutos ou até ficar completamente seco;
10. Adicionar 400 µl de água milli-Q autoclavada;
11. Deixar hidratando a temperatura ambiente por 24 horas;
12. Aquecer a 35°C por 15 minutos;
13. Centrifugar a 12000 rpm

por 20 minutos a 4°C; **14.** Aliquotar 150 µl para guardar no freezer -20° (solução estoque) e o restante manter na geladeira 4°C (solução de uso).

“Polymerase Chain Reaction” (PCR) utilizadas: Para caracterização das amostras, foram obtidas seqüências parciais do gene mitocondrial Citocromo oxidase sub unidade I (COI) (FishF1 5' - TCA ACC AAC CAC AAA GAC ATT GGC AC -3' e FishR1 5'- TAG ACT TCT GGG TGG CCA AAG AAT CA -3') (Ward *et al.*, 2005).

O “Mix” de cada amostra e as PCR utilizadas para o segmento gênico COI: 5,30 µl de água ultrapura autoclavada; 6,20 µl de GoTaq®; 0,25 µl de Primer F (Forward) e 0,25 µl de Primer R (Reverse) e 0,5 µl do DNA.

A PCR procedeu com os seguintes ciclos: 1º Ciclo - 95°C por 5 minutos; 2º Ciclo – 95°C por 30 segundos; 3º Ciclo – 50°C por 30 segundos; 4º Ciclo – 72° por 45 segundos; Repetir o 2º ciclo ao 4º ciclo 35 vezes; 5º Ciclo - 72° por 7 minutos e 6º Ciclo – 12° por tempo indeterminado. Como etapa final os segmentos de DNA amplificados nas reações de PCR foram visualizados em gel de agarose 0,10 %.

Para a limpeza e purificação das amostras amplificadas, foram utilizadas o seguinte “Mix”: 0,13 µl de enzima Exo-Sap® e 1,87 µl de água ultrapura autoclavada. Para cada reação utilizou 2 µl do “Mix” supracitado, e 5 µl de DNA, procedendo os seguintes ciclos: 1º Ciclo – 37°C por 60 Minutos e 80°C por 15 Minutos.

O DNA foi amplificado para o sequenciamento com o kit Big Dye Terminator Cycle Sequencing Standart Version 3.1 (Applied Biosystems). O material obtido foi sequenciado por um seqüenciador automático de DNA modelo ABI 3130, de quatro capilares, disponível no Laboratório de Biologia e Genética de Peixes do Departamento de Morfologia, Instituto de Biociência, UNESP, campus de Botucatu. As seqüências de DNA obtidas foram alinhadas utilizando a ferramenta Muscle - A multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity - (Edgar, 2004).

Foi utilizado o modelo de distância genética a análise de UPGMA, para melhor compreender a construção de uma árvore de similaridades fenotípicas das espécies em estudo, utilizando o modelo de substituição nucleotídica Kimura-2-parâmetros para cálculo das distâncias genéticas. As análises foram feitas no programa Mega 4 (Tamura *et al.*, 2007). Apenas as análises com relação as espécies do complexo *Trichomycterus brasiliensis* foram testados pelo método de *bootstrap* (Felsenstein, 1985).

Resultados

"Três homens podem manter um segredo, se dois deles estiverem mortos."

- Benjamin Franklin -

4 - Resultados

Os resultados obtidos foram divididos em duas partes: na primeira parte são apresentados os resultados das análises morfológicas e moleculares dos exemplares de *Trichomycterus* provenientes de Chapada dos Guimarães, e uma descrição da morfologia externa de *Trichomycterus johnsoni*; e na segunda parte são apresentadas as análises moleculares de alguns espécimes que pertencem ao complexo de espécies *Trichomycterus brasiliensis*.

4.1 - Análises morfológicas

Trichomycterus johnsoni (Fowler, 1932) (Figura 2)

Material examinado: Lote 246 - Argentina, Cuenca del Rio Paraná, Esteiro Del Iberá, canal de estrada a laguna disparo, 28° 39' 0.2" S – 57° 49' 1.4" W: Lote 246 – 10 exemplares, 14,6 - 10,2 mm; coletores: J. Bechara *et al.* – 11/XII/2003.

Descrição: Cabeça circular e deprimida, Corpo alongado, cilíndrico na região anterior e lateralmente achatado na base do pedúnculo caudal. Corpo reto ou levemente curvado na região ventral do corpo. Focinho circular e curto. Boca subterminal. Dentes cônicos, pontudos e pouco curvados. Olhos posicionados no meio da cabeça, eqüidistante entre o focinho e a placa opercular de odontóideos. Barbilhões nasal, maxilar e rictal bem desenvolvidos. Barbilhão nasal chegando entre a margem posterior da placa inter opercular de odontóideos e a margem posterior da placa opercular de odontóideos. Barbilhão maxilar indo além da margem posterior da placa interopercular de odontóideos. Barbilhão rictal chegando entre o meio da placa interopercular de odontóideos e a margem posterior da placa opercular de odontóideos. Narina anterior posicionada na margem anterior do barbilhão nasal. Narinas posicionadas na parte distal da cabeça próximas a boca e distante do olho. Placa opercular com 12 odontóideos, placa interopercular com 8 odontóideos; odontóideos cônicos, pontudos e levemente curvados. Nadadeiras dorsal e anal em formatos aproximadamente triangulares. Origem da nadadeira dorsal posterior à metade do corpo. Origem da nadadeira anal em paralelo à nadadeira dorsal. Nadadeira caudal em formato arredondado, não apresentado extensão dorsal e ventral. Nadadeira peitoral com i+5, sendo o primeiro raio apresentado um filamento sutilmente prolongado. Nadadeira pélvica com 4 raios. Nadadeira dorsal com i+7 raios; nadadeira

anal com i+6; nadadeira caudal principal com i+9+i raios. Membranas branquiais ligadas na parte central do istmo.

Coloração em álcool: Marrom claro, opaco; apresenta oito pontos pequenos escuros, pareados e eqüidistantes ao longo da linha lateral, último na base da nadadeira caudal. Manchas escuras nas bases da nadadeira dorsal e de anal e ao longo dos raios, de forma irregular e difusa. Nadadeiras hialinas, com pontos acastanhados claros. Barbilhões transparentes com pontos escuros na base.

Comentário: Não foi possível obter amostras desta espécie para análises moleculares. Sua relação com *Trichomycterus hasemani* (Eigenmann, 1914) da bacia amazônica deve ser analisada, pois são possivelmente as duas únicas do gênero que apresentam miniaturização.

Trichomycterus sp. n1 (Figura 3)

Holótipo: Retirado do lote MNRJ **29348** - tributário do rio Aricá-mirim (bacia do rio Cuiabá), próximo a serra de São Vicente, Área de Proteção Ambiental de Chapada dos Guimarães, MT; 15° 46' 4" S – 55° 30' 44" W. Coletores: N. G. Machado & W. R. C. Assunção. Data de coleta: 25/XI/2005.

Parátipos: mesmo dados que o Holótipo; 2 exemplares. MNRJ **29292** (4 exemplares); MNRJ **29293** (1 exemplar); Riacho próximo a Usina Hidroelétrica de Manso, tributário do rio Manso (bacia do rio Cuiabá), na região de Fazenda Nova, MT. 15° 7' 11" S – 55° 58' 43" W. Coletores: M. N. Mehanna & W. R. C. Assunção. Data de Coleta: 19/VI/2005. **Observação:** compreendem a mesma espécie e com mesma data e local de coleta, triados e separados equivocadamente. MNRJ **29361** - 5 exemplares, tributário do rio Aricá-mirim (bacia do rio Cuiabá), próximo a serra de São Vicente, Área de Proteção Ambiental de Chapada dos Guimarães, MT; 15° 47' 28" S – 55° 29' 46" W. Coletores: F. Modesto & A. Fiorentino. Data de coleta: 27/XI/2005. MNRJ **29375** – 3 exemplares, Riacho a 22 km da cidade de Chapada dos Guimarães, tributário direito do rio Coxipó (bacia do rio Cuiabá), MT; 15° 14' 21" S – 55° 31' 39" W. Coletores: F. R. Rosa & F. Modesto. Data de coleta: 03/XII/2005. MNRJ **29381** – 3 exemplares, Riacho a 22 km da cidade de Chapada dos Guimarães, tributário direito do rio Coxipó (bacia do rio Cuiabá), MT; 15° 14' 15" S – 55° 31' 45" W. Coletores: F. R. Rosa & F. Modesto.

Data de coleta: 03/XII/2005. NUP **2867** – 12 exemplares, 2 diafanizados; Córrego São Joaquim, afluente do rio Cuiabá, bacia do rio Paraguai, mun. de Chapada dos Guimarães, MT, 20/VI/2001, 14º 42'S – 56º 15' W; coletores: Nupélia.

Descrição: Dados morfométricos e merísticos presentes na Tabela 1. Cabeça trapezoidal e deprimida, Corpo alongado, cilíndrico na região anterior e lateralmente achatado na base do pedúnculo caudal. Corpo reto ou levemente curvado na região anterior do corpo. Papilas dérmicas diminutas distribuídas na cabeça. Focinho circular e curto. Boca subterminal. Dentes cônicos, pontudos e pouco curvados. Pré-maxilar com dentes distribuídos em 3 séries. Dentário com 2 séries dentes. Olhos posicionados no meio da cabeça (entre 40,18% a 48,51%), mais próximos do focinho do que da placa opercular de odontóideos. Barbilhões nasal, maxilar e rictal bem desenvolvidos. Barbilhão nasal chegando entre a margem posterior da placa inter opercular de odontóideos e a margem posterior da placa opercular de odontóideos. Barbilhão maxilar indo além da margem posterior da placa inter opercular de odontóideos. Barbilhão rictal chegando entre o meio da placa inter opercular de odontóideos e a margem posterior da placa opercular de odontóideos. Narina anterior posicionada na margem anterior do barbilhão nasal. Narinas posicionadas na parte distal da cabeça próximas a boca e distante do olho. Placa pré opercular com 9 odontóideos, placa inter opercular com 16-17 odontóideos; odontóideos cônicos, pontudos e levemente curvados. Nadadeiras dorsal e anal em formato aproximadamente triangular. Origem da nadadeira dorsal posterior à metade do corpo (entre 67,29% á 67,62%), em uma vertical entre a 14ª e a 20ª vértebras. Origem da nadadeira anal posterior à nadadeira dorsal (origem da nadadeira anal em uma vertical através da base do 5º raio na nadadeira dorsal); origem da nadadeira anal em uma vertical entre a 17ª e a 22ª vértebras. Nadadeira caudal em formato retangular, não apresentado extensão dorsal ou ventral. Nadadeira peitoral com i+6, sendo o primeiro raio apresentado um filamento longo. Nadadeira pélvica com 5 raios. Nadadeira dorsal com ii+7 raios; nadadeira anal com ii+4; nadadeira caudal principal com i+11+i raios; 18 raios pró-correntes dorsais e 13 raios pró-correntes ventrais. Pares de costelas pleurais 13. Vértebras totais 32-33. Membranas branquiais ligadas apenas no ponto mais anterior do istmo. Raios branquiostegais 5.

Coloração em álcool: Parte dorsal da cabeça e do corpo com coloração pálida, em tons opacos amarelados da boca à base da cauda. Cromatóforos dispersos irregularmente ao longo do corpo, com aspecto marmorizado, sob visão dorsal e ao longo do flanco. A pigmentação do flanco continua com manchas peculiares fusionadas diretamente. A parte lateral do corpo como descrita acima, apresenta uma formação contínua de concentração de cromatóforos. Os barbilhões quando expostos a luz, apresentam pontos marrons e dorsalmente uma coloração clara opaca. Região ventral de coloração contínua de tons amarelos claros sem formação de pigmentação. As nadadeiras dorsais, peitorais e anais quando dispostas a luz, apresentam pontos marrons escuros concentrados na base, e dispersos ao longo dos raios. A parte lateral do corpo como descrita acima, apresentam também pequenas máculas escuras envolvendo todo o corpo com exceção da região ventral, esta com coloração contínua de tons claros sem formação de pigmentação até o início da anal. Nadadeiras caudal, peitoral e dorsal hialinas. Indivíduos pequenos apresentam uma tênue concentração de cromatóforos na parte central do flanco.

Trichomycterus sp. n2 (Figura 4)

Holótipo: Retirado do lote MNRJ **29382** - Riacho a 22 km da cidade de Chapada dos Guimarães, tributário direito do rio Coxipó (bacia do rio Cuiabá), MT; 15° 13' 42" S – 55° 32' 42" W. Coletores: F. R. Rosa & F. Modesto. Data de coleta: 04/XII/2005.

Parátipos: mesmo lote que o Holótipo; 5 exemplares. MNRJ **29291** - 13 exemplares, riacho próximo a Usina Hidroelétrica de Manso, tributário do rio Manso (bacia do rio Cuiabá) , na região de Fazenda Nova, MT. 15° 7' 11" S – 55° 58' 43" W. Coletores: M. N. Mehanna & W. R. C. Assunção. Data de coleta: 19/VI/2005; MNRJ **29368** - 2 exemplares, riacho próximo a Chapada dos Guimarães, tributário direito do rio Coxipó (bacia do rio Cuiabá), MT. 15° 25' 42" S – 55° 50' 4" W. Coletores: F. Modesto & A. Fiorentino. Data de coleta: 01/XII/2005; MNRJ **29387** - 6 exemplares, Riacho a aproximadamente a 22 km da cidade de Chapada dos Guimarães, tributário direito do rio Coxipó (bacia do rio Cuiabá), MT. 15° 13' 11" S – 55° 33' 45" W. Coletores: F. R. Rosa & F. Modesto. Data de coleta: 04/XII/2005; MNRJ **29299** - 2 exemplares, Riacho próximo a rodovia Cuiabá-Chapada dos Guimarães, tributário

esquerdo do rio Coxipó (bacia do rio Cuiabá), MT; 15° 17' 52" S – 55° 58' 17" W. Coletores: M. N. Mehanna & W. R. C. Assunção. Data de coleta: 20/VI/2005; NUP **2868** – 16 exemplares, 2 diafanizados, Córrego São Joaquim, afluyente do rio Cuiabá, bacia do rio Paraguai, município de Chapada dos Guimarães, MT, III/2001, 14° 42' S – 56° 15' W; Coletores: Nupélia.

Observação: os lotes MNRJ **29384** (1 exemplares), MNRJ **29385** (2 exemplares), compreendem a mesma espécie e com mesma data e local de coleta do lote de designação do holótipo, triados e separados equivocadamente.

Descrição: Dados morfométricos estão presentes na Tabela 2. Cabeça trapezoidal e deprimida, Corpo alongado, cilíndrico na região anterior e lateralmente achatado na base do pedúnculo caudal. Corpo reto ou levemente curvado na região anterior do corpo. Papilas dérmicas diminutas distribuídas na cabeça. Focinho circular e curto. Boca subterminal. Dentes cônicos, pontudos e pouco curvados. Pré-maxilar com dentes distribuídos em 3 séries. Dentário com 2 séries dentes. Olhos posicionados no meio da cabeça (entre 42,54% a 49,95%), mais próximos do focinho do que da placa opercular de odontóideos. Barbilhões nasal, maxilar e rictal bem desenvolvidos. Barbilhão nasal chegando entre a margem posterior da placa interopercular de odontóideos e a margem posterior da placa opercular de odontóideos. Barbilhão maxilar indo além da margem posterior da placa interopercular de odontóideos. Barbilhão rictal chegando entre o meio da placa interopercular de odontóideos e a margem posterior da placa opercular de odontóideos. Narina anterior posicionada na margem anterior do barbilhão nasal. Narinas posicionadas na parte distal da cabeça próximas a boca e distante do olho. Placa pré opercular com 22-20 odontóideos, placa inter opercular com 31-27 odontóideos; odontóideos cônicos, pontudos e levemente curvados. Nadadeiras dorsal e anal em formato aproximadamente triangular. Origem da nadadeira dorsal posterior à metade do corpo (66,13% á 68,08%), em uma vertical entre a 16ª e a 21ª vértebras. Origem da nadadeira anal posterior à nadadeira dorsal (origem da nadadeira anal em uma vertical através da base do 4º raio na nadadeira dorsal); origem da nadadeira anal em uma vertical entre a 20ª e a 23ª vértebras. Nadadeira caudal em formato arredondado, não apresentado extensão dorsal ou ventral. Nadadeira peitoral com i+5, o primeiro raio não prolongado em um filamento longo. Nadadeira pélvica com 5 raios. Nadadeira dorsal com ii+7 raios; nadadeira anal com ii+5; nadadeira caudal principal com i+11+i raios; 19 raios pró-correntes dorsais e 12 raios pró-correntes ventrais. Pares de costelas pleurais 11. Vértebras totais

25-27. Membranas branquiais ligadas apenas no ponto mais anterior do istmo. Raios branquiostegais 5.

Coloração em álcool: Parte dorsal da cabeça e do corpo com máculas maiores e menores distribuídas heterogeneamente, difusas e separadas entre si. As máculas de tons marrons escuro, sem sobreposição entre as maiores e as menores, as manchas apresentam pigmentos em duas escalas: a 1ª pelas maculas maiores e a 2ª pelas menores, dando o aspecto de malha. Ao longo do flanco apresenta uma concentração central de máculas maiores dispostas linearmente, com 9 a 12 máculas. A parte lateral do corpo como descrita acima, apresentam também pequenas máculas envolvendo todo o corpo com exceção da região ventral, esta com coloração continua de tons claros amarelados, sem formação de pigmentação até o início da anal, onde apresenta novamente máculas dispersas. Barbilhões quando expostos a luz, apresentam pontos marrons dorsal não se prolongando a suas extremidades distais, concentrados somente na base. Nadadeira dorsal, peitoral e caudal hialinas, apresentando pigmentação distribuída em pequenas máculas em seus raios.

Comentário: Vive de forma simpátrica com *Trichomycterus* sp n1, sendo diversas vezes capturadas juntas.

Trichomycterus sp. n3 (Figura 5)

Holótipo: Retirado do lote MNRJ **29342** - tributário do rio Aricá-mirim (bacia do rio Cuiabá), próximo a serra de São Vicente, Área de Proteção Ambiental de Chapada dos Guimarães, MT; 15º 46' 4" S – 55º 30' 44" W. Coletores N. G. Machado & W. R. C. Assunção. Data de coleta: 25/XI/2005.

Parátipos: MNRJ **29360** - tributário do rio Aricá-mirim (bacia do rio Cuiabá), próximo a serra de São Vicente, Área de Proteção Ambiental de Chapada dos Guimarães, MT; 15º 47' 28" S – 55º 29' 46" W. Coletores N. G. Modesto & A. Fiorentino. Data de coleta: 25/XI/2005. LBP5056, 3 exemplares, D; LBP5057, 6 exemplares; LBP5058, 7 exemplares; LBP5059, 2 exemplares; LBP5060, 3 exemplares; LBP5061, 10 exemplares; LBP5062, 8 exemplares; LBP5063, 1 exemplares; LBP5064, 1 exemplares;

LBP5065, 1 exemplares - tributário do rio Aricá-mirim (bacia do rio Cuiabá), próximo a serra de São Vicente, Área de Proteção Ambiental de Chapada dos Guimarães, MT; 15° 46' 4" S – 55° 30' 44" W. Coletores M. Mehanna & A. Ferreira. Data de coleta: 07/IX/2007. LBP5066, 3 exemplares; LBP5067, 2 exemplares; LBP5068, 4 exemplares; LBP5069, 19 exemplares; LBP5070, 4 exemplares; LBP5071, 1 exemplares; Mesma localidade que descrito anteriormente. Coletores M. Mehanna & A. Ferreira. Data de coleta: 08/IX/2007. LBP5650, 2 exemplares; LBP5651, 5 exemplares; LBP5652, 2 exemplares; LBP5653, 2 exemplares; LBP5654, 2 exemplares; LBP5655, 2 exemplares; LBP5656, 2 exemplares; LBP5657, 2 exemplares; LBP5658, 3 exemplares; LBP5659, 3 exemplares; Mesma localidade que descrito anteriormente. Coletores M. Mehanna & A. Ferreira. Data de coleta: 11/XI/2007. LBP5660, 2 exemplares; Mesma localidade que descrito anteriormente. Coletores M. Mehanna & A. Ferreira. Data de coleta: 07/IX/2007. LBP7640, 9 exemplares; Mesma localidade que descrito anteriormente. Coletores M. Mehanna & A. Ferreira. Data de coleta: 18/V/2008.

Observação: os lotes MNRJ **29343** (7 exemplares), MNRJ **29344** (6 exemplares), MNRJ **29345** (3 exemplares), MNRJ **29346** (11 exemplares), MNRJ **29347** (4 exemplares) e MNRJ **29349** (2 exemplares) compreendem a mesma espécie e como mesma data e local de coleta do lote de designação do holótipo, triados e separados equivocadamente.

Descrição: Dados morfométricos estão presentes na Tabela 3. Cabeça trapezoidal e deprimida, Corpo alongado, cilíndrico na região anterior e lateralmente achatado na base do pedúnculo caudal. Corpo reto ou levemente curvado na região anterior do corpo. Papilas dérmicas diminutas distribuídas na cabeça. Focinho circular e curto. Boca subterminal. Dentes cônicos, pontudos e pouco curvados. Pré-maxilar com dentes distribuídos em 3 séries. E dentário com 2 séries dentes. Olhos posicionados no meio da cabeça (47,61% a 51,22%), mais próximos da opercular de odontóideos do que do focinho. Barbilhões nasal, maxilar e rictal bem desenvolvidos. Barbilhão nasal chegando entre a margem posterior da placa inter opercular de odontóideos e a margem posterior da placa opercular de odontóideos. Barbilhão maxilar indo além da margem posterior da placa inter opercular de odontóideos. Barbilhão rictal chegando entre o meio da placa inter opercular de odontóideos e a margem posterior da placa opercular de odontóideos. Narina anterior posicionada na margem anterior do barbilhão nasal. Narinas posicionadas na parte distal da cabeça próximas a boca e distante do olho. Placa pré-opercular com 17-18 odontóideos, placa inter opercular com 21-25 odontóideos;

odontóideos cônicos, pontudos e levemente curvados. Nadadeiras dorsal e anal em formato aproximadamente triangular. Origem da nadadeira dorsal posterior à metade do corpo (44,18% á 50,72%), em uma vertical entre a 17ª e a 22ª vértebras. Origem da nadadeira anal posterior à nadadeira dorsal (origem da nadadeira anal em uma vertical através da base do 5º raio na nadadeira dorsal); origem da nadadeira anal em uma vertical entre a 21ª e a 26ª vértebras. Nadadeira caudal em formato arredondado, não apresentado extensão dorsal ou ventral. Nadadeira peitoral com i+5, o primeiro raio prolongado em um filamento não muito longo, mais visivelmente mais robusto em relação aos demais. Nadadeira pélvica com 5 raios. Nadadeira dorsal com ii+7 raios; nadadeira anal com ii+5; nadadeira caudal principal com i+11+i raios; 15-16 raios pró-correntes dorsais e 12-13 raios pró-correntes ventrais. Pares de costelas pleurais 13. Vértebras totais 25-27. Membranas branquiais ligadas apenas no ponto mais anterior do istmo. Raios branquiostegais 5.

Coloração em álcool: Parte dorsal da cabeça e do corpo com máculas difusas e sobrepostas entre si, apresentando um aspecto rajado. Sob visão dorsal concentração de máculas do focinho a base da caudal. A pigmentação do flanco com máculas dispostas irregularmente, com tamanho diminuto no início da ventral. A parte lateral do corpo como descrita acima, apresentam também pequenas máculas envolvendo todo o corpo com exceção da região ventral, esta com coloração continua de tons claros sem formação de pigmentação até o início da anal. Barbilhões quando expostos a luz, apresentam pontos marrons dorsal prolongando em toda sua extremidade. As nadadeiras dorsais, peitorais e anais quando dispostas a luz, apresentam pontos marrons escuros concentrados apenas em sua base. A parte lateral do corpo como descrita acima, apresentam também pequenas máculas envolvendo todo o corpo com exceção da região ventral, esta com coloração continua de tons claros sem formação de pigmentação até o início da anal. Nadadeiras caudal, peitoral e dorsal hialinas.

Trichomycterus sp. n4 (Figura 6)

Holótipo: Retirado do lote MNRJ **29274** - riacho na sede da horticultura do vale da benção, proximo ao apoio indígena, tributario do rio Coxipó (Bacia do rio Cuiabá), MT; 15° 36' 50" S – 55° 24' 25" W. Coletores N. G. Machado & W. R. C. Assunção. Data de coleta: 25/XI/2005.

Parátipos: mesmo lote que o Holótipo; 1 exemplar.

Observação: os lotes MNRJ **29275** (1 exemplar) e MNRJ **29276** (1 exemplar) compreendem a mesma espécie e com mesma data e local de coleta do lote de designação do holótipo, triados e separados equivocadamente.

Descrição: Dados morfométricos estão presentes na Tabela 4. Cabeça trapezoidal e deprimida, Corpo alongado, cilíndrico na região anterior e lateralmente achatado na base do pedúnculo caudal. Corpo reto ou levemente curvado na região anterior do corpo. Papilas dérmicas diminutas. Focinho truncado e curto. Boca subterminal. Olhos posicionados no meio da cabeça(entre 35,17% a 48,71%), mais próximos do focinho do que da placa opercular de odontóideos. Barbilhões nasal, maxilar e rictal bem desenvolvidos. Barbilhão nasal chegando entre a margem posterior da placa inter opercular de odontóideos e a margem posterior da placa opercular de odontóideos. Barbilhão maxilar indo além da margem posterior da placa inter opercular de odontóideos. Barbilhão rictal chegando entre o meio da placa inter opercular de odontóideos e a margem posterior da placa opercular de odontóideos. Narina anterior posicionada na margem anterior do barbilhão nasal. Narina posterior localizada na metade da distância entre a narina anterior e o olho. Placa pré-opercular com 14 odontóideos Placa inter opercular com 22-25 odontóideos; odontóideos cônicos, pontudos e levemente curvados. Nadadeiras dorsal e anal em formato aproximadamente triangular. Origem da nadadeira dorsal posicionada à metade do corpo (44,59% á 49,27%). Nadadeira caudal em formato arredondado, não apresentado extensão dorsal ou ventral. Nadadeira peitoral com i+5 não apresentando prolongamento do primeiro raio. Nadadeira pélvica com 5 raios. Nadadeira dorsal com ii+7 raios; nadadeira anal com i+6; nadadeira caudal principal com i+11+i raios.

Coloração em álcool: Parte dorsal da cabeça e do corpo com máculas difusas e grandes. Sob visão dorsal apresenta máculas continuas e lineares, separadas da base da cabeça a base do pedúnculo

caudal. O flanco apresenta concentração de cromatóforos, dando o aspecto de faixas, sendo que a primeira na parte superior do flanco, interrompida em diversos pontos, a segunda na parte central do flanco, com pequenas interrupções, porém com aspecto geral de forma contínua e na base do flanco com pequenas maculas dispersas linearmente. Região ventral com coloração contínua de tons claros sem formação de pigmentação até o início da anal. Barbilhões quando dispostos a luz, apresentam pontos marrons dorsal prolongando em toda sua extremidade. As nadadeiras dorsais, peitorais e anais quando dispostas a luz, apresentam tons marrons escuros em toda sua estrutura. Nadadeiras caudal, peitoral e dorsal hialinas. Caudal com cromatóforos mais concentrados na base e disperso nos raios, Peitoral com cromatóforos na base e na parte central dos raios; Nadadeira dorsal e anal com cromatóforos na base e nos raios.

Comentário: Não foi possível obter amostras desta espécie para análise molecular, mas os morfológicos condizem como uma espécie distinta das demais.

Distribuição das espécies: Todas as espécies aqui descritas apresentam distribuição nos riachos da Chapada do Guimarães (Figura 7).

Notas sobre o habitat: As localidades-tipo e as demais localidades das espécies compreendem riachos de água clara com forte correnteza, e com profundidade variando de 5 a 40 cm. Os peixes foram coletados junto a pequenas pedras e vegetação aquática.

Diagnose entre as espécies dos Riachos de Chapada dos Guimarães: As espécies presentes nos riachos de Chapada dos Guimarães, *Trichomycterus* sp. n1, *Trichomycterus* sp. n2, *Trichomycterus* sp. n3, *Trichomycterus* sp. n4 divergem entre elas pelo seguintes conjuntos de caracteres, respectivamente: Número de odontóideos na placa pré-opercular (9 *versus* 20-22 *versus* 17-18 *versus* 14); número de odontóideos na placa inter-opercular (16-17 *versus* 27-31 *versus* 21-25 *versus* 22-25); *Trichomycterus* sp. n1 diverge de seus congêneres pelo número de raios na nadadeira peitoral (i+6 *versus* i+5). O número de raios da nadadeira anal permite diferenciar *Trichomycterus* sp. n1 (ii+4) de *Trichomycterus* sp. n2 (ii+5) e *Trichomycterus* sp. n3 (ii+5) e *Trichomycterus* sp. n4 (ii+6), sendo essa caráter compartilhado entre *Trichomycterus* sp. n2 e *Trichomycterus* sp. n3. As espécies

supracitadas compartilham o número de raios da nadadeira dorsal (ii+7), o número de raios da nadadeira caudal (i+11+i), e o número de raios na nadadeira pélvica. Com relação aos canais laterosensoriais, *Trichomycterus* sp. n1 e *Trichomycterus* sp. n3 apresentou a ausência do canal infra-orbital i1 e i3, e presentes nas demais espécies (Figura 8); Nas análises osteológicas, a única variação encontrada entre as espécies citadas (com exceção de *Trichomycterus* sp. n4) foi a formação da nadadeira pélvica, onde a variação das estruturas dos ossos pélvicos e a formação do processo mesial divergiu entre elas (Figura 9).

Comentário geral: a diferenciação entre as espécies aqui descritas e seus respectivos congêneres *Trichomycterus brasiliensis* e *T. johnsoni* se mostrou desnecessária tendo em vista os seguintes argumentos. A localidade tipo de *T. brasiliensis* é a foz do Rio das Velhas (bacia do rio São Francisco) e ainda que essa espécie pudesse estar distribuída na bacia dos rios Paraná/Paraguai sua presença na parte alta da Chapada do Guimarães seria pouco provável. *T. johnsoni* é uma espécie muito peculiar morfológicamente, devido a sua possível origem por miniaturização, como discutido acima. Assim, apesar de amostras desta espécie terem sido incluídas neste trabalho não há parâmetros para comparação entre ela e as demais descritas aqui. Deve-se, de qualquer maneira, ressaltar a necessidade de um estudo mais aprofundado para analisar sua relação com outras espécies de *Trichomycterus*, principalmente *T. hasemani*.

4.2 - Análises moleculares das espécies de Chapada dos Guimarães

Foram realizados os procedimentos necessários para amplificação e sequenciamento de parte do gene mitocondrial Citocromo Oxidase sub-unidade I (COI) de 35 amostras. No alinhamento das seqüências, foi gerada uma matriz com 634 pb. A Figura 10 mostra o dendograma obtido pelo método UPGMA com o modelo de substituição nucleotídica Kimura-2-parâmetros para cálculo das distâncias genéticas. A divergência entre as espécies estudadas variaram de 8,0 a 10,2% enquanto a divergência intra-específica variou de 0,15% à 3,38% para *Trichomycterus* sp. n1; 0,79% à 3,22% para *Trichomycterus* sp. n2 e 1,27% à 5,90% para *Trichomycterus* sp. n3, e divergiram entre 12,16% a 21,18% de *Trichomycterus brasiliensis* (Tabela 5).

4.3 - Análise molecular do complexo de espécie de *Trichomycterus brasiliensis*

Foi seqüenciado um segmento do gene mitocondrial Citocromo Oxidase sub-unidade I (COI) de 54 amostras, incluindo as espécies identificadas como: *T. mimonha* (Drenagem da bacia do Grande), *T. cf. brasiliensis* (Drenagem da bacia do Grande), *T. vermiculatus* (Drenagem da bacia do Grande), *T. brasiliensis* (Drenagem do Rio das Velhas), *T. paolence* (Drenagem da bacia do Rio Tietê e do Rio Ribeira de Iguape), *T. maracaya* (Drenagem da bacia do Grande), *T. pauciradiatus* (Drenagem do Rio Grande), *T. cf. brasiliensis* (Drenagem da bacia do Rio Paranapanema), *T. triguttatus* (Drenagem da bacia do Rio Tietê) e *Ituglanis eichorniarum* (Drenagem da bacia do Paraguai) este como grupo externo. No alinhamento das seqüências, foi gerada uma matriz com 634 pb. A Figura 11 mostra o dendograma obtido pelo método UPGMA com o modelo de substituição nucleotídica Kimura-2-parâmetros para cálculo das distâncias genéticas, testado pelo método de *bootstrap* com 1000 pseudo-réplicas. No dendrograma foram observado dois clados: o primeiro composto por pelas espécies da drenagem da bacia do Grande + bacia do São Francisco + bacia do Ribeira do Iguape; e o segundo pelas espécies da bacia do Paranapanema e bacia do Tietê.

Discussão

"Agradar a todos é não agradar a pessoa alguma."

- Lsepe -

5 - Discussão

Quantas espécies vivas são conhecidas? Está sem dúvida é a pergunta mais importante quanto nos referimos à biodiversidade, principalmente em relação à região Neotropical. Com o advento da Biologia Molecular tornou-se possível o uso de marcadores moleculares, como seqüências de DNA, para o estudo de espécimes que representam taxa ainda não descritos. Dubois (2003) inferiu que este século representará o “século da extinção”, não pelo que *a priori* se faz pelo descaso do estudo da biodiversidade, mais sim pela falta de flexibilidade de pesquisadores em agregar conhecimento com a junção de diferentes áreas.

Conforme citado, as espécies de *Trichomycterus* para a bacia do Paraguai se restringiam a duas espécies nominais válidas, de acordo com Britski *et al.* (2007). Mehanna e Penha (2010, submetido) ao avaliar a composição da ictiofauna dos riachos de Chapada dos Guimarães, constatarem a presença de novas espécies de *Trichomycterus* nessa região. As análises morfológicas e moleculares realizadas no presente estudo corroboraram essas observações prévias, mostrando a presença de três novas espécies (*Trichomycterus* sp n1, *Trichomycterus* sp n2 e *Trichomycterus* sp n3) (Figuras 3, 4 e 5 respectivamente) e uma quarta espécie identificada apenas pelas análises morfológicas (*Trichomycterus* sp n4) (Figura 6).

Ainda que Britski *et al.* (2007) citam a ocorrência de *Trichomycterus brasiliensis* para a bacia do Paraguai, deve-se levar em conta que a localidade tipo desta espécie é a foz do Rio das Velhas (bacia do Rio São Francisco), uma drenagem distante da referida área de estudo. A sugestão de ocorrência de tal espécie pode ser compreendida pela complexidade do gênero *Trichomycterus* (Lütken, 1875; Tchernavin, 1944; Baskin, 1973). A taxonomia é a ciência da classificação dos organismos, os taxa podem ser definidos de acordo com um paradigma taxonômico, isto é, uma teoria de classificação biológica (sensu Dubois, 2003). A nomenclatura é a técnica de nomear os taxa. Um nome é apenas um “rótulo”, não uma descrição, um diagnóstico, uma definição, um modelo ou uma teoria. Tendo em vista estes conceitos é compreensiva a citação de *Trichomycterus brasiliensis* feita por Britski *et al.* (2007) considerando uma possível ampla distribuição desta espécie.

Trichomycterus brasiliensis tem sido o alvo de diversos estudos na última década, principalmente por representar, segundo diversos autores, um “complexo de espécies” (Costa, 1992; Bockmann e Sazima, 2004). Os resultados obtidos pelas análises moleculares, utilizando quatro espécies que pertenceriam a esse “complexo de espécies” (*T. vermiculatus*, *T. maracaya*, *T.*

mimonha e *T. brasiliensis*) (sensu Bockmann e Sazima, 2004) e outras espécies de drenagens adjacentes mostraram que as variações intra-específicas, apesar de ocorrerem, não ultrapassam os limites das espécies (Figura 11). Os dois clados formados nas análises moleculares, foram: o clado 1, distribuído nas drenagens da bacia do Rio Grande, bacia do Rio São Francisco e Bacia do Rio Ribeira do Iguape; e o clado 2, distribuído nas drenagens da bacia do Rio Paranapanema e da bacia do Rio Tietê.

Eigenmann (1918) foi o único ao tentar inferir um mapa de distribuição da família Trichomycteridae (=Pygidiidae), porém as dificuldades de se obter amostras completas eram grandes para época. Como hipótese o autor propôs que as bacias hidrográficas supracitadas possuem origens híbridas, tendo sido fragmentadas e recebido frações de outras bacias adjacentes, desencadeando fenômenos de vicariância e dispersão.

Com relação ao contexto filosófico de complexo de espécie, um nome não é um táxon, um táxon pode ser definido sem ser nomeado, pode simplesmente ser descrito, diagnosticado ou definido, ou pode ser designado por um código ou por um número. Um complexo pode ser criado sem designar um táxon (*nomen nudum*) (Dubois, 2008). Diversas designações podem referir-se ao mesmo táxon (sinonímia). Mas a inferência de um complexo, pode designar taxa diferentes, pela simples necessidade de se aplicar uma identidade ou a similaridade entre grupos particularmente relacionados, mais biologicamente diferentes (Nelson, 1999). Com base nestas premissas é possível aceitar o *status* de complexo de espécie para *Trichomycterus brasiliensis*, e a citação desta espécie por Britski *et al.* (2007). Porém um estudo mais amplo deve ser feito, com a junção de diferentes metodologias, isso incluindo análises biogeográficas, e assim tentar responder a diversidade e a complexidade que envolve a família Trichomycteridae.

Pinna (1998) conclui que uma definição dos relacionamentos filogenéticos dentro de *Trichomycterus* apresenta-se como um desafio formidável. Com base neste contexto Costa & Bockmann (1993) deram o primeiro passo para a compreensão destas relações filogenéticas. Entretanto, as evidências de relacionamentos entre os gêneros da subfamília Trichomycterinae ainda estão restritas, pois se baseiam num conjunto limitado de caracteres. Do mesmo modo, não se pode inferir neste tempo, de forma conclusiva, sobre a inclusão de espécies novas, sem entendermos o contexto do complexo de espécies relacionadas à *Trichomycterus brasiliensis*, proposto original por Costa (1992) e discutido mais tarde por Barbosa e Costa (2003) e Bockmann e Sazima (2004).

Assim, amplos estudos se fazem necessários para um melhor conhecimento da diversidade de espécies da América do Sul, particularmente dentro dos chamados “complexos de espécies”.

Conclusão

"É pela lógica que provamos, mas é pela intuição que descobrimos."

- Henri Poincaré -

6 – Conclusão

- As análises morfológicas e moleculares corroboraram a hipótese de existência de três novas espécies de *Trichomycterus* em Chapadas do Guimarães, identificadas aqui como *Trichomycterus sp. n1*, *Trichomycterus sp. n2* e *Trichomycterus sp. n3*.

- Análises morfológicas mostram ainda a existência de uma quarta espécie nova de *Trichomycterus* na Chapadas do Guimarães, identificada aqui como *Trichomycterus sp. n4*.

- A inferência com relação ao *status* de complexo de espécies de *Trichomycterus brasiliensis* se mantém dúbia, necessitando de um amplo estudo com relação à diversidade, distribuição e biogeografia do grupo em questão.

Referencias bibliográfica

"Os homens devem ser adulados ou destruídos, pois podem vingar-se das ofensas leves, não das graves;

de modo que a ofensa que se faz ao homem deve ser de tal ordem que não se tema a vingança. "

- Nicolau Maquiavel -

7 – Referencias bibliográfica

- Aljanabi, S.M.; Martinez, I., 1997. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. **Nucleic Acids Research**, 25 (22): 4692-4693.
- Alves-Gomes, J.; Ortí, G.; Haygood, M.; Heiligenberg, W.; Meyer, A., 1995. Phylogenetic analysis of the South American electric fishes (Order Gymnotiformes) and the evolution of their electrogenic system: a synthesis based on morphology, electrophysiology, and mitochondrial sequence data. **Molecular Biology and Evolution**, 12: 298-318.
- Arratia, G. 1987. Description of the primitive family Diplomystidae (Siluriformes, Teleostei, Pisces): morphology, taxonomy and phylogenetic implications. **Bonner Zoologische Monographien**, 24: 1-120.
- Arratia, G. 1990a. Development and diversity of the suspensorium of trichomycterids and comparison with loricarioids (Teleostei : Siluriformes). **Journal of Morphology**, 205: 193-218.
- Arratia, G. 1990b. The South American Trichomycterinae (Teleostei: Siluriformes), a problematic group, p. 395–403. **In: Vertebrates in the tropics**. G. Peters and R. Hutterer (eds.), Museum Alexander Koenig, Bonn, Germany.
- Arratia, G. 1992. Development and variation of the suspensorium of primitive Catfishes (Teleostei: Ostariophysi) and their phylogenetic relationships. **Bonner Zoologische Monographien**, 32: 1-149.
- Arratia, G. 1998. *Silvinichthys*, a new genus of trichomycterid catfishes from the Argentinian Andes, with redescription of *Trichomycterus nigricans*. **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, 9:347–370.
- Avise, J.C., 2004. **Molecular markers, natural history, and evolution** - 2a edição. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA.
- Ballard, J. W. O., 1996. Combining data in phylogenetic analysis. **Trends Ecology & Evolution** 11:334.
- Barbosa, M.A.; Costa, W.J.E.M., 2003. *Trichomycterus potschi* (Siluriformes: Loricarioidei): a new trichomycterid catfish from coastal streams of southeastern Brazil. **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, 14(3): 281-287.

- Barry, D.; Hartigan, J. A., 1987. Statistical analysis of hominoid molecular evolution. **Statistical Science** 2: 191-210.
- Baskin, J. N. 1973. **Structure and relationships of the Trichomycteridae**. Tese de Doutorado (não publicada), City University of New York, New York, 389 pp.
- Beaumont, M. A.; Rannala, B., 2004. The Bayesian revolution in genetics. **Nature Reviews Genetics** 5: 251-261.
- Berg, L. S. 1940. Classification of fishes both recent and fossil. **Travaux de l'Institut Zoologique de l'Academie des Sciences de l'URSS** 5: 1-517.
- Bergsten, J., 2005. A review of long-branch attraction. **Cladistics**. 21: 163-193.
- Bleeker, P., 1862. **Atlas ichthyologique des Indes Orientales Néerlandaises. Siluroides, Characoides et Hétérobranchoides**. Vol. 2. Frédéric Muller, Amsterdam, 112 pp., pl. 49-101.
- Bleeker, P., 1863. Systema Silurorum Revisum. **Nederlandsch Tijdschrift voor de Dierkunde**. Amsterdam, 77-122.
- Bockmann, F. A. 1998. **Análise filogenética da família Heptapteridae (Teleostei, Ostariophysi, Siluriformes) e redefinição de seus gêneros**. Vol. 1 (texto). Tese de Doutorado (não publicada), Universidade de São Paulo, São Paulo, xxxviii + 424 pp.
- Bockmann, F.A.; Sazima, I., 2004. *Trichomycterus maracaya*, a new catfish from the upper rio Paraná, southeastern Brazil (Siluriformes: Trichomyctidae), with notes on the *T. brasiliensis* species-complex. **Neotropical Ichthyology**. 2(2): 61-74.
- Boulenger, GA. 1904., Teleostei (Systematic Part). In: Harmer SF, Shipley AE (eds.). **The Cambridge Natural History** (vol. 7). Macmillan & Co., London, UK, pp. 541-727.
- Böhlke, J. E.; Weitzman, S. H.; Menezes, N. A., 1978: Estado atual da sistematica dos peixes de agua doce da América do Sul. **Acta Amazonica**, 8(4): 657-677.
- Bornbusch, A. H., 1991. Monophyly of the catfish family Siluridae (Teleostei: Siluriformes), with a critique of previous hypothesis of the family's relationships. **Zoological Journal of the Linnaean Society** 101: 105-120.

- Bridge, T. W.; Haddon. A. C., 1893. Contributions to the anatomy of fishes. II. The air-bladder and weberian ossicles in the siluroid fishes. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, série B 84: 65-333.
- Britto, M.R., 2002. **Análise filogenética da ordem Siluriformes com ênfase nas relações da superfamília Loricarioidea (Teleostei: Ostariophysi)**. Tese de Doutorado. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. 289p.
- Britski, H.A.; Sato, Y.; Rosa, A.B.S., 1988. **Manual de identificação de peixes da região de Três Marias (com chaves de identificação para os peixes da bacia do São Francisco)**. 2nd Ed. Brasília, Câmara dos Deputados, Coordenação de Publicações, Companhia de Desenvolvimento do Vale do São Francisco. 115p.
- Britski, H.A.; Silimon, K.Z.S.; Lopes, B.S., 2007. **Peixes do Pantanal: manual de identificação 2a. edição revista e ampliada**. Brasília: Embrapa. v. 1. 230 p.
- Buckup, P.A., 1999. Sistemática e biogeografia de peixes de riachos. pp 91-138. In Caramaschi, E.P. ; Mazzoni, R.e P.R. Peres – Neto (eds). **Ecologia de peixes de riachos**. Série Oecologia Brasiliensis, vol. VI. PPGE-UFRJ. Rio de Janeiro, Brasil, 1999.
- Buckup, P.A.; Menezes, N. A.; Ghazzi, M. S., 2007. **Catálogo das Espécies de peixes de água doce do Brasil**. Rio de Janeiro, Museu Nacional, 2007.
- Bull, J. J.; Huelsenbeck, J. P.; Cunningham, C. W.; Swofford, D. L.,; Waddell, P. J., 1993. Partitioning and combining data in phylogenetic analysis. **Systematic Biology** 42:384-397.
- Camin, J. H.; Sokal, R. R., 1965. A method for deducing branching sequences in phylogeny. **Evolution** 19: 311-326.
- Cardoso, Y. P.; Montoya-Burgos, J. I., 2009. Unexpected diversity in the catfish *Pseudancistrus brevispinis* reveals dispersal routes in a Neotropical center of endemism: the Guyanas Region. **Molecular Ecology**. 18, 947–964.
- Carvalho, M.R.; Bockmann, F.A.; Amorim, D.S.; Vivo. M.; Toledo-Pizza, M.; Menezes, N.A.; Figueiredo, J.L.; Castro, R.M.; Gill, A.C.; McEachran, J.D.; Compagno, L.J.V.; Schelly, R.C.; Britz, R.; Lundberg, J.G.; Vari, R.P.; Nelson, G., 2005. Revisiting the taxonomic impediment. **Science** 307(5708): 353.
- Casatti, L.; Castro, R. M. C., 1998. A fish community from the headwaters of the São Francisco river, southeastern Brazil. **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, 9 (3): 229-242.

- Castro, R. M. C. & Castro, M. M. C., 1987. Proposta de uma nomenclatura osteológica para Characiformes (Pisces: Ostariophysi). **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**, série Zoologia 3: 25-32.
- Castro, R.M.C., 1999. Evolução da ictiofauna de riachos sul-americanos: padrões gerais e possíveis processos causais, pp. 139-155. In Caramaschi, E.P. ; Mazzoni, R.e P.R. Peres – Neto (eds). **Ecologia de peixes de riachos. Série Oecologia Brasiliensis**, vol. VI. PPGE-UFRJ. Rio de Janeiro, Brasil.
- Chardon, M., 1968. Anatomie comparée de l'appareil de Weber et des structures connexes chez les Siluriformes. **Annales du Musee Royal de l'Afrique Centrale**, série IN-8 169: 1-283.
- Chen, X.; Lundberg, J. G.. 1994. *Xiurenbagrus*, a new genus of amblycipitid catfishes (Teleostei: Siluriformes), and phylogenetic relationships among the genera of Amblycipitidae. **Copeia** 1994: 780-800.
- Chiachio M.C.; Oliveira, C.; Montoya-Burgos, J.I., 2008. Molecular systematics and historical biogeography of the armored Neotropical catfishes Hypoptopomatinae and Neoplecostominae (Siluriformes: Loricariidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 49, 606–617.
- Costa, W. J. E. M.; Bockmann, F. A., 1993. Un nouveau genre néotropical de la famille des Trichomycteridae (Siluriformes: Loricariodei). **Revue Française d'Aquariologie et Herpetologie** 20:43–46.
- Costa, W.J.E.M., 1992. Description the huit nouvelles espèces du genre *Trichomycterus* (Siluriformes: Trichomycteridae), du Brésil oriental. **Revue Française d'Aquariologie et Herpetologie**, 20(2): 43-46.
- Cuvier, G., 1817. **Le Règne Animal, distribué d'après son Organisation. Les reptiles, les poissons, les mollusques et les annélides**. Deterville, Paris, tome 2, 392 pp.
- de Queiroz, A., 1993. For consensus (sometimes). **Systematic Biology** 42: 368-372.
- Diogo, R., 2004. **Morphological evolution, aptations, homoplasies, constraints and evolutionary trends: catfishes as a case study on general phylogeny and macroevolution**. Published by Science Publishers, Inc., NH, USA. 503 pp.
- Dubois, A., 2003. The relationships between taxonomy and conservation biology in the century of extinctions. **Comptes rendus Biologies**, 326 (suppl. 1), S9–S21.

- Dubois, A., 2008. Phylogenetic hypotheses, taxa and nomina in zoology. **Zootaxa**, 1950: 51–86
- Eck, R. V.; Dayhoff, M. O., 1966. **Atlas of protein sequence and structure**. National Biomedical Research Foundation, Silver Spring, MD.
- Edwards, A. W. F; Cavalli-Sforza, L. L., 1963. The reconstruction of evolution. **Annals of Human Genetics** 27: 105-106.
- Eigenmann, C. H.; Eigenmann, R. S., 1890. A revision of the south american Nematognathi or catfishes. **Occasional Papers of the California Academy of Sciences** 1: 1-508.
- Eigenmann, C. H., 1918. The Pygidiidae, a family of South American catfishes. **Memories of Carnegie Museum** 3: 259-398.
- Felsenstein, J., 1978. Cases in which parsimony or compatibility methods will be positively misleading. **Systematic Zoology** 27: 401-410.
- Felsenstein, J., 1981. Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. **Journal of Molecular Evolution**. 17: 368-376.
- Felsenstein, J., 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. **Evolution** 39: 783-791.
- Felsenstein, J., 2003. **Inferring Phylogenies**. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA.
- Ferraris, C.J., 2007. Checklist of catfishes, recent and fossil (Osteichthyes: Siluriformes), and catalogue of siluriform primary types. **Zootaxa**. 1418: 1-628.
- Fink S.V.; Fink, W.L., 1981. Interrelationships of the ostariophysan fishes (Teleostei). **Zoological Journal of the Linnean Society**, 72: 297–353.
- Fink, S.V.; Fink, W.L., 1996. Interrelationships of ostariophysan fishes (Teleostei). Pp. 209–249. In: Stiassny, M.L.J., L.R. Parenti & G. D. Johnson (Eds.). **Interrelationships of fishes**. San Diego, Academic Press.
- Fisher, R. A., 1922. On the mathematical foundations of theoretical statistics. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London A** 222: 309-368.
- Fisher, R. A., 1956. **Statistical Methods and Scientific Inference**. Oliver & Boyd, Edinburgh.

- Fitch, W. M., 1971. Toward defining the course of evolution: minimum change for a specified tree topology. **Systematic Zoology**. 20: 406-416.
- Fitch, W. M., 1977. Phylogenies constrained by the crossover process as illustrated by human hemoglobins and a thirteen-cycle, eleven-amino-acid repeat in human apolipoprotein A-I. **Genetics** 86: 623-644.
- Fowler, H. W., 1932. Zoological Results of the Matto Grosso Expedition to Brazil in 1931: I. Fresh Water Fishes. **Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia**, Vol. 84 (1932), pp. 343-377.
- Gill, T., 1872. Arrangement of the families of fishes, or Classes Pisces, Marsipobranchii, and Leptocardii. **Smith Misc Coll.** 247: 1-49.
- Giribet, G.; Wheeler, W. C., 1999. On gaps. **Molecular Phylogenetics and Evolution**. 13(1): 132-143.
- Goodrich, E. S. 1909. Vertebrate Cranita (first fascicle: Cyclostomes and fishes), vol. IX: xvi + 518 pp. in R. Lankester. **A treatise on Zoology**. Adam and Charles Black, London.
- Gould, S.J., 1979. Aquahog is a quahog. **Natural History**, 88, 18-26.
- Grande, L. 1987. Redescription of *Hypsidoris farsonensis* (Teleostei: Siluriformes), with a reassessment of its phylogenetic relationships. **Journal of Vertebrate Paleontology**, 7: 24-54.
- Graur, D.; Li, W.H., 2000. **Fundamentals of molecular evolution** - 2a edição. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA.
- Günther, A. C. L. G. 1864. Catalogue of fishes in the British Museum. Catalogue of the Physostomi, containing the families Siluridae, Characinidae, Haplochitonidae, Sternoptychidae, Scopelidae, **Stomiidae in the collection of the British Museum**. Vol. 5: xxii + 455 pp.
- Hardman, M., 2005. The phylogenetic relationships among non-diplomystid catfishes as inferred from mitochondrial cytochrome *b* sequences; the search for the ictalurid sister taxon (Otophysi: Siluriformes). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 21p
- Hasegawa, M.; Kishino, H.; Yano, T., 1985. Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. **Journal of Molecular Evolution** 22: 160-174.

- Hastings, W. K., 1970. Monte Carlo sampling methods using Markov chains and their applications. **Biometrika** 57(1):97-109
- He, S.; Gayet, M.; Meunier, F.J.; 1999. Phylogeny of the Amphiliidae (Teleostei: Siluriformes). **Annales des Sciences Naturelles Zoologie et Biologie Animale** 20: 117-146.
- Hedrick, P. W., 2005. **Genetics of populations** - 3a edição. Jones and Bartlett Publishers, Sudbury, MA.
- Helfman, G. S.; Collette, B. B.; Facey, D. E., 1997. **The diversity of fishes**. Blackwell Science, 528 pp.
- Hendy, M. D.; Penny, D., 1989. A framework for the study of evolutionary trees. **Systematic Zoology** 38: 297-309.
- Hennig, W. 1966. **Phylogenetic Systematics**. University of Illinois Press, Urbana, 263 pp.
- Hillis, D. M.; Bull, J. J.; White, M. E.; Badgett, M. R.; Molineux, I. J., 1992. Experimental phylogenetics: generation of a known phylogeny. **Science** 255: 589-592.
- Holder, M.; Lewis, P. O., 2003. Phylogeny estimation - traditional and Bayesian approaches. **Nature Reviews Genetics** 4: 275-284.
- Hopkins, G.W.; Freckleton, R.P. 2002. Declines in the numbers of amateurs and professional taxonomists: implications for conservation. **Animal Conservation**, 5: 245-249.
- Howes, G. J., 1983. The cranial muscles of loricarioid catfishes, their homologies and value as taxonomic characters (Teleostei: Siluroidei). **Bulletin of the British Museum of Natural History, Zoology** 45: 309-345.
- Huelsenbeck, J. P., 1995. Performance of phylogenetic methods in simulation. **Systematic Biology**. 44(1): 17-48.
- Huelsenbeck, J. P.; Ronquist, F., 2005. Bayesian analysis of molecular evolution using Mr. Bayes. In: **Statistical methods in molecular evolution** (Ed.: Nielsen, R.), p. 183-232. Springer Science+Business Media, Inc. New York, NY.
- Huelsenbeck, J. P.; Ronquist, F.; Nielsen, R.; Bollback, J. P., 2001. Bayesian inference of phylogeny and its impact on evolutionary biology. **Science** 294: 2310-2314.

- Humboldt, A. 1805. Mémoire sur l'Eremophilus et l'Astroblepus, deux nouveaux genres de l'ordre des Apodes, pp. 17-20 in A. Humboldt & A. Bonpland. **Recueil d'observations de Zoologie et d'Anatomie comparée**. Premier volume. Paris.
- Jayaswal, V.; Jermini, L. S.; Robinson, J., 2005. Estimation of phylogeny using a general Markov model. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1: 62-80.
- Jin, L.; Nei, M., 1990. Limitations of the evolutionary parsimony method of phylogenetic analysis. **Molecular Biology and Evolution**. 7: 82-102.
- Jukes, T. H.; Cantor, C. R., 1969. Evolution of protein molecules. In: **Mammalian Protein Metabolism**, Vol. III (Ed.: Munro, H. N.), p. 21-132. Academic Press, New York, NY.
- Kimura, M., 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **Journal of Molecular Evolution** 16: 111-120.
- Kocher, T. D.; Thomas, W. K.; Meyer, A.; Edwards, S. V. & Pääbo, S.; Villablanca, F. X.; Wilson, A. C., 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals - amplification and sequencing with conserved primers. **Proceedings of the Academy of Natural Sciences**. USA 86: 6196-6200.
- Kocher, T.D.; Stepien, C.A., 1997. **Molecular Systematics of Fishes**. Academic Press, London, U.K.
- Kluge, A. G.; Wolf, A. J., 1993. Cladistics: what's in a word? **Cladistics**. 9:183-199.
- Lewin, B., 1994. **Genes V**. Oxford University Press Inc., New York, 1272 pp.
- Liò, P.; Goldman, N., 1998. Models of molecular evolution and phylogeny. **Genome Research**. 8: 1233-1244.
- Lundberg, J. G. 1970. **The evolutionary history of North American catfishes, Family Ictaluridae**. Tese de Doutorado (não publicada), The University of Michigan, Ann Arbor, xiii + 524 pp.
- Lundberg, J. G. 1982. The comparative anatomy of the toothless blindcat, *Trogloglanis pattersonii* Eigenmann, with a phylogenetic analysis of the ictalurid catfishes. **Miscellaneous Publication of the Museum of Zoology**, University of Michigan 163: 1-85.

- Lundberg, J. G. 1993. African-South American freshwater fish clades and continental drift: problems with a paradigm, pp. 156-199 *in* P. Goldblatt. **Biological relationships between Africa and South America**. Yale University Press, New Haven.
- Lütken, C.H., 1875. **Velhas-Flodens Fiske. Et Bidrag til Brasiliens Ichthyologi**. Kongelige Danske Videnskabernes Selskabs Skrifter, 12(2): 122-252.
- Lydeard, C.; Wooten, M.C.; Meyer, A., 1995. Molecules, morphology, and area cladograms: a cladistic and biogeographic analysis of *Gambusia* (Teleostei: Poeciliidae). **Systematic Biology**, 44: 221-236.
- Maitelli, G. T., 2005. Hidrografia: a hidrografia no contexto regional. Pp. 272-287. In: Moreno, G. & Higa, T. C. S. (orgs.), **Geografia de Mato Grosso: território, sociedade, ambiente**. Editora Entrelinhas, Cuiabá, 296 p.
- Margules, C.R.; Pressey, R.L. 2000. Systematic conservation planning. **Nature** 405: 243-253.
- Maxam, A. M.; Gilbert, W., 1977. A new method for sequencing DNA. **Proceedings of the Academy of Natural Sciences**. USA 74: 560-564.
- Mayr, E., 1977. **Populações espécies e evolução**. Editora da Universidade de São Paulo, Série 3, Ciências Puras, Volume 5, São Paulo.
- Mayr, E.; Ashlock, P.D., 1991. **Principles of Systematic Zoology**. McGraw-Hill, New York.
- Mehanna, M.; Penha, J.M.F., 2010. Fish, tributaries of Cuiabá River basin, Chapada dos Guimarães, Mato Grosso, Brazil. **Checklist** (submetido).
- Metropolis, N.; Rosenbluth, A.E.; Rosenbluth, M.N.; Teller, A.H.; Teller, E., 1953. Perspective on "Equation of state calculations by fast computing machines". **Journal of Chemical Physics**. 21: 1087-1092.
- Mo, T., 1991. **Anatomy, relationships and systematics of the Bagridae (Teleostei: Siluroidei) with a hypothesis of siluroid phylogeny**. Theses Zoologicae 17: 1-216.
- Moyer, G. R.; Burr, B. M.; Krajewski, C., 2004. Phylogenetic relationships of thorny catfishes (Siluriformes: Doradidae) inferred from molecular and morphological data. **Zoological Journal of the Linnean Society**, 140, 551–575.

- Mullis, K. B.; Faloona, F. A., 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. **Methods in Enzymology** 155: 335-350.
- Miyamoto, M. M.; Fitch, W. M., 1995. Testing species phylogenies and phylogenetic methods with congruence. **Systematic Biology** 44: 64-76.
- Mickevich, M.F.; Johnson, M.S., 1976. Congruence between morphological and allozyme data in evolutionary inference and character evolution. **Systematic Zoology** 25: 260-270.
- Ministério Das Minas e Energias, 1982: Departamento Nacional da Produção Mineral. **Projeto Radambrasil. Folha Sd 21 – Cuiabá: geologia, geomorfologia, pedologia, vegetação e uso potencial da terra.** V. 26. Rio de Janeiro. 544 p.
- Nei, M.; Gojobori, T., 1986. Simple methods for estimating the numbers of synonymous and nonsynonymous nucleotide substitutions. **Molecular Biology and Evolution**. 3: 418-426.
- Nei, M.; Kumar, S., 2000. **Molecular evolution and phylogenetics**. Oxford University Press, New York, USA.
- Nelson, J. S. 1999. Editorial and introduction: The species concept in fish biology. **Reviews in Fish Biology and Fisheries** 9: 277–280.
- Nelson, J. S. 2006. **Fishes Of The World**. 4th ed. New York, John Wiley & Sons, 601 p.
- Northcutt, G., 1989. The phylogenetic distribution and innervation of craniate mechanoreceptive lateral lines. pp 17-18. in: Coombs, S.P., P. Görner & H. Münz (Eds.) **The mechanosensory lateral line**. New York, Springer.
- Palumbi, S.R., 1996. Nucleic Acids II: The Polymerase Chain Reaction. Pp. 205-247. In: Hills, D.M., Moritz, C., Mable, B (Eds.). **Molecular Systematics** 2nd. ed., Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts, 655 pp.
- Patterson, C. 1982. Morphological characters and homology. Pp. 21-74. In: Joysey, K. A. & A. E. Friday (Eds.). **Problems of Phylogenetic Reconstruction**. London, Academic Press.
- Peyer, B., 1922. Über die Flossenstacheln der Welse und Panzerwelse, sowie des Karpfens. **Morphologisches Jahrbuch** 51: 495-554.
- de Pinna, M. C. C., 1989. A new sarcoglanidine catfish, phylogeny of its subfamily, and an appraisal of the phyletic status of the Trichomycterinae. **American Museum Novitates** 2950: 1-39.

- de Pinna, M. C. C., 1991. Concepts and tests of homology in the cladistic paradigm. **Cladistics** 7: 367-394.
- de Pinna, M. C. C., 1992. A new subfamily of Trichomycteridae (Teleostei, Siluriformes), lower Loricarioid relationships, and a discussion on the impact of additional taxa for phylogenetic analysis. **Zoological Journal of the Linnean Society**, 106(2): 175-229.
- de Pinna, M. C. C., 1996. A phylogenetic analysis of the Asian catfish families Sisoridae, Akysidae and Amblycipitidae, with a hypothesis on the relationships of the Neotropical Asprenidae (Teleostei, Ostariophysi). **Fieldiana**, Zool 84: 1-82.
- de Pinna, M. C. C., 1998. Phylogenetic relationship of Neotropical Siluriformes: Historical overview and synthesis of hypotheses. Pp. 279-330. **In:** Malabarba, L.R., R.E. Reis, R.P. Vari, Z.M.S. Lucena & C.A. Lucena. **Phylogeny and classification of Neotropical fishes**. EDIPUCRS, Porto Alegre, 603p.
- de Pinna, M. C. C.; Wosiacki, W.B., 2003. Family Trichomycteridae (pencil or parasitic catfishes), pp 270-290. **In:** R.E. Reis, S.O. Kullander, and C.J. Ferraris, Jr. (Eds.) **Checklist of the freshwater fishes of South and Central America**, EDIPUCRS, Porto Alegre, Brasil.
- Potthoff, T., 1984. Clearing and staining techniques. Pp. 35-37. **In:** H.G. Moser; W.J. Richards; D.M. Cohen; M.P. Fahay; A.W. Kendall JR. e S.L. Richardson (Eds.). **Ontogeny and systematics of fishes**. La Jolla, Special American Society of Ichthyologists and Herpetologist. 760p.
- Rafinesque, C. S., 1815. **Analyse de la nature, ou tableau de l'univers et des corps organisés**. Palerme, 224 pp.
- Regan, C. T., 1911. The classification of the teleostean fishes of the order Ostariophysi. 2. Siluroidea. **Annals and Magazine of Natural History** 8: 553-577.
- Reis, R. E., 1998. Anatomy and phylogenetic analysis of the neotropical callichthyid catfishes (Ostariophysi, Siluriformes). **Zoological Journal of the Linnaean Society** 124: 105-168.
- Reis, R. E.; Kullander, S. O.; Ferraris, Jr., C. J., 2003. **Check list of the freshwater fishes of South and Central America**. Porto Alegre, Edipucrs. 2003, 742 p.
- Rieppel, O., 1988. **Fundamentals of Comparative Biology**. Birkhäuser Verlag, Berlin, 202 pp.

- Ringuelet, R. A.; de Aramburu, R. A.; Aramburu, R., 1967. **Los peces de agua dulce de la República Argentina**. Comision Nac. Inv. Cient. Buenos Aires, Argentina.
- Rosen, D. E.; Greenwood, P. H., 1970. Origin of the weberian apparatus and the relationships of the ostariophysan and gonorynchiform fishes. **American Museum Novitates** 2428: 1-25.
- Saiki, R. K.; Scharf, S.; Faloona, F.; Mullis, K. B.; Horn, G. T.; Erlich, H. A.; Arnheim, N., 1985. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. **Science** 230(4732):1350-1354.
- Sanger, F.; Nicklen, S.; Coulson, A. R., 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proceedings of the Academy of Natural Sciences**. USA 74: 5463-5467.
- Sanson, G. F. O.; Kawashita, S. Y; Brunstein, A.; Briones, M. R. S., 2002. Experimental phylogeny of neutrally evolving DNA sequences generated by a bifurcate series of nested polymerase chain reactions. **Molecular Biology and Evolution**. 19(2): 170-178.
- Schaefer, S. A., 1990. Anatomy and relationships of the scoloplacid catfishes. **Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia** 142: 167-210.
- Schaefer, S.A., 1998. Conflict and resolution impact of new taxa on phylogenetic studies of the Neotropical cascudinhos (Siluroidei: Loricariidae). In: Malabarba, L.R., Reis, R.E., Vari, R.P., Lucena, Z.M.S., Lucena, C.A.S. (Eds.) **Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes**. Porto Alegre: EDIPUCRS, pp. 375-400.
- Scharf, S. J.; Horn, G. T.; Erlich, H. A., 1986. Direct cloning and sequence analysis of enzymatically amplified genomic sequences. **Science** 233(4768):1076-1078.
- Scheffler, I. E., 1999. **Mitochondria**. John Wiley e Sons, Inc., New York, NY.
- Schwenk, L. M., 2005. Domínios Biogeográficos: interações entre fitogeografia e zoogeografia. Pp: 250-271. In: Moreno, G. & Higa, T. C. S. (orgs.), **Geografia de Mato Grosso: território, sociedade, ambiente**. Editora Entrelinhas, Cuiabá, 296 pp.
- Siddall, M. E., 1998. Success of parsimony in the four-taxon case: long-branch repulsion by likelihood in the Farris zone. **Cladistics** 14: 209-220.
- Simmons, M. P.; Pickett, K. M.; Miya, M., 2004. How meaningful are bayesian support values? **Molecular Biology and Evolution**. 21(1): 188-199.

- Sokal, R. R.; F. J. Rohlf. 1981. Taxonomic congruence in the Leptopodomorpha re-examined. **Systematic Zoology** 30: 309-325.
- Suzuki, Y.; Glazko, G. V.; Nei, M., 2002. Overcredibility of molecular phylogenies obtained by bayesian phylogenetics. **Proceedings of the Academy of Natural Sciences USA** 99: 15138-16143.
- Tamura, K; Dudley, J; Nei, M.; Kumar, S., 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. **Molecular Biology and Evolution** 24:1596-1599
- Taylor, R.; Van Dyke, C. C., 1985. Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. **Cybium** 9: 107-119.
- Tchernavin, V. 1944: A revision of some Trichomycterinae based on material preserved in the British Museum (Nat. Hist.). **Proceedings of the Zoological Society of London**. 114: 234–275.
- Tschudi, J., 1845. Untersuchungen uber die Fauna Peruana, **Ichthyologie**, 1-35.
- Uieda, V. S.; Castro, R. M. C. 1999. Coleta e fixação de peixes de riachos. In Caramaschi, E.P. ; Mazzoni, R.e P.R. Peres – Neto (eds). **Ecologia de peixes de riachos. Série Oecologia Brasiliensis**, vol. VI. PPGE-UFRJ. Rio de Janeiro, Brasil.
- Vari, R.P.; Malabarba, L.R., 1998: Neotropical Ichthyology: an overview. In: Malabarba, L.R., Reis, R.E., Vari, R.P., Lucena, Z.M.S., Lucena, C.A.S. (Eds.) **Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes**. Porto Alegre, EDIPUCRS, pp. 1-11.
- Ward, R. D., T. S. Zemlak, B. H. Innes, P. R. Last; P. D. N. Hebert. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. **Philosophical Transactions of Royal Society**, 359: 1847-1857.
- Wiegmann, A., 1835. Bericht über die Fortschritte der Zoologie im Jahre 1834. Arch. Naturgesch. 2, Helf 3, 255-348.
- Wilson, E.O., 1992. **The Diversity of Life**. W.W. Norton, NewYork
- Wosiacki, W. B. 2002. **Estudo das relações filogenéticas de Trichomycterinae (Teleostei, Siluriformes, Trichomycteridae) com uma proposta de classificação**. Tese de Doutorado (não publicada), Universidade de São Paulo, São Paulo, 324 pp.

- Wosiacki, V. B.; Garavello, J. C., 2004. Five new species of *Trichomycterus* from the rio Iguaçu (rio Paraná Basin), southern Brazil (Siluriformes: Trichomycteridae) **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, 5(1), 1-16
- Wosiacki, V. B.; de Pinna, M. C. C., 2007. Família Trichomycteridae: Trichomycterinae In: Buckup, P.A., Menezes, N. A. e Ghazzi, M. S. (Eds.) **Catálogo das Espécies de peixes de água doce do Brasil**. Rio de Janeiro, Museu Nacional, 2007, 195 p.
- Yang, Z., 1994. Maximum likelihood phylogenetic estimation from DNA sequences with variable rates over sites: approximate methods. **Journal of Molecular Evolution** 39: 306-314.
- Yang, Z., 1996. Phylogenetic analysis using parsimony and likelihood methods. **Journal of Molecular Evolution** 42: 294-307.
- Yang, Z., 1997. How often do wrong models produce better phylogenies? **Molecular Biology and Evolution**. 14: 105-108.
- Yang, Z.; Kumar, S., 1996. Approximate methods for estimating the pattern of nucleotide substitution rates among sites. **Molecular Biology and Evolution**. 13: 650-659.

Apêndice

"Um crime bem sucedido e favorecido pela sorte é chamado de virtude."

- Sêneca -

Legendas:	
Comprimento Total: Ct	
Comprimento padrão: Cp	
Comprimento Antero dorsal: Ant-dor	
Comprimento Postero-dorsal: Post-dor	
Comprimento da dorsal: C-dors	
Comprimento Antero-anal: Ant-an	
Comprimento Postero-anal: Post-an	
Comprimento da anal: C-anal	
Altura da cabeça: Alt-cab	
Altura do corpo: Alt-corp	
Altura do pedúnculo caudal: Alt-cld	

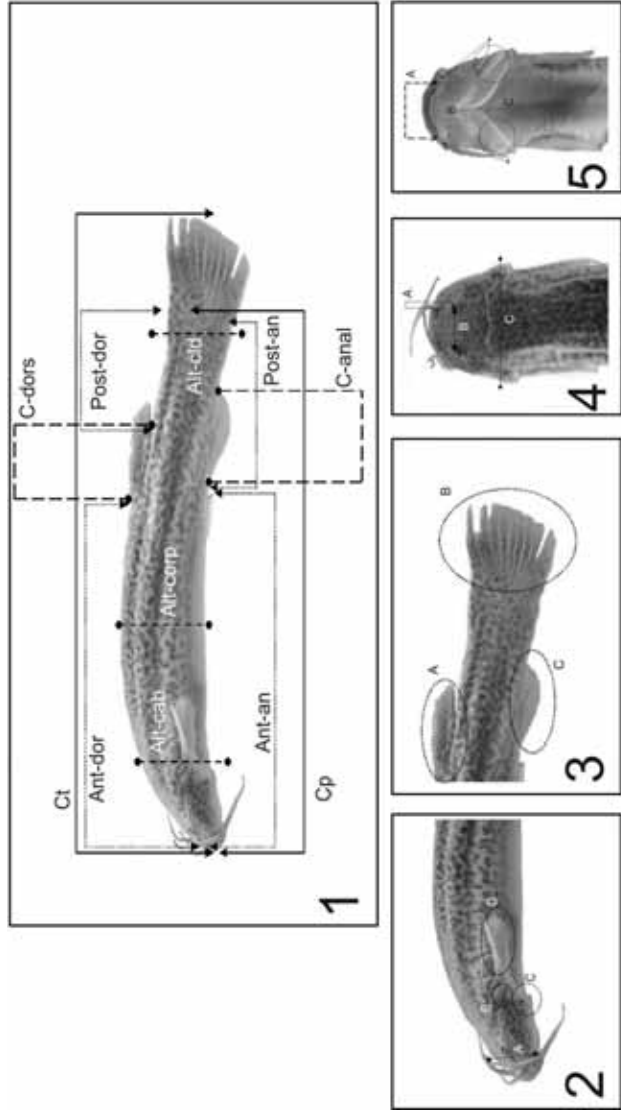


Figura 1 –Modelo de variáveis morfométricas. 1.1) Variáveis morfométricas e merísticas (ver legenda acima); 1.2) A – relações dos barbilhões maxilares; B – Número de espinho pré-opérculares; C – Número de espinhos inter opérculares; D – Número de raios da nadadeira peitoral. 1.3) A – Número de raios da nadadeira dorsal; B - Número de raios da nadadeira caudal; C – Número de raios da nadadeira anal. 1.4) A – Diâmetro ocular; B – Distância inter ocular; C – Largura da cabeça. 1.5) A – Comprimento da boca; B - relações dos barbilhões rictais; C – Número de espinho interopérculares (complemento as medidas 1.2-C, e verificar sua abrangência).

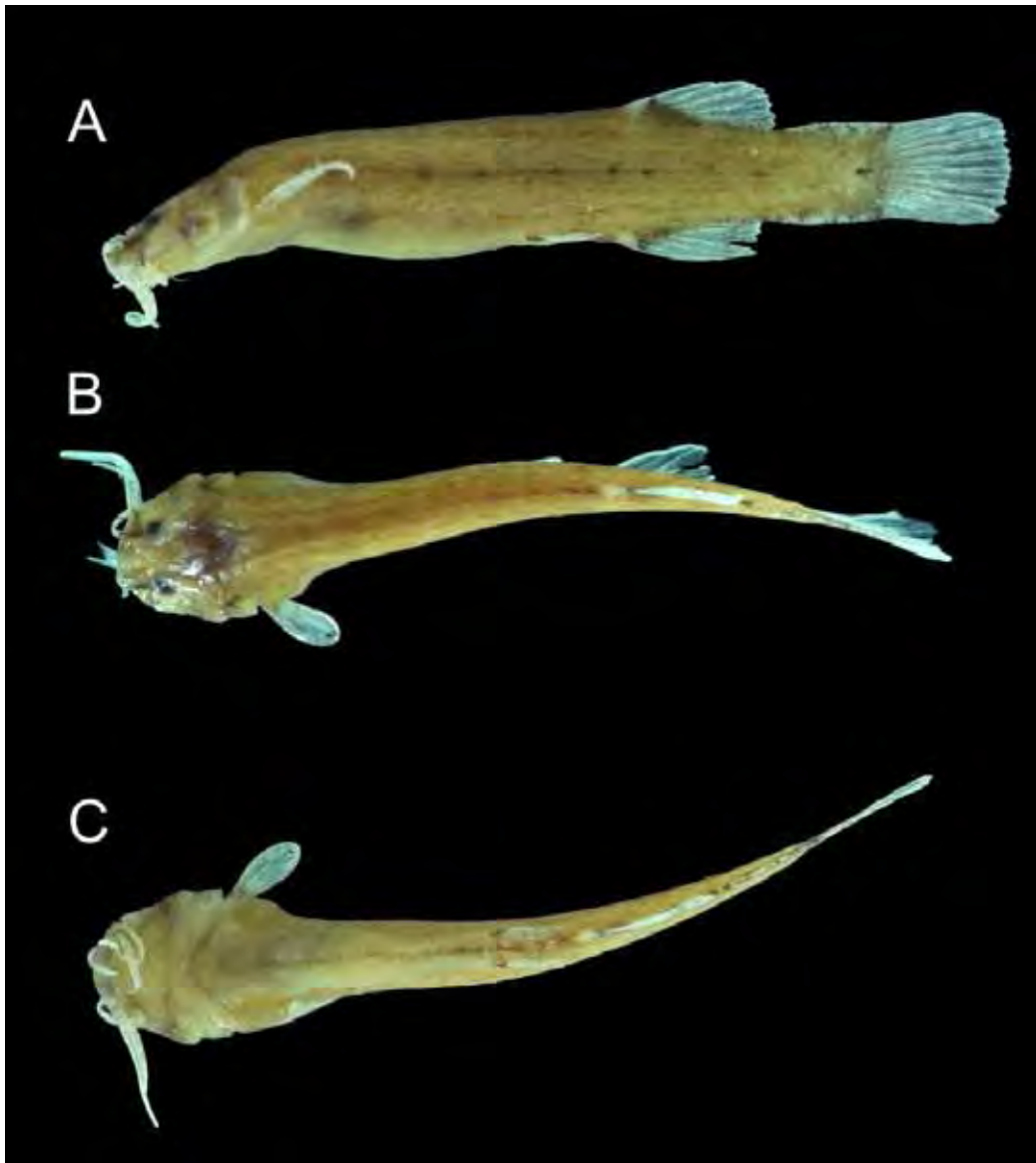


Figura 2 – *Trichomycterus johnsoni* – 14,6 mm comprimento padrão (CP); A) visão lateral; B) Visão dorsal; C) Visão ventral



Figura 3 – *Trichomycterus* sp. n1 – Holótipo - 55,28 mm (CP); A) visão lateral; B) Visão dorsal; C) Visão ventral

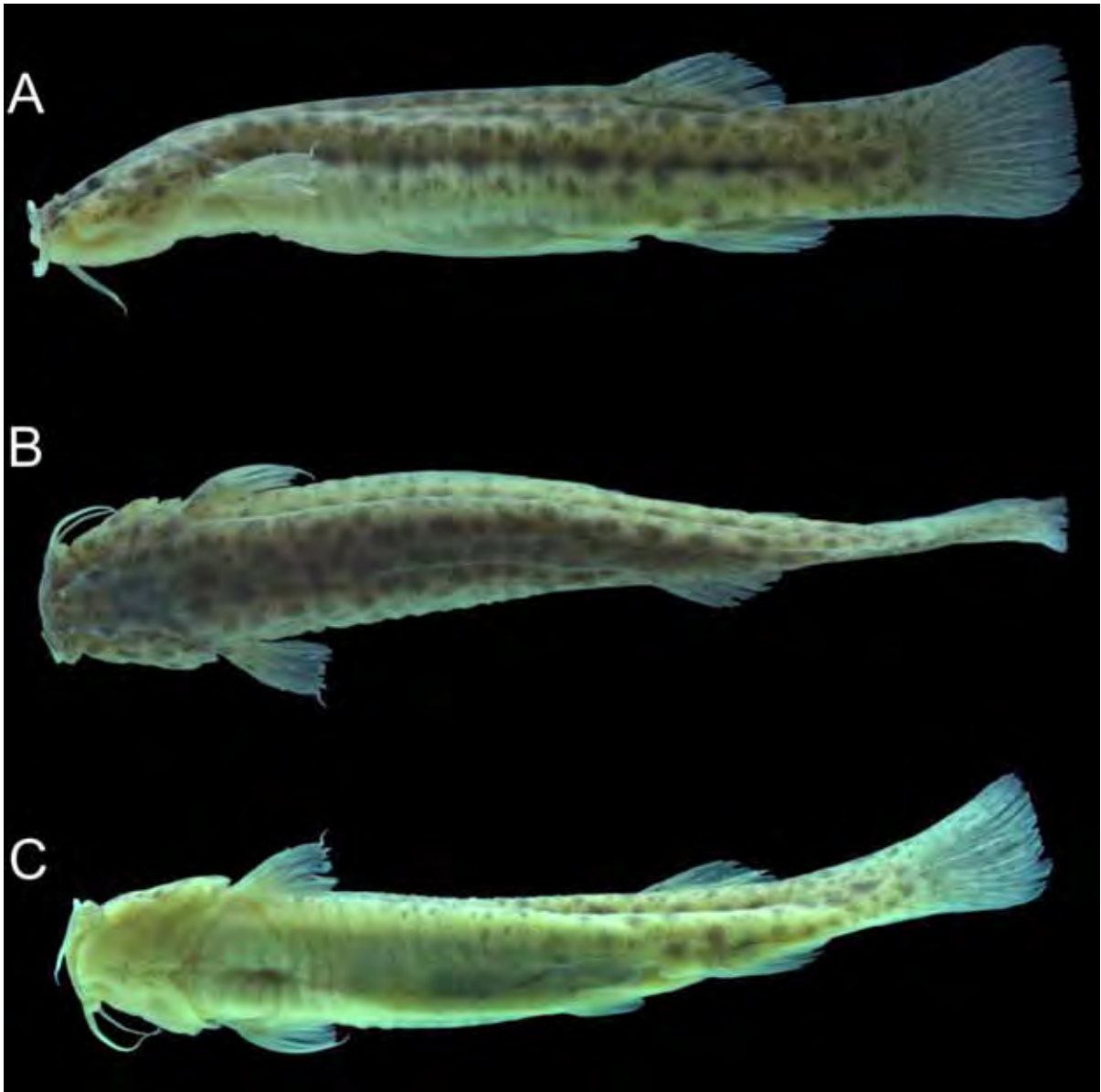


Figura 4 – *Trichomycterus* sp. n2 – Holótipo – 41,24 mm (CP); A) visão lateral; B) Visão dorsal; C) Visão ventral

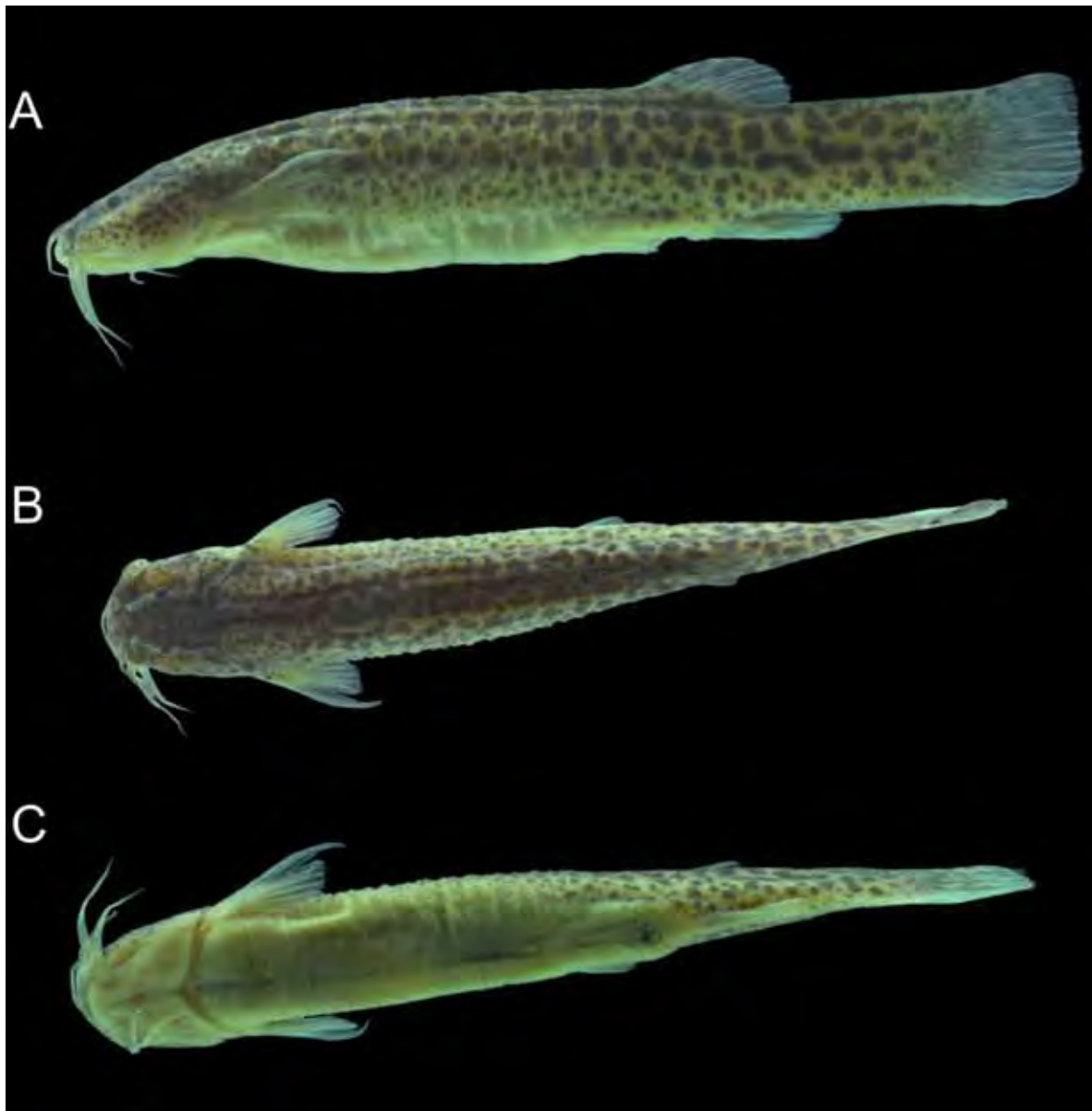


Figura 5 – *Trichomycterus* sp. n3 – Holótipo – 53,98 mm (CP); A) visão lateral; B) Visão dorsal; C) Visão ventral



Figura 6 – *Trichomycterus* sp. n4 – Holótipo – 38,38 mm (CP); A) visão lateral; B) Visão dorsal; C) Visão ventral

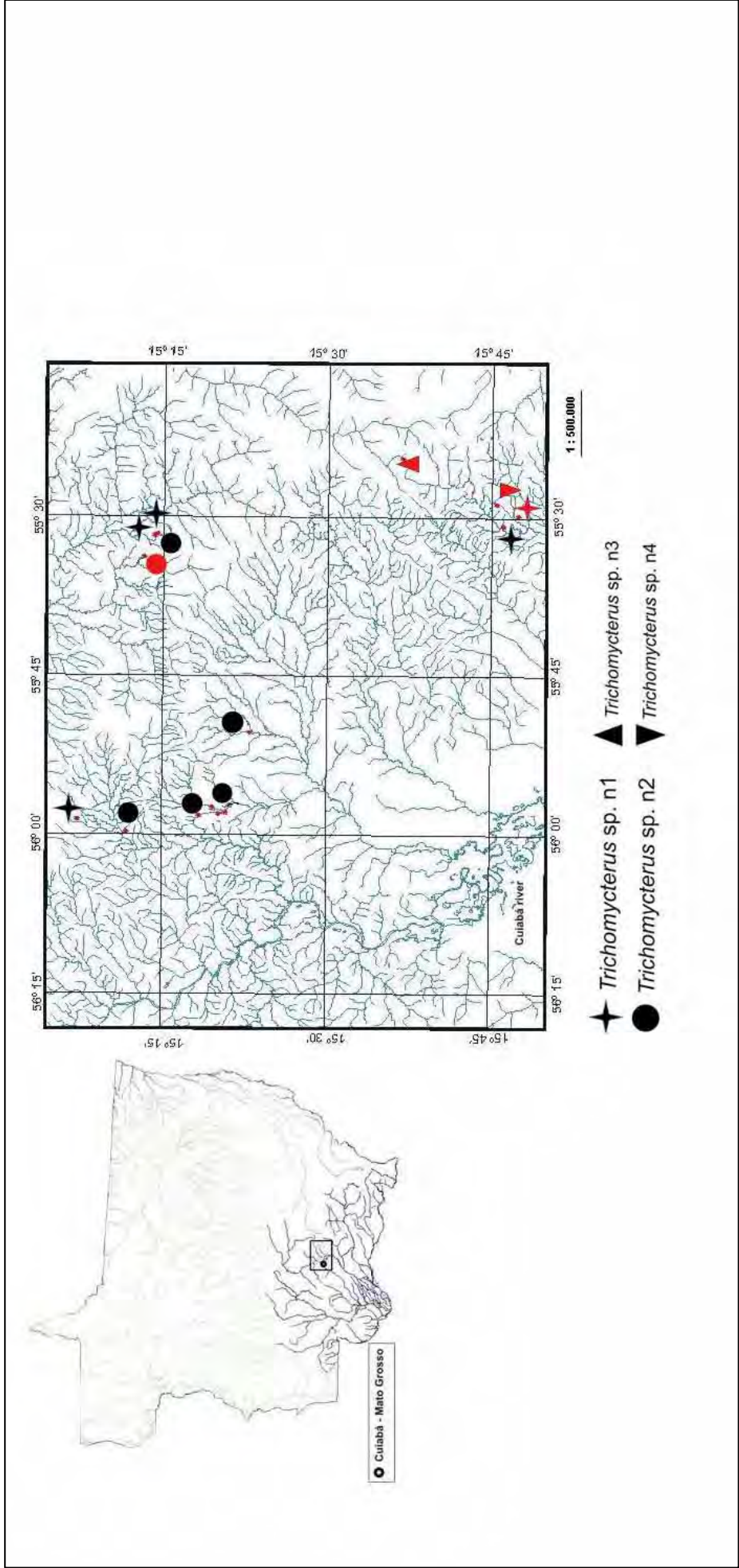


Figura 7 – Mapa da área de estudo e localidade tipo dos exemplares de *Trichomycterus* de Chapada dos Guimarães. Em vermelho a localidade dos Holótipos

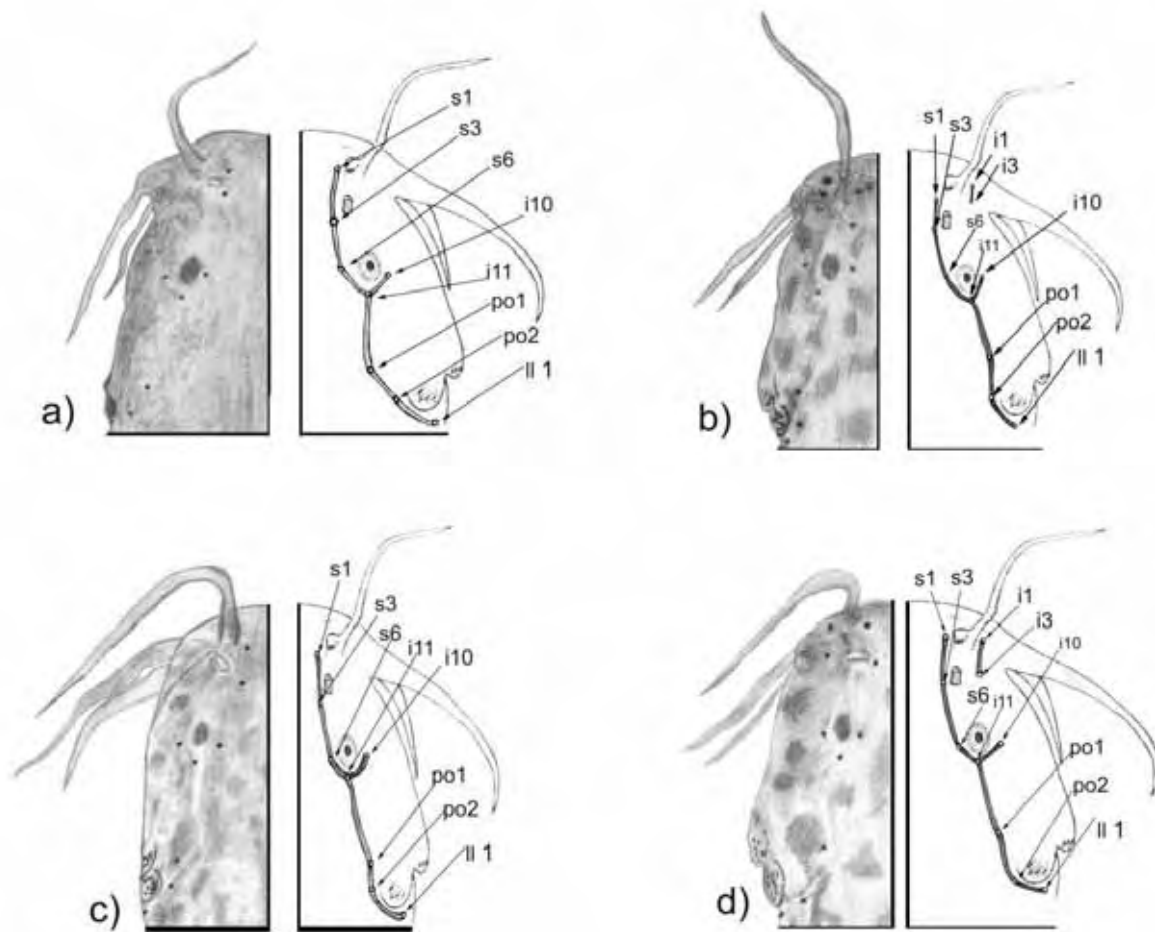


Figura 8 – Diagrama dos canais laterosensoriais; A) *Trichomycterus* sp. n1; B) *Trichomycterus* sp. n2; C) *Trichomycterus* sp. n3; D) *Trichomycterus* sp. n4. Abreviações: **s1-s3-s6**= poros supraorbitais; **i10-i11**=Poros infraorbitais; **po1-po2**= Poros sensoriais pós óticos; **i1-i3**= Poros infraorbitais; **ll 1**= Poro da linha lateral.

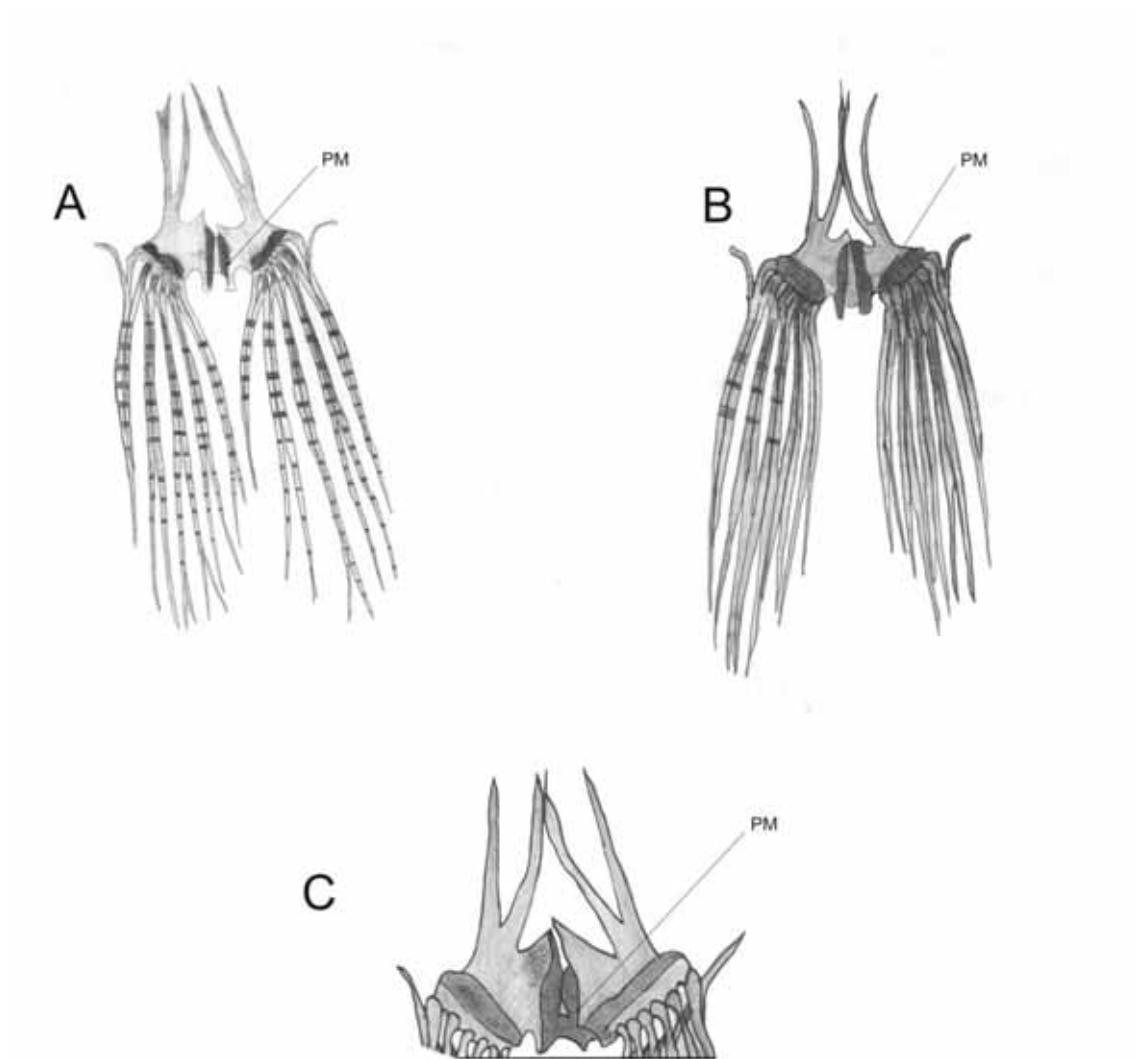


Figura 9 – Nadadeira pélvica e estruturas associadas, vista ventral; A) *Trichomycterus* sp. n1; B) *Trichomycterus* sp. n2; C) *Trichomycterus* sp. n3. **PM**: Processo mesial.

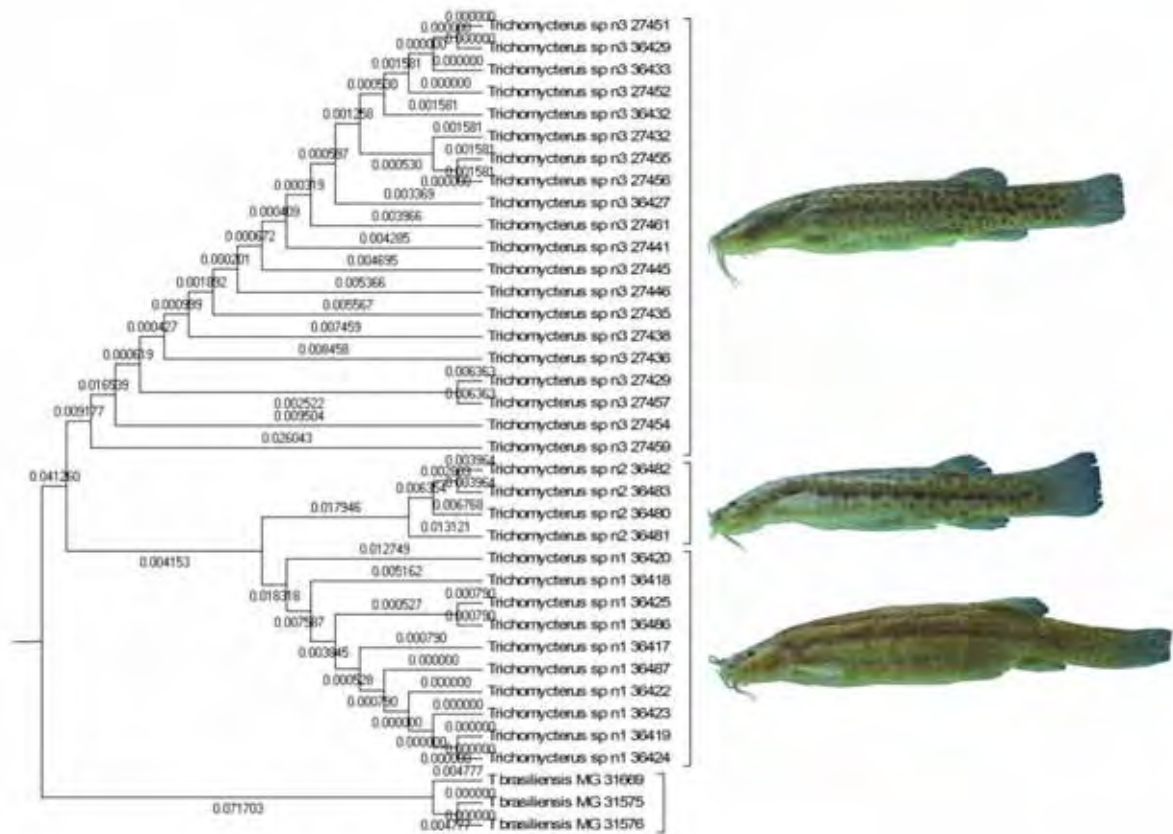


Figura 10- Dendrograma obtido pelo método UPGMA com o modelo de substituição nucleotídica Kimura-2-parâmetros para cálculo das distâncias genéticas dos *Trichomycterus* de Chapada dos Guimarães e de *Trichomycterus brasiliensis*

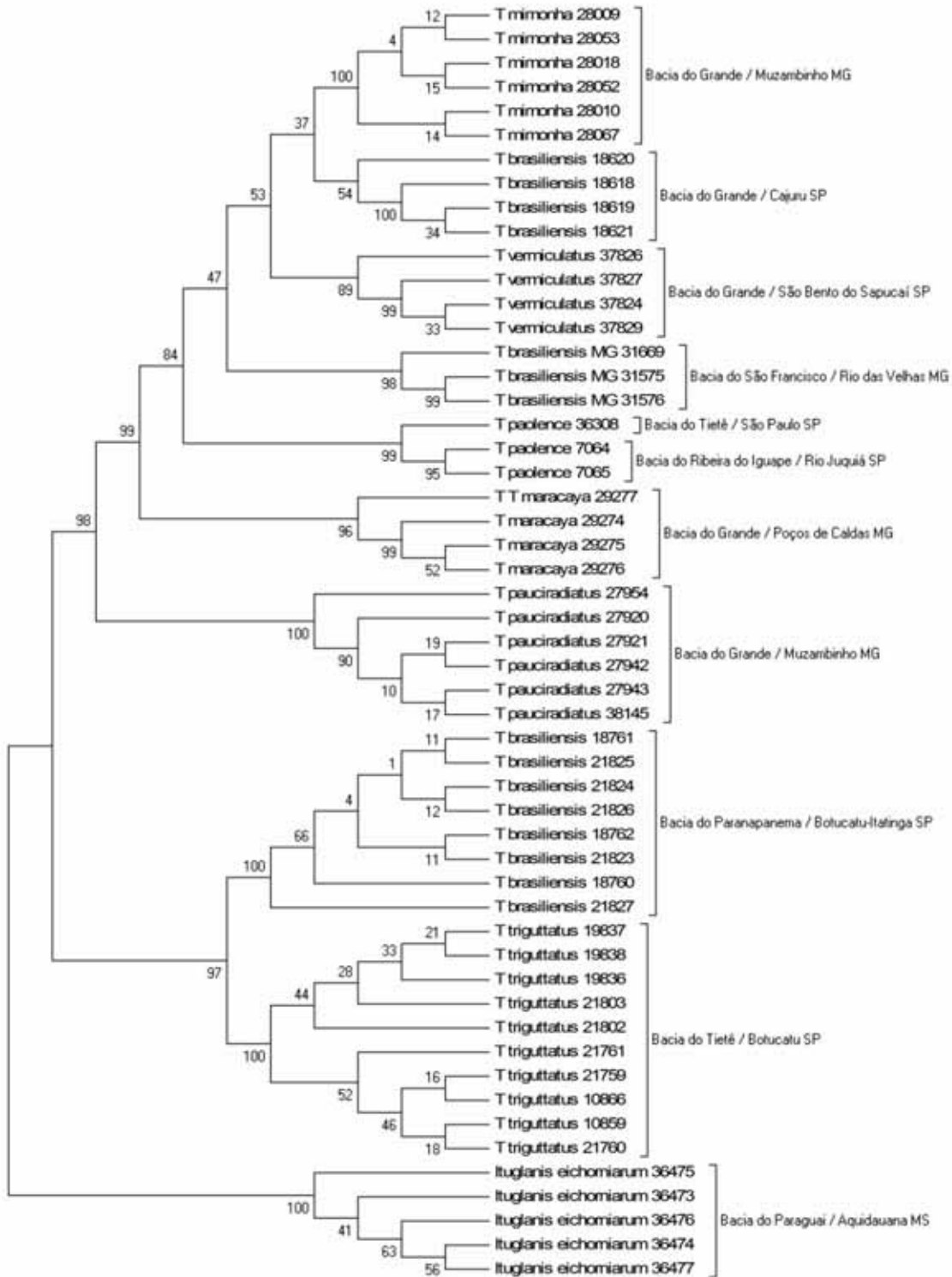


Figura 11- Dendrograma obtido pelo método UPGMA com o modelo de substituição nucleotídica Kimura-2-parâmetros para cálculo das distâncias genéticas de espécies de *Trichomycterus* do complexo *Brasiliensis*, testado pelo método de *bootstrap* com 1000 pseudo-réplicas.

Continuação tabela 1...

		MNRJ29292				MNRJ29361				MNRJ29348				NUP2867	
Dados Merísticos														máx	min
Número de Raios da nadadeira Dorsal	i+7	i+7	i+7	i+7	i+7	i+7	i+7	i+7	i+7	i+7	i+7	i+7	i+7	i+7	i+7
Número de Raios da nadadeira Anal	i+4	i+4	i+4	i+4	i+4	i+4	i+4	i+4	i+4	i+4	i+4	i+4	i+4	i+4	i+4
Número de Raios da nadadeira Peitoral	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6
Número de Raios da nadadeira Pélvica	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Número de Raios da nadadeira Caudal	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i
Número de Odontódeos no Pré opérculo	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
Número de Odontódeos no Inter opérculo	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16
Dados Morfométricos															
Comprimento Padrão	23,32	22,65	21,15	20,45	21,29	19,4	20,69	23,98	25,54	22,53	21,11	20,35	17,48		
Altura da cabeça	2,01	1,98	1,98	1,68	1,45	1,68	1,68	2,8	3,02	3,01	2,25	2,03	1,66		
Comprimento da Cabeça	3,52	3,38	3,22	2,68	3,22	2,27	3,21	4,1	4,8	3,96	4,08	4,05	3,75		
Comprimento Antero-dorsal	17,52	16,2	17,52	18,43	17,52	16,42	17,44	19,06	15,8	14,26	13,22	12,93	11,82		
Comprimento Postero-dorsal	3,84	2,9	3,84	4,62	3,84	3,62	3,62	5,3	6,2	4,97	4,29	3,69	2,82		
Comprimento Antero-anal	16,8	15,36	16,8	17,8	16,8	15,3	16,5	18,4	16,61	14,7	15,19	13,69	12,46		
Comprimento Postero-anal	4,62	3,91	3,86	3,82	3,86	3,2	3,76	5,6	7,92	6,99	6,54	5,67	3,79		
Comprimento da Nadadeira Dorsal	1,03	1	1,02	1,01	1,02	1,01	1	1,9	2,33	2,47	2,24	1,95	1,5		
Comprimento da Nadadeira Anal	1,23	1,12	2,12	2,33	1,13	1,02	1	1,84	1,02	1,47	147	1,46	1,47		
Altura do Corpo	1,76	1,68	1,51	1,48	1,51	144	1,44	2,78	3,21	2,58	2,57	2,15	1,66		
Altura da base da caudal	1,69	1,63	1,62	1,57	1,62	1,52	1,32	2,16	2,26	2,57	2,47	2,44	1,86		
Distância opercular	0,7	0,62	0,62	0,62	0,62	0,62	0,68	0,65	0,62	0,79	0,79	0,69	0,7		
Distância inter ocular	1,61	1,52	1,52	1,48	1,52	1,48	1,48	1,7	1,98	1,66	1,85	1,46	0,87		
Comprimento da boca	1,12	1,42	1,35	1,44	1,35	1,33	1,32	1,4	1,54	1,73	1,71	1,08	1,31		
Diâmetro dos olhos	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,69	0,69	0,7	0,78		
Distância do olho ao focinho	1,45	1,4	1,38	1,32	1,38	1,32	1,29	2,83	2,22	2,34	2,23	1,92	1,59		

Tabela 2- Dados merísticos e morfométricos de *Trichomycterus* sp. n2 (em mm).

Holótipo		MNRJ29291										
Dados Merísticos												
Número de Raios da nadadeira Dorsal	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7
Número de Raios da nadadeira Anal	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5
Número de Raios da nadadeira Peitoral	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5
Número de Raios da nadadeira Pélvica	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Número de Raios da nadadeira Caudal	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i
Número de Odontóteos no Pré operculo	20	21	20	22	20	20	21	20	20	21	20	20
Número de Odontóteos no Inter operculo	28	28	28	27	30	30	28	28	28	30	30	29
Dados Morfométricos												
Comprimento Padrão	41,24	39,25	36,81	34,63	33,7	32,84	32,13	29,78	30,35	30,15	23,79	
Altura da cabeça	4,38	4,8	4,27	3,81	3,93	4,26	3,76	3,78	3,23	3,47	3,31	
Comprimento da Cabeça	8,19	8,96	5,85	6,21	6,72	6,3	5,6	5,98	6,19	5,98	5,12	
Comprimento Antero-dorsal	27,73	26,09	24,48	23,27	21,52	20,02	20,99	18,42	19,94	20,05	15,12	
Comprimento Postero-dorsal	7,94	7,68	6,84	6,22	6,84	6,6	6,39	5,88	6,55	7,03	4,89	
Comprimento Antero-anal	28,36	26,46	25,83	24,54	22,61	21,46	21,46	19,99	21,15	20,59	16,13	
Comprimento Postero-anal	13,65	11,27	10,83	8,94	10,14	8,62	10,06	8,84	10,13	10,73	7,32	
Comprimento da Nadadeira Dorsal	5,45	4,31	4,29	3,94	3,58	4,06	3,76	3,73	3,67	3,77	2,68	
Comprimento da Nadadeira Anal	4,25	2,98	3,18	3,57	2,57	2,94	3,03	2,57	3	2,74	2,07	
Altura do Corpo	6,79	6,95	6,6	5,75	5,74	6,33	4,36	5,1	4,89	4,83	4,52	
Altura da base da caudal	5,37	4,6	4,34	3,76	3,84	3,49	3,44	3,44	2,68	3,41	2,85	
Distância opercular	0,77	0,75	0,8	0,79	0,8	0,77	0,75	0,78	0,8	0,77	0,79	
Distância inter ocular	2,75	2,25	1,95	2,22	2,35	2,08	2,08	2,06	1,98	1,98	1,98	
Comprimento da boca	2,78	1,45	1,98	2,02	1,72	2,24	2,24	1,89	1,8	1,67	1,33	
Diâmetro dos olhos	0,78	0,83	0,78	0,8	0,81	0,82	0,79	0,77	0,78	0,79	0,8	
Distância do olho ao focinho	3,33	3,2	3,07	2,8	2,89	2,73	2,71	2,67	2,58	2,3	2,2	

Continuação tabela 2...

-----MNRJ29387-----NUP2868										
Dados Merísticos										
Número de Raios da nadadeira Dorsal	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7
Número de Raios da nadadeira Anal	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5
Número de Raios da nadadeira Peitoral	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5
Número de Raios da nadadeira Pélvica	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Número de Raios da nadadeira Caudal	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i
Número de Odontódeos no Pré operculo	21	21	20	21	21	20	21	20	21	21
Número de Odontódeos no Inter operculo	29	29	30	29	30	30	30	31	30	30
Dados Morfométricos										
Comprimento Padrão	50,29	46,08	43,47	41,71	48,52	36,83	41,05	2,51		
Altura da cabeça	6,48	5,72	5,81	5,47	5,51	4,23	4,13	2,62		
Comprimento da Cabeça	9,19	7,88	8,25	7,38	8,8	7,23	7,42	5,1		
Comprimento Antero-dorsal	34,24	30,69	30,95	27,82	33,64	25,01	27,82	20,81		
Comprimento Postero-dorsal	10,25	8,9	8,69	10,2	9,36	6,88	10,1	7,81		
Comprimento Antero-anal	33,19	31,79	30,02	30,31	34,05	25,85	29,71	19,8		
Comprimento Postero-anal	14,81	12,67	12,63	12,04	13,39	11,28	6,93	7,72		
Comprimento da Nadadeira Dorsal	5,8	5,21	5,43	5,55	6,43	4,28	4,55	3,04		
Comprimento da Nadadeira Anal	4,4	3,68	3,7	3,7	3,93	3,27	3,11	2,91		
Altura do Corpo	9,09	7,83	7,86	7,59	8,15	6,17	6,15	3,76		
Altura da base da caudal	7,39	5,54	5,47	5,76	6,44	4,23	5,38	2,82		
Distância opercular	0,9	0,77	0,3	0,76	0,7	0,61	0,8	0,78		
Distância inter ocular	2,89	2,98	2,76	2,8	2,82	2,77	2,08	1,93		
Comprimento da boca	4,13	3,33	3,43	3,46	2,8	2,52	1,85	1,81		
Diâmetro dos olhos	0,86	0,79	0,83	0,78	0,82	0,81	0,72	0,82		
Distância do olho ao focinho	4,5	4,18	4,3	3,92	4,08	2,79	6,51	2,17		

Tabela 3- Dados merísticos e morfométricos de *Trichomycterus* sp. n3 (em mm).

MNFRJ29342												
Holótipo												
Dados Merísticos												
Número de Raios da nadadeira Dorsal	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7
Número de Raios da nadadeira Anal	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5
Número de Raios da nadadeira Peitoral	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6
Número de Raios da nadadeira Pélvica	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Número de Raios da nadadeira Caudal	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i
Número de Odontódeos no Pré opérculo	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18
Número de Odontódeos no Inter opérculo	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Dados Morfométricos												
Comprimento Padrão	53,98	53,64	50,52	53,63	42,89	41,6						
Altura da cabeça	5,79	6,2	6,48	6,47	5,21	4,59						
Comprimento da Cabeça	9,78	10,05	9,18	10,15	7,96	7,75						
Comprimento Antero-dorsal	25,15	27,21	26,35	22,96	19,04	19,11						
Comprimento Postero-dorsal	11,5	11,6	10,31	10,71	8,77	8,76						
Comprimento Antero-anal	26,38	26,53	23,78	25,84	22,21	22,73						
Comprimento Postero-anal	14,22	15,39	14,54	14,91	12,27	12,34						
Comprimento da Nadadeira Dorsal	5,74	5,73	5,72	6,73	5,31	5,15						
Comprimento da Nadadeira Anal	4,16	4,08	4,21	5,14	3,7	4,53						
Altura do Corpo	9,97	9,55	9,04	9,52	8,17	8,04						
Altura da base da caudal	6,59	6,49	6,33	6,64	5,34	5,3						
Distância opercular	0,84	0,83	0,8	0,85	0,68	0,71						
Distância inter ocular	4,14	3,44	3,71	4,05	3,47	3,24						
Comprimento da boca	5,3	4,39	4,86	4,84	3,29	3,1						
Diâmetro dos olhos	0,95	0,8	0,8	0,9	0,8	0,68						
Distância do olho ao focinho	5,01	4,25	4,82	4,68	3,31	4,2						

Continuação da tabela 3...

	MNRJ29344						MNRJ29345					
	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7
Dados Merísticos												
Número de Raios da nadadeira Dorsal	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7
Número de Raios da nadadeira Anal	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5
Número de Raios da nadadeira Peitoral	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6
Número de Raios da nadadeira Pélvica	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Número de Raios da nadadeira Caudal	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i
Número de Odontódeos no Pré opérculo	17	18	17	17	18	17	17	17	18	18	18	18
Número de Odontódeos no Inter opérculo	22	25	23	22	22	21	22	22	22	22	22	22
Dados Morfométricos												
Comprimento Padrão	37,81	42,95	37,11	32,07	30,44	28,67	37,12	36,12	37,12	36,12	37,12	30,2
Altura da cabeça	3,71	4,47	3,94	3,32	3,34	2,99	3,88	4,27	3,88	4,27	3,88	2,95
Comprimento da Cabeça	6,63	7,9	6,47	6,09	5,9	5,24	6,84	6,37	6,84	6,37	6,84	5,82
Comprimento Antero-dorsal	19,16	19,22	18,83	17,95	15,31	15,3	17,79	17,91	17,79	17,91	17,79	14,83
Comprimento Postero-dorsal	10,25	9,76	7,63	7,38	8,57	7,26	8,84	8,12	8,84	8,12	8,84	5,69
Comprimento Antero-anal	20,76	25,28	19,64	16,91	16,58	16,07	19,87	19,62	19,87	19,62	19,87	15,08
Comprimento Postero-anal	11,97	13,1	10,59	11,12	10,18	9,24	11,61	10,42	11,61	10,42	11,61	7,2
Comprimento da Nadadeira Dorsal	4,42	5	4,6	3,74	3,63	3,71	4,22	4,32	4,22	4,32	4,22	2,96
Comprimento da Nadadeira Anal	4,16	4,11	4,24	3,64	3,32	3,24	4,1	4,12	4,1	4,12	4,1	2,64
Altura do Corpo	5,25	6,93	5,74	5,29	4,59	3,97	6,61	6,17	6,61	6,17	6,61	4,58
Altura da base da caudal	4,34	4,9	4,33	3,9	3,35	3,34	4,72	4,4	4,72	4,4	4,72	3,51
Distância opercular	0,8	0,81	0,81	0,8	0,8	0,77	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Distância inter ocular	2,82	3,54	2,77	2,52	2,07	2,31	2,97	2,93	2,97	2,93	2,97	2,4
Comprimento da boca	2,75	3,61	2,67	2,21	2,17	2,04	2,6	2,49	2,6	2,49	2,6	2,33
Diâmetro dos olhos	0,77	0,76	0,7	0,7	0,7	0,79	0,71	0,76	0,71	0,76	0,71	0,8
Distância do olho ao focinho	3,71	4,19	3,32	3,3	2,93	2,68	3,34	3,27	3,34	3,27	3,34	2,46

Continuação da tabela 3...

MNRJ29346										
Dados Merísticos										
Número de Raios da nadadeira Dorsal	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7
Número de Raios da nadadeira Anal	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5
Número de Raios da nadadeira Peitoral	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6
Número de Raios da nadadeira Pélvica	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Número de Raios da nadadeira Caudal	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i
Número de Odontódeos no Pré opérculo	18	18	18	18	18	18	17	18	18	18
Número de Odontódeos no Inter opérculo	25	25	25	25	25	25	22	25	25	25
Dados Morfométricos										
Comprimento Padrão	50,86	34,19	39,82	37,73	26,53	28,4	29,94	23,26	20,46	
Altura da cabeça	6,02	3,65	5,12	4,3	2,78	3,3	3,18	2,87	2,67	
Comprimento da Cabeça	8,93	6,43	7,21	6,72	5,09	5,57	5,23	4,27	4,09	
Comprimento Antero-dorsal	26,33	17,1	20,87	18,94	14,43	13,26	14,61	10,82	9,04	
Comprimento Postero-dorsal	12,14	7,64	8,75	7,8	6,32	6,18	6,29	5,19	4,71	
Comprimento Antero-anal	28,36	17,7	21,13	20,42	12,48	14,44	14,62	10,41	10,8	
Comprimento Postero-anal	14,97	10,14	11,9	10,85	7,9	8,38	9,9	6,97	6,78	
Comprimento da Nadadeira Dorsal	6,72	3,84	4,12	5,23	3,15	4	3,88	3,33	2,87	
Comprimento da Nadadeira Anal	4,1	3,47	4,15	4,13	2,78	3,41	3,36	2,89	2,46	
Altura do Corpo	10,31	5,38	6,47	6,22	4,48	4,19	4,81	3,82	3,57	
Altura da base da caudal	6,59	4,25	4,48	4,18	2,94	3,58	3,49	2,79	2,44	
Distância opercular	0,8	0,74	0,68	0,688	0,64	0,62	0,64	0,64	0,64	
Distância inter ocular	4,22	2,6	2,74	3,14	2,09	2	2,1	1,95	2	
Comprimento da boca	4,55	2,8	2,64	3,02	2,1	2,12	2,21	1,94	2,21	
Diâmetro dos olhos	0,69	0,64	0,62	0,67	0,56	0,66	0,61	0,61	0,61	
Distância do olho ao focinho	4,7	3,25	4,04	3,2	2,42	2,29	2,71	2,3	2,2	

Continuação da tabela 3...

	MNRJ29347				MNRJ29349			
	-----				-----			
Dados Merísticos								
Número de Raios da nadadeira Dorsal	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7
Número de Raios da nadadeira Anal	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5
Número de Raios da nadadeira Peitoral	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6
Número de Raios da nadadeira Pélvica	5	5	5	5	5	5	5	5
Número de Raios da nadadeira Caudal	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i
Número de Odontódeos no Pré opérculo	18	18	18	18	18	18	18	18
Número de Odontódeos no Inter opérculo	25	25	25	25	25	25	25	25
Dados Morfométricos								
Comprimento Padrão	45,8	37,39	32,43	25,8	48,85	45,32		
Altura da cabeça	5,1	4,72	4,49	3,06	6,02	5,49		
Comprimento da Cabeça	7,56	6,98	5,98	4,67	9,61	8,51		
Comprimento Antero-dorsal	22,08	17,83	16,35	12,21	25,8	23,13		
Comprimento Postero-dorsal	9,45	9,09	6,65	5,9	10,35	9,45		
Comprimento Antero-anal	22,82	20,15	16,97	12,66	25,16	23,91		
Comprimento Postero-anal	12,85	10,68	10,44	7,85	13,96	12,96		
Comprimento da Nadadeira Dorsal	5,27	3,67	3,35	3,01	5,81	5,37		
Comprimento da Nadadeira Anal	4,01	3,58	3,02	2,34	3,78	3,62		
Altura do Corpo	7,17	6,83	6,33	4,02	9,03	8,36		
Altura da base da caudal	4,9	4,87	3,81	2,98	6,28	5,51		
Distância opercular	0,65	0,68	0,68	0,68	0,8	0,8		
Distância inter ocular	3,93	2,68	2,45	2,28	3,71	3,54		
Comprimento da boca	3,34	2,68	2,32	2,3	3,93	3,78		
Diâmetro dos olhos	0,85	0,74	0,84	0,84	0,8	0,8		
Distância do olho ao focinho	4,21	3,5	3,29	2,13	4,08	3,51		

Continuação da tabela 3...

MNRJ29360									
Dados Merísticos									
Número de Raios da nadadeira Dorsal	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7
Número de Raios da nadadeira Anal	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5	i+5
Número de Raios da nadadeira Peitoral	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6	i+6
Número de Raios da nadadeira Pélvica	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Número de Raios da nadadeira Caudal	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i
Número de Odontóteos no Pré opérculo	18	18	18	18	18	18	18	18	18
Número de Odontóteos no Inter opérculo	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Dados Morfométricos									
Comprimento Padrão	45,94	38,24	48,57	33,14	27,22	30,86	24,51		
Altura da cabeça	5,53	4,6	5,11	4,04	3,58	3,65	3,08		
Comprimento da Cabeça	8,97	7,59	8,48	6,44	5,7	6,05	4,91		
Comprimento Antero-dorsal	21,64	17,22	24,81	13,87	12,08	13,98	10,85		
Comprimento Postero-dorsal	9,55	7,77	10,11	6,8	6,32	6,4	5,6		
Comprimento Antero-anal	24,51	20	26,42	16,89	13,78	14,84	11,64		
Comprimento Postero-anal	14,05	11,2	12,96	10,52	8,78	10,04	7,96		
Comprimento da Nadadeira Dorsal	6,15	4,4	6,61	4,25	3,09	4,12	3,45		
Comprimento da Nadadeira Anal	4,47	3,56	4,92	3,89	2,96	3,6	3,08		
Altura do Corpo	8,05	6,48	10,08	5,8	4,27	4,56	4,32		
Altura da base da caudal	6,25	4,66	5,95	4,13	3,24	3,88	3,07		
Distância opercular	0,78	0,8	0,8	0,8	0,61	0,78	0,64		
Distância inter ocular	3,53	3,21	3,54	2,84	1,97	2,49	1,97		
Comprimento da boca	3,54	3,56	3,63	2,76	2,19	2,95	2,25		
Diâmetro dos olhos	0,83	0,7	0,8	0,76	0,76	0,65	0,78		
Distância do olho ao focinho	4,24	3,85	4,77	2,92	2,57	2,94	2,4		

Tabela 4- Dados merísticos e morfométricos de *Trichomycterus* sp. n4 (em mm).

	Holótipo	MNRJ29274	MNRJ29275	MNRJ29276
Dados Merísticos				
Número de Raios da nadadeira Dorsal	ii+7	ii+7	ii+7	ii+7
Número de Raios da nadadeira Anal	i+6	i+6	i+6	i+5
Número de Raios da nadadeira Peitoral	i+5	i+5	i+5	i+5
Número de Raios da nadadeira Pélvica	5	5	5	5
Número de Raios da nadadeira Caudal	i+11+i	i+11+i	i+11+i	i+11+i
Número de Odontódeos no Pré opérculo	14	14	14	14
Número de Odontódeos no Inter opérculo	22	25	24	22
Dados Morfométricos				
Comprimento Padrão	38,38	40,12	33,01	33,13
Altura da cabeça	4	4,01	3,67	3,47
Comprimento da Cabeça	6,97	7,45	5,85	5,97
Comprimento Antero-dorsal	18	19,77	14,72	14,87
Comprimento Postero-dorsal	9,8	6,5	7,69	7,13
Comprimento Antero-anal	20,3	21,31	17,61	15,79
Comprimento Postero-anal	11,64	11,72	10,83	9,21
Comprimento da Nadadeira Dorsal	3,9	3,83	3,5	3,82
Comprimento da Nadadeira Anal	3,49	3,83	2,75	2,88
Altura do Corpo	5,45	6,14	5,22	5,02
Altura da base da caudal	4,2	4,28	3,38	3,57
Distância opercular	0,75	0,74	0,6	0,7
Distância inter ocular	2,61	2,91	2,32	2,61
Comprimento da boca	2,64	2,61	2,43	2,31
Diâmetro dos olhos	0,81	0,8	0,71	0,81
Distância do olho ao focinho	2,82	3,83	2,85	2,19

Tabela 5- A divergência entre as espécies de Chapada dos Guimarães e de *Trichomycterus brasiliensis*.

	[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]	[7]	[8]	[9]	[10]	[11]	[12]	[13]
[1] <i>Trichomycterus</i> _sp_n3_27459													
[2] <i>Trichomycterus</i> _sp_n3_27429	0.05564												
[3] <i>Trichomycterus</i> _sp_n3_27438	0.05905	0.02567											
[4] <i>Trichomycterus</i> _sp_n3_27436	0.05395	0.02731	0.02241										
[5] <i>Trichomycterus</i> _sp_n3_27457	0.05395	0.01273	0.02405	0.02079									
[6] <i>Trichomycterus</i> _sp_n2_36481	0.11219	0.09789	0.08703	0.08884	0.08893								
[7] <i>Trichomycterus</i> _sp_n2_36480	0.10684	0.08014	0.06962	0.07139	0.07139	0.01919							
[8] <i>Trichomycterus</i> _sp_n2_36482	0.10701	0.07673	0.07134	0.07145	0.07311	0.03223	0.01595						
[9] <i>Trichomycterus</i> _sp_n2_36483	0.10151	0.07322	0.06611	0.06455	0.06620	0.02731	0.01112	0.00793					
[10] <i>Trichomycterus</i> _sp_n1_36420	0.10701	0.08718	0.08387	0.08542	0.08905	0.08568	0.07717	0.08071	0.07357				
[11] <i>Trichomycterus</i> _sp_n1_36418	0.10870	0.08025	0.07830	0.07139	0.07662	0.08380	0.06651	0.06143	0.05974	0.03388			
[12] <i>Trichomycterus</i> _sp_n1_36425	0.10701	0.08032	0.07489	0.06802	0.07322	0.06979	0.05281	0.06150	0.05296	0.02731	0.01273		
[13] <i>Trichomycterus</i> _sp_n1_36486	0.10515	0.07852	0.07311	0.06626	0.07145	0.07157	0.05456	0.05974	0.05122	0.02567	0.01112	0.00158	
[14] <i>Trichomycterus</i> _sp_n1_36417	0.10515	0.07852	0.06968	0.06626	0.07145	0.07322	0.05630	0.05798	0.04948	0.02242	0.01112	0.00475	0.00316
[15] <i>T_brasiliensis</i> _MG_31575	0.21183	0.17920	0.17258	0.16701	0.17298	0.15968	0.14072	0.14291	0.13333	0.14834	0.13103	0.12358	0.12162
[16] <i>T_brasiliensis</i> _MG_31576	0.21183	0.17920	0.17258	0.16701	0.17298	0.15968	0.14072	0.14291	0.13333	0.14834	0.13103	0.12358	0.12162
[17] <i>T_brasiliensis</i> _MG_31669	0.20735	0.17920	0.17258	0.16701	0.17298	0.16382	0.14477	0.14698	0.13735	0.14834	0.13103	0.12358	0.12162

Continuação da tabela 5...

	[14]	[15]	[16]	[17]
[14] Trichomycterus_sp_n1_36417				
[15] T_brasiliensis_MG_31575	0.12162			
[16] T_brasiliensis_MG_31576	0.12162	0.00000		
[17] T_brasiliensis_MG_31669	0.12162	0.00955	0.00955	0.00000